

3ª. REUNIÓN ACADÉMICA

del

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA,
BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS**

en conmemoración del

**50º ANIVERSARIO DEL CINVESTAV Y DEL
DEPARTAMENTO**

**20 y 21 de Septiembre del 2011
PROGRAMA GENERAL Y RESUMENES_**

**Auditorio “Arturo Rosenblueth” CINVESTAV,
México.**

CINVESTAV

**Director General
DR. RENÉ ASOMOZA PALACIO**

**Secretario Académico
DR. EMILIANO FERNANDO NAVARRO GARCÍA**

**Secretario de Planeación
DR. MARCO ANTONIO MERAZ RÍOS**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA,
BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS**

**Jefe del Departamento
DR. BENJAMIN FLORAN GARDUÑO**

COMITÉ ORGANIZADOR

**DRA. LORENZA GONZÁLEZ-MARISCAL
DR. BENJAMIN FLORÁN GARDUÑO
DR. JORGE QUEVEDO DURÁN
DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA**

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más profundo agradecimiento a las siguientes compañías por el apoyo financiero para llevar a cabo la presente Reunión Académica:



Lab-Tech



SIGMA-ALDRICH



Accesolab

Accesorios para Laboratorios, S.A. de C.V.

Industrias
BIOSELEC S. A. de C. V.
Innovación Biotecnológica

Dinexlab
La investigación es primero



BECAST

S. A. DE C. V.



IECSA

PROGRAMA

Martes 20 de septiembre del 2011

9:30 Inauguración.

Palabras del Dr. René Asomoza y Palacio. Director General del CINVESTAV.

9:40 Palabras de Bienvenida.

Dr. Benjamín Florán Garduño, Jefe del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias.

9:50 “*In memoriam*, compañeros investigadores”

Dr. Jorge Aceves Ruiz. Profesor Emérito del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias

Develación de placa

10:15 Café

10:45 "El Departamento de Fisiología: celebraciones, agradecimientos, alabanzas, papelones y consejos".

Dr. Marcelino Cerejido. Profesor Emérito del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias.

11:30 “Mis segundos 50 años en el CINVESTAV”.

Dr. Pablo Rudomin, Profesor Emérito del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias

11:45 Sesión de carteles.

Egresados invitados, profesores y estudiantes del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias.

13:00 Brindis de Bienvenida

Miércoles 21 de septiembre del 2011.
SIMPOSIO

9:15 "Egresados Distinguidos"

Moderador: Dr. Jorge Noel Quevedo Durán. Coordinador Académico del Departamento.

9:30 "Función de la cinasa alpha de diacilglicerol en el cáncer".

Dra. Juana Antonia Ávila

10:00 "El ATP como transmisor parácrino entre las células del ovario".

Dr. Rogelio Arellano Instituto de Neurobiología. UNAM

10:30 "El Canal de Calcio Cardíaco tipo L: Un Actor esencial en la Protección contra la Isquemia".

Dr. Jorge Sánchez Departamento de Farmacología. CINVESTAV

11:00 "Modulación de la actividad estriatal por los núcleos intralaminares del Tálamo".

Dra. Adriana Galván, Emory University, Atlanta, Georgia

11:30 Café

12:00 "Las células beta y la insulina en el síndrome metabólico".

Dra. Marcia Hiriart. Instituto de Fisiología Celular. UNAM.

12:30 "Comunicación intercelular en el corazón: desmosomas, uniones comunicantes y canales de sodio forman una unidad funcional".

Dr. Mario Delmar. NYU Langone Medical Center, New York.

13:00 " Integración sináptica cortico-estriatal en las vías directa e indirecta."

Dra. Elvira Galarraga Palacio, Instituto de Fisiología Celular. UNAM

13:30 "Sistema reticular activante de un generador central de patrones".

Dr. Elías Manjarrez. Instituto de Fisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

14:00 Comida



**3a. Reunión Académica. 50^a Aniversario del Departamento
Auditorio Arturo Rosenblueth, 20-21 Septiembre del 2011.**



CARTELES

C1

POLARIZACIÓN DE LA Na^+ , K^+ -ATPASA EN EL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA (EPR): EL PAPEL DE LA SUBUNIDAD β .

¹LOBATO-ALVAREZ J. Y ¹SHOSHANI L. jlobato@fisio.cinvestav.mx. ¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN. Instituto Politécnico Nacional 2580, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, 07360 Ciudad de México, Distrito Federal.

C2

EL 17- β -ESTRADIOL REGULA LA EXPRESIÓN DE LOS CANALES DE K^+ KCNK2 EN NEURONAS HIPOTALÁMICAS EN CULTIVO.

HERNÁNDEZ MENDOZA A¹, DOMÍNGUEZ SALAZAR E², MURBARTIÁN J¹ 1. Departamento de Farmacobiología, Cinvestav, Sede Sur. México, DF. 2. Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana -Iztapalapa. México, D.F.

C3

CUANTIFICACIÓN DE GABA Y GLUTAMATO EN LA MÉDULA ESPINAL DE LA RATA CON DESNUTRICIÓN CRÓNICA.

SALVADOR QUIROZ-GONZÁLEZ¹, FRANCISCO PAZ BERMUDEZ¹, JOSÉ CARLOS GUADARRAMA OLMOS¹, ERICK RODRIGO ESCARTÍN PÉREZ³, BERTHA SEGURA ALEGRÍA², BENJAMÍN FLORAN GARDUÑO¹, ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA¹

1. Depto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN. 2. Depto. Biología, FES Iztacala, UNAM. 3. Depto. Neurobiología de la alimentación. FES Iztacala, UNAM.

C4

EFFECTO DIFERENCIAL DE LA DESNUTRICIÓN CRÓNICA SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL DE MÚSCULOS RÁPIDOS DE RATAS HEMBRA Y MACHO DURANTE EL DESARROLLO POSNATAL.

JAVIER PEREYRA VENEGAS (2), JOSÉ CARLOS GUADARRAMA OLMOS (1), BERTHA SEGURA ALEGRÍA (3) E ISMAEL JIMÉNEZ-ESTRADA (1). ¹Depto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN. ²Instituto de Fisiología Celular, UNAM. ³Depto. Biología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

C5

HYPERTONIC CHALLENGE INHIBITS SODIUM TRANSPORT IN HUMAN BRONCHIAL EPITHELIAL CELLS FROM CYSTIC FIBROSIS AND NON-CYSTIC FIBROSIS DONORS.

HÉCTOR RASGADO-FLORES, VAMSI KRISHNA MANDAVA, HOMAYOUNSIMAN, AND ROBERT J. BRIDGES. Dept. Physiology and Biophysics. Rosalind Franklin University of Medicine and Science, North Chicago, IL. USA.

C6

BASES MOLECULARES DE LA INHIBICIÓN DE LOS CANALES CA_v3.2 POR RECEPTORES PARA NEUROKININAS NK1.

ULISES MEZA, AZAHEL RANGEL, CATALINA ROMERO Y SERGIO SÁNCHEZ-ARMAS. Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Carranza 2405. San Luis Potosí, SLP. CP. 78210. México. umeza@uaslp.mx

C7

microRNAs FETALES PRESENTES EN SUERO MATERNO: PROBABLES BIOMARCADORES DEL NEURODESARROLLO FETAL.

PÉREZ DE LA CRUZ JE., DÍAZ-MARTÍNEZ, NF., FLORES-HERRERA, H., GARCÍA-LÓPEZ, G. ARENAS-HUERTO F.¹ Y MOLINA-HERNÁNDEZ A. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Departamento de Biología Celular. ¹ Hospital Infantil Federico Gómez, Departamento de Patología. anayansimolina@gmail.com

C8

PAPEL DE LAS MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES EN EL TRÁFICO NUCLEOCITOPLÁSMICO DE ZO-2.

MIGUEL QUIRÓS, LOURDES ALARCÓN, ARTURO PONCE Y LORENZA GONZÁLEZ-MARISCAL. Depto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN. Correo: mquiros@fisio.cinvestav.mx

C9

SUBTIPOS DE RECEPTORES A SEROTONINA INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN DE LAS VÍAS QUE MEDIAN LA INHIBICIÓN PRESINÁPTICA EN LA MÉDULA ESPINAL DEL RATÓN.

GARCÍA L.¹, CALVO J.R.¹, HOCHMAN S.², QUEVEDO J.N.^{1*} (jquevedo@fisio.cinvestav.mx). ¹Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, México, D.F. ²Depto. de Fisiología, Universidad Emory, Atlanta, GA, US.

C10

INTRACELLULAR SIGNALING MECHANISMS INVOLVED IN GAS1-INDUCED CELL DEATH.

N. ZARCO¹, R. GONZÁLEZ-RAMÍREZ², J. SEGOVIA¹ ¹Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN, Mexico; ²Biología Molecular e Histocompatibilidad, Hosp. Gen. Dr. Manuel Gea González, México.

C11

CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA FRACTAL DE LOS POTENCIALES DORSALES ESPONTÁNEOS INDUCIDOS POR LESIONES DE NERVIOS PERIFÉRICOS Y MÉDULA ESPINAL EN GATOS ANESTESIADOS.

* **E RODRÍGUEZ, *D. CHÁVEZ, *E. HERNÁNDEZ AND *P. RUDOMIN

*Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México DF, **Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

C12

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE NEURONAS INDIVIDUALES DEL CUERNO DORSAL DURANTE LA GENERACIÓN DE POTENCIALES ESPONTÁNEOS DEL DORSO DE LA MÉDULA ASOCIADOS CON LA DESPOLARIZACIÓN DE AFERENTES PRIMARIOS.

E. CONTRERAS-HERNANDEZ, D. CHAVEZ, E. HERNÁNDEZ, P. RUDOMIN;
Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, México.

C13

DISOCIACIÓN DE CÉLULAS PIRAMIDALES DEL ÁREA CA3 CON BOTONES SINÁPTICOS DE FIBRAS MUSGOSAS Y DE INTERNEURONAS ADHERIDOS PARA EL ESTUDIO DE LA TRANSMISIÓN GLUTAMATÉRGICA Y GABAÉRGICA.

JESÚS Q. BELTRÁN¹, SEBASTIÁN REYES¹, JOSÉ A. PÉREZ-GUZMÁN², DAVID ELÍAS-VIÑAS² Y RAFAEL GUTIÉRREZ^{3*}. ¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, ²Sección de Bioelectrónica del Departamento de Ingeniería Eléctrica y ³Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. * Autor de correspondencia: rafagut@cinvestav.mx

C14

ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LA AMILORIDA EN LOS CANALES DE CALCIO TIPO T.

GÓMORA J.C., LÓPEZ-CHARCAS O., RIVERA M. Departamento de Neuropatología Molecular, División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

C15

MOUSE MODEL OF MACHADO-JOSEPH DISEASE, OR SPINOCEREBELLAR ATAXIA TYPE 3 (MJD/SCA3).

VERONICA F. COLOMER GOULD. Investigador Titular, Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav, IPN), México DF, México

C16

NTS-POLYPLEX AS A POTENTIAL TOOL IN GENE THERAPY FOR HUMAN BREAST CANCER: EVIDENCES IN VITRO.

CASTILLO-RODRIGUEZ ROSA A. ¹, ARANGO-RODRIGUEZ MARTHA L. ¹, ESCOBEDO LOURDES ¹, RUBIO-ZAPATA HECTOR A. ², REMBAO-BOJORQUEZ JESUS D. ³, SANCHEZ-GARCIA AURORA ³, DUPOUY SANDRA ⁴, FORGEZ PATRICIA ⁴, AND MARTINEZ-FONG DANIEL ¹. Department of Physiology, Biophysics and Neuroscience, CINVESTAV-IPN, Mexico, D.F. ¹; School of Medicine, UADY, Merida, Yuc. ²; Department of Neuropathology, INNN, Mexico, D.F. ³; INSERM UNRS 938, Paris, France ⁴ Email: asor108@gmail.com

C17

THE INJECTION OF 6-HYDROXYDOPAMINE INTO THE NEOSTRIATUM CAUSES APOPTOSIS IN THE DOPAMINERGIC NEURONS OF THE SUBSTANTIA NIGRA PARS COMPACTA IN THE RAT.

¹HERNÁNDEZ-BALTAZAR, D, ²ARANGO-RODRÍGUEZ, ML, ³MARTINEZ-FONG, D. ^{1,2,3} Department of Physiology, Biophysics, and Neurosciences. Center for Research and Advanced Studies (CINVESTAV). martinez.fong@gmail.com

C18

TRANSFER OF AN INDUCIBLE TRANSGENE EXPRESSING A SOLUBLE FORM OF GAS1 ELICITS GLIOMA CELL ARREST, APOPTOSIS AND INHIBITS TUMOR GROWTH.

A LÓPEZ-ORNELAS¹, T MEJÍA-CASTILLO², P VERGARA² AND J SEGOVIA-VILA²
¹Departamento de Farmacología and ²Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional, México 07300 DF, México.

C19

EFEECTO PROTECTOR DE ANTIOXIDANTES (VITAMINA-E Y OMEGAS 3 Y 6) SOBRE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL INDUCIDA POR CADMIO EN RATAS HEMBRAS.

MARTÍN D., AVENDAÑO M.P., LÓPEZ-ÁLVAREZ L., NAMORADO M.C., SIERRA G., BARBIER O. Y REYES J.L. Departamentos de Toxicología, Farmacología y Fisiología del CINVESTAV-IPN, Unidad Zacatenco México D.F. C.P. 07300. dolores@fisio.cinvestav.mx

C20

DIFFERENCES IN CLAUDIN 2 EXPRESSION IN HUMAN PERITONEAL MESOTHELIAL CELLS FROM HIGH OR LOW TRANSPORTERS IN CAPD M RAMOS¹), A PÉREZ²), E SÁNCHEZ³), D MARTÍN³), V TSUTSUMI⁴), S GONZÁLEZ⁵), AL GONZÁLEZ-SÁNCHEZ¹), A CRUZ-RODRÍGUEZ, JL REYES³). 1) La Raza Medical Center, Mexican Institute of Social Security (IMSS), 2) Nephrology Dept. North Central Hospital Pemex, and Departments of 3) Physiology, Biophysics and Neurosciences, 4) Experimental Pathology and 5) Central Laboratories. Center for Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute (Cinvestav-IPN), México D.F. C.P. 07300. jreyes@fisio.cinvestav.mx

C21

VIA DE SEÑALIZACIÓN MOLECULAR SEROTONINERGICA EN EL NEOPALIO FETAL EN COCULTIVO

BOYZO MONTES DE OCA A¹, MANJARREZ GUTIÉRREZ G², MERCADO CAMARGO R³ Y HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ J¹

¹Lab. de Neurontogenia, Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Cinvestav.

²Unidad de Investigación Biomolecular, Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. ³Lab. de Bioquímica, Escuela de Químicofarmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

E-mail: jorgeh@fisio.cinvestav.mx.

C22

PARTICIPACIÓN DE LOS ESTÍMULOS HORMONALES PRESENTES EN LA LECHE MATERNA EN EL DESARROLLO POSTNATAL DE LA HIPÓFISIS EN LA RATA.

TORIZ CG^{1,2}, MELO A², MENDOZA-GARRIDO ME¹.

¹Departamento de Fisiología Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV-IPN

²Centro de Investigación en Reproducción Animal-UAtx-CINVESTAV

C23

CARACTERIZACIÓN DE LAS CLAUDINAS EXPRESADAS EN LAS CÉLULAS FOLÍCULO ESTELARES DE LA ADENOHIPÓFISIS DE RATA.

GARCÍA-GODÍNEZ A, CONTRERAS-PATIÑO RG, DE LA VEGA MT, SOLANO-AGANA C, MARTÍN D, NAMORADO C, MENDOZA-GARRIDO ME.

Departamento de Fisiología Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV –IPN

C24

HIPPOCAMPAL MOSSY FIBERS, BUT NOT SCHAFFER COLLATERALS, PRESENT STOCHASTIC RESONANCE

L. M. FRANCO¹, J. Q. BELTRÁN¹, E. MANJARREZ², R. GUTIÉRREZ³.

¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., ²Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y ³Departamento de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N.

C25

INTERNEURONAS NPY EN EL ESTRIADO DE RATÓN SON ELECTROFISIOLÓGICA Y MORFOLÓGICAMENTE DIVERSAS.

OSVALDO IBÁÑEZ-SANDOVAL, TECUAPETLA FATUEL, SHAH FULVA, KOÓS TIBOR Y JAMES M. TEPPER

Center for Molecular and Behavioral Neuroscience, Rutgers University, Newark, NJ 07102

C26

REGULACIÓN DE LA CLAUDINA 2 INDUCIDA POR EGF

VICKY GARCÍA HERNÁNDEZ¹, RUTH RINCÓN HEREDIA¹, RUBÉN GERARDO CONTRERAS PATIÑO¹

¹Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. Av. IPN 2508, Col. San Pedro Zacatenco, CP 07360 Del. G.A. Madero.

C27

INTERNALIZATION MECHANISM OF TIGHT JUNCTION PROTEINS INDUCED BY OUABAIN.

RINCON-HEREDIA, R.¹, FLORES-BENITEZ, D.², BONILLA-DELGADO, J.³, GARCIA-HERNANDEZ, V.², LARRE, I.², CEREJIDO, M.² AND CONTRERAS, R.G.^{2*}

¹Department of Pharmacology. ²Department of Physiology, Biophysics and Neurosciences. ³Department of Genetics and Molecular Biology. Center for Research and Advanced Studies (CINVESTAV), Mexico

C28

ORGANIZACIÓN DEL SINCICIUM VENTRICULAR DEL CORAZÓN DE MAMÍFERO EN CONDICIONES DE SALUD Y ENFERMEDAD.

MÁRQUEZ-RAMÍREZ AL; SANDOVAL-CHAVIRA E; ANDRADE-ZAPATA JC; DE LA PEÑA-GERESANO A; RAMÍREZ-MARTÍNEZ M; VÁSQUEZ-APODACA RA; FÉLIX-DURÁN F; RODRÍGUEZ-SILVA S; MONTOYA-DOMÍNGUEZ MO; IBARRA-RETANA BH; TORRES-JÁCOME J; BERRA-ROMANI R Y HERNÁNDEZ-GARCÍA V.

Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

vicherna@uacj.mx; eureka50@hotmail.com

C29

EFFECTO DE LOS PÉPTIDOS A β (1-42), (3-42) Y (11-42) EN LOS TRANSITORIOS DE CALCIO INDUCIDOS POR LA ACTIVACIÓN DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS EN LA LÍNEA CELULAR SH-SY5Y.

EDUARDO VERA, ROSANA FIORENTINO, JOSÉ LUNA, RAÚL MENA Y UBALDO GARCÍA. Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN.

C30

EXPRESIÓN DE GABA Y GAD EN EL SISTEMA ÓRGANO X – GLÁNDULA SINUSAL DEL ACOCIL: INHIBICIÓN MEDIADA POR GABA ENTRE NEURONAS DEL ÓRGANO X.

PAOLA PÉREZ-POLANCO ¹, JULIETA GARDUÑO TORRES ³, JORGE CEBADA RUIZ ⁴, NATANAEL ZARCO SALINAS ¹, JOSÉ SEGOVIA VILA ¹, MÓNICA LAMAS GREGORI ² Y UBALDO GARCÍA HERNÁNDEZ ¹.

Departamentos de Fisiología, Biofísica y Neurociencias (1) y Farmacobiología (2) del CINVESTAV-IPN. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM (3). Escuela de Biología de BUAP (4).

C31

EFFECTO DE LA CAPSAICINA EN LAS CORRIENTES IÓNICAS DEPENDIENTES DE VOLTAJE.

SAÚL RÍOS, ROSANA FIORENTINO Y UBALDO GARCÍA.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

C32

INFLUENCIA DE LOS ESTROGENOS APLICADOS EN EL NÚCLEO CAUDADO DE RATAS OVARIETOMIZADAS SOBRE EL APRENDIZAJE DE UNA TAREA DE PREVENCIÓN PASIVA

AMPARO PONCE ARANGO, VIANHI GUADALUPE LÓPEZ RIOJA, ALFONSO GARFIAS ARVIZU. agarfias@up.edu.mx

Laboratorio de Neuroendocrinología, Escuela de Medicina, Universidad Panamericana. México D.F.

C33

EFFECTO DEL INMUNOMODULADOR FL6 EN DOS MODELOS DE ENFERMEDAD AUTOIMMUNE.

ULISES OSUNA MARTÍNEZ, CARLOS A. ARJONA CANAL, LOURDES RODRÍGUEZ FRAGOSO, JORGE REYES ESPARZA (JAREYES@UAEM.MX).

Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

C34

CANALES TRP EXPRESADOS EN LAS CÉLULAS DE EPITELIO CORNEAL RCE1 Y SU POSIBLE PARTICIPACIÓN EN LA PROLIFERACIÓN CELULAR.

JACQUELINE MARTÍNEZ RENDÓN¹, ERICA SÁNCHEZ GUZMÁN², FEDERICO CASTRO MUÑOZLEDO² Y REFUGIO GARCÍA VILLEGAS¹.

¹Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias y ²Depto. de Biología Celular, CINVESTAV-Zacatenco. jamare@fisiio.cinvestav.mx

C35

DIFFERENTIAL EFFECTS OF ACUTE ALCOHOL ON THE VISUAL EVOKED POTENTIALS AND REACTION TIME

*O. H. HERNANDEZ, V. MONTEON_PADILLA, R. LOPEZ-ALCANTARA, R. GARCIA-MARTINEZ, T. DZIB-CAAMAL.

Univ. Autónoma Campeche, Campeche, Mexico

C36

LA DESTRUCCIÓN BILATERAL DEL GLOBO PÁLIDO MODIFICA LA CATALEPSIA INDUCIDA POR HALOPERIDOL.

JOSÉ RENATO MARTÍNEZ-ESCUDERO, RAFAEL BARRIENTOS Y ENRIQUE QUEREJETA.

Sección de Posgrado e Investigación. ESM-IPN.

C37

COSAS QUE HACEN LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS EN EL GLOBO PÁLIDO.

ALBERTO ALATORRE, ALAIN RÍOS Y ENRIQUE QUEREJETA.

Sección de Posgrado e Investigación. ESM-IPN.

C38

CORRIENTES DE CLORO EXPRESADAS EN OVOCITOS DE RANA XENOPUS LAEVIS TRAS LA INYECCIÓN DE RNAM DE CISTICERCOS DE *Taenia crassiceps*.

ARTURO PONCE^{1*}, KATE WILLMS², RICARDO VALDEZ¹, MARTA ROMANO¹.

1 Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias

2 Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, Mexico *

aponce@fisio.cinvestav.mx

C39

PROPIEDADES FUNCIONALES DEL FOTORECEPTOR CAUDAL DEL ACOCIL.

LEONARDO RODRÍGUEZ-SOSA*, GABINA CALDERÓN-ROSETE Y VÍCTOR ANAYA.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000. Ciudad Universitaria. 04510 México, D. F.

* Correspondencia (L. Rodríguez-Sosa). E-mail: lrsosa@servidor.unam.mx

C40

UNA NUEVA CONDUCTANCIA ANIÓNICA CLC-K EN CÉLULAS DEL CONDUCTO COLECTOR DE LA MÉDULA INTERNA RENAL.

MARTÍNEZ-MAYORQUIN RH, LARA-FIGUEROA CO, ARENAS G, MONROY F, MÉNDEZ-PÉREZ P, TAPIA D, GALARRAGA E, BOLÍVAR JJ.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM.

Correo electrónico: jjboliv@unam.mx

C41

MODULACIÓN DE LA EXCITABILIDAD DE LAS FIBRAS AFERENTES PRIMARIAS POR RECEPTORES GABA_A EXTRASINÁPTICOS EN LA MÉDULA ESPINAL DE LA TORTUGA.

LOEZA-ALCOCER E, CANTO-BUSTOS M, GONZÁLEZ-RAMÍREZ R, AGUILAR J, FELIX R, DELGADO-LEZAMA R.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

C42

CULTIVOS MIXTOS DE CÉLULAS GRANULARES GFP+ CON CÉLULAS PIRAMIDALES E INTERNEURONAS GFP- DE CA3 PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROTRANSMISIÓN.

URIEL LEÓN-JACINTO^{1,2}, BEATRIZ OSORIO², EMILIO J. GALVÁN¹, RAFAEL GUTIÉRREZ¹

¹ Departamento de Farmacobiología, CINVESTAV-Coapa, ² Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. uleon@fisio.cinvestav.mx

C43

DETERMINACIÓN DEL FENOTIPO DE LAS CÉLULAS GRANULARES DE NUEVA GENERACIÓN EN LA RATA ADULTA.

ERIKA LARA¹ Y RAFAEL GUTIÉRREZ²

¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias y ²Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N.

rafagut@cinvestav.mx

elara@fisio.cinvestav.mx

C44

EL NEUROPEPTIDO CGRP RESTAURA LA DINÁMICA DEL Ca²⁺ EN MIOPATÍA CONGÉNITA CCD.

ANA V. VEGA, ROBERTO RAMOS-MONDRAGÓN, GUILLERMO AVILA.
Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN. gavila@cinvestav.mx.

C45

LOS RECEPTORES D3 POTENCIAN LA ESTIMULACION DE LA LIBERACION DE GABA EVOCADA POR RECEPTORES D1 EN LA SUSTANCIA NIGRA DE LA RATA MODULANDO SU SENSIBILIDAD.

JOSÉ ARTURO AVALOS FUENTES, JORGE ACEVES, DAVID ERLIJ Y BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

C46

PAPEL DE LA ADENILIL CICLASA EN EL DESARROLLO DE DISCINESIAS INDUCIDAS POR L-DOPA EN EL PARKINSON EXPERIMENTAL.

CLAUDIA RANGEL BARAJAS, JOSÉ ARTURO AVALOS FUENTES, JORGE ACEVES, DAVID ERLIJ Y BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

C47

LA REGULACION RESISTENTE AL VOLTAJE INDUCIDA POR NORADRENALINA OCURRE EN UNA REGION DEL VOLTAJE DELIMITADA DE LA MEMBRANA CELULAR

OSCAR VIVAS, ISABEL ARENAS Y DAVID E. GARCÍA.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. C.P. 04510, México, D.F.

C48

ANÁLISIS LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA SINUSOIDAL EN EL CEREBELO DEL GATO DESCEREBRADO DURANTE EL RASCADO FICTICIO.

MARTÍNEZ-SILVA LOURDES¹, QUEVEDO JORGE¹, MANJARREZ ELÍAS²

¹Dept. de Fisiología, CINVESTAV-IPN

²Inst. Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

C49

LA AUTOCOVARIANZA, LA COVARIANZA CRUZADA Y LA DIMENSIÓN FRACTAL COMO HERRAMIENTAS PARA CARACTERIZAR LA FLUCTUACIÓN EN AMPLITUD DEL REFLEJO DE HOFFMANN

GUTIÉRREZ A.L.¹, TORIZ A.¹, JIMÉNEZ-CANET A.¹, TELLEZ J.C.¹, MORENO L.F.¹, MANJARREZ E.² Y LOMELÍ J.¹ email: jlomeli_glez@yahoo.com.mx

¹Escuela Superior de Medicina, IPN, ²Inst. Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

C50

ESTUDIO DE LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL Y TRADUCCIONAL DEL CANAL DE SODIO ACTIVADO POR SODIO Na_x DE HUMANO

CUÉLLAR-PÉREZ, FRANCISCO, POOT-HERNÁNDEZ, CÉSAR, MARTÍNEZ-RENDÓN, JACQUELINE Y GARCÍA-VILLEGAS, REFUGIO.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN

C51

LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES A CANABINOIDES CB1 DISMINUYE LA ACTIVIDAD MOTORA DE RATAS HEMIPARKINSONIANAS POR UNA INHIBICIÓN EN LA CAPTURA DE GABA.

MARÍA DE GUADALUPE MUÑOZ ARENAS^{1,2}, BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO², I. DANIEL LIMÓN PÉREZ DE LEÓN¹

¹Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. ² Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias CINVESTAV-IPN. munoza84@gmail.com

C52

BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) IN THE NUCLEUS TRACTUS SOLITARI (NTS) MODULATES GLUCOSE HOMEOSTASIS AFTER CAROTID CHEMORECEPTOR STIMULATION IN RATS

S. MONTERO^{1,2}, R. CUÉLLAR¹, M. LEMUS¹, R. ÁVALOS², G. RAMÍREZ², AND E. ROCES DE ÁLVAREZ-BUYLLA¹

¹Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas y ²Facultad de Medicina, Universidad de Colima, Colima, México.

C53

BMP PATHWAY ACTIVATION INDUCED BY ENDOTHELIAL CELLS IN A CO-CULTURE SYSTEM PROMOTES HUMAN EMBRYONIC STEM CELL DIFFERENTIATION TO INSULIN-PRODUCING CELLS.

DODANIM TALAVERA-ADAME, SILVIA KURTOVIC, GORDON WU, AND DONALD C. DAFOE.

Department of Surgery and Regenerative Medicine Institute, Cedras-Sinai Medical Center, 8700 Beverly Blvd., SSB319B, Los Angeles, California, 90048.

(Talaverad@cshs.org)

C54

SOMATIC SECRETION OF SEROTONIN IS CALCIUM- AND SEROTONIN-DEPENDENT.

C. LEON PINZON¹, P. L. NOGUEZ¹, M. G. CERCÓS², C. TRUETA², F. F. DE MIGUEL¹;

¹Inst. de Fisiología Celular-Neurociencias, UNAM, México D.F., México;

²Dept. de Neurofisiología, Inst. Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, México D.F.,

México e-mai: ffernand@ifc.unam.mx

C55

CAJAL'S SECOND GREAT BATTLE FOR THE NEURON DOCTRINE: THE NATURE AND FUNCTION OF NEUROFIBRILS

FRIXIONE, EUGENIO

Sección de Metodología y Teoría de la Ciencia, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) IPN, Apartado Postal 14-740, Mexico City, D. F. 07000

Mexico E-mail: frixione@cinvestav.mx.

C56

DOPAMINE IN THE THALAMIC RETICULAR NUCLEUS CONTROLS ANXIETY.

GARCÍA-RAMÍREZ M, AVILA G, CHUC-MEZA E, ACEVES J.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, CINVESTAV-Zacatenco.

C57

EFECTO DE LA HA SOBRE LA DIFERENCIACIÓN DE CELULAS TRONCALES NEURALES *IN VITRO*.

MOLINA-HERNÁNDEZ A.¹ Y VELASCO P.²

¹ Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Departamento de Biología Celular. ² Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

anayansimolina@gmail.com

C58

THE FUNCTION OF COSTAMERES IN EXTENSOR DIGITORUM MUSCLE FROM DESMIN- OR DYSTROPHIN- NULL MICE: A BIOMECHANICAL APPROACH.

KARLA P. GARCÍA-PELAGIO¹, ROBERT J. BLOCH² AND HUGO GONZALEZ-SERRATOS^{1,2,†}

¹ School of Medicine, Universidad Nacional Autónoma de México, 04320, Mexico City

² School of Medicine, University of Maryland, Baltimore, MD 21201, USA

C59

VOLTAGE-DEPENDENT AMPLIFICATION OF SYNAPTIC INPUTS IN RESPIRATORY MOTONEURONES OF THE CAT.

M. ENRÍQUEZ DENTON², J. WIENECKE^{1*}, H. HULTBORN¹ Y P.A. KIRKWOOD²

¹ Department of Neuroscience and Pharmacology, University of Copenhagen, Panum Institute, Blegdamsvej 3, DK-2200 Copenhagen N, Denmark. ^{1*} Department of Exercise and Sport Sciences, Faculty of Science, University of Copenhagen. ² Sobell Department for Motor Neuroscience and Movement Disorders, UCL Institute of Neurology, Queen Square, London WC1N 3BG, UK. Email: mdenton@ion.ucl.ac.uk (mdenton@yahoo.co.uk); jwie@sund.ku.dk; hhu@sund.ku.dk; pkirkwoo@ion.ucl.ac.uk

C60

EL ATP COMO TRANSMISOR PARACRINO ENTRE LAS CÉLULAS DEL OVARIO.

ROGELIO O. ARELLANO, FRANCISCO VÁZQUEZ-CUEVAS, EDITH GARAY. Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus UNAM Juriquilla Querétaro.

C61

LA ANALGESIA MULTIMODAL EN PANANGIOGRAFÍA

SOCORRO CÓRDOBA JUÁREZ, ROBERTO LAGUNES CÓRDOBA*.

Hospital Regional de Alta Especialidad de Veracruz. 20 de Noviembre 1074. Col. Centro. C.P. 91700. Veracruz, Ver. *e-mail contacto: rlc2001halt@hotmail.com

TOXICIDAD Y PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA TAU EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

JOSÉ LUNA-MUÑOZ^{1,2}, PAOLA FLORES¹, SERGIO ZAMUDIO², FIDEL DE LA CRUZ², CHARLES R. HARRINGTON³, CLAUDE M. WISCHIK³, RAUL MENA¹,

¹ Depto. Neurociencias. CINVESTAV, DF, Mexico; ² Depto. De Fisiología, ENCB, IPN, DF, Mexico; ³ Depto. De salud mental Mental. Universidad de Aberdeen, Aberdeen, Reino Unido

C63

TAENIA SOLIUM AND TAENIA CRASSICEPS CAPACITY TO SYNTHESIZE AND INTERCONVERT SEX STEROIDS HORMONES. 17B-HYDROXYESTEROID DEHYDROGENASE IS EXPRESSED IN THE CYSTICERCI.

M. C. ROMANO, L. HINOJOSA, R. VALDEZ, P. ¹JIMÉNEZ, ²K. WILLMS, ³J.P. LACLETTE, ³R. BOBES

Dpto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Cinvestav, Apdo. Postal 14-740, 07000, México D.F.; ¹CIRA, CINVESTAV-UAT, Tlaxcala, México; ² Depto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, México 04510, D.F.; ³ Dpto. de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

C64

PATRÓN DE AGREGACIÓN DE LA PROTEÍNA TAU EN HIPOCAMPO Y CORTEZA TEMPORAL DE CASOS CENTENARIOS SANOS Y ADULTOS MAYORES CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

Pérez Solís E, Luna-Muñoz J, García-Sierra F, Mena R. Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, México D.F. eperez@fisio.cinvestav.mx



**3a. Reunión Académica. 50^o Aniversario del Departamento
y del CINVESTAV, Septiembre 20-21, 2011.**



RESUMENES

C1

POLARIZACION DE LA Na^+ , K^+ -ATPASA EN EL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA (EPR): EL PAPEL DE LA SUBUNIDAD β

¹LOBATO-ALVAREZ J. Y ¹SHOSHANI L. jlobato@fisio.cinvestav.mx

¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN. Instituto Politécnico Nacional 2580, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, 07360 Ciudad de México, Distrito Federal.

La Na^+ , K^+ -ATPasa conocida también como la bomba de sodio es un transportador de iones que juega un papel central en el mantenimiento de los gradientes de sodio y es responsable del transporte virtual de todos los nutrientes y metabolitos. La bomba de sodio esta compuesta de al menos dos subunidades, α y β . En los epitelios la bomba se encuentra localizada en un dominio específico de la membrana plasmática. La polaridad de la bomba de sodio recién sintetizada se consigue por una secuencia de eventos que incluye su selección en la red trans tubular de Golgi, su tráfico y llegada a la membrana lateral y la retención selectiva en este dominio generada por anclaje al citoesqueleto y la interacción entre subunidades- β_1 de las células vecinas, en el espacio intercelular. En contraste a la mayoría de los epitelios, las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) expresan a la bomba de sodio en el dominio apical. Esta polaridad invertida de la Na^+ , K^+ -ATPasa en las células EPR llamo nuestra atención, dado que los mecanismos de polarización de la bomba no son claros. Nuestra hipótesis de trabajo es que la polaridad de la bomba en las células EPR está regulada por la subunidad β y mas precisamente por el tipo de isoformas que expresa. En el presente estudio examinamos y comparamos la expresión y localización de las tres isoformas de la subunidad β de la Na^+ , K^+ -ATPasa (β_1 , β_2 y β_3) en la línea celular ARPE-19 (células inmortalizadas del EPR de humano), por técnicas de Western blot (WB) e Inmunofluorescencia (IF). La línea celular ARPE-19 fue cultivada por 8 semanas, tiempo necesario para que se adquiriera el fenotipo EPR (re-morfogénesis). Encontramos que la expresión de las diferentes isoformas de la subunidad β fue tiempo y dominio dependiente. Las tres isoformas β (β_1 , β_2 y β_3) fueron detectadas. Sin embargo, mientras que β_1 fue detectada a lo largo de las 8 semanas de cultivo, la expresión de β_2 y β_3 fue sobre expresada durante la re-morfogénesis, es decir ambas son ausentes durante las primeras tres semanas de cultivo y aparecen alrededor de la cuarta semana. Mientras que β_1 y β_3 se localizan (por IF) en el dominio basolateral, β_2 se observa en el dominio apical. Este es el primer estudio sobre la expresión de las tres isoformas de la subunidad β en las células EPR. Nuestros resultados indican que en la línea celular ARPE-19 las tres isoformas se expresan, de manera dominio específica. Además se sugiere que la localización apical de la bomba de sodio en EPR se debe probablemente a la expresión de la subunidad β_2 , la cual contiene información que polariza a la bomba de sodio en el dominio apical. Estos hallazgos se corroborarán en cultivos primarios y en tejidos obtenidos de ojos de cerdos para dar sustento a nuestra conclusión.

C2**EL 17- β -ESTRADIOL REGULA LA EXPRESIÓN DE LOS CANALES DE K⁺ KCNK2 EN NEURONAS HIPOTALÁMICAS EN CULTIVO.**HERNÁNDEZ MENDOZA A¹, DOMÍNGUEZ SALAZAR E², MURBARTIÁN J¹

1. Departamento de Farmacobiología, Cinvestav, Sede Sur. México, DF.

2. Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana -Iztapalapa. México, D.F.

Las respuestas que las células neuronales generan ante un estímulo dado dependen no solo de las entradas sinápticas que recibe, sino también, de las propiedades intrínsecas que presenta dicha célula. Los canales de K⁺ con dos dominios de poro o KCNK participan de manera importante en la generación del potencial de membrana en reposo. En el caso particular del canal KCNK2 o TREK1, se ha observado que también participa de manera importante en varios procesos fisiológicos como la neuroprotección, la nocicepción y la depresión, entre otros y que la actividad del canal puede ser modulada por diferentes mecanismos.

En el sistema nervioso central, las hormonas de tipo esteroide como el 17- β -estradiol participa en diferentes procesos, más allá de los directamente ligados a la diferenciación sexual y la reproducción, ejerciendo su acción ya sea a corto como a largo plazo a través de la modulación de proteínas que se expresan en la membrana plasmática como son receptores y canales iónicos. Existe evidencia de que el estradiol modifica tanto la expresión como la función de diversos canales de K⁺, sin embargo, hasta la fecha no se conoce si los canales KCNK2 pueden ser modulados por esta hormona.

En el laboratorio se tiene evidencia que la administración de 17- β -estradiol a ratas machos o ratas ovariectomizadas disminuye la expresión de la proteína TREK1 a las 24 y 48 horas después de la administración, en particular en el hipotálamo. En el presente trabajo, se realizaron cultivos neuronales derivados del hipotálamo de ratas embrionarias de 17 días, tiempo al cual se tiene la expresión de los receptores a estrógenos. Los cultivos celulares se mantuvieron por ocho días en presencia de 200 μ M de AraC, un inhibidor de proliferación celular para disminuir la presencia de células gliales. A este tiempo, se realizó la caracterización de los cultivos celulares mediante inmunocitoquímica. Los resultados obtenidos indican que la mayor parte de las células expresan el marcador de neuronas MAP2 y solo una mínima cantidad de células presenta señal del marcador de células gliales GFAP. La mayoría de las neuronas hipotalámicas en cultivo presentan al canal TREK1, y en dichas células se observa una colocalización de los receptores de estrógenos alfa y beta. Resultados preliminares sugieren que la estimulación con 1 μ M de 17- β -estradiol por 24 horas, disminuye la expresión de la proteína TREK1 en los cultivos de neuronas hipotalámicas derivadas de embriones machos, pero no de hembras, estos datos sugieren que la expresión del canal TREK1 se modula por la acción del estradiol y que se da de manera diferencial dependiendo del sexo de los animales.

C3

CUANTIFICACIÓN DE GABA Y GLUTAMATO EN LA MÉDULA ESPINAL DE LA RATA CON DESNUTRICIÓN CRÓNICA

SALVADOR QUIROZ-GONZÁLEZ¹, FRANCISCO PAZ BERMUDEZ¹, JOSÉ CARLOS GUADARRAMA OLMOS¹, ERICK RODRIGO ESCARTÍN PÉREZ³, BERTHA SEGURA ALEGRÍA², BENJAMÍN FLORAN GARDUÑO¹, ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA¹

1. Depto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN. 2. Depto. Biología, FES Iztacala, UNAM. 3. Depto. Neurobiología de la alimentación. FES Iztacala, UNAM.

En estudios previos (Quiroz y cols., 2010) mostramos que la liberación de GABA-H³ y Glutamato-H³ se encuentra reducida en rebanadas de la médula espinal de la rata con desnutrición crónica respecto a la de animales controles. Una posible causa podría ser atribuida a una disminución en el contenido de GABA y Glutamato en la médula espinal. En el presente estudio analizamos el contenido de GABA y de Glutamato en la médula espinal de animales control y desnutridos crónicamente.

Los experimentos fueron realizados en dos grupos de crías de ratas Wistar, uno de ellos (grupo control) se mantuvo con libre acceso al alimento y al agua durante todo el período experimental y el otro (grupo desnutrido) se mantuvo con libre acceso al agua pero con la mitad del alimento consumido por los animales control, desde 3 semanas antes del apareamiento de los padres, la gestación, la lactancia, hasta el día del experimento (50-60 días posnatales). Una vez que los animales de ambos grupos alcanzaron la edad, fueron decapitados y se les extrajo el sexto segmento lumbar (L6) de la médula espinal. Mediante cortes transversales y longitudinales, los segmentos medulares fueron divididos en cuatro cuadrantes (dos ventrales y dos dorsales) y fueron homogenizados en tubos que contenían 50 μ l de ácido perclórico 0.1N. Posteriormente, el homogenizado fue centrifugado durante un minuto (airfuge 20PSI). El sobrenadante resultante fue transferido a un filtro de membrana de 0.2 μ m y se centrifugó a 3500 RPM durante un minuto. Una vez terminado ese procedimiento, se retiró el tubo con el filtro y se tapó el recipiente con el líquido para su posterior análisis por HPLC. La pastilla se resuspendió en 0.12ml de NaOH al 0.2%, para la cuantificación de proteínas totales en la muestra de tejido. La separación de GABA y Glutamato se realizó usando una columna C18 Pico-Tag (150x3.9 mm, P/N 8813, Waters), siendo las muestras previamente sujetas a derivación precolumnas. El método de cromatografía fue modificado para reducir el corrido cromatográfico a 8 min. Eluyente A, Agua (1000ml) más acetato de sodio (11.46gr) trietilamina (0.5ml) y EDTA (0.2mg); Eluyente B, agua desionizada; Eluyente C acetronitrilo. El gradiente fue inicialmente, 98% de A, y 2% de B, (cociente de flujo 1ml/min) en t=9.5 min, 40% de B y 60% de C, (cociente de flujo 1.5 ml/min) en t=16 min. Los aminoácidos (AA) derivados fueron detectados por medio de un detector espectrofotométrico visible-ultravioleta (Milton Roy) en una longitud de 240 nm y su concentración fue expresada como ng AA/mg proteína total. Los resultados obtenidos indican que en los cuadrantes dorsales, izquierdo y derecho, el contenido de GABA por miligramo de proteína total fue de menor magnitud (27 \pm 5.2%; n=8 cuadrantes) que el obtenido en los animales controles. En los cuadrantes ventrales, también se observa una reducción en el contenido de GABA (21 \pm 4.1%; n=8), pero fue de menor magnitud que el observado en las astas dorsales. El contenido de glutamato también estuvo reducido tanto en las astas ventrales (16 \pm 1.8%; n=8) como en las dorsales (18 \pm 1.2%; n=8) de los animales desnutridos con respecto a los controles. Nuestros resultados indican que la desnutrición crónica induce una reducción en el contenido de GABA y de Glutamato y que tal efecto podría ser la causa de la disminución en la liberación de tales aminoácidos en la médula espinal de la rata.

C4**EFFECTO DIFERENCIAL DE LA DESNUTRICIÓN CRÓNICA SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL DE MÚSCULOS RÁPIDOS DE RATAS HEMBRA Y MACHO DURANTE EL DESARROLLO POSNATAL.**JAVIER PEREYRA VENEGAS (2), JOSÉ CARLOS GUADARRAMA OLMOS (1),
BERTHA SEGURA ALEGRÍA (3) E ISMAEL JIMÉNEZ-ESTRADA (1).

1Depto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN.

2Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

3Depto. Biología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

La mayoría de los estudios donde se analiza el efecto que provoca la desnutrición sobre las características funcionales, estructurales y/o moleculares de los músculos esqueléticos se han realizado en animales macho, o bien, se han utilizado indistintamente a machos y hembras. Sin embargo, en muy pocos de éstos se ha abordado el análisis del efecto de la desnutrición sobre el dimorfismo sexual de los músculos esqueléticos. El presente estudio tiene como objetivo el establecer si la desnutrición crónica afecta de igual manera la respuesta contráctil del músculo extensor largo de los dedos (extensor digitorum longus, EDL), de ratas hembras y machos, durante el desarrollo posnatal. Los experimentos fueron realizados en crías control y desnutridas, hembras y machos, con 10, 20, 30, 40 y 60 días de edad posnatal, a los que se les disecó el músculo EDL, el cual se mantuvo in situ y se utilizaron procedimientos experimentales estándares de estimulación y registro de la respuesta contráctil del mismo. Los resultados obtenidos muestran que los músculos EDL de machos desnutridos, entre los 20 y 60 días posnatales, generan mayor fuerza por gramo de tejido (entre 50 al 150%) durante la contracción simple que los músculos de animales control (prueba “t” de Student, $P < 0.01$). En cambio, la fuerza normalizada de la contracción provocada en los músculos EDL de ratas hembra, controles y desnutridas, no presentan diferencias significativas entre sí. A los 10 y 20 días posnatales, la respuesta contráctil de los músculos de ratas hembras y machos desnutridos presenta mayor duración que la de los animales control (entre 25 y 30%; prueba “t” de Student, $P < 0.01$). Por otra parte, las respuestas contráctiles de los músculos de ratas macho desnutridos se fusionan a menores frecuencias de estimulación que las de los músculos control (25-50%), mientras que no se observan diferencias en las frecuencias de fusión de la respuesta contráctil de los músculos de ratas hembras control y desnutridas. Nuestros resultados muestran que la desnutrición crónica provoca mayores alteraciones en las propiedades contráctiles de los músculos de las ratas machos que en las de los músculos de las ratas hembras. Lo anterior permite sugerir que la desnutrición crónica pone en evidencia la existencia de un dimorfismo sexual funcional en la respuesta contráctil del músculo EDL de la rata en desarrollo.

C5

HYPERTONIC CHALLENGE INHIBITS SODIUM TRANSPORT IN HUMAN BRONCHIAL EPITHELIAL CELLS FROM CYSTIC FIBROSIS AND NON-CYSTIC FIBROSIS DONORS

HÉCTOR RASGADO-FLORES, VAMSI KRISHNA MANDAVA, HOMAYOUNSIMAN, AND ROBERT J. BRIDGES.

Dept. Physiology and Biophysics. Rosalind Franklin University of Medicine and Science, North Chicago, IL. USA.

Introduction: Hypertonic saline (HS) inhalation is very beneficial to Cystic Fibrosis (CF) patients. Surprisingly, the benefits last for several hours and are obliterated by presence of amiloride in the HS. **Aims:** To help explain the unexpected long lasting effects of HS and the paradoxical amiloride effect. **Methods:** Human bronchial epithelial cells from CF and non-CF donors were grown on Transwell inserts (air liquid interface) and were used in two set-ups: i) mounted on Ussing chambers to perform transepithelial impedance analysis and measure transepithelial short-circuit current (I_{sc}), resistance (R_t) and capacitance (C_t); and ii) the airway surface of the inserts was exposed to a small volume of either an isosmotic solution or to a hyperosmotic challenge (HC) and the inserts were subsequently mounted on an Ussing chamber to measure I_{sc} under isosmotic conditions (close to “thin-film” experiments). This latter preparation allowed monitoring of the changes in apical osmolality during exposure to the HC. Solutions used for the HC were prepared either by adding: i) additional NaCl (HC-NaCl); ii) mannitol while maintaining normal NaCl (HC-mannitol); and iii) mannitol under a low Na^+ (i.e., 6 mM) concentration (HC-6Na/mannitol). **Results:** i) In Ussing chamber experiments, exposure to apical or basolateral HC-NaCl or HC-mannitol, respectively inhibited I_{Na} with IC_{50} 's of 379 and 398 mOsmol/kg H_2O . Exposure to all three types of HC-solutions induced cell shrinkage as indicated by a reduction in C_T . There was a time-dependent recovery in I_{Na} after returning to isosmotic solutions reaching up to 80% after 45 min. ii) Under “near-thin” conditions, apical exposure to any HC solution type, inhibited I_{Na} by 72-79% at 30 min of exposure as compared to controls. As osmotically-driven water moved to the apical surface, its osmolality decreased, its volume increased and I_{Na} partially recovered. This recovery followed a similar time course to the apical osmolality recovery but was significantly smaller; iii) presence of 10 μM amiloride at the apical volume, neither affected the inhibition of I_{Na} , nor the recovery in apical osmolality. However, amiloride further inhibited (~10%) I_{Na} at 30 min incubation and significantly accelerated (2-3 fold) the recovery of I_{Na} at 2 to 4 hrs following exposure to HC-NaCl or HC-mannitol. When HC-6Na/mannitol was used, amiloride inhibited I_{Na} at 30 min but did not accelerate the recovery of I_{Na} . **Conclusions:** Cell shrinkage, together with a likely increase in the intracellular Na^+ concentration ($[Na^+]_i$) inhibits I_{Na} . This must be due at least in part to inhibition of the amiloride-sensitive epithelial Na^+ channels (ENaC). At <30 min exposure to either isosmotic or any of the HC-solutions, amiloride primarily acts as an inhibitor of ENaC. At > 30 min exposure to HC-NaCl, or HC-mannitol, ENaC are primarily inhibited by an increase in $[Na^+]_i$. Thus, as amiloride inhibits the increase in $[Na^+]_i$, amiloride acts as a protector of HC-induced inhibition of ENaC. In the presence of HC-6Na/mannitol, amiloride only behaves as a blocker of ENaC. These results help explain the detrimental effect of amiloride in HS inhalers.

C6**BASES MOLECULARES DE LA INHIBICIÓN DE LOS CANALES $Ca_v3.2$ POR RECEPTORES PARA NEUROKININAS NK1.**

ULISES MEZA, AZAHÉL RANGEL, CATALINA ROMERO Y SERGIO SÁNCHEZ-ARMAS.

Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Carranza 2405. San Luis Potosí, SLP. CP. 78210. México. umeza@uaslp.mx

La coexpresión de canales de calcio $Ca_v3.2$ y de receptores para neurokinina NK1 está documentada en distintas regiones del sistema nervioso. En el presente trabajo aportamos evidencia de la interacción funcional entre estas dos proteínas de la membrana plasmática. Nuestra estrategia experimental incluyó el registro electrofisiológico de corrientes de Ca^{2+} , mediante la técnica de *patch-clamp*, en células HEK293 transfectadas de manera transitoria con canales $Ca_v3.2$ y receptores NK1. Los resultados muestran que la activación de receptores NK1, por su agonista neurokinina A (NKA, 10 nM), indujo inhibición de los canales $Ca_v3.2$ ($23.9 \pm 1.3\%$; $n=59$; $p<0.05$). Dicha inhibición fue reversible, dependiente de concentración ($IC_{50} = 0.62$ nM), independiente de voltaje y acoplada a una señalización por proteínas $G_{q/11}$. La caracterización molecular y farmacológica de la vía de señalización involucrada indicó la participación secuencial de subunidades activas $G\alpha_{q/11}$, $PLC\beta$ y PKC. En un intento por identificar las regiones estructurales del canal implicadas en dicho mecanismo, se evaluó el efecto de NKA sobre canales $Ca_v3.2$ mutantes en los cuales se había eliminado un sitio de reconocimiento para PKC localizado en el asa citosólica II-III, pero no se encontraron diferencias significativas con respecto a sus controles. Interesantemente, se observó también una acción inhibitoria de NKA sobre canales $Ca_v3.3$, pero no sobre canales $Ca_v3.1$. En su conjunto, nuestros resultados indican que la activación de receptores NK1 inhibe a los canales de calcio $Ca_v3.2$ a través de un mecanismo independiente del voltaje el cual involucra la participación de las subunidades $G\alpha_{q/11}$ y de las proteínas $PLC\beta$ y PKC. Apoyos UM: CONACYT-61248, C10-FRC-07-41.42 y P/PIFI2009-24MSU0011E-12.

C7

microRNAs FETALES PRESENTES EN SUERO MATERNO: PROBABLES BIOMARCADORES DEL NEURODESARROLLO FETAL.

PÉREZ DE LA CRUZ JE., DÍAZ-MARTÍNEZ, NF., FLORES-HERRERA, H., GARCÍA-LÓPEZ, G. ARENAS-HUERTO F.¹ Y MOLINA-HERNÁNDEZ A.

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Departamento de Biología Celular. ¹ Hospital Infantil Federico Gómez, Departamento de Patología.
anayansimolina@gmail.com

Los microRNAs son RNAs pequeños no codificantes que regulan la traducción de RNAmensajeros. En el tejido cerebral de mamífero existe una regulación temporal de los niveles de estas moléculas durante el desarrollo, los cuales están relacionados directamente con momentos específicos en la formación del sistema nervioso central, teniendo un papel trascendental en la citoarquitectura de la corteza cerebral (Corticogénesis). En tejido embrionario de rata, entre el día 11 (inicio de la neurogénesis) y el 13 (día previo al pico neurogénico) existe una regulación diferencial de microRNAs relacionados con la proliferación, migración y diferenciación neural, que han sido identificados en progenitores neuronales (Nielsen, Lau et al. 2009).

Los objetivos de este trabajo son: 1.- Identificar por RT-PCR semicuantitativa en suero de mujeres embarazadas sanas la presencia y los niveles de expresión de 8 microRNAs relacionados con el desarrollo de la corteza cerebral fetal y que en tejido de un modelo animal se encuentran regulados hacia abajo (miR-291-3p, miR-183, miR-92, miR-222) o hacia arriba (miR-9, miR124a, miR-125a y miR-125b) y 2.- Observar cambios importantes cuando se comparan los niveles de microRNAs de mujeres sanas con mujeres diabéticas. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que la gran mayoría de estos microRNAs están presentes en suero de mujeres embarazadas y que existen cambios en el nivel de expresión de mir-124, mir-125a y b, mir-9 el mir-291-3p y el mir-92 muy parecido a lo reportado en tejido cerebral de embriones de rata. Estos resultados nos podría proponer a los microRNAs como biomarcadores que puedan pronosticar el adecuado desarrollo del sistema nervioso fetal.

C8

PAPEL DE LAS MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES EN EL TRÁFICO NUCLEOCITOPLÁSMICO DE ZO-2

MIGUEL QUIRÓS, LOURDES ALARCÓN, ARTURO PONCE Y LORENZA GONZÁLEZ-MARISCAL

Depto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN. Correo:
mquiroy@fisio.cinvestav.mx

ZO-2 tiene una localización dual: la unión estrecha y el núcleo. En este trabajo nos preguntamos: 1) si en cultivos subconfluentes ZO-2 viaja directamente a la membrana plasmática y 2) si las señales de localización nuclear putativas (SLN) presentes en la secuencia de la proteína son funcionales. Mediante el uso de péptidos permeables, un activador ($\psi\epsilon$ RACK) y un inhibidor (ϵ V1-V2) de nPKC ϵ demostramos que en cultivos subconfluentes al mantener PKC ϵ activa, la señal nuclear de ZO-2 se pierde mientras que al inhibir esta enzima el núcleo se satura de ZO-2. Esto confirma la observación previa de que la exportación nuclear de ZO-2 es regulada mediante la fosforilación de la señal de exportación nuclear (SEN) 1 por nPKC ϵ . En contraste, el tratamiento en monocapas confluentes de células MDCK con ϵ V1-V2 no lleva a la acumulación nuclear de ZO-2, sugiriendo que en confluencia la proteína no está viajando al núcleo antes de llegar a la membrana plasmática. Para probar la funcionalidad de la SLN bipartita (SLNb) de ZO-2, microinyectamos el citoplasma de células MDCK subconfluentes con péptidos homólogos a las SLNb 1 y 2 químicamente acoplados a la proteína reportera ovoalbúmina. Observamos que mientras la SLNb1 acumula la ovoalbúmina en el núcleo la SLNb2 no lo hace. Análisis *in silico* revelan que las serinas (S) 257, 259 y 262 presentes en la SLNb2 son sitios putativos de fosforilación por PKC, mientras que la S257 es también blanco de O-GlcNAc. También demostramos que la fracción nuclear de ZO-2, específicamente su segmento amino (mismo que contiene las SLN) está O-GlcNAc. Al inhibir la enzima que retira la O-GlcNAc con PUGNAc, disminuye significativamente la cantidad celular de ZO-2 a través de un proceso sensible a la inhibición del proteosoma con MG132. Estos resultados sugieren que la función de la SLNb2 puede ser regulada por fosforilación u O-GlcNAc, y que esta última modificación post-traduccional promueve la degradación de la proteína en el proteosoma.

C9

SUBTIPOS DE RECEPTORES A SEROTONINA INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN DE LAS VÍAS QUE MEDIAN LA INHIBICIÓN PRESINÁPTICA EN LA MÉDULA ESPINAL DEL RATÓN.

GARCÍA L.¹, CALVO J.R.¹, HOCHMAN S.², QUEVEDO J.N.^{1*} (jquevedo@fisio.cinvestav.mx). ¹Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, México, D.F. ²Depto. de Fisiología, Universidad Emory, Atlanta, GA, US.

La serotonina está involucrada en la modulación de los sistemas sensoriales y motrices espinales. No obstante, la información sobre su papel en la regulación de la efectividad sináptica de las aferentes cutáneas y musculares es todavía limitada. Se desconoce si existe una modulación serotoninérgica de las vías que median la despolarización de aferentes primarios (PAD) producida por la estimulación de las fibras aferentes de bajo umbral, tanto musculares (grupos I y II) como cutáneas (A β). El objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de la serotonina en la vía que media la PAD y los subtipos de receptores involucrados. Los experimentos se realizaron en la médula espinal aislada de ratones (6 días), hemiseccionada sagitalmente. Las raíces dorsales y ventrales fueron mantenidas en continuidad con el nervio ciático y sus ramificaciones. La PAD fue inferida a partir de los potenciales de raíz dorsal (DRPs) registrados en las raíces lumbares L3-L4. La efectividad sináptica de las fibras aferentes fue inferida del componente monosináptico de los potenciales extracelulares de campo (EFPs) registrados entre los segmentos espinales L3-L4 a una profundidad de 120-180 μ m. El nervio tibial fue estimulado mediante pulsos cuadrados de 200 μ s, a una frecuencia de 0.05 Hz y con intensidad 4 veces el valor umbral. La excitabilidad intraespinal de las fibras aferentes fue inferida mediante la técnica de Wall, para lo cual se aplicaron pulsos intraespinales de corriente constante de 500 μ s, con intensidades de 10-20 μ A, a través de la misma micropipeta utilizada para registrar los EFPs. La serotonina deprimió los DRPs $77 \pm 17\%$ (promedio \pm d.e.; n=13) y los EFPs $58 \pm 15\%$ (n=13), sin modificar la excitabilidad de las fibras aferentes de bajo umbral. Para dilucidar los subtipos de receptores a serotonina involucrados se examinaron los efectos de algunos agonistas a concentraciones 10 μ M. La aplicación del agonista a los receptores 5-HT_{1E} y 1F, BRL54443, produjo una depresión del componente monosináptico de los EFPs y de los DRPs en $22 \pm 18\%$ y $42 \pm 11\%$, respectivamente (n=9) con respecto al control. La depresión de los EFPs sugiere una reducción de la efectividad sináptica de las fibras aferentes, probablemente por la activación de receptores metabotrópicos presinápticos. Los DRPs se deprimieron posiblemente como consecuencia de una reducción de la transmisión sináptica de las fibras aferentes estimuladas, sin descartar una posible una modulación inhibitoria de las interneuronas que median la PAD. El agonista de los receptores 5-HT_{1A}, 1B y 7, 8-OH-DPAT deprimió los DRPs un $33 \pm 13\%$ (n=5) respecto al control, sin efecto sobre los EFPs, sugiriendo una modulación inhibitoria a nivel de las interneuronas que median la PAD. Un efecto similar, aunque menor, se observó al aplicar el agonista de los receptores 5-HT_{1B} y 1D, CGS-12066A, el agonista de los receptores 5-HT₂, DOI, y el agonista de los receptores 5-HT₃, SR572275, en un $18 \pm 11\%$ (n=9), $17 \pm 12\%$ (n=9) y $15 \pm 4\%$ (n=5) respecto al control, respectivamente, sin efecto significativo sobre los EFPs. El agonista inverso al receptor 5-HT₇, ziprasidona, incrementó la amplitud de los DRPs en un $23\% \pm 12\%$ (n=4) respecto al control, sin efecto sobre los EFPs. En conclusión los receptores metabotrópicos a serotonina 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F} y 5-HT₇ están implicados en la modulación de las vías que median la PAD.

C10**INTRACELLULAR SIGNALING MECHANISMS INVOLVED IN GAS1-INDUCED CELL DEATH.**N. ZARCO¹, R. GONZÁLEZ-RAMÍREZ², J. SEGOVIA¹¹Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN, Mexico;²Biología Molecular e Histocompatibilidad, Hosp. Gen. Dr. Manuel Gea González, México.

Gas1 (Growth Arrest Specific 1) is a protein expressed during development and when cells arrest cell cycle. When ectopically expressed, Gas1 induces cell arrest and apoptosis of different cell lines, and we have previously demonstrated that the apoptotic process set off by Gas1 is caused by its capacity inhibiting GDNF-mediated intracellular survival signaling. In the present work, we have dissected the molecular pathway leading to cell death. We employed the SH-SY5Y human neuroblastoma cell line that expresses Gas1 when cultured in medium with no serum. We observed, as we had previously described, that the presence of Gas1 reduces Ret tyrosine 1062 phosphorylation and inhibits the activation of Akt. We have now determined that the presence of Gas1 also triggers the dephosphorylation of Bad, which, in turn, provokes the release of cytochrome-C from mitochondria to the cytosol activating caspase-9, resulting in the consequent activation of caspase-3 and in apoptosis of the cells. The apoptotic process is intrinsic, because there is not activation of caspase-8, thus this is consistent with apoptosis induced by the lack of neurotrophic support. Interestingly, in cells expressing a Gas1 antisense RNA there is a significant delay in the onset of apoptosis. The present data show that, in tumor derived cells, Gas1 causes apoptosis by blocking the survival pathways evoked by GDNF stimulation.

C11

CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA FRACTAL DE LOS POTENCIALES DORSALES ESPONTÁNEOS INDUCIDOS POR LESIONES DE NERVIOS PERIFÉRICOS Y MÉDULA ESPINAL EN GATOS ANESTESIADOS.

* **E RODRÍGUEZ, *D. CHÁVEZ, *E. HERNÁNDEZ AND *P. RUDOMIN

*Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México DF, **Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Un análisis de fluctuaciones sin tendencia multidimensional (mDFA) fue utilizado para examinar la estructura fractal de los potenciales espontáneos dorsales (CDPs) registrados con electrodos de bola de plata en los segmentos lumbares de L4 a L7. Las series de tiempo de estos datos incluyen tanto potenciales negativos (nCDDPs) como negativos positivos (npCDDPs). Estos últimos aparecen asociados con potenciales de raíz dorsal generados por la despolarización de aferentes primarias. En 4 experimentos con médula y nervios intactos de registros de segmentos individuales se observó que tienen una estructura no aleatoria y tienen una correlación de largo alcance indicado por el valor de autosimilitud $a=1.01\pm.06$, donde $a=0.5$ indica aleatoriedad y $a>0.5$ indica correlación de largo alcance. Datos similares se obtuvieron cuando se calculó el mDFA de 4 segmentos simultáneos (izquierdo L4 a L7) con $a=1.04\pm.04$.

Al aleatorizar los datos individuales y múltiples se obtuvo; DFA $a=0.49\pm 0.02$ y mDFA $a=0.49\pm.01$. En 2 experimentos después de seccionar los nervios peroneo superficial y sural hubo efectos pequeños en mDFA de L4 a L7 de control $a=1.03\pm.2$ a $a=0.99\pm.09$ después de la sección de nervios. Los valores de mDFA se redujeron aun mas después del corte del nervio ciático ($a=.9546\pm.10$). Sin embargo, hubo un incremento significativo de las fluctuaciones de los CDPs. Se redujo marcadamente el mDFA después de cortar las raíces dorsales bilaterales $a=0.78 \pm.18$. La sección del fascículo dorso lateral izquierdo (DLF), entre L5 y L6 seguido de una sección a la derecha del FDL no produjo cambios adicionales en el valor de mDFA ($a=0.77 \pm.016$ y $a=0.78 \pm.019$, respectivamente), aunque hubo una reducción significativa en las amplitudes de los CDPs y en las correlaciones de pares de potenciales espontáneos n y np. Estos hallazgos sugieren que los ensambles de neuronas del cuerno dorsal involucrados en la generación de los potenciales espontáneos en diferentes segmentos espinales tienen organización distributiva que no es alterada por la deaferentación parcial, aunque esto produce el desenmascaramiento de acciones sinápticas mediadas por aferentes cutáneas. Esta es reducida por la deaferentación total y no por la interrupción parcial de conexiones intersegmentales mediadas por vías ipsi y contralaterales del FDL.

Donativos NIH NS 09196 and CONACyT 50900-Q.

C12

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE NEURONAS INDIVIDUALES DEL CUERNO DORSAL DURANTE LA GENERACIÓN DE POTENCIALES ESPONTÁNEOS DEL DORSO DE LA MÉDULA ASOCIADOS CON LA DESPOLARIZACIÓN DE AFERENTES PRIMARIOS.

E. CONTRERAS-HERNANDEZ, D. CHAVEZ, E. HERNÁNDEZ, P. RUDOMIN;
Departamento Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, México.

Trabajo previo realizado en gatos anestesiados ha revelado la presencia de diferentes tipos de "potenciales espontáneos del dorso de la médula", entre los cuales están los negativo-positivos (npCDPs) que son de particular interés, ya que a diferencia de los puramente negativos (nCDPs), los npCDPs están asociados con potenciales espontáneos en las raíces dorsales (producidos por la despolarización de aferentes primarios, PAD). Aunque ambos los nCDPs y los npCDPs son generados la actividad de neuronas localizadas en la misma zona del cuerno dorsal y responden a la estimulación de aferentes cutáneos de bajo umbral a través de vías mono u oligosinápticas, surge la pregunta de si ambos tipos de potenciales son generados por el mismo o por diferentes conjuntos neuronales. En este trabajo hemos investigado los cambios en la activación espontánea de neuronas individuales del cuerno dorsal durante la generación de nCDPs y/o npCDPs registrados simultáneamente en varios segmentos espinales.

Se registro en forma estable la actividad espontánea de 14 neuronas en 6 gatos. Estas neuronas se localizaron entre las laminas III-VI de Rexed, en los segmentos L5-L6. 2 neuronas incrementaron su actividad solo durante los nCDPs, 3 solo durante los npCDPs y 7 durante ambos tipos. Estas neuronas respondieron con latencias breves (3-6 ms) a la estimulación (1.4-1.8 xT) de los nervios sural (SU), peroneo superficial (SP) o ambos. 2 neuronas no mostraron cambios en su frecuencia de disparo durante los CDPs y no se activaron por estimulación de los nervios cutáneos con intensidades <2 xT. Ninguna de las neuronas estudiadas se activaron antidrómicamente al estimular el fascículo dorsolateral a nivel torácico, sugiriendo que estas neuronas solo poseen proyecciones locales. Nuestros resultados indican que en la mayoría de los casos las mismas neuronas generan tanto los nCDPs como los npCDPs, pero no excluye la existencia de ciertos grupos neuronales asociados solo con la generación de nCDPs o de npCDPs. En los experimentos en curso se planea medir los cambios de correlación entre neuronas del cuerno dorsal registradas simultáneamente además de su correlación con nCDPs y npCDPs, después de lesiones nerviosas agudas y lesiones espinales. Datos preliminares sugieren que el conjunto neuronal involucrado en la generación de los nCDPs y los npCDPs constituye un arreglo distribuido segmentalmente de neuronas interconectadas con una organización estructurada, donde cambios "dependientes del estado" en la sincronización entre las neuronas constituyentes permiten la activación de vías alternas, entre las cuales están las que median la PAD y la inhibición presináptica.

C13

DISOCIACIÓN DE CÉLULAS PIRAMIDALES DEL ÁREA CA3 CON BOTONES SINÁPTICOS DE FIBRAS MUSGOSAS Y DE INTERNEURONAS ADHERIDOS PARA EL ESTUDIO DE LA TRANSMISIÓN GLUTAMATÉRGICA Y GABAÉRGICA.

JESÚS Q. BELTRÁN¹, SEBASTIÁN REYES¹, JOSÉ A. PÉREZ-GUZMÁN², DAVID ELÍAS-VIÑAS² Y RAFAEL GUTIÉRREZ^{3*}. ¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, ²Sección de Bioelectrónica del Departamento de Ingeniería Eléctrica y ³Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. * Autor de correspondencia: rafagut@cinvestav.mx

Todas las neuronas del sistema nervioso reciben sinapsis glutamatérgicas y GABAérgicas. En el hipocampo las neuronas del área CA3 reciben señales glutamatérgicas de los axones de las células granulares, las fibras musgosas, en el tercio proximal de su dendrita apical y de los axones colaterales de otras células piramidales en el campo dendrítico distal. Estas neuronas reciben también señales GABAérgicas de las interneuronas locales a lo largo de su árbol dendrítico y en el soma. Dada la complejidad de la conectividad del área CA3, se han desarrollado diversos métodos para el estudio de aspectos particulares de la función de las fibras musgosas y de las interneuronas. En este trabajo describimos un método para el estudio de sinapsis identificadas en células piramidales, que hemos adaptado a partir del método de disociación “neurona-botón terminal” originalmente descrito por Akaike y Moorehouse (2003). Nuestro método permite el estudio de la transmisión sináptica de botones identificados de fibras musgosas e interneuronas sobre células piramidales aisladas de CA3. Las células piramidales de CA3 fueron disgregadas mecánicamente de rebanadas de hipocampo conservando los botones sinápticos de las fibras musgosas e interneuronas adheridos. Debido a que los botones de las fibras musgosas, contienen Zn^{++} , estos pueden identificarse por la marca con un compuesto fluorescente que se une al Zn^{++} y que se aplica antes de la disociación. Esta preparación permitió estudiar la transmisión sináptica de botones identificados con la técnica de *patch-clamp*. Así, en las células piramidales de CA3 se llevaron a cabo registros electrofisiológicos en la configuración de célula completa de la actividad sináptica espontánea y evocada por la estimulación unitaria y selectiva de los botones de las fibras musgosas en la dendrita apical y de las terminales GABAérgicas, no marcadas, de interneuronas en el soma y en las dendritas proximales. La preparación descrita es un método valioso y fino que permite el estudio de aspectos particulares de la transmisión sináptica de las fibras musgosas, en particular el estudio de botones aislados y de su modulación presináptica con gran precisión.

C14**ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LA AMILORIDA EN LOS CANALES DE CALCIO TIPO T.**

GÓMORA J.C., LÓPEZ-CHARCAS O., RIVERA M. Departamento de Neuropatología Molecular, División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

Los canales de calcio dependientes de voltaje (Ca_v) desempeñan un papel determinante en el influjo de calcio de una gran cantidad de células. Este incremento del calcio intracelular desencadena una variedad de procesos celulares incluyendo la contracción muscular, expresión génica, plasticidad sináptica, secreción de hormonas y neurotransmisores, etc. Además, la importancia de estos canales se ejemplifica con el uso en la clínica de los llamados “bloqueadores de los canales de calcio”, fármacos que se utilizan desde hace varias décadas en el tratamiento de enfermedades como hipertensión y en los últimos años en el tratamiento del dolor y algunos tipos de epilepsia. Por tales razones, los canales Ca_v han sido objeto de una gran cantidad de estudios científicos, sin embargo, la mayor parte de ellos se han limitado a los canales de calcio de alto umbral (HVA), y solo en la última década, los otros miembros de la familia de los canales Ca_v , es decir, los canales de bajo umbral (LVA, tipo T ó Ca_v3), han sido objetos de tales esfuerzos. La clonación de tres subunidades $\alpha1$ que expresan corrientes de calcio tipo T, ha potenciado la investigación acerca de estos canales. No obstante, aspectos críticos de las propiedades biofísicas y farmacológicas, de la relación entre la estructura y la función, de la regulación ontogénica, entre otros varios, no han sido estudiados lo suficiente.

La amilorida es un diurético de tipo ahorrador de potasio, y su blanco principal es el canal de sodio epitelial (ENaC), el cual se encuentra localizado de manera abundante en el túbulo distal de la nefrona. Interesantemente, la amilorida ha sido utilizada de manera frecuente como herramienta farmacológica en el estudio de los canales de calcio tipo T. A partir de resultados obtenidos en distintas preparaciones celulares que muestran concentraciones inhibitorias medias (IC_{50}), desde el orden micromolar, hasta, en algunos casos, el milimolar, nos preguntamos, si dichas discrepancias pudieran ser debidas a diferencias en la sensibilidad de los tres tipos de canales tipo T clonados a la fecha ($Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$, y $Ca_v3.3$). Por lo tanto, en el presente trabajo se estudió el efecto del fármaco amilorida sobre los canales de calcio tipo T expresados en células HEK-293. Mediante el uso de la técnica de patch clamp en la configuración de célula completa y utilizando 5 mM de Ca^{2+} como acarreador de carga, hemos obtenido evidencias de que existe una sensibilidad diferencial de cada uno de los miembros de la familia Ca_v3 hacia la amilorida, cuyo bloqueo parece ser dependiente de voltaje exclusivamente en los canales $Ca_v3.3$. Nuestros resultados electrofisiológicos han sido asociados con resultados de acoplamiento molecular o docking, que sugieren diferentes sitios de unión de la amilorida en los canales Ca_v3 , lo cual sustenta la diferente sensibilidad de los canales al fármaco. Mediante el conocimiento de los sitios de unión y de la acción de agentes farmacológicos, puede ser posible diseñar nuevos agentes con características estructurales dirigidas para obtener bloqueadores más específicos y potentes.

Apoyado por CONACYT J50250Q.

C15

MOUSE MODEL OF MACHADO-JOSEPH DISEASE, OR SPINOCEREBELLAR ATAXIA TYPE 3 (MJD/SCA3).

VERONICA F. COLOMER GOULD.

Investigador Titular, Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav, IPN), México DF, México

Summary:

Machado–Joseph disease or spinocerebellar ataxia type 3 (MJD/SCA3) is a hereditary and neurodegenerative movement disorder caused by ataxin-3 with a polyglutamine expansion (mutant ataxin-3) (1). Previously, we reported a mouse model of MJD/SCA3 (2-4). Here, I include representative data on the characterization of this model. We generated transgenic mice expressing human mutant (Q71) under control of the mouse prion promoter. Homozygous Q71 develop progressive postural instability, gait and limb ataxia, weight loss, and have decreased number of tyrosine-hydroxylase-positive neurons in substantia nigra. Homozygous Q71 have low levels of pituitary hormones in serum; which could be used as biomarkers of pathogenesis. Homozygous Q71 contain mutant ataxin-3 aggregate and putative toxic fragment in brain but not non-neuronal cells. In contrast, Q20 transgenic mice have a normal behavior and pathology. Taken together, our results indicate that homozygous Q71 are a mouse model to study mechanisms of toxicity of the MJD/SCA3 disease protein. Indeed, such mouse model has been used successfully by collaborators (5, 6).

Representative publications:

1-Colomer Gould V.F. Mouse models of Machado-Joseph disease and other polyglutamine spinocerebellar ataxias. *NeuroRx* 2:480-3. (Review)

2-Goti D., Katzen S.M., Mez J., Kurtis N., Kiluk J., Ben-Haïem L., Jenkins N.A., Copeland N., Kakizuka A., Sharp A.H., Ross C.A., Mouton P. R., and Colomer V. A mutant ataxin-3 putative-cleavage fragment in brain of Machado-Joseph disease patients and transgenic mice is cytotoxic above a critical concentration. *Journal of Neuroscience* 24:10266-79, 2004

3-Colomer Gould V.F., Goti D., and Kiluk J. A neuroendocrine dysfunction, not testicular mutant ataxin-3 putative-cleavage fragment or aggregate, causes cell death in testes of transgenic mice. *Cell Death and Differentiation* 13:524-6, 2006

4-Colomer Gould V.F., Goti D., Pearce D., Gonzalez G., Gao H., Bermudez de Leon M., Jenkins N.A., Copeland N., Ross C.A., and Brown D.R. A mutant ataxin-3 fragment results from processing at a site n-terminal to amino acid 190 in brain of machado-joseph disease-like transgenic mice. *Neurobiology of Disease* 27:362-9, 2007

5-Alves S., Regulier E., Nascimento-Ferreira I., Hassig R., Dufour N., Koeppen A., Carvalho AL, Simoes S, Pedroso de Lima MC, Bouillet E., Colomer Gould V., Déglon N., and Pereira de Almeida L. Striatal and nigral pathology in lentiviral rat model of Machado-Joseph disease. *Human Molecular Genetics*, 17: 2071-83, 2008

6-Nascimento-Ferreira I., Santos-Ferreira T., Sousa-Ferreira L., Auregan G, Alves S., Dufour N., Colomer Gould V.F., Koeppen A., Déglon N., and Pereira de Almeida L. Degradation pathways in Machado-Joseph Disease: Recovery of mutant ataxin-3 clearance through overexpression of the autophagy-related beclin-1 protein. *Brain*: 134: 1400-1415, 2011

C16**NTS-POLYPLEX AS A POTENTIAL TOOL IN GENE THERAPY FOR HUMAN BREAST CANCER: EVIDENCES IN VITRO.**

CASTILLO-RODRIGUEZ ROSA A. ¹, ARANGO-RODRIGUEZ MARTHA L. ¹, ESCOBEDO LOURDES ¹, RUBIO-ZAPATA HECTOR A. ², REMBAO-BOJORQUEZ JESUS D. ³, SANCHEZ-GARCIA AURORA ³, DUPOUY SANDRA ⁴, FORGEZ PATRICIA ⁴, AND MARTINEZ-FONG DANIEL ¹. Department of Physiology, Biophysics and Neuroscience, CINVESTAV-IPN, Mexico, D.F. ¹; School of Medicine, UADY, Merida, Yuc. ²; Department of Neuropathology, INNN, Mexico, D.F. ³; INSERM UNRS 938, Paris, France ⁴ Email: asor108@gmail.com

The expression of the high affinity neurotensin receptor (NTSR1) is induced in the invasive ductal breast adenocarcinoma, which is the cancer subtype with the highest incidence and mortality rate in the whole world. Our group has developed a new antitumoral therapy for NTSR1-expressing cells using the gene transfer system known as NTS-polyplex (mexican patent # 264932). The main objective of this work was to determine in vitro the ability of MCF7 and MDA-MB-231 cell lines, from ductal breast adenocarcinoma, to be transfected by the NTS-polyplex, as a first approach of antitumoral therapy.

We used internalization and expression assays with reporter genes (pEGFP-N1) in combination with blockade studies with neurotensin (1 μ M), SR48692 (0.5 μ M) or sucrose (0.45 M). For functional studies, we used the suicide system pORF-HSVTK-ganciclovir (GCV). Cytotoxicity was evaluated using MTT assay and annexin-V.

RT-PCR and immunofluorescence studies confirmed the presence of NTSR1 in those cell lines, which were able to specifically internalize and express reporter genes. The MDA-MB-231 cell line was more efficiently transfected than MCF7 cells were, but the viability of MDA-MB-231 cells was decreased (60%) by the transfection procedure. In these cells, the transfection of pORF-HSVTK plasmid decreased cell viability by 50%, in an independent manner of the activation with GCV. The blockade assays strongly suggest that the cytotoxic effect was caused by the NSTR1-mediated endocytosis of NTS-polyplex.

In conclusion, MDA-MB-231 cells were more susceptible to NTS-polyplex transfection, which was cytotoxic for this cell line. This particular property could represent an additional advantage for a more effective antitumoral therapy in models of breast cancer.

This work was supported by El Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (grant ICYTDF-DMF) and partially by SEP-CONACYT-ECOS (Grant M07-S01).

C17

THE INJECTION OF 6-HYDROXYDOPAMINE INTO THE NEOSTRIATUM CAUSES APOPTOSIS IN THE DOPAMINERGIC NEURONS OF THE SUBSTANTIA NIGRA PARS COMPACTA IN THE RAT.

¹HERNÁNDEZ-BALTAZAR, D, ²ARANGO-RODRÍGUEZ, ML, ³MARTINEZ-FONG, D.

^{1, 2, 3} Department of Physiology, Biophysics, and Neurosciences. Center for Research and Advanced Studies (CINVESTAV). martinez.fong@gmail.com

6-Hydroxydopamine (6-OHDA) has long been used to cause degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta as a model to study the physiopathology of Parkinson's disease or the synaptic organization of the basal ganglia. Despite the wide use of 6-OHDA, the mechanism of its cytotoxicity and the type of cell-death involved are still controversial. Our group has shown that 6-OHDA injected into the neostriatum leads to a loss by 70% of dopaminergic neurons in the substantia nigra and thereafter an additional reduction by 10%. This suggests that the first week postlesion is a critical period in the effect of 6-OHDA. In this work, we evaluated the temporal course of the cytotoxicity and the cell-death type caused by a single dose of 6-OHDA (20 µg/3 µL of PBS containing 0.2% ascorbic acid) injected into a neostriatum of male Wistar rats. In this case, 6-OHDA causes a progressive loss of nigral dopaminergic neurons as shown by the progression of methamphetamine-induced turning behavior and by the gradual loss of tyrosine hydroxylase (TH)-immunoreactive neurons; those variables were evaluated at 3, 7, 15, and 21 days postlesion. We showed that 6-OHDA causes a progressive decrease in TH and NeuN immunoreactivity in the substantia nigra thus suggesting cell-death. The type of cell-death was mainly apoptosis as shown by the increase in the immunoreactivity to active caspase-3 and single-strand DNA (Apostain). Caspase-3 immunoreactivity was detected from the first day to the seventh day postlesion by using fluorescence microscopy and western blot, whereas Apostain-positive cells were observed in the sixth and seventh days postlesion. Our results show that 6-OHDA injected into the neostriatum causes cell-death of nigral dopaminergic neurons mainly by apoptosis during the first week postlesion. This knowledge will be the basis to understand the molecular mechanism of neurotrophic therapy in the model of Parkinson's disease induced by 6-OHDA in the rat.

This work was supported by the CONACYT grant U83229.

KEYWORDS: Parkinson; cell-death; cytotoxicity; neurodegeneration.

C18**TRANSFER OF AN INDUCIBLE TRANSGENE EXPRESSING A SOLUBLE FORM OF GAS1 ELICITS GLIOMA CELL ARREST, APOPTOSIS AND INHIBITS TUMOR GROWTH.**A LÓPEZ-ORNELAS¹, T MEJÍA-CASTILLO², P VERGARA² AND J SEGOVIA-VILA²¹Departamento de Farmacología and ²Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional, México 07300 DF, México.

Gliomas are the most frequent primary tumors of the Central Nervous System and their clinical prognosis remains very poor. Because of the characteristics of gliomas, gene therapy appears as a potentially relevant strategy for their treatment. However, the inability of viral vectors to transfer the therapeutic genes to a significantly high number of tumor cells, due to their limited diffusion and distribution, remains a critical obstacle for their application treating gliomas.

We have demonstrated that the over-expression of Gas1 (Growth arrest specific1), induces cell arrest and apoptosis, and eliminates glioma cells *in vitro* and when implanted in mice.

To improve the therapeutic range of Gas1, we generated lentiviral vectors coding for a soluble form of Gas1. Here, we show that cells infected with this virus produce the mutant protein, that acting both in autocrine and paracrine manners, causes death of infected and neighboring cells, thus importantly enhancing the effect of Gas1. Furthermore, the administration of this vector, or cells expressing it, inhibits the growth of tumors inoculated in mice. We present a gene therapy strategy that increases the effect of the therapeutic molecule by eliminating not just the infected cells that express Gas1, but neighboring non-infected cells.

C19

EFFECTO PROTECTOR DE ANTIOXIDANTES (VITAMINA-E Y OMEGAS 3 Y 6) SOBRE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL INDUCIDA POR CADMIO EN RATAS HEMBRAS.

MARTÍN D., AVENDAÑO M.P., LÓPEZ-ÁLVAREZ L., NAMORADO M.C., SIERRA G., BARBIER O. Y REYES J.L. Departamentos de Toxicología, Farmacología y Fisiología del CINVESTAV-IPN, Unidad Zacatenco México D.F. C.P. 07300. dolores@fisio.cinvestav.mx

Antecedentes.- El cadmio es un contaminante ampliamente distribuido en el medio ambiente. Se han reportado sus efectos tóxicos en tejido cardiovascular, neuronal, renal y óseo con daños como hipertensión arterial, aterosclerosis, cardiomiopatías, neurotoxicidad, osteoporosis y es un agente carcinogénico. El cadmio se deposita en los seres vivos por más de 30 años, la exposición a este metal induce hipertensión tanto en el humano como en animales de experimentación. Experimentos previos hechos en nuestro laboratorio, han demostrado que la intoxicación con cadmio aumenta la presión arterial de las crías que provienen de madres intoxicadas con este metal durante el periodo de preñez. Por lo que decidimos dar seguimiento a lo que ocurre con las madres, una vez que destetan a sus crías, observar como se comporta la presión arterial y la localización y organización de proteínas relacionadas con el tejido vascular de los riñones, así como también estudiar el posible efecto protector de la vitamina-E y el aceite de borraja (ricos en $\Omega 3$ y $\Omega 6$) debido a que uno de los mecanismos que se ha propuesto en la literatura, es que el Cd produce stress oxidativo en el riñón.

Objetivo.- En este trabajo se estudio el efecto protector de la Vitamina-E y el Aceite de Borraja (ricos en $\Omega 6$ y $\Omega 3$) sobre la hipertensión arterial inducida por el cadmio en la rata, durante la etapa de embarazo y se observó la localización y expresión de las Claudinas 3 y 5 en el epitelio y endotelio renal.

Metodología.- Para ello nosotros medimos la presión arterial de la cola de la rata, con un método no invasivo en diferentes grupos experimentales. También analizamos la expresión y organización de dos proteínas localizadas en la unión estrecha del endotelio y epitelio renal. A los grupos experimentales de ratas Wistar embarazadas, se les administró por vía oral los siguientes tratamientos durante 21 días: A).- Control (agua); B).- Cadmio (500 μ g/Kg/día), C).- Vitamina-E (125 mg/Kg/día); D).- Aceite de Borraja (6.5 g/Kg/día); E).- Cadmio + Vitamina-E; y F).- Cadmio + Aceite de Borraja. Una vez terminado el destete de sus crías, se tomaron a las madres y se les realizó en el laboratorio la medición de la presión arterial en la cola, con los accesorios y el equipo Coda-2, durante tres días consecutivos. Después se sacrificaron los animales con pentobarbital sódico (30mg/Kg de p.c. i.p.), se profundieron y extrajeron los riñones, para crioprotegerlos y congelarlos en nitrógeno líquido. Una vez congelados se hicieron cortes de 8 μ m de espesor y se llevó a cabo la inmunofluorescencia para detectar a las claudinas 3 y 5. El análisis de las imágenes se llevó a cabo por microscopía confocal.

Resultados y Conclusión.- Nuestros resultados muestran que las ratas madres que fueron expuestas al cadmio durante los 21 días de su gestación, fue tiempo suficiente para inducir cambios en la presión arterial media, encaminados hacia la hipertensión (132 \pm 10 mmHg), cuando se comparan con las ratas controles (115 \pm 14 mmHg). Por otro en las ratas expuestas al cadmio, la Claudina-5 se ve modificada tanto la organización como la expresión de la misma en los glomérulos de manera importante, sugiriendo que el cadmio promueve alteraciones vasculares. En tanto los tratamientos con Vitamina-E y aceite de borraja mejoran parcialmente la presión arterial de las ratas tratadas con cadmio, así como también la expresión de la Claudina-5 en los glomérulos. Al observar la expresión de Cl-3 en los riñones de las ratas tratadas con Cd, Cd-Vit.E y Cd-Borraja no se observan cambios en ninguno de éstos grupos experimentales por lo que el Cd parece no afectar la expresión de esta proteína.

C20

DIFFERENCES IN CLAUDIN 2 EXPRESSION IN HUMAN PERITONEAL MESOTHELIAL CELLS FROM HIGH OR LOW TRANSPORTERS IN CAPD M RAMOS¹⁾, A PÉREZ²⁾, E SÁNCHEZ³⁾, D MARTÍN³⁾, V TSUTSUMI⁴⁾, S GONZÁLEZ⁵⁾, AL GONZÁLEZ-SÁNCHEZ¹⁾, A CRUZ-RODRÍGUEZ, JL REYES³⁾. 1) La Raza Medical Center, Mexican Institute of Social Security (IMSS), 2) Nephrology Dept. North Central Hospital Pemex, and Departments of 3) Physiology, Biophysics and Neurosciences, 4) Experimental Pathology and 5) Central Laboratories. Center for Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute (Cinvestav-IPN), México D.F. C.P. 07300. jreyes@fisio.cinvestav.mx

Functional integrity of human peritoneal mesothelial cells (HPMCs) is essential for adequacy of dialysis. We studied differences in claudins (tight junctions proteins) expression and passive permeability of cultured HPMCs contained in peritoneal dialysis solutions from patients with high or with low transport. Omentum peritoneal cells from non uremic patients were obtained and cultured. Peritoneal solutions from fifteen patients in continuous ambulatory peritoneal dialysis were centrifuged for 10 minutes and HPCMs retrieved and cultured in DMEM-F12. Identification of cytokeratin-8, vimentin, aquaporin-1 and claudins 1, 2, 3, 4 and 8 was performed. Microvilli and cilia were identified by scanning electron microscopy analysis. Functional characteristics were assessed by transepithelial electrical resistance (TER) and the number of domes. Number of HPMCs was 310×10^3 cells/ml and 160×10^3 cells/ml in high and low transporters solutions, respectively. Claudin 2 was clearly located at cell borders in high transporters HPMCs, while label was faint and unorganized in cultures from low transporters. Claudins 1, 3 and 4 had similar distribution. Presence of cytokeratin-8, vimentin, aquaporin 1, cilia and microvilli confirmed mesothelial phenotype of HPMCs. Cultured HPMCs preserve their morphological and immunological characteristics. Presence of claudin 2 (TJ protein present in highly permeable epithelia) in HPMCs, suggests that this protein participates in the differences in peritoneal permeability observed between high and low transporters. In agreement with morphology, lower TER and number of domes were observed in high transporters HPMCs, indicating higher permeability than for low transporter cultures. These data indicate that cultures preserved their original transport characteristics. Financial support: Study partially supported by CONACYT, Mexico (G34511) and by FOFOI-2005/1/I-117. IMSS

C21

VIA DE SEÑALIZACIÓN MOLECULAR SEROTONINERGICA EN EL NEOPALIO FETAL EN COCULTIVO

BOYZO MONTES DE OCA A¹, MANJARREZ GUTIÉRREZ G², MERCADO CAMARGO R³ Y HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ J¹

¹Lab. de Neurontogenia, Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Cinvestav.

²Unidad de Investigación Biomolecular, Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. ³Lab. de Bioquímica, Escuela de Químicofarmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

E-mail: jorgeh@fisio.cinvestav.mx

Es importante evaluar el papel de la señalización molecular serotoninérgica y la comunicación axonal durante la formación de la corteza cerebral. Para ello utilizamos cocultivos organotípicos de mesencefalo (E17) y neopalio (E13; E16) fetales. En cocultivos organotípicos de mesencéfalo E-17 y neopalio E13 o E16, de 12 días, se marcaron inmunohistoquímicamente el receptor 5-HT_{1A}, las proteínas G α -1, MAPK, ERK1 y MAPKK. Se observaron los receptores 5-HT_{1A} en el mesencéfalo y en el neopalio; las proteínas G α -1 y MAPK estuvieron presentes principalmente en el neopalio; las moléculas ERK1 y MAPKK se observaron tanto en el mesencéfalo como en el neopalio. El marcaje inmunohistoquímico doble mostró la coexistencia de diferentes moléculas de esta ruta, en la misma célula se observaron paquetes de fibras axonales, no fasciculados, que cruzan a través de las zonas de contacto entre las dos regiones cultivadas, además el agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT parece inducir un cambio en la celularidad del neopalio. Estos resultados sugieren que la vía de señalización 5-HT_{1A} está presente a nivel citoplásmico en células del neopalio durante el período de cultivo, y apoya un sistema de mensajería molecular serotoninérgica en la corticogénesis.

C22

PARTICIPACIÓN DE LOS ESTÍMULOS HORMONALES PRESENTES EN LA LECHE MATERNA EN EL DESARROLLO POSTNATAL DE LA HIPÓFISIS EN LA RATA.

TORIZ CG^{1,2}, MELO A², MENDOZA-GARRIDO ME¹.

1Departamento de Fisiología Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV-IPN

2Centro de Investigación en Reproducción Animal-UAtx-CINVESTAV

La hipófisis es una glándula localizada en la base del cerebro, cuyos productos hormonales son liberados al sistema circulatorio a través del plexo capilar secundario. Este último se comunica con el plexo capilar primario, lugar desde donde son liberados los distintos secretagogos hipotálamicos que regulan la secreción hormonal hipofisiaria. En la rata, que es un organismo que nace inmaduro, es interesante notar que las asas del plexo capilar primario no aparecen sino hasta el quinto día postnatal (5 dpn), a pesar de que la vena portal primaria ya están presentes desde el día 13 embrionario. Asimismo, durante los primeros días de vida ocurren en el tejido hipofisiario procesos de organización y proliferación celular. Un ejemplo de ello es la aparición neonatal de las células lactotropas clásicas (que solo liberan prolactina). Se ha observado que si a un cultivo primario, proveniente de hipófisis de ratas neonatas no alimentadas, se le adiciona suero proveniente de ratas de 0-4 dpn previamente amamantadas (periodo en el cual surgen los lactotropos clásicos), el número de células lactotropas clásicas incrementa en comparación con el control. No obstante, si los animales de donde se obtiene el suero son amamantados por madres en lactancia media (días 6-7) no se observa dicho incremento. Lo anterior nos estaría indicando dos cosas, por un lado que la circulación periférica posee información que contribuye al incremento en el número de lactotropos clásicos; y dos que dicha información va en función de la calidad de la leche. Asimismo, es interesante notar que las células lactotropas presentan proporciones distintas de asociación con las células gonadotropas durante la etapa infantil en comparación con la adulta y que durante ambas etapas las células LH-positivas (cLH+) se distribuyen de manera distinta. Esto indicaría que la distribución y abundancia de ambos fenotipos celulares está íntimamente relacionada.

Para poder evaluar la participación de los estímulos maternos en los procesos de organización y maduración postnatal, tanto de las células lactotropas como de las gonadotropas utilizamos el paradigma de la crianza artificial (CA). Animales de 3 dpn fueron colocados en: 1) un sistema de CA o 2) permanecieron con sus madres, ambos ya sea hasta los 7, 14 ó 21 dpn. Al final de este periodo se extrajeron, fijaron, y cortaron (8 μ m) las hipófisis para su análisis por inmunohistoquímica. Parte de nuestros resultados muestran que las cLH+ en animales bajo CA de 21 dpn presentan un patrón de distribución dentro del tejido hipofisiario diferente al del control. A lo largo de los cortes (coronales seriados) las cLH+ de animales control se distribuyen desde la parte medial hacia las alas laterales, y a lo largo de los cortes se van observando hacia el centro hasta finalmente desaparecer, es decir existen cortes que no presentan cLH+. Si seguimos avanzando en los cortes, las cLH+ reaparecen distribuyéndose hacia las alas laterales. En los cortes de animales de CA no se muestra este patrón, ya que las células se distribuyen homogéneamente a lo largo de los cortes. En otro experimento, realizado en cultivo primario (24 horas) de células hipofisiarias provenientes de animales neonatos, se encontró (mediante Inmunocitoquímica) que el tratamiento mediante crianza artificial no modificaba el número de cLH+. Lo anterior podría indicar que los patrones de distribución de las cLH+ en hipófisis de animales control y de CA no se deba a una diferencia en el número de cLH+ presentes en el tejido hipofisiario, tal como fue observado en etapas neonatales.

C23**CARACTERIZACIÓN DE LAS CLAUDINAS EXPRESADAS EN LAS CÉLULAS FOLÍCULO ESTELARES DE LA ADENOHIPÓFISIS DE RATA.**

GARCÍA-GODÍNEZ A, CONTRERAS-PATIÑO RG, DE LA VEGA MT, SOLANO-AGANA C, MARTÍN D, NAMORADO C, MENDOZA-GARRIDO ME.

Departamento de Fisiología Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV –IPN

Las células folículo estelares (FE) son las células agranulares más numerosas de la adenohipófisis y se las puede observar aisladas o formando folículos. Su aspecto estelar proviene de las prolongaciones citoplasmáticas largas que emiten e interponen entre las células secretoras. Además de carecer de gránulos de secreción, expresan proteínas típicas de las células gliales tales como el filamento intermedio GFAP y la proteína que une calcio S-100 β , y una proteína epitelial la E-Cadherina. En las células FE que forman folículos se observa por microscopía electrónica de transmisión una membrana apical pequeña, rica en microvellosidades con un cilio mayor proyectado hacia el lumen folicular, y membranas “laterales” en las que se observan uniones ocluseras además de adherentes, comunicantes y desmosomas. De manera interesante, en microscopía electrónica de moldes de criofractura se observan uniones ocluseras compuestas de cinco a nueve filamentos entrecruzados, dicho patrón, conferido por la expresión de Claudinas en las uniones ocluseras, corresponde a uniones de alta resistencia y baja permeabilidad como cuando se expresan las Claudinas 1, 4 y 8. Además en cultivos primarios de bovino las FE manifiestan su capacidad de transportar vectorialmente iones y agua formando monocapas con domos. Sin embargo, se desconoce qué tipo de Claudinas se expresan en estas células. El objetivo general del trabajo fue, entonces, identificar la expresión de Claudina 4 en la hipófisis de rata. Para lo cual primero obtuvimos cortes de hipófisis de 8 μ m de grosor en los que identificamos a las células FE por inmunofluorescencia y microscopía confocal con anticuerpos contra las proteínas marcadoras S-100 β , GFAP y E-Cadherina. En seguida cotejamos con anticuerpos contra las claudinas 4, 2 y/o 5. Lo que encontramos fue que una población de células FE expresan Claudina 4. La adenohipófisis expresa, además, a la Claudina 2 en el endotelio vascular junto a la Claudina 5 típica de estas células, mientras que los vasos sanguíneos de la hipófisis posterior sólo expresan a la Claudina 5. Nuestros resultados sugieren que las uniones ocluseras de las FE son de baja permeabilidad y podrían participar en la compartimentalización de la adenohipófisis, proceso que, proponemos, es importante para proveer la formación de gradientes que impulsen la absorción de nutrientes o la secreción polarizada de sustancias al medio.

C24

HIPPOCAMPAL MOSSY FIBERS, BUT NOT SCHAFFER COLLATERALS, PRESENT STOCHASTIC RESONANCE

L. M. FRANCO¹, J. Q. BELTRÁN¹, E. MANJARREZ², R. GUTIÉRREZ³.

¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., ²Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y ³Departamento de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N.

Stochastic resonance (SR) is commonly understood to be the enhancement, by noise, of the response of a nonlinear system to a weak input signal. The stochastic resonance is a counterintuitive phenomenon in which the response of the system develops an inverted U-like function versus the input noise level; the maximal enhancement of the response values occurs at an intermediate noise amplitude value. This phenomenon has been demonstrated in the CNS when external noise is applied to modify the internal noise sources. However there are not studies in which the internal noise sources could be used to demonstrate directly the occurrence of SR in the CNS. The aim of the present study was to show that SR can be produced by synaptic and non-synaptic internal noise sources in hippocampal neurons of dentate gyrus and CA3 with the use of the appropriate pharmacology. Antidromic field potentials (AFPs) were recorded in the pyramidal cell layer of CA3 in response to stimulation of the Schaffer collaterals and in the granule cell layer of the DG in response to mossy fibers stimulation. Trains of 600 stimuli were applied at 5, 10, 24 and 40 Hz. We analyzed the AFPs amplitude along the trains and the signal to noise ratio (SNR, area under the power spectrum of the evoked activity/ area under the power spectrum of basal activity) in control conditions and after blockage of glutamatergic and GABAergic transmission. The DG and CA3 region responded differentially during high frequency antidromic stimulation. In CA3 area the AFPs amplitude decreased exponentially along the train. By contrast, in the DG the AFPs amplitude had biphasic kinetics with an initial potentiation phase and a posterior depression. On the other hand, SNR was also different between CA3 and DG. In CA3, SNR increased as the stimulation frequency was increased. By contrast, in the DG maximal SNR occurred at 24 Hz. Interestingly, SNR increased in absence of glutamatergic transmission and decreased when the GABA phasic and tonic receptors were also blocked, especially in the initial, potentiation phase. These results indicate that the mossy fibers present resonance at 24 Hz, as previously suggested (Treviño et al., J. Neurosci. 2007). This property of the mossy fibers constitutes a factor that improves the information transmission at particular frequencies in the hippocampal circuitry.

Support: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México

C25

INTERNEURONAS NPY EN EL ESTRIADO DE RATÓN SON ELECTROFISIOLÓGICA Y MORFOLÓGICAMENTE DIVERSAS.

OSVALDO IBÁÑEZ-SANDOVAL, TECUAPETLA FATUEL, SHAH FULVA, KOÓS TIBOR Y JAMES M. TEPPER

Center for Molecular and Behavioral Neuroscience, Rutgers University, Newark, NJ 07102

Empleando ratones transgénicos adultos (1 – 2 meses de edad), que expresan la eGFP de manera selectiva en las neuronas NPY, se realizaron registros electrofisiológicos en la configuración de célula completa “*whole cell*”, en interneuronas del estriado que expresaron la eGFP-NPY. Durante el registro electrofisiológico, las células fueron llenadas con biocitina para su posterior estudio morfológico.

Las interneuronas eGFP-NPY del estriado (n = 46) fueron electrofisiológicamente heterogéneas y se clasificaron fácilmente en dos diferentes tipos, debido a las diferencias en el tamaño, brillo y forma, observado en la epifluorescencia. Tipo I ó NGC (~ 25%) mostraron un potencial de membrana hiperpolarizado (-88 ± 1.4 mV), baja resistencia de entrada (136 ± 13.4 M Ω), sin actividad espontánea, y una fuerte rectificación entrante. Estas interneuronas guardan mucha similitud con las espinosas medianas de proyección, pero se distinguen claramente de ellas por su gran AHP (26.3 ± 1.0 mV). Por otro lado, las células Tipo II ó PLTS (~ 75%), presentaron un potencial de membrana significativamente más despolarizado (-62 ± 10.4 mV), una resistencia de entrada alta (769 ± 63 M Ω) y una deflexión en el voltaje en respuesta a los pulsos de corriente hiperpolarizante, asociada a la activación de una corriente I_h . Al menos 20 neuronas PLTS registradas en fijación de corriente “*current clamp*” exhibieron actividad espontánea (6.4 ± 0.5 Hz). Asimismo, estas interneuronas presentaron un componente LTS y/o PLTS que fueron bloqueados por Co^{2+} .

El marcado con biocitina reveló que las interneuronas NGC, presentaron un diámetro de 12 – 15 μm en su soma, emitiendo 7 dendritas primarias. El axón se originó, tanto en el soma como en la dendrita primaria, mostrando una densa arborización que se extiende más allá del campo dendrítico de la interneurona. Mientras que las interneuronas PLTS, su soma fue de 15-19 μm de diámetro, emitiendo de 2 – 4 dendritas primarias. El origen de su axón fue en el soma, presentando una pobre arborización cercana y lejana al soma, extendiéndose lejos de su origen de manera lineal. Todas las interneuronas eGFP-NPY, exhibieron en sus dendritas varicosidades y de manera escasa espinas que se encontraron dispersas en su árbol dendrítico.

Estos datos muestran que hay dos poblaciones distintas de interneuronas NPY en el estriado. Las interneuronas PLTS, exhibieron inmunoreactividad a NPY/NOS/SOM, que esta de acuerdo con reportes previos (Kawaguchi, 1993). En contraste, las interneuronas NGC difieren electrofisiológicamente, morfológica y neuroquímicamente de las células PLTS y representa un nuevo subtipo de interneuronas del estriado NPY.

Con el apoyo de NS034865, NS052370, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (OIS) y la Rutgers University.

C26

REGULACIÓN DE LA CLAUDINA 2 INDUCIDA POR EGF

VICKY GARCÍA HERNÁNDEZ¹, RUTH RINCÓN HEREDIA¹, RUBÉN GERARDO CONTRERAS PATIÑO¹

¹Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. Av. IPN 2508, Col. San Pedro
Zacatenco, CP 07360 Del. G.A. Madero.

Los epitelios constituyen capas de células que ajustan su permeabilidad a diversas condiciones fisiológicas y patológicas. La unión estrecha (UE) sella el espacio intercelular entre las células epiteliales y regula el transporte a través de la ruta paracelular. Esta unión consiste de una diversidad de proteínas entre las que destacan las transmembranales denominadas claudinas porque, dependiendo del tipo y cantidad que las células expresen, determinan la selectividad y permeabilidad paracelulares. La UE es sensible a factores del medio, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF). Este factor disminuye la permeabilidad paracelular de monocapas de células epiteliales renales MDCK en cultivo, parámetro que evaluamos midiendo la Resistencia Eléctrica Transepitelial (RET). El cambio en la permeabilidad se debe a que el contenido celular de claudina (cldn)-4 aumenta y el de cldn-2 disminuye. Actualmente investigamos cómo el EGF regula la expresión de la cldn-2. Hemos demostrado que el EGF induce la endocitosis de la cldn-2 de la membrana a través de la activación de c-Src y PKC, pues los inhibidores de estas cinasas (PP2 y Gö6983, respectivamente) provocan la retención de la cldn-2 en la membrana. La endocitosis de la cldn-2 es inhibida con Dynasor, el inhibidor de la dinamina, la GTPasa que fisiona las vesículas recubiertas de clatrina, lo que demuestra que esta GTPasa está involucrada en la respuesta de las células al EGF. Tal como se ha descrito para otras claudinas, la 2 se degrada en el lisosoma pues es sensible al NH₄Cl. Sin embargo aquí mostramos que el inhibidor del proteasoma MG132 impide que la cldn-2 se endocite en respuesta al tratamiento con EGF, evidenciando que este organelo juega un papel en la degradación de la claudina. c-Src podría activar la endocitosis fosforilando directamente a la cldn-2, posibilidad que es apoyada por el hecho de que esta proteína presenta un nivel normal de fosforilación en tirosinas que disminuye con el EGF. También es posible que la PKC actúe sobre ZO-2, proteína del andamio que une y estabiliza a la cldn-2 en la membrana plasmática, pues el EGF aumenta la cantidad de ZO-2 fosforilado en serinas y asociado a la cldn-2, según se observa en los inmunoprecipitados. Aún nos falta aclarar que isoforma de PKC es la involucrada en los efectos provocados por el EGF y que tirosina específica del carboxilo terminal es la que se defosforila durante la endocitosis y degradación de la cldn-2.

C27**INTERNALIZATION MECHANISM OF TIGHT JUNCTION PROTEINS INDUCED BY OUABAIN.**

RINCON-HEREDIA, R.¹, FLORES-BENITEZ, D.², BONILLA-DELGADO, J.³, GARCIA-HERNANDEZ, V.², LARRE, I.², CEREJIDO, M.² AND CONTRERAS, R.G.^{2*}

¹Department of Pharmacology. ²Department of Physiology, Biophysics and Neurosciences. ³Department of Genetics and Molecular Biology. Center for Research and Advanced Studies (CINVESTAV), Mexico

Na⁺/K⁺-ATPase is a multifunctional membrane enzyme that, besides a very well known ion pump, is a cell-cell adhesion molecule and the receptor of digitalis that transduces regulatory signals for cell adhesion, growth, apoptosis, motility and differentiation. We have previously shown that a prolonged ouabain blockade of Na⁺/K⁺-ATPase detaches cells from each other and from the substrate. In this work we investigated the cellular mechanisms involved in Tight Junctions (TJs) aperture by toxic levels of ouabain (OUA) in epithelial cells. We incubated mature monolayers of MDCK cells plated on polycarbonate filters with media containing 300 nM OUA. This drug induces a progressive decrease of the Transepithelial Electrical Resistance that is delayed if inhibitors of the epidermal growth factor receptor, cSrc and ERK1/2 kinases (PD153035, PP2 and PD98059, respectively) are added to the medium. TJs' aperture depends on two mechanisms. First OUA induces the endocytosis of membrane TJs' proteins claudin (cln) 2 and 4 and occludin (occl) as well as the internalization of the intracellular TJs' protein ZO-1. Second, OUA decreases the cellular content of these proteins. Endocytosis and degradation require specific signaling pathways. Thus, degradation of cln-4 and occl depend on ERK1/2 activation, while that of cln-2 does not. Interestingly OUA up regulates mRNA of cln-4 and occl but not cln-2. These results show that OUA modifies differentially each TJs' protein.

C28

ORGANIZACIÓN DEL SINCICIUM VENTRICULAR DEL CORAZÓN DE MAMÍFERO EN CONDICIONES DE SALUD Y ENFERMEDAD.

MÁRQUEZ-RAMÍREZ AL; SANDOVAL-CHAVIRA E; ANDRADE-ZAPATA JC; DE LA PEÑA-GERESANO A; RAMÍREZ-MARTÍNEZ M; VÁSQUEZ-APODACA RA; FÉLIX-DURÁN F; RODRÍGUEZ-SILVA S; MONTOYA-DOMÍNGUEZ MO; IBARRA-RETANA BH; TORRES-JÁCOME J; BERRA-ROMANI R Y HERNÁNDEZ-GARCÍA V. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
vicherna@uacj.mx; eureka50@hotmail.com

En nuestro laboratorio, estamos interesados en el análisis electrofisiológico de las propiedades pasivas y activas del sincicio muscular ventricular cardiaco, tanto en organismos sanos como en modelos experimentales inducidos con algunas de las patologías más frecuentes. En tales experimentos, cuantificamos los valores de resistencia de entrada y la corriente umbral mínima necesaria con pulsos intracelulares para iniciar potenciales de acción propagados. Los resultados obtenidos en organismos sanos, indican que la geometría de organización del miocardio ventricular del mamífero es irregular; en términos de la resistencia de entrada y la corriente umbral. Por tanto, si la organización estructural y funcional de los tejidos ventriculares del corazón en organismos sanos es heterogénea; entonces, bajo condiciones patológicas específicas de hipotiroidismo; diabetes insulino-dependiente; hipertiroidismo e hipertensión arterial la heterogeneidad se acentuará y aumentará la vulnerabilidad del corazón para presentar actividad arritmogénica.

Los experimentos se realizaron en músculos papilares aislados obtenidos de corazones de ratas normales y con las patologías mencionadas; superfundidos con solución oxigenada de Tyrode, a 37^oC. Las preparaciones se activaron rítmicamente mediante electrodos de estimulación externa a un ciclo básico de 500 mseg. Para explorar la propagación de respuestas tempranas, el tejido se estimuló de manera regular y a cada ocho estímulos básicos se introdujo un pulso de prueba. Se utilizaron métodos convencionales de electrofisiología para microelectrodos.

La duración de los potenciales de acción y el periodo refractario absoluto de los músculos papilares de ratas con estas patologías, fueron mayores que los obtenidos en ratas normales. La distribución de la resistencia de entrada y umbrales intracelulares siguen el mismo comportamiento en ambos grupos experimentales; no obstante, en las preparaciones con patologías se encontraron zonas con valores de resistencia de entrada relativamente altos y con menores umbrales intracelulares. La propagación de las respuestas prematuras ocurre con actividad re-entrante simple o múltiple, en los sitios donde se presentan mayores resistencias de entrada que se encuentran en contacto con los sitios de resistencia de entrada menor.

Concluimos que: 1. En ratas con hipotiroidismo, diabetes insulino-dependiente, hipertiroidismo e hipertensión arterial, el sincicio ventricular atraviesa por modificaciones estructurales, quienes originan una mayor irregularidad funcional a la encontrada en situaciones normales. 2. La propagación de las respuestas prematuras se hace aun más crítica y ocurren bloqueos en la conducción. 3. Las modificaciones multifactoriales, estructurales-funcionales, obtenidas en estas patologías pueden ser el sustrato esencial para que estos corazones muestren actividad eléctrica arritmica.

C29

EFFECTO DE LOS PÉPTIDOS A β (1-42), (3-42) Y (11-42) EN LOS TRANSITORIOS DE CALCIO INDUCIDOS POR LA ACTIVACIÓN DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS EN LA LÍNEA CELULAR SH-SY5Y.

EDUARDO VERA, ROSANA FIORENTINO, JOSÉ LUNA, RAÚL MENA Y UBALDO GARCÍA. Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN

La acumulación de los péptidos β -amiloides (A β) en el espacio extracelular del tejido cerebral es el evento crítico en su patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (EA). Los péptidos A β son producidos y secretados por neuronas en su forma soluble (conformación monomérica) y se agregan formando oligómeros, protofibrillas y fibrillas; la acumulación de estas formas de manera dependiente de la concentración les confiere toxicidad. La hipótesis general de la (EA) propone que el exceso de péptidos A β causan i) la unión a receptores de membrana afectando su funcionamiento (Wang et al., 2004), ii) interfieren con las cascadas de señalización (Garrido et al., 2002; Maccioni et al., 2001; Daniels et al., 2001) o iii) directamente alteran la permeabilidad de la membrana plasmática causando la formación de poros que alteran la homeostasis iónica formando canales de calcio que inducen la muerte celular (Arispe et al., 1994; Sepúlveda et al., 2010). En el presente trabajo, nos hemos planteado como hipótesis que la exposición breve a los diferentes péptidos que forman las placas A β es capaz de modificar la concentración intracelular de calcio libre ($[Ca^{2+}]_i$) y/o aumentar los transitorios de calcio provocados por la activación de receptores colinérgicos de tipo muscarínico que expresan las células SH-SY5Y derivadas de un neuroblastoma humano. Utilizando la técnica de microfluorimetría determinamos la $[Ca^{2+}]_i$ basal en células únicas con tres días cultivo (80 ± 15 nM, $n=280$, promedio \pm SD) y durante la exposición por 30 minutos a los péptidos A β (1-42), (3-42) y (11-42) disueltos en solución Krebs-Ringer y a una concentración 10 μ M en cada caso. Como ninguno de los péptidos modificó de manera significativa la $[Ca^{2+}]_i$ basal, ya sea por que las proteínas u organelos capaces de unir Ca^{2+} amortiguaran de manera rápida y eficiente la entrada capacitativa de Ca^{2+} , entonces decidimos probar si los péptidos eran capaces de perforar la membrana en el modo de "cell attached" de la técnica de fijación de voltaje en célula completa. Aplicamos pulsos de voltaje de 5 mV (60 Hz) y medimos la corriente capacitiva debida a la micropipeta de registro, en sellos estables, después de 30 minutos, ninguno de los péptidos modificó la amplitud o curso temporal de las corrientes mencionadas, lo que nos permite sugerir que los agregados peptídicos utilizados no actúan como agentes formadores de poros como es el caso de la gramicidina y la anfotericina.

La línea celular SH-SY5Y expresa receptores colinérgicos muscarínicos de manera endógena, con la utilización de anticuerpos dirigidos contra las isoformas que se expresan preferentemente en tejido neuronal, determinamos que el tipo predominante es M3; se trata entonces de un receptor del tipo Gq, cuya activación estimula a la fosfolipasa C para la formación de fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP2), que produce diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5 trifosfato (IP3) que es liberado como una estructura soluble al citoplasma y se une al receptor de IP3 que es un canal de Ca^{2+} localizado en el retículo endoplásmico. Entonces, la aplicación de pulsos de carbacol (agonista muscarínico) a las células SH-SY5Y provocó transitorios de Ca^{2+} cuya amplitud y curso temporal fueron dependientes de la concentración y del tiempo de exposición. De forma consistente en las células preincubadas durante 30 minutos con los diferentes agregados A β , la aplicación de un nuevo pulso de carbacol incrementó la amplitud y alargó el curso temporal de los transitorios de Ca^{2+} que fueron cuantificados midiendo el área bajo la curva. Estos resultados sugieren un posible aumento en la producción de IP3 y mayor liberación de Ca^{2+} a partir del retículo endoplásmico. Sin embargo, hacen falta experimentos donde se bloquee la posible interacción de los péptidos A β con los receptores M3.

C30

EXPRESIÓN DE GABA Y GAD EN EL SISTEMA ÓRGANO X – GLÁNDULA SINUSAL DEL ACOCIL: INHIBICIÓN MEDIADA POR GABA ENTRE NEURONAS DEL ÓRGANO X.

PAOLA PÉREZ-POLANCO ¹, JULIETA GARDUÑO TORRES ³, JORGE CEBADA RUIZ ⁴, NATANAEL ZARCO SALINAS ¹, JOSÉ SEGOVIA VILA ¹, MÓNICA LAMAS GREGORI ² Y UBALDO GARCÍA HERNÁNDEZ ¹.

Departamentos de Fisiología, Biofísica y Neurociencias (1) y Farmacobiología (2) del CINVESTAV-IPN. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM (3). Escuela de Biología de BUAP (4).

En crustáceos el sistema órgano X - glándula sinusal (OX-GS) está formado por dos poblaciones neuronales que producen dos familias de neuropéptidos: la familia de la hormona hiperglicemiante de crustáceos (CHH) y la familia de la hormona adipocinéctica/hormona concentradora del pigmento rojo (AKH/RPCH). En base a evidencias electrofisiológicas, se ha propuesto que el ácido gamma aminobutírico (GABA) regula la actividad eléctrica y secretora del sistema OX-GS. En este trabajo observamos que la actividad eléctrica espontánea del sistema OX-GS es inhibida por la activación neuronal inducida por la inyección de corriente despolarizante en las neuronas localizadas en la cara externa del OX (neuronas han sido identificadas como productoras de CHH). La perfusión de picrotoxina (50 μ M) bloqueó de manera reversible el efecto provocado por la activación neuronal, sugiriendo que las neuronas estimuladas liberan GABA y provocan inhibición a las células vecinas. Con la técnica de inmunoperoxidasa y en cortes seriales del OX encontramos colocalización de GABA y de la glutamato descarboxilasa (GAD) en las neuronas de la cara externa del OX y mediante inmunofluorescencia en preparaciones completas observamos que dos subpoblaciones de neuronas productoras de CHH colocalizan con GABA. Determinamos la expresión del ARNm de GAD en tejido muscular de acociles y en neuronas del OX en cultivo a través de RT-PCR. El análisis bioinformático demostró que dentro de la región amplificada un 90.4% corresponde a la secuencia consenso y el 41.9% es idéntico a nivel de amino ácidos cuando se comparan con las secuencias reportadas para *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*. Con estos resultados sugerimos que las neuronas que contienen GABA y producen CHH pueden regular la excitabilidad de otras neuronas del OX.

C31

EFFECTO DE LA CAPSAICINA EN LAS CORRIENTES IÓNICAS DEPENDIENTES DE VOLTAJE.

SAÚL RÍOS, ROSANA FIORENTINO Y UBALDO GARCÍA.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

La capsaicina (8-metil-N-vanilil-6-nonenamida) es el principio activo de los pimientos picantes del género *Capsicum*. Se trata del agonista mejor caracterizado de los canales TRP (Transient Receptor Potencial) que son activados por temperaturas superiores a 45°C (TRPV1). Hasta la fecha existen pocos reportes acerca de sus efectos sobre canales iónicos sensibles a voltaje. En el presente trabajo, describimos el efecto de la capsaicina en el curso temporal de los potenciales de acción, así como en las corrientes de sodio, calcio y potasio presentes en las neuronas del órgano X del acocil *Procambarus clarkii*.

En células del órgano X con 24 horas de cultivo y en condiciones de fijación de corriente, la perfusión de capsaicina provocó: *i*) depolarización sostenida (≤ 15 mV) asociada a una caída de la resistencia de entrada, *ii*) incremento de la frecuencia disparo, *iii*) reducción progresiva de la amplitud de los potenciales de acción, *iv*) incremento progresivo de su duración. El efecto de la capsaicina sobre la morfología de los potenciales de acción se evaluó a los 75 s de exposición; la amplitud de los potenciales de acción decreció de 52 ± 2 mV a 36 ± 4 mV (medidos de -20 mV al pico) y la duración se alargó de 18 ± 4 ms a 40 ± 12 ms medidos a -20 mV ($n=9$, promedio \pm desviación estándar).

En condiciones de fijación voltaje en célula completa, la perfusión de capsaicina a los valores de potencial de membrana en reposo, provocó una corriente entrante con curso temporal semejante a la despolarización sostenida; dicha corriente podría explicar la caída en la resistencia de entrada, pero no explica los cambios en la morfología de los potenciales de acción. Para evaluar los efectos de la capsaicina sobre las corrientes responsables de la actividad eléctrica, se aislaron las corrientes de Na^+ y Ca^{2+} , y las corrientes de K^+ de los tipos rectificador retardado (I_K) y transitoria (I_A).

La corriente de Na^+ redujo su amplitud en 25% y a juzgar por la cinética de las corrientes de cola, la capsaicina lentificó la constante de inactivación (τ) de 1.37 ± 0.7 ms a 3.12 ± 0.2 ms ajustadas con la ecuación de Boltzman. Ni la amplitud ni la cinética de la corriente de Ca^{2+} se modificó durante la perfusión de capsaicina; sin embargo la amplitud al pico de las corrientes salientes I_K e I_A redujo en 25%. Este conjunto de resultados, nos permiten explicar los efectos de la capsaicina sobre la morfología de los potenciales de acción.

C32**INFLUENCIA DE LOS ESTROGENOS APLICADOS EN EL NÚCLEO CAUDADO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS SOBRE EL APRENDIZAJE DE UNA TAREA DE PREVENCIÓN PASIVA**

AMPARO PONCE ARANGO, VIANHI GUADALUPE LÓPEZ RIOJA, ALFONSO GARFIAS ARVIZU. agarfias@up.edu.mx

Laboratorio de Neuroendocrinología, Escuela de Medicina, Universidad Panamericana. México D.F.

INTRODUCCION: La capacidad de aprendizaje y memoria, se encuentra presente en todos los organismos a lo largo de las distintas escalas evolutivas. Estudios en roedores y primates no humanos indican que diversas formas de aprendizaje se sustentan en distintas estructuras cerebrales formando sistemas separados. Hay datos experimentales que indican que los estrógenos contribuyen en el desarrollo y maduración de estructuras cerebrales relacionadas con el aprendizaje, memoria visuoespacial, razonamiento abstracto, procesamiento de la información (9,10). La menopausia, el aumento en la esperanza de vida de las mujeres, a puesto de manifiesto la importancia de prevenir el deterioro cognitivo que se observa aún en la vejez saludable; y de comprender mejor el papel que juegan los estrógenos en los mecanismos de memoria y aprendizaje.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se usaron ratas Wistar hembras de 250-359 g, con libre acceso a comida y agua y mantenidas en cajas individuales. La ovariectomía se realizó dorsalmente, extrayendo ambos ovarios, comprobándose mediante frotis vaginal 1 mes después. La prueba de prevención pasiva consistió en colocar al animal en una caja con dos compartimentos, el primero conocido como compartimento de seguridad (CS) tiene un piso cuadrado y el animal permanece ahí 10 seg, después de lo cual se le permite el acceso a través de una puerta de guillotina, al compartimento de castigo (CC), donde el animal recibe un choque eléctrico en las patas durante 5 seg, permitiéndole entonces escapar. Se registra el tiempo que tarda en cruzar del CS al CC y se designa como latencia de adquisición (LA); también se registra el tiempo que tarda en escapar del CC al CS y se le conoce como latencia de escape (LE). a las 24 hrs se repite la prueba y se mide el tiempo que tarda en pasar el animal del CS al CC. Si el animal no cruza del CS al CC tras 600 seg, se da por concluida la prueba. A este tiempo se le denomina latencia de retención (LR) e indica que el animal aprendió y recuerda la prueba y para este estudio sólo se usó esta latencia (LR). La prueba estadística usada fue de Kruskal-Wallis con una $p < 0.05$. Las cánulas (8mm x 0.2 mm DI) ubicadas intracaudado, se colocaron por medio de un estereotáxico con las siguientes coordenadas: ant = bregma; lat = -3.0; y alt = -3.5. todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron bajo anestesia con pentobarbital sódico a una dosis de 45 mg/kg de peso y después de cada uno, se aplicó penicilina procaínica IM (5,000 U/kg). Los animales se dejaron recuperar 5 días después de la colocación de las cánulas.

RESULTADOS: En el grupo sin ningún tipo de manipulación quirúrgica o farmacológico (Ctrl-Int); o cuando se colocó una cánula en el núcleo caudado (NC) (Ctrl Qx), no hubo diferencia en la LR a las 24 hrs, Sin embargo en las ratas ovariectomizadas (Ovx) hubo que esperar tres meses para observar el deterioro en la LR a las 24 hrs (22 seg en la LR). En las ratas Ovx, se les colocó una cánula intracerebral 3 meses después. 5 días después de su recuperación se les sometió a la misma prueba. Los valores obtenidos en la LR se incrementaron hasta 125 seg en promedio, sin embargo este incremento, al igual que el grupo anterior no es estadísticamente significativo ($p < 0.05$), cuando se comparan con los controles íntegro y quirúrgico. Se comprobó también que la inyección del vehículo (Ovx 3/m-aceite) a través de la cánula no provocó ninguna alteración en la LR manteniéndose en niveles de 140 seg. Al grupo de prueba (Ovx 3/m/Estrog), con el mismo procedimiento anterior, se le aplicó diferentes concentraciones de estrógenos intracaudado. y se revirtió el déficit inducido por la Ovx. Cuando se aplicó 500 y 50 μM de estrógenos, la LR se recuperó a valores como los obtenidos en los animales CI y Ctrl-Qx. Cuando se disminuyó la dosis de estrógenos a 5 μM , la LR se recuperó en menor medida (300 msec, en promedio) y cuando se redujo aún más la dosis de estrógenos (0.05 μM), la LR se deterioró a valores de 22 seg en promedio. Esto indica que existe un umbral mínimo de estrógenos necesario para retener a largo plazo la prueba aprendida.

CONCLUSIONES: Los animales ovariectomizados, manifiestan un déficit en la retención de una tarea de prevención pasiva medida a las 24 hrs sólo después de 3 meses. Este deterioro en la retención de la prueba es revertido por la aplicación de estrógenos en núcleo caudado. La recuperación de la retención es dosis dependiente. Se evidencia el efecto directo de los estrógenos sobre el núcleo caudado. Sin embargo no se puede descartar que participen en otros sitios.

C33**EFFECTO DEL INMUNOMODULADOR FL6 EN DOS MODELOS DE ENFERMEDAD AUTOIMMUNE.**

ULISES OSUNA MARTÍNEZ, CARLOS A. ARJONA CANAL, LOURDES RODRÍGUEZ FRAGOSO, JORGE REYES ESPARZA (JAREYES@UAEM.MX).

Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

En varias enfermedades se ha identificado un defecto en el complejo proceso de control de la expresión y producción de citocinas como uno de los mecanismos fisiopatológicos involucrados. Una pérdida de la regulación de la secreción de citocinas pro-inflamatorias ha sido señalado como la principal alteración presente en ciertas patologías como las enfermedades autoinmunes. Se ha reportado que los agentes inmunomoduladores poseen efectos anti-inflamatorios. Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por presentar inflamación crónica, la cual conduce a destrucción y reparación tisular, y en algunos casos a fibrosis. Las terapias para la inflamación crónica de origen autoinmune se han enfocado al tratamiento de los síntomas. Los agentes inmunosupresores que se utilizan para tratar la inflamación autoinmune se enfocan a la respuesta de las células del sistema inmune o las citocinas que ellas producen y son sólo parcialmente efectivos, paliativas y tóxicas.

El objetivo del presente estudio fue estudiar el efecto inmunomodulador del FL6 sobre dos modelos murinos de enfermedad autoinmune: hepatitis autoinmune y artritis autoinmune.

La hepatitis autoinmune se indujo por la administración ip de suero porcino durante 30 días y se continuo 30 días más para mantenerla. Este modelo se caracteriza por una inflamación del tejido hepático, incremento de las transaminasas hepáticas y desarrollo de fibrosis a los 60 días. La presencia de hepatitis crónica se evaluó mediante pruebas de funcionamiento hepático. La fibrosis hepática se cuantificó mediante la tinción tricrómica de Masson. Por otro lado, la artritis autoinmune se indujo por la administración de dos dosis de colágena bovina tipo II a ratas jóvenes, la primera junto con adyuvante completo de Freund, la segunda incompleto. Este modelo se caracteriza por un incremento en el volumen de las articulaciones metacarpianas y metatarsianas de los animales que se presenta a los 15 días y un incremento de los espacios articulares. La presencia de artritis autoinmune se evaluó mediante análisis radiográfico. El FL6 se administró a la dosis de 100 ng/Kg ip, cada tercer día, tres veces a la semana por 30 días para el caso de la hepatitis y artritis.

La administración de FL6 durante los 30 días de mantenimiento de la hepatitis produjo una disminución de los niveles séricos de las transaminasas (ALT y AST), sin modificar la fosfatasa alcalina (FA) ni la gama glutamil transpeptidasa (GGT). Esto indica un menor daño a nivel de los hepatocitos. Histológicamente, los grupos tratados presentaron una menor inflamación y fibrosis hepática. Investigamos el efecto del FL6 sobre los niveles séricos de las citocinas IL-6 e IL-10, en los animales con hepatitis autoinmune tratados y no tratados, observándose una disminución en los niveles séricos de IL-6, y un incremento en IL-10, probablemente este incremento haya sido causado por la administración de FL6, y la disminución de IL-6 sea respuesta al incremento de la citocina anti-inflamatoria.

En el caso del modelo de artritis, el 50% de los animales tratados con FL6 mostraron una disminución de la inflamación de entre el 50 y 100 %. Radiológicamente se observó una disminución en el volumen de las zonas medidas y de los espacios articulares.

En resumen, los resultados muestran que el tratamiento con FL6 disminuyó la inflamación crónica de origen autoinmune, en el tejido hepático y las articulaciones. En el caso de la fibrosis hepática este efecto pudo ser debido por incrementar la producción de IL-10, una citocina anti-inflamatoria. No se descarta la posibilidad que en el tejido articular el efecto anti-inflamatorio sea a través del mismo mecanismo. El FL-6 puede ser un agente terapéutico para las patologías autoinmunes.

C34**CANALES TRP EXPRESADOS EN LAS CÉLULAS DE EPITELIO CORNEAL RCE1 Y SU POSIBLE PARTICIPACIÓN EN LA PROLIFERACIÓN CELULAR.**JACQUELINE MARTÍNEZ RENDÓN¹, ERICA SÁNCHEZ GUZMÁN², FEDERICO CASTRO MUÑOZLEDO² Y REFUGIO GARCÍA VILLEGAS¹.¹Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias y ²Depto. de Biología Celular, CINVESTAV-Zacatenco. jamare@fisiolo.cinvestav.mx

Los canales iónicos regulan el flujo de iones a través de la membrana celular, además de conferir las propiedades eléctricas de las células también se ha descrito que controlan procesos celulares como migración, proliferación y apoptosis. En este trabajo nos interesa identificar canales iónicos importantes para la proliferación de la línea celular RCE1, derivada de epitelio corneal de conejo, la cual reproduce *in vitro* las primeras etapas de diferenciación de este tejido.

En estudios previos, observamos que el TEA (bloqueador general de canales de K⁺) a 10 mM inhibe la proliferación de las células RCE1, sugiriendo el requerimiento de algún canal de K⁺ en el proceso. Por otro lado, se encontró la expresión de los RNAm de los canales de potasio Kv1.1 y Kv3.4. Para averiguar si alguno de estos canales es requerido durante la proliferación, se realizaron cinéticas de crecimiento en presencia de margatoxina (inhibidor de los canales Kv1.1 y Kv1.3), α -dendrotoxina (inhibidor de Kv1.1 y Kv1.6) y 4-AP (4-aminopiridina, inhibidor de canales Kv). Observamos que 4-AP a 1 mM inhibe el crecimiento de las células RCE1, mientras que margatoxina y α -dendrotoxina no presentan efecto, lo que sugiere que Kv1.1 y Kv3.4 no estarían involucrados en la proliferación de RCE1.

Dado que los canales de la familia TRP (por sus siglas en inglés, Transient Receptor Potential), también son bloqueados tanto por TEA como por 4-AP, aunado a reportes en la literatura que demuestran la expresión de canales TRP en epitelio corneal, se decidió evaluar su posible participación en la proliferación de las células RCE1. Se midió la cinética de crecimiento de estas células en presencia de rojo de rutenio (RR), capsazepina (antagonista de los canales TRPV1 y TRPM8), capsaicina (activador de TRPV1 y TRPV4) y mentol (activador de TRPM8). Observamos que RR a 50 μ M disminuye la proliferación y produce cambios morfológicos que sugieren diferenciación. Mientras que capsazepina a 50 μ M entorpece la cinética de crecimiento. Por otro lado, la capsaicina afecta la velocidad de crecimiento de las células RCE1 de forma diferencial dependiendo de la concentración: a 200 μ M la reduce mientras que a 7.5 μ M acelera el crecimiento. Por otra parte el mentol a 10 μ M acelera la cinética de crecimiento. Estos resultados sugieren que los canales TRPV1, TRPV4 y TRPM8 podrían estar involucrados en la proliferación de células RCE1. Al momento hemos confirmado la expresión de los RNAm de los canales TRPV1 y TRPV4 en nuestro modelo celular y se ha iniciado el estudio del mecanismo por el cual afectarían el crecimiento celular y si también participan en la diferenciación del epitelio corneal.

C35**DIFFERENTIAL EFFECTS OF ACUTE ALCOHOL ON THE VISUAL EVOKED POTENTIALS AND REACTION TIME**

*O. H. HERNANDEZ, V. MONTEON_PADILLA, R. LOPEZ-ALCANTARA, R. GARCIA-MARTINEZ, T. DZIB-CAAMAL.

Univ. Autónoma Campeche, Campeche, Mexico

To establish a “legal driving limit” of 80 mg of alcohol per 100 ml of blood implies that it may be relatively safer to drive at lower blood alcohol concentrations (BACs). However, reviews have suggested that the BAC thresholds for the onset of sensory, cognitive and motor impairment might differ from that value. Premotor (cognitive) reaction time (PMRT) is the amount of time required to perceive and interpret the stimulus and decide on a response, and motor reaction time (MRT) is the elapsed time for the muscular response. Evidence showed that the PMRT is more sensitive than the MRT to acute alcohol consumption and the visual is more sensitive than the auditory or somatosensory systems. Nevertheless no research has simultaneously tested the effects of acute alcohol on the cognitive and motor RT fractions and a sensory system. Here it is hypothesized that a moderate dose of alcohol will impair visual evoked potentials (VEPs) at BAC levels that do not yet affect the RT fractions. 30 male college volunteers were randomly assigned to one of three groups (n=10) of Placebo, 0.4 and 0.6 gr/kg of alcohol. Each visual stimulus was delivered randomly in an interval of 5 seconds (test=120 stimuli) by a pattern generator with a black-and-white checkerboard in a reversal mode. EEG electrodes were attached to scalp in a conventional array according to international 10-20 system to get the P100 of the VEPs. EMG electrodes were attached to right deltoid muscle to separate premotor and motor RT fractions. PMRT was measured by the time of the visual stimulus and the EMG firing. MRT was measure by the time between EMG firing and the key release. The first test was alcohol-free (Baseline) and the second test occurred just after the drink (Treatment). BAC measures were taken every 10 min. On each test the PMRT, MRT and the VEP latency were averaged on the trials. The effects of the treatments were determined by subtracting the Baselines scores from the Treatment scores. No group effects were observed under the Baseline trials. The Treatment effects were very significant to P100 latency under 0.6 gr/kg dose compared to placebo ($p<.002$). This effect was not seen at 0.4 gr/kg dose. The paired-T test showed no effects in the change of either PMRT or MRT between placebo and alcohol groups. These results showed that some impairment has occurred at the level of sensory systems even when the RT is normal. More research to establish the correct “legal driving limit” is suggested.

C36

LA DESTRUCCIÓN BILATERAL DEL GLOBO PÁLIDO MODIFICA LA CATALEPSIA INDUCIDA POR HALOPERIDOL.

JOSÉ RENATO MARTÍNEZ-ESCUADERO, RAFAEL BARRIENTOS Y ENRIQUE QUEREJETA.

Sección de Posgrado e Investigación. ESM-IPN.

El bloqueo de receptores dopaminérgicos mediante neurolépticos (NLPs) en el tratamiento de la esquizofrenia ha sido ampliamente aceptado. Una de las limitaciones de su uso es la aparición de alteraciones motoras (Janno y cols. 2004; Kane 2011). Las alteraciones motoras por NLP se atribuyen al bloqueo de receptores dopaminérgicos en el cuerpo estriado (Carlsson 1992). No obstante se han demostrado vías dopaminérgicas extraestriales que inervan a los ganglios basales (GB) (Cebrián y Prensa 2010; RommelfangeryWichmann 2010). Destaca la inervación dopaminérgica que recibe el globo pálido (GP) a través de la vía nigro-palidal (Lindvall y Björklund 1979; Gasca-Martínez y cols. 2010) pues el GP coordina la actividad global de los GB a través de proyecciones gabaérgicas (Kita 1994 y 2010). La actividad de las neuronas palidales depende de la activación de receptores dopaminérgicos D1 y D2 (Dejean y cols. 2011). En modelos animales de enfermedad de Parkinson y en parkinsonicos la actividad de las neuronas del GP disminuye (Tremblay y cols. 1989; Fillion and Tremblay 1991; Magnin y cols. 2000).

Por otra parte, existen diversos modelos animales para el análisis de problemas motores. En roedores el bloqueo farmacológico de los receptores dopaminérgicos del subtipo D2 produce un estado cataleptico que se considera como un modelo de Parkinsonismo inducido por NLPs (Boulay y cols., 2000). El empleo de NLPs tales como clorpromazina, flufenazina, haloperidol y raclopride provoca un estado cataleptico en la rata dosis dependiente (O'conor y cols. 1998; Wadenberg y Ahlenius 1995; Wadenberg y cols. 1999). En el presente trabajo analizamos las modificaciones en la catalepsia inducida por la aplicación sistémica de haloperidol en ratas con lesión bilateral del globo pálido y en aquellas con lesión bilateral del cuerpo estriado.

C37**COSAS QUE HACEN LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS EN EL GLOBO PÁLIDO.**

ALBERTO ALATORRE, ALAIN RÍOS Y ENRIQUE QUEREJETA.

Sección de Posgrado e Investigación. ESM-IPN.

El globo pálido (GP) tiene una importante participación en la actividad global de los ganglios basales (GB). A través de proyecciones gabaérgicas, el GP controla la actividad de los núcleos que conforman a los GB. La actividad del GP depende de diversos factores que incluyen vías aferentes y colaterales recurrentes. Aunque existe evidencia de vías colinérgicas provenientes del tallo cerebral, además de neuronas palidales que expresan colina acetil-transferasa y la presencia de receptores muscarínicos, el papel de la acetilcolina (ACh) en los receptores muscarínicos no ha sido explorado. Estudios de hibridación *in situ* han mostrado ARNm para receptores muscarínicos en el estriado pero no en las neuronas palidales.

En el presente trabajo examinamos el efecto de la activación local bloqueo de los receptores muscarínicos en la actividad eléctrica de las neuronas palidales registradas *in vivo* mediante técnicas convencionales de registro unitario en ratas normales y ratas con lesión ipsilateral del estriado. Nuestros resultados indican: 1) existe una entrada colinérgica tónica en el GP, 2) la activación local de receptores muscarínicos produce efectos heterogéneos en ratas normales y lesionadas, 3) en ratas normales la respuesta evocada depende de la frecuencia de disparo previa a la activación de los receptores muscarínicos: neuronas con disparo basal por arriba de 40 espigas/seg presentan inhibición; este efecto no se observa en ratas lesionadas, 4) el porcentaje de inhibición es menor en ratas lesionadas y, de la misma manera, 5) el porcentaje de neuronas que se inhibieron fue menor en ratas lesionadas.

Los datos indican que la modulación de los receptores muscarínicos en el GP depende de la frecuencia de disparo basal y de la integridad de la vía estriado-palidal.

C38

CORRIENTES DE CLORO EXPRESADAS EN OVOCITOS DE RANA XENOPUS LAEVIS TRAS LA INYECCIÓN DE RNAM DE CISTICERCOS DE *Taenia crassiceps*.

ARTURO PONCE^{1*}, KATE WILLMS², RICARDO VALDEZ¹, MARTA ROMANO¹.

1 Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias

2 Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, Mexico *
aponce@fisio.cinvestav.mx

Taenia es un género de platelmintos parásitos de la clase *Cestoda* que han evolucionado como parásitos de una gran variedad de vertebrados. Tienen un ciclo de vida que comprende varias especies de huéspedes y que comienza por la ingestión de huevos por un huésped intermedio, donde se desarrollan hasta alcanzar la fase larvaria, invadiendo músculo y otros tejidos. La fase adulta es completada en un huésped definitivo tras comer carne cruda infectada. Su estudio es de interés principalmente porque algunas especies de este género como *Taenia Solium* o *Taenia Saginata* parasitan al ser humano, siendo un problema de salud, principalmente en países subdesarrollados. *Taenia crassiceps* es un parásito de zorras, como huésped definitivo y de ratones como huésped intermediario que, por sus semejanzas a *Taenia Solium* constituye un modelo experimental adecuado para comprender la biología de estos parásitos. Hasta el momento, a pesar de su interés, se sabe muy poco de la fisiología celular y molecular de estos parásitos y prácticamente nada acerca de qué tipo de canales iónicos expresan. Como primera contribución al estudio de canales iónicos de *Taenia* utilizamos el método de expresión en ovocitos de rana (*Xenopus laevis*). Para este fin aislamos y purificamos el RNA mensajero de cisticercos de *Taenia Crassiceps* y lo inyectamos en ovocitos maduros de *Xenopus*. Después de 24 horas de incubación ensayamos la expresión de corrientes iónicas con el método fijación de voltaje con dos electrodos. Los ovocitos inyectados con RNAm de *T. Crassiceps* expresaron corrientes salientes que se activan instantáneamente y se inactivan lentamente a potenciales más positivos que +40 mV, con un potencial de inversión de -23.2 ± 5 mV. Se trata de corrientes aniónicas, dado que su potencial de inversión no se afectó por cambios en la composición catiónica monovalente extracelular pero sí al reemplazar aniones externos. Dichas corrientes mostraron una secuencia de permeabilidad de $\text{NO}_3 > \text{Cl} > \text{I} \gg \text{Gluconato}$, también son dependientes de pH extracelular pero no de cambios en la osmolaridad externa. Dichas corrientes fueron inhibidas por los bloqueadores de canales de cloro DIDS, NPPB y ácido niflúmico pero no por 9-Antraceno.

C39

PROPIEDADES FUNCIONALES DEL FOTORECEPTOR CAUDAL DEL ACOCIL.

LEONARDO RODRÍGUEZ-SOSA*, GABINA CALDERÓN-ROSETE Y VÍCTOR ANAYA.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000. Ciudad Universitaria. 04510 México, D. F.

* Correspondencia (L. Rodríguez-Sosa). E-mail: lrsosa@servidor.unam.mx

En este trabajo se revisan brevemente las propiedades fisiológicas del fotoreceptor caudal (FRC) en el langostino de agua dulce (*Procambarus clarkii* y *Cherax quadricarinatus*), en el contexto de su papel funcional en los ritmos circadianos de este crustáceo. Se describe la fisiología celular del FRC, en el sexto ganglio abdominal (6° GA), una neurona a cada lado de este ganglio. El FRC es una neurona extra retiniana fotosensible que muestra una actividad espontánea en la descarga de potenciales de acción, y una actividad fásica-tónica en respuesta a un pulso de luz. A continuación comentamos sobre la influencia de la temperatura y las aminas biogénicas serotonina y la dopamina en la actividad eléctrica del FRC en el 6° GA aislado, registrado extracelularmente con el procedimiento electrofisiológico convencional. También se describe el ritmo circadiano, tanto en la actividad basal como en la fotorespuesta del FRC en el 6° GA aislado, en condiciones constantes de cultivo de órgano aislado. Con respecto a las principales características de estos ritmos, se establece que la actividad espontánea varía con un periodo de 24.7 horas; mientras que en la actividad inducida por la luz muestra un período de 24.24 h. Se examinan los efectos de lesionar o blindar el FRC en la actividad locomotora del acocil que muestra en el ciclo de 24 h, en condiciones de luz constante, mediante una videocámara y software. Ambos grupos experimentales de acociles muestran un cambio en el ángulo de fase de la ritmicidad circádica locomotora, con respecto al grupo testigo, y este efecto es dependiente del tiempo. Por último, se incluyen las perspectivas de la investigación sobre el FRC. En conjunto, estos datos sugieren que el fotoreceptor caudal es un candidato para formar parte de un sistema distribuido de marcapasos circadianos en el acocil. Además, estos datos apoyan la hipótesis que propone la participación del FRC en la sincronización de los ritmos circadianos en estos invertebrados.

C40

UNA NUEVA CONDUCTANCIA ANIÓNICA CLC-K EN CÉLULAS DEL CONDUCTO COLECTOR DE LA MÉDULA INTERNA RENAL.

MARTÍNEZ-MAYORQUIN RH, LARA-FIGUEROA CO, ARENAS G, MONROY F, MÉNDEZ-PÉREZ P, TAPIA D, GALARRAGA E, BOLÍVAR JJ.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM.

Correo electrónico: jjboliv@unam.mx

Usando la técnica de fijación de voltaje en célula completa (parche perforado) se estudiaron las corrientes aniónicas presentes en células (en cultivo primario) del conducto colector de la médula interna (IMCD) renal de rata. Se observó una corriente saliente (I_{ovt}) que se activa a potenciales despolarizantes en forma dependiente de tiempo. Estudiando la respuesta de I_{ovt} a una rampa de voltaje (de -60 a 60 mV) se observó que la conductancia que la origina muestra similar conductividad a los iones Cl^- y HCO_3^- . I_{ovt} pudo ser bloqueada por DIDS (1mM) o por furosemida (1 mM), que se ha descrito bloquean a los canales CIC-K1 y a los canales CaCC (dependientes de Ca^{2+} intracelular). I_{ovt} mostró una sensibilidad a pH y Ca^{2+} extracelulares similar a la descrita para conductancias mediadas por canales CIC-K: su conductancia pendiente disminuye al disminuir el pH o el Ca^{2+} extracelular, y se incrementa al aumentar el pH (esta respuesta a pH es contraria a la descrita para canales CaCC). En ausencia de bicarbonato, la substitución parcial del Cl^- extracelular por Br^- y I^- mostró una secuencia de conductividad $Br^- > Cl^- > I^-$, similar a la descrita en corrientes mediadas por canales CIC-K1. Estos resultados sugirieron que I_{ovt} puede ser mediada por un canal CIC-K1. El análisis de Western blot con anticuerpo CLC-K1 mostró el marcaje de una proteína de ~ 70 KDa (similar a lo reportado para la proteína CLC-K1) en muestras obtenidas de médula interna y de cultivos primarios. Estudios de inmunofluorescencia mostraron la presencia de inmunoreactividad CIC-K1 que colocaliza con la Na^+/K^+ ATPasa en células del IMCD en cultivo primario, y en la membrana basolateral del IMCD y de la porción delgada ascendente del asa de Henle (tAHL) “in situ”. Esto último es contrario a lo previamente reportado por otros investigadores que, en médula interna, encontraron marcaje CIC-K1 exclusivamente en tAHL. Esto nos llevó a realizar, en nuestros cultivos primarios, experimentos de inhibición de la expresión del gen CIC-K1 (“knock down”), mediante transfección con un siRNA dirigido contra CIC-Ka, homólogo humano del CIC-K1 de rata (84% de homología). Esta transfección no afectó la frecuencia de observación de I_{ovt} , ni afectó su conductancia cuerda promedio; y tampoco afectó el marcaje de la proteína de ~ 70 KDa que reacciona con el anticuerpo CIC-K1. Un estudio ulterior de substitución parcial del Cl^- extracelular por Br^- , I^- y NO_3^- mostró una secuencia de conductividad $Br^- > Cl^- > I^- > NO_3^-$, que es diferente a la observada en las corrientes mediadas por canales CIC-K1 ($Br^- > NO_3^- \geq Cl^- > I^-$) y CIC-K2 ($Br^- > I^- > Cl^-$). Estos resultados son contrarios a la hipótesis de que I_{ovt} sea mediada por canales CIC-K1, y sugieren que el anticuerpo CIC-K1 reacciona de manera cruzada con una proteína CIC-K aun no identificada; lo que nos lleva a proponer que I_{ovt} es mediada por un tipo no previamente descrito de canal CIC-K (¿CIC-K3?).



C41

MODULACIÓN DE LA EXCITABILIDAD DE LAS FIBRAS AFERENTES PRIMARIAS POR RECEPTORES GABA_A EXTRASINÁPTICOS EN LA MÉDULA ESPINAL DE LA TORTUGA.

LOEZA-ALCOCER E, CANTO-BUSTOS M, GONZÁLEZ-RAMÍREZ R, AGUILAR J, FELIX R, DELGADO-LEZAMA R.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

Los reflejos de la raíz dorsal (RRD) son potenciales de acción que se originan por la despolarización de las aferentes primarias (PAD o DRP, por sus siglas en inglés). La PAD esta mediada principalmente por la activación de receptores GABA_A activados por el GABA liberado de interneuronas gabaérgicas que establecen sinapsis axo-axonicas con las fibras aferentes. Los RRD se pueden propagar ortodrómicamente y antidrómicamente, los primeros despolarizan neuronas a nivel intraespinal y los segundos producen en la periferia la liberación de sustancia P y del péptido relacionado con el gen de la calcitonina, sustancias que juegan un papel importante en la hiperalgesia y la alodinia. En los mamíferos, los antagonistas de los receptores GABA_A, bicuculina y picrotoxina, bloquean la PAD (DRP) parcialmente. Sin embargo, no se conocen los posibles subtipos de receptores GABA_A que podrían estar participando en la producción de los RRD y del DRP. En esta investigación, se demostró que los RRD tienen las mismas propiedades que los registrados en mamíferos, como fueron depresión en función de la frecuencia de estimulación y la potenciación posttetánica. Además, se investigó la acción sobre los RRD y el DRP de picrotoxina y de L-655708, este último agonista inverso de alta afinidad por la subunidad α_5 . Se encontró que picrotoxina a concentración de 20 μ M deprime los RRD y del DRP en $87 \pm 2.5 \%$ y $46.4 \pm 1.5 \%$ ($n = 11$) respectivamente, sin embargo al incrementarse la concentración del antagonista a 100 μ M se produjo una depresión adicional del DRP de $38 \pm 2.7 \%$ ($n = 11$) y la completa eliminación de los RRD. Esto sugirió que los RRD así como la PAD podría estar mediada por la activación de receptores GABA_A sinápticos y extrasinápticos.

En otra serie de experimentos, se demostró que L-655708 también deprimió los RRD en $30 \pm 5.2 \%$ y el DRP en $20 \pm 3.2 \%$ ($n = 5$). Además utilizando la prueba de excitabilidad de Wall, L-655708 incrementó de manera tónica la excitabilidad de las aferentes primarias. Esto sugiere que L-655708 podría estar bloqueando sólo receptores GABA_A extrasinápticos conformados con la subunidad α_5 que estarían tónicamente activos en las fibras aferentes primarias. Adicionalmente, se demostró por estudios de RT-PCR y western blot la presencia del ARN mensajero y la proteína α_5 en los ganglios de la raíz dorsal, así como la inmunolocalización del receptor a todo lo largo de los axones.

C42

CULTIVOS MIXTOS DE CÉLULAS GRANULARES GFP+ CON CÉLULAS PIRAMIDALES E INTERNEURONAS GFP- DE CA3 PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROTRANSMISIÓN.

URIEL LEÓN-JACINTO^{1,2}, BEATRIZ OSORIO², EMILIO J. GALVÁN¹, RAFAEL GUTIÉRREZ¹

¹Departamento de Farmacobiología, CINVESTAV-Coapa

²Departamento de Fisiología, biofísica y neurociencias

uleon@fisio.cinvestav.mx

La transmisión de información por las células granulares del giro dentado hacia las células piramidales e interneuronas de la zona CA3 del hipocampo tiene características muy especiales. Por ejemplo, las características anatómicas y fisiológicas de las sinapsis que establecen los axones de las células granulares varían de acuerdo a su blanco postsináptico. Además, estas células liberan glutamato, GABA, los péptidos dinorfina y Y, la neurotrofina BDNF y Zn²⁺. Debido a que cada célula granular contacta 3-6 células piramidales y cerca de 15 interneuronas, in vivo, su estudio se hace aún más difícil en rebanadas de hipocampo ya que se cortan una gran cantidad de fibras y dendritas. Por tanto, una alternativa es su estudio en cultivos celulares.

Los cultivos celulares no permiten una clara diferenciación del tipo celular que se registra ni seleccionar los blancos sinápticos. Sin embargo, estos cultivos se han utilizado ya que las células granulares pueden auto-inervarse, es decir, formar sinapsis sobre sí mismas o “autapsis”. Considerando que sus blancos sinápticos “naturales” son las células piramidales y las interneuronas, desarrollamos una técnica de cultivo en la que sembramos células granulares disociadas de ratas transgénicas que expresan constitutivamente la proteína verde fluorescente (GFP) junto con interneuronas y células piramidales del CA3 de ratas control. De esta manera es posible realizar registros simultáneos de células granulares conectadas con sus diferentes blancos. Con este método pudimos demostrar que, en cultivo, las sinapsis de células granulares con células piramidales exhiben características fisiológicas diferentes a que forman con las interneuronas, como ha sido demostrado utilizando rebanadas de hipocampo. Esta preparación permitirá corroborar inequívocamente que las células granulares co-liberan glutamato y GABA de manera dependiente de actividad y estudiar los determinantes moleculares para la expresión del fenotipo GABAérgico en células que son normalmente glutamatérgicas.

C43

DETERMINACIÓN DEL FENOTIPO DE LAS CÉLULAS GRANULARES DE NUEVA GENERACIÓN EN LA RATA ADULTA.

ERIKA LARA¹ Y RAFAEL GUTIÉRREZ²

¹Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias y ²Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N.

rafagut@cinvestav.mx

elara@fisio.cinvestav.mx

Se sabe que las zonas neurogénicas en el sistema nervioso central del mamífero adulto son la zona subventricular del ventrículo lateral y la zona subgranular del giro dentado en el hipocampo. Las neuronas generadas en estas zonas reciben y emiten conexiones que las integran a los circuitos neuronales, y su incorporación a la red neuronal depende de la activación del sistema.

En el cerebro de la rata adulta, las células granulares del giro dentado son glutamatérgicas, sin embargo, durante el desarrollo expresan un fenotipo dual glutamatérgico-GABAérgico. Expresan la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD₆₇), enzima que sintetiza el GABA, el neurotransmisor mismo y el transportador vesicular de GABA (VGAT). En estas condiciones, la estimulación de estas células produce en sus células blanco respuestas monosinápticas dependientes tanto de la activación de receptores a glutamato como a los de GABA. Al término del desarrollo el fenotipo GABAérgico desaparece y estas células solamente expresan el fenotipo glutamatérgico. Sin embargo, no se sabe si las células granulares de nueva generación en el adulto tienen las mismas características que hemos descrito para las células granulares en el animal en desarrollo. Para contestar esta incógnita, debemos identificar a las células granulares de nueva generación. Para ello utilizamos un retrovirus que contiene el gen que expresa la proteína verde fluorescente (GFP) y que infecta células en división, induciendo la expresión de la GFP. Una vez identificadas por la fluorescencia, determinamos el fenotipo de neurotransmisor que expresan a lo largo de las 3 semanas posteriores a la infección. Para comprobar que las células de nueva generación son células granulares se realizan inmunotinciones contra prox-1, que es un factor de transcripción que solo es expresado por estas células. Adicionalmente, para determinar si expresan el fenotipo GABAérgico, realizamos dobles marcas con anticuerpos prox-1 y GAD67 o GABA. La posibilidad de hacer doble marcaje en células que expresan GFP es una herramienta poderosa que permite determinar la plasticidad fenotípica de estas células.

C44

EL NEUROPEPTIDO CGRP RESTAURA LA DINÁMICA DEL Ca^{2+} EN MIOPATÍA CONGÉNITA CCD.

ANA V. VEGA, ROBERTO RAMOS-MONDRAGÓN, GUILLERMO AVILA.
Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN. gavila@cinvestav.mx.

La enfermedad de los cuerpos centrales o CCD, por sus siglas en inglés, es una miopatía congénita asociada a mutaciones en el gen codificante del receptor de rianodina del músculo esquelético (RyR1), que se caracteriza por debilidad muscular y deformidad de las extremidades inferiores. Una caracterización funcional de varias mutaciones CCD nos llevó a mostrar que sus respectivas proteínas mutantes provocan una menor liberación de calcio dependiente de voltaje (LCDV), lo que contribuye a explicar la debilidad muscular. También encontramos que la menor LCDV puede ser debida a alguno de los siguientes mecanismos: (1) desacople excitación-contracción (EC), cuando las mutaciones cercanas al filtro de selectividad bloquean el flujo de Ca^{2+} ; y (2) canales *leaky*, cuando las mutaciones resultan en canales hiperactivos que vacían el Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (RS). En particular, las alteraciones funcionales que provocan las mutantes I4897T e Y523S son representativas del desacople EC y canales *leaky*, respectivamente.

Más recientemente, nuestro laboratorio reportó que el péptido relacionado al gen de la calcitonina o CGRP, estimula el acople EC en miotubos de ratones normales. Por lo tanto, en este trabajo decidimos explorar si el CGRP podría restaurar las alteraciones que provocan las mutantes CCD. Para ello, usamos mioblastos C2C12 transfectados con cDNA del RyR1, ya sea en su versión silvestre (WT), o las versiones mutantes I4897T e Y523S. Subsecuentemente, se indujo la diferenciación a miotubos y se usó la técnica de *patch-clamp* para medir simultáneamente la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}) y la LCDV. Adicionalmente, estimamos la concentración basal de Ca^{2+} en el mioplasma, usando miotubos intactos cargados con Indo-1 AM. Cabe mencionar que las células transfectadas con mutantes CCD generan miotubos heterocigotos, ya que los miotubos C2C12 expresan al RyR1-WT de manera endógena.

Los resultados indican que ni la aplicación de CGRP *per se* ni la introducción de las mutantes afectan I_{CaL} . En cuanto a la concentración basal de Ca^{2+} en el mioplasma, sólo la mutante Y 523S produjo un incremento significativo. Esta mutante también produjo un desplazamiento significativo, en el sentido negativo, de las curvas de activación e inactivación de la LCDV. Dichas alteraciones no se revirtieron en respuesta a un tratamiento con CGRP (100 nM, 1-4 horas). Sin embargo, dicho tratamiento fue muy efectivo en revertir el efecto de ambas mutantes en la LCDV. Más concretamente, la introducción de cualquiera de las mutantes inhibió la LCDV en aproximadamente un 50% en células no tratadas, mientras que los miotubos tratados con CGRP mostraron niveles de LCDV similares a los del grupo transfectado con RyR1-WT (grupo control).

Consistentemente con la inhibición en la LCDV, se observó que las mutantes producen una menor liberación de calcio inducida ya sea con cafeína o con ácido ciclopiazónico. En ambos casos, el tratamiento con CGRP restauró estas alteraciones. En conjunto, estos datos indican que el efecto del CGRP sobre la LCDV se debe a un incremento en el contenido de Ca^{2+} del RS. Resultados adicionales muestran que la fosforilación de fosfolamban por PKA incrementa 2.2 veces en respuesta al tratamiento con CGRP, lo cual sugiere que el incremento del contenido de Ca^{2+} del RS se debe a una mayor actividad de la bomba SERCA. En conclusión, nuestros datos indican que la activación de la vía de señalización cAMP/PKA, activada por el CGRP, podría contribuir a mejorar los síntomas de la CCD.

C45

LOS RECEPTORES D3 POTENCIAN LA ESTIMULACION DE LA LIBERACION DE GABA EVOCADA POR RECEPTORES D1 EN LA SUSTANCIA NIGRA DE LA RATA MODULANDO SU SENSIBILIDAD.

JOSÉ ARTURO AVALOS FUENTES, JORGE ACEVES, DAVID ERLIJ Y BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

La activación de los receptores para dopamina D1 presinápticos estimula la liberación de GABA en las terminales estriado-nigrales (Florán et al, 1990) a través de la estimulación de la vía adenilil ciclasa→AMPC→PKA. La pérdida de la innervación dopaminérgica como en la Enfermedad de Parkinson (EP), supersensibiliza los receptores del tipo D1 (Rangel et al, 2008), por lo que su activación incrementa aún más la liberación de GABA. Previamente mostramos que los receptores dopaminérgicos del tipo D3 durante la denervación dopaminérgica se sensibilizan y son capaces de inhibir la liberación de GABA estimulada por los receptores D1. Reportes recientes indican que los receptores del tipo D1 y D3 se encuentran formando dímeros (Fiorentini, 2008 y Marcellino, 2008). Por otro lado también existen reportes que sugieren que los receptores D3 se encuentran sujetos bajo la regulación negativa de la CaMKII (Liu et al, 2009). Nuestro objetivo fue estudiar la interacción de los receptores D1-D3 sobre la liberación de GABA y la formación de AMPc en condiciones normales así como la participación de la CaMKII en la interacción funcional de ambos receptores. Se estudió la liberación de [3H] GABA en rebanadas de la sustancia nigra pars reticulata de ratas tratadas con reserpina. En los estudios de liberación de GABA radiactivo se encontró que la liberación facilitada por la activación de receptores D1 ($81\pm 11\%$) se potenció por la coactivación de receptores D3 ($120\pm 12\%$) con respecto del control, cuando se realiza en presencia de un inhibidor de la actividad de la CaMKII como el KN-62 ($4\mu\text{M}$). Posteriormente se evaluó si el efecto potenciador sobre la liberación de GABA se debe a la suma de la activación de ambos receptores o el receptor D3 se encuentra potenciando los efectos del receptor D1. Se encontró que cuando se coactivan los receptores D1 y D3 en presencia de un antagonista para receptores D1, la estimulación de la liberación de GABA no ocurre, en cambio cuando se coactivan los receptores D1 y D3 en presencia de un antagonista del receptor D3, la respuesta sobre la liberación de GABA es similar a cuando se activa solo el receptor D1 ($85\pm 7\%$). Curvas dosis-respuesta mostraron que cuando se coactivan ambos receptores, la EC50 del receptor D1 que es 56 nM de se ve incrementada a 4 nM, mientras que la del receptor D3 no se modificó, lo que indica que el efecto potenciador sobre la liberación de GABA se debe a que la activación del receptor D3 aumenta la afinidad al receptor D1. Estos resultados sugieren que el control de la liberación de GABA estimulada por receptores D1 está sujeta a modulación por receptores D3, lo que ayuda a entender el papel de la dopamina, sobre la transmisión estriado-nigral que se ve alterada en la enfermedad de Parkinson.

Florán et al (1990). *Neurosc. Lett.* 116: 136-140

Rangel et al (2008). *Neuropharmac.* 55: 704-711



**3a. Reunión Académica. 50^o Aniversario del Departamento
y del CINVESTAV, Septiembre 20-21, 2011.**



C46

PAPEL DE LA ADENILIL CICLASA EN EL DESARROLLO DE DISCINESIAS INDUCIDAS POR L-DOPA EN EL PARKINSON EXPERIMENTAL.

CLAUDIA RANGEL BARAJAS, JOSÉ ARTURO AVALOS FUENTES, JORGE ACEVES, DAVID ERLIJ Y BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. CINVESTAV-IPN.

El tratamiento con L-DOPA produce movimientos anormales involuntarios (discinesias) en los pacientes con la enfermedad de Parkinson y lo mismo ocurre en los modelos experimentales. Las discinesias inducidas por L-DOPA son atribuidas a un incremento de la actividad de la vía directa del circuito neuronal de los ganglios basales, lo que conlleva a un incremento de la transmisión GABAérgica estriado-nigral. En la sustancia nigra pars reticulata la liberación de GABA se encuentra controlada por receptores dopaminérgicos del tipo D1 presinápticos. En este trabajo estudiamos la relación entre la liberación de [³H]GABA y la señalización mediada por receptores a dopamina D1 en estas terminales en ratas con lesión unilateral con 6-hidroxidopamina. Las ratas fueron tratadas con L-DOPA y las discinesias cuantificadas por un periodo de 20 días, al cabo de los cuales se encontró que existían dos poblaciones, una con severos scores de discinesia y otra con scores bajos o sin discinesia. La señalización por receptores D1 se estudio sobre la liberación del [³H]GABA, la formación de [³H]AMPc, y los niveles de proteína G_{olf} y adenilil ciclasa. En animales sin tratamiento, los tres parámetros se encuentran incrementados con respecto del lado no denervado. En las ratas que no desarrollaron discinesia severa por el tratamiento con L-DOPA, los tres parámetros regresaron a la normalidad, en tanto que en los animales discinéticos, estos permanecieron elevados a excepción de la proteína G_{olf}. La relación entre los cambios en la liberación de GABA y la formación de AMPc, se hizo evaluando el efecto de un inhibidor selectivo de la isoforma V/VI de la adenilil ciclasa, el cual inhibió los incrementos encontrados en ambos parámetros. Los resultados sugieren que un incremento en la expresión de esta isoforma de la enzima es determinante para el incremento en la transmisión GABAérgica de la sustancia nigra pars reticulata en animales en los que la L-DOPA induce discinesia severa y permite postular alternativas terapéuticas para el control de este efecto colateral.

C47

LA REGULACION RESISTENTE AL VOLTAJE INDUCIDA POR NORADRENALINA OCURRE EN UNA REGION DEL VOLTAJE DELIMITADA DE LA MEMBRANA CELULAR

OSCAR VIVAS, ISABEL ARENAS Y DAVID E. GARCÍA.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. C.P. 04510, México, D.F.

Los canales de calcio tipo N ($Ca_v2.2$) son regulados tanto de manera sensible como resistente al voltaje por un amplio espectro de neurotransmisores y hormonas que activan receptores acoplados a proteínas G. El estudio de la regulación resistente al voltaje se ha dejado a un lado por casi tres décadas debido al énfasis en su contraparte, la regulación sensible al voltaje. Sin embargo la comprensión de la regulación resistente al voltaje es clave para entender el panorama completo de la acción de neurotransmisores y hormonas.

Diversos estudios han mostrado que hay agonistas que inducen una regulación predominantemente resistente al voltaje, como la muscarina, la angiotensina II y la sustancia P, mientras que otros inducen predominantemente una regulación sensible al voltaje. La noradrenalina, entre otros neurotransmisores, ha sido ampliamente empleada para el estudio de la regulación sensible al voltaje de los canales de calcio. En el presente estudio nosotros probamos si en el caso de la noradrenalina existe además un componente de regulación resistente al voltaje. Posteriormente caracterizamos la región del voltaje en la cual ocurre este tipo de regulación.

La corriente de calcio se registró en neuronas del ganglio simpático cervical superior (SCGs) mediante la técnica de fijación de voltaje (patch-clamp) en configuración de célula completa. La porción de regulación resistente al voltaje inducida por cada agonista fue aislada mediante el protocolo clásico de doble pulso.

Nuestros resultados muestran que aún en el caso de la noradrenalina se induce un 20% de regulación resistente al voltaje, de acuerdo con la hipótesis de que este tipo de regulación subyace a los mecanismos básicos tradicionalmente descritos. Además, la regulación resistente al voltaje ejerce su acción en una región limitada del voltaje de membrana, lo cual concuerda con un papel definido de ésta, en la modulación de procesos que podrían gobernar el disparo de potenciales de acción y la liberación de neurotransmisores. Adicionalmente, nuestros datos indican que la regulación resistente al voltaje de las canales $Ca_v2.2$ ocurre en ausencia de cambios cinéticos.

Estos resultados indican que la regulación resistente al voltaje ocurre en mayor proporción de lo que se esperaba; asimismo, que este tipo de regulación posee múltiples blancos y constituye una plataforma genérica donde ocurren las modulaciones específicas de varios tipos de canales iónicos. Sin embargo, este sistema básico de regulación ha permanecido hasta hoy casi inexplorado.

Apoyado por UNAM-DGAPA-PAPIIT Proyecto IN200710

C48

ANÁLISIS LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA SINUSOIDAL EN EL CEREBELO DEL GATO DESCEREBRADO DURANTE EL RASCADO FICTICIO.

MARTÍNEZ-SILVA LOURDES¹, MANJARREZ ELIAS², QUEVEDO JORGE¹

¹Dept. de Fisiología, CINVESTAV-IPN, ²Inst. Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Previamente, nuestro grupo de investigación reportó la propagación de ondas sinusoidales de potencial eléctrico a largo de la médula espinal de gatos descerebrados durante el rascado ficticio (Manjarrez y cols. 2005, Abs Soc Neurosci 753.14; Cuellar y cols. 2009, J Neurosci 29: 798-810) y durante la locomoción ficticia espontánea (Trejo y cols. 2008, Abs Soc Neurosci 374.6). El objetivo general de nuestro estudio es determinar si ocurren Potenciales Sinusoidales Cerebelosos (PSCs) asociados a los Potenciales Sinusoidales Espinales (PSEs) registrados en gatos descerebrados durante el rascado ficticio. Particularmente, nos interesa caracterizar la actividad eléctrica sinusoidal cerebelosa a través del registro simultáneo de potenciales extracelulares de campo cerebelosos (PECCs), PSCs y PSEs. Además de describir las proyecciones del Generador Central de Patrones (GCP) del rascado hacia la corteza del cerebelo en ausencia de información propioceptiva por medio del marcaje inmunohistoquímico de c-Fos. Los experimentos los realizamos en gatos adultos descerebrados y paralizados, en los cuales se provocó el rascado ficticio con la estimulación táctil del pabellón auricular del gato después de aplicar de manera local d-tubocurarina al 0.5% a nivel cervical C1-C2. La actividad de rascado ficticio la monitorizamos mediante el registro electroneurográfico bilateral de nervios flexores y extensores de las extremidades posteriores. El registro de los potenciales de superficie lo realizamos por medio de dos arreglos de multielectrodos, uno localizado sobre el ensanchamiento lumbar espinal y otro sobre la corteza del cerebelo. Los PECCs los registramos con microelectrodos de vidrio (1.5-3 MOhms) colocados en el lóbulo anterior del cerebelo a varias profundidades. En el caso del análisis inmunohistoquímico de la expresión de c-Fos en la corteza cerebelosa, el rascado ficticio se provocó durante 30 minutos. Nuestros resultados muestran que la región del vermis en el cerebelo exhibió PSCs y PECCs en coherencia con los PSEs durante el rascado ficticio. Adicionalmente, observamos diferencias en la fase, la amplitud y la morfología de los PECCs dependiendo de la profundidad de registro, sin que tales diferencias se reflejen en una disminución de los valores de coherencia. Finalmente, observamos que durante el rascado ficticio existen conglomerados de neuronas que incrementan su inmunoreactividad a c-Fos en la región vermal del cerebelo, y en las áreas que exhibieron los PECCs de mayor coherencia con respecto a los Potenciales Espinales Sinusoidales registrados en L6-L7. Los presentes hallazgos son la primera evidencia de que la actividad eléctrica poblacional sinusoidal en el cerebelo constituye la activación de grupos neuronales por afrentes que proyectan del CPG espinal. Además, el incremento en la inmunoreactividad a c-Fos de grupos de células cerebelosas sugiere que existe una relación funcional entre las zonas de c-Fos en la corteza cerebelosa y el CGP espinal. En este contexto, podríamos especular que tales conglomerados neuronales inmunoreactivos a c-Fos representan módulos anatómicos y funcionales que codifican diferentes aspectos de la actividad del GCP, como por ejemplo la temporalidad y la fase del ciclo de rascado.

Martínez-Silva Lourdes, Dept. de Fisiología, CINVESTAV-IPN, celulula@hotmail.com

Manjarrez Elías Inst. Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

eliasmanjarrez@gmail.com



C49

LA AUTOCOVARIANZA, LA COVARIANZA CRUZADA Y LA DIMENSIÓN FRACTAL COMO HERRAMIENTAS PARA CARACTERIZAR LA FLUCTUACIÓN EN AMPLITUD DEL REFLEJO DE HOFFMANN

GUTIÉRREZ A.L.¹, TORIZ A.¹, JIMÉNEZ-CANET A.¹, TELLEZ J.C.¹, MORENO L.F.¹, MANJARREZ E.² Y LOMELÍ J.¹ email: jlomeli_glez@yahoo.com.mx

¹Escuela Superior de Medicina, IPN, ²Inst. Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

En el 2002 Mezzarane y Kohn reportaron que el reflejo de Hoffmann (RH) del músculo soleo muestra variaciones rítmicas en su amplitud, ya que encontraron que los RHs de las extremidades inferiores derecha e izquierda varían de forma periódica. También mostraron la existencia de una correlación significativa entre ambas periodicidades. Actualmente no se sabe si las extremidades superiores también exhiben este tipo de periodicidad en la amplitud de los RHs. Así que uno de los objetivos del presente trabajo fue determinar si esta periodicidad y correlación en la amplitud de los RHs también se presenta en el músculo *flexor carpi radialis* (FCR) de ambas extremidades superiores. Para explorar este objetivo estimulamos con electrodos de superficie el nervio mediano, aplicamos pulsos de corriente rectangulares de corriente constante, con una duración de 1 ms y con una frecuencia de 1 Hz. Registramos 500 RHs en ambos antebrazos evocados de manera simultánea en 9 sujetos diestros sanos que firmaron consentimiento. Las amplitudes de los últimos 490 RHs se analizaron utilizando funciones de autocovarianza y covarianza cruzada para determinar periodicidad y correlación en las fluctuaciones de dichos reflejos. El análisis de autocovarianza mostró periodicidades como las obtenidas en extremidades inferiores. Al aplicar la función de covarianza cruzada se encontró que 8 de los 9 sujetos experimentales tenían un cierto grado de correlación derecha-izquierda, la cual desapareció cuando los datos fueron aleatorizados (barajeados). Lo anterior sugiere que tanto los circuitos motores neuronales cervicales como los lumbares se encuentran conectados por sistemas de neuronas propioespinales, que posiblemente coordinan o sincronizan ambos lados, afectando de manera similar las vías reflejas en extremidades superiores e inferiores. La dimensión fractal (DF) es una manera de medir la complejidad de estructuras y de respuestas fisiológicas que se repiten. Se ha demostrado que la amplitud de los RHs registrados en músculo soleo en los miembros inferiores de humanos fluctúan con un componente fractal y que éste es modulado por vías neuronales descendentes, lo cual sugiere que las unidades motoras se encuentran disponibles de manera no aleatoria para realizar una tarea motora. Nuestra hipótesis en este caso, es que la DF en la fluctuación de la amplitud de los RHs registrados en el músculo FCR puede cambiar en sujetos que tienen un entrenamiento motor especializado. Para ello registramos simultáneamente 117 RHs en estado de reposo del FCR derecho e izquierdo de un sujeto neurológicamente sano y que toca con frecuencia el piano; la DF fue de 1.99 ± 0.04 en FCR izquierdo y 2.00 ± 0.07 en FCR derecho y no hubo diferencias significativas entre los dos músculos ($t=0.4961$, $P=0.6234$). A continuación se le pidió al sujeto que ejecutara mentalmente una pieza musical en piano en la cual se utilizara más la mano izquierda y registramos 22 RHs, la DF fue de 1.56 ± 0.11 en FCR izquierdo y 2.12 ± 0.11 en FCR derecho y se hallaron diferencias significativas entre ambos brazos ($t=8.818$, $P=0.0001$). Posteriormente, se solicitó al sujeto que tocara mentalmente otra pieza en cuya ejecución se utilizara más la mano derecha y la DF fue de 2.36 ± 0.09 en FCR izquierdo y de 1.58 ± 0.08 en FCR derecho, nuevamente hubo diferencias significativas ($t=11.219$, $P=0.0004$). Como muestran estos resultados preliminares, la DF disminuye en el antebrazo que ejecuta principalmente la pieza en cuestión, lo cual sugiere que las vías descendentes facilitan la activación preferencial de ciertas unidades motoras, disminuyendo la variabilidad durante la ejecución de una tarea específica.

Apoiado por CONACyT: S-2007-C01-69989 y SIP-IPN: 20080283, 20090304.20100057, 20110193.

C50**ESTUDIO DE LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL Y TRADUCCIONAL DEL
CANAL DE SODIO ACTIVADO POR SODIO Na_x DE HUMANO**CUÉLLAR-PÉREZ, FRANCISCO, POOT-HERNÁNDEZ, CÉSAR, MARTÍNEZ-
RENDÓN, JACQUELINE Y GARCÍA-VILLEGAS, REFUGIO.

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV, IPN

El canal de sodio Na_x es codificado por el gen SCN7A. Aunque pertenece a la familia de los canales de sodio voltaje dependientes, este canal se activa por sodio extracelular a concentraciones arriba de 150 mM. Se le considera un sensor de sodio y además regula la ingesta de este ión en ratón.

Previamente caracterizamos al promotor transcripcional de Na_x de ratón. Al buscar por homología al promotor de Na_x en el genoma de humano solo encontramos una secuencia de 160 pb con identidad de ~76%, mientras que la región 5' no traducida (5'UTR) es totalmente distinta entre estas especies.

Mediante 5'RACE de ARN de corazón y de ganglios de raíz dorsal de humano encontramos dos isoformas de la 5'UTR generadas por procesamiento alternativo, una de ellas incluye al exón dos y es mayoritaria en corazón.

En el exón dos ubicamos cuatro marcos abiertos de lectura río arriba del AUG principal de Na_x (uORFs). Demostramos que la inclusión del exón dos reduce el 80% de la traducción del mensajero en comparación con el que no lo incluye. Para probar si los uORFs participan en ese efecto mutamos cada uno de ellos y demostramos que cuando los cuatro están mutados la traducción se recupera al 50 u 80%, dependiendo del tipo celular.

Por otro lado identificamos un fragmento de ADN genómico de 380 pb como el promotor basal de Na_x , dado que produce la máxima actividad transcripcional. Este promotor presenta mayor actividad en células de origen cardíaco sin importar la especie de la que derivan, sugiriendo que en humanos la expresión de Na_x sea más abundante en corazón.

Estos hallazgos indican que en primates el canal de sodio Na_x adquirió mecanismos de regulación más sofisticados, sugiriendo que pudiera tener una función relevante aún por describirse en corazón.

C51

LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES A CANABINOIDES CB1 DISMINUYE LA ACTIVIDAD MOTORA DE RATAS HEMIPARKINSONIANAS POR UNA INHIBICIÓN EN LA CAPTURA DE GABA.

MARÍA DE GUADALUPE MUÑOZ ARENAS^{L,2}, BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO², I. DANIEL LIMÓN PÉREZ DE LEÓN¹

¹Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. ² Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias CINVESTAV-IPN. munoza84@gmail.com

Los ganglios basales (GB) son un conjunto de núcleos involucrados en la selección de los programas motores [1]. En pacientes con la enfermedad de Parkinson, los receptores cannabinoides CB1 incrementan su densidad en el globo pálido externo (GPe) de los GB [2]. Se ha demostrado que estos receptores pueden modular la neurotransmisión GABAérgica al inhibir la captura del ácido gama aminobutírico (GABA) [3], lo cual posiblemente se deba al bloqueo del transportador de GABA denominado GAT-1. El GAT-1 es una proteína dependiente de Na⁺ y Cl⁻ localizado en las terminales presinápticas y glía, cuya función principal es la terminación de la transmisión sináptica [4]. Posiblemente, el incremento en la neurotransmisión GABAérgica provocado por la activación de los receptores CB1 en el GPe juegue un papel importante en los desórdenes motores característicos de la enfermedad de Parkinson. El objetivo de este trabajo es estudiar la activación de los receptores CB1 del GPe sobre la captura de GABA y sus consecuencias en la actividad motora de ratas hemiparkinsonianas. Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, de las cuales se formaron dos grupos experimentales que se sometieron a cirugía estereotáxica para depositar en el haz del cerebro medio (AP: -1.8, L: -2.4, P: -7.0) ácido ascórbico (0.1%) y la neurotoxina 6-OHDA (16 µg/ 2 µL, para producir un cuadro de hemiparkinsonismo) respectivamente. Catorce días posteriores a la lesión, los sujetos fueron sometidos a la conducta de giro inducida por metanfetamina (5 mg/kg, sc). Los sujetos que realizaron más de 700 giros en un periodo de 80 minutos fueron incluidos en la siguiente fase del experimento, que consistió en una segunda cirugía estereotáxica para implantar en los sujetos una cánula guía de administración en el GPe. Siete días posteriores al implante, se administró por medio de la cánula, el bloqueador del GAT-1 (SKF89976A 10 µM) o bien el agonista de los receptores CB1 (ACEA 1 µM) y posteriormente se evaluó la actividad motora y la conducta de giro. Por otro lado, sujetos intactos fueron sacrificados para obtener rebanadas de GPe y posteriormente se obtuvieron sinaptosomas (terminales presinápticas) para evaluar la acción de los receptores CB1 presinápticos sobre la captura de [³H]-GABA. Los sujetos de los grupos sham y hemiparkinsoniano, disminuyeron su actividad motora cuando se administraron con SKF89976A, asimismo, los sujetos administrados con ACEA, también disminuyeron su actividad. Por otro lado, al evaluar la conducta de giro en estos sujetos, se observó un incremento en el número de giros ipsilaterales al implante de la cánula, es por ello que se piensa que los receptores CB1 inhiben la actividad del GAT-1. En los estudios neuroquímicos se encontró que en el GPe existe un mecanismo de captura dependiente de Na⁺ por lo que se propone que la captura de [³H]-GABA es por medio de un transportador. Este mecanismo se lleva a cabo por medio de la GAT-1 ya que el uso de ácido nípecótico y del SKF89976A disminuye la captura de [³H]-GABA en los sinaptosomas. Sin embargo, la activación de los receptores CB1 con ACEA en los sinaptosomas de GPe no inhibió la captura de [³H]-GABA, efecto que sí se registró al utilizar el antagonista de los receptores CB1 (AM 251). Los resultados obtenidos en este trabajo hacen concluir que los receptores CB1 presinápticos no disminuyen la captura de GABA lo que puede explicar la disminución en la actividad motora de los sujetos de experimentación por lo que se propone que posiblemente este mecanismo sea por parte de los receptores CB1 presentes en la glía.



C52

BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) IN THE NUCLEUS TRACTUS SOLITARIUS (NTS) MODULATES GLUCOSE HOMEOSTASIS AFTER CAROTID CHEMORECEPTOR STIMULATION IN RATS

S. MONTERO^{1,2}, R. CUÉLLAR¹, M. LEMUS¹, R. ÁVALOS², G. RAMÍREZ², AND E. ROCES DE ÁLVAREZ-BUYLLA¹

¹Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas y ²Facultad de Medicina, Universidad de Colima, Colima, México.

The brain has a key role in the control of energy and glucose metabolisms. Neuronal systems, which regulate energy intake, energy expenditure and endogenous glucose production, sense and respond to input from hormonal related signals that convey information from body energy availability. Carotid chemoreceptors (CChr) function as sensors for circulating glucose levels and contribute to glycemic counterregulatory responses. BDNF is known to play an important role in the endocrine system to regulate glucose metabolism, indicating that this factor is expressed by many primary sensory neurons. In these experiments male Wistar rats (280-300g) were used. Food was removed 12 h before surgery, but animals had free access to water containing 10% glucose. Anesthetized rats (sodium pentobarbital- 3mg/100g i.p. in a bolus + a continuous i.p. infusion of the same anesthetic- 0.063 mg/min) were artificially ventilated through a tracheal cannula. Permanent silastic catheters were inserted into the abdominal aorta and jugular sinus without interrupting circulation in these vessels (Alvarez-Buylla and Alvarez-Buylla, 1988). To locally stimulate just one carotid sinus of the rat with a micro-dose of NaCN, the left carotid sinus was temporarily isolated from the cephalic circulation, while the right carotid sinus was denervated. With this technique only the left carotid sinus is exposed to NaCN and within 15-16 s, NaCN is cleared into a washing cannula (Alvarez-Buylla and Alvarez-Buylla, 1988). Animals were randomized into the following groups: **a)** aCSF + NaCN (100 nL into the NTS) followed by NaCN (5 µg/100 g in 100 µL sal. infused into the isolated carotid sinus), n = 9; **b)** BDNF + NaCN (1 ng diluted in 100 nL of freshly prepared aCSF into the NTS) followed by NaCN (as in **a**), n = 9; **c)** K252a + NaCN (1 ng diluted in 100 nL of freshly prepared aCSF into the NTS) followed by NaCN (as in **a**), n = 9. The results showed that BDNF infused into the NTS before CChr stimulation increased arterial glucose levels and brain glucose retention. In contrast, BDNF receptor (TrkB) antagonist (K252a) infusions in NTS resulted in a decrease in both, the systemic glucose concentrations and brain glucose retention below the control values. In this case, CChr anoxic stimulation did not enhance glucose variables studied. These findings raise the possibility that BDNF plays a role in hyperglycemic glucose reflex with brain glucose retention evoked by anoxic carotid chemoreceptor (CChr) stimulation

C53

BMP PATHWAY ACTIVATION INDUCED BY ENDOTHELIAL CELLS IN A CO-CULTURE SYSTEM PROMOTES HUMAN EMBRYONIC STEM CELL DIFFERENTIATION TO INSULIN-PRODUCING CELLS.

DODANIM TALAVERA-ADAME, SILVIA KURTOVIC, GORDON WU, AND DONALD C. DAFOE.

Department of Surgery and Regenerative Medicine Institute, Cedras-Sinai Medical Center, 8700 Beverly Blvd., SSB319B, Los Angeles, California, 90048.

(Talaverad@cshs.org)

Endothelial cells (ECs) represent the major component of the embryonic pancreatic niche and play a key role in the differentiation of insulin-producing β cells *in vivo*. However, it is unknown if ECs promote such differentiation *in vitro* after interaction with embryoid bodies (EB) derived from human embryonic stem cells as well as the mechanisms involved. Optimization of this cell-cell interaction can be relevant to generate fully differentiated insulin-producing cells for future therapeutic uses of type 1 diabetes mellitus (T1DM).

Objective: We investigated whether interaction of human microvascular endothelial cells (HMECs) with human EBs in culture promotes differentiation of insulin-producing cells and the mechanisms involved.

Methods: We developed a co-culture system between EBs (derived from hESC line H9) and human microvascular ECs (HMECs). Pancreatic marker expression was evaluated by immunocytochemistry (ICC) and quantitative RT-PCR (qRT-PCR) at 20-day intervals in co-cultured EBs and EBs cultured alone or with mouse embryonic fibroblasts (MEFs) as control. One group of EBs cultured without HMECs was treated with HMEC conditioned medium for the same time intervals.

Results: A significant increase in the expression of pancreatic markers such as insulin, C-peptide, PDX-1, Nkx6.1, and Nkx2.2 was observed in EBs co-cultured with HMECs. No expression of these markers was found in EBs cultured without HMECs or those co-cultured with MEFs. In EBs co-cultured with HMECs, C-peptide positive cells co-expressed phospho-Smad1/5/8 (pSmad1/5/8) in the nuclei. Therefore, EBs were treated with HMEC conditioned media (HMEC-CM) suspecting soluble factors involved in bone morphogenetic protein (BMP) pathway activation. Up-regulation of insulin, C-peptide, PDX-1, Nkx6.1, and Nkx2.2 was found in EBs treated with HMEC-CM. In addition, higher expression of BMP-2/-4 and their receptor (BMPRI1A) were also found in these EBs. Recombinant human BMP-2 mimicked the effects of the HMEC conditioned medium on EBs. Noggin (NOG), a BMP antagonist, inhibited these effects.

Conclusions: These results indicate that the differentiation of human EBs to insulin-producing cells can be enhanced by HMECs *in vitro* and that BMP pathway activation is central to this process.

C54**SOMATIC SECRETION OF SEROTONIN IS CALCIUM- AND SEROTONIN-DEPENDENT.**C. LEON PINZON ¹, P. L. NOGUEZ ¹, M. G. CERCÓS ², C. TRUETA ², F. F. DE MIGUEL ¹;

1Inst. de Fisiología Celular-Neurociencias, UNAM, México D.F., México;

2Dept. de Neurofisiología, Inst. Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, México D.F., México

e-mai: ffernand@ifc.unam.mx

A train of 10 impulses at 20 Hz evokes calcium-dependent somatic exocytosis of serotonin that lasts for 2-5 min in Retzius neurons of the leech. To analyze the mechanism of such asynchronous exocytosis we combined the kinetics of FM4-64 fluorescence as a measure of exocytosis and those of Fluo-4 as a measure of intracellular calcium. Trains at 20 Hz generated a large transmembrane Fluo-4 transient with a peak at 600 ms and an exponential decay with a 3 s time constant. This transient spread rapidly towards the center of the soma. By contrast, stimulation with a 1 Hz train, that fails to evoke exocytosis, produced only small transmembrane Fluo-4 transients. The L-type calcium channel blocker nimodipine and the ryanodine receptor blocker dantrolene reduced exocytosis and also the amplitude and propagation of the Fluo-4 transients upon 20 Hz. Following the 20 Hz-dependent Fluo-4 transient, neurones started to develop parallel FM4-64 and Fluo-4 fluorescence increases that lasted for several minutes. Both slow fluorescence increases were abolished by addition of the serotonin antagonist methysergide, and were mimicked by electrophoretic application of serotonin trains in the absence of electrical stimulation. Our results show that electrical activity triggers a fast calcium wave that activates a slow serotonin-dependent somatic exocytosis of serotonin. We propose that serotonin release reinforces its own release through the activation of a metabotropic-dependent increase of intracellular calcium.

C55

CAJAL'S SECOND GREAT BATTLE FOR THE NEURON DOCTRINE: THE NATURE AND FUNCTION OF NEUROFIBRILS

EUGENIO FRIXIONE

Sección de Metodología y Teoría de la Ciencia, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) IPN, Apartado Postal 14-740, Mexico City, D. F. 07000 Mexico E-mail: frixione@cinvestav.mx.

One hundred years ago, a novel kind of reticularism threatened to displace the neuron doctrine as the established model of functional organization of the nervous system. The challenging paradigm, championed by Stephan von Apáthy and Albrecht Bethe, held that nerve impulses propagate along neurofibrils connected in a continuous network throughout all nerve cells. Santiago Ramón y Cajal, a leading figure in the conception of the neuron doctrine, headed again the battle against this return of reticularism. Dissatisfied with the available staining techniques, he devised the “reduced silver nitrate method” that even Camillo Golgi recognized as the best at the time for revealing the neurofibrils. In 1904 Cajal already published over a dozen papers in three languages describing neurofibril distributions in the nervous systems of diverse vertebrates and invertebrates, under both normal and experimental conditions. Next he investigated the involvement of neurofibrils in the process of nerve regeneration. This unprecedented survey led him to the conclusion that the neurofibrils are linear “colonies” of particles constituting a semi-solid, dynamic internal skeleton of the nerve cell. Apáthy reacted with a long invective paper that Cajal had no choice but acknowledging. His comprehensive reply, published in 1908, meant the effective end of the renewed reticularist campaign against the neuron doctrine. Along the way, a visionary and today almost forgotten chapter in the history of the cytoskeleton had also been written.

C56**DOPAMINE IN THE THALAMIC RETICULAR NUCLEUS CONTROLS ANXIETY.**

GARCÍA-RAMIREZ M, AVILA G, CHUC-MEZA E, ACEVES J.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, CINVESTAV-Zacatenco.

Previously we showed that the bilateral loss of the dopaminergic innervation of the thalamic reticular nucleus (TRn) has anxiolytic effects (Picazo et al, 2009). The aim of this work was to further characterize the role of dopamine in the TRn as well as the receptors mediating its effect. Rats were implanted with cannulas in the TRn and infused with methamphetamine (44 nM) or with the D2-like receptor antagonist haloperidol (20-200 pM), the selective D4 receptor antagonist L-745,870 (2.4-960 pM) or the D1-like antagonist SCH-23390 (1.5 pM). Anxiety was tested by the elevated-plus maze (EPM) and the shock burying electrode test (SBT). Motor activity was measured after the end of EPM or SBT in automated activity counters. The elevation of dopamine levels in the TRn by methamphetamine consistently produced anxiety, whereas haloperidol consistently produced anxiolysis. L-745,870 behaved predominantly as inverse agonist: it increased anxiety in the EPM whereas it had mixed effects in the SBT because at very low doses (2.4 pM) decreased anxiety whereas at high doses (960 pM) increased anxiety. SCH 23390 had no effect. None of the drugs affected motor activity. The results confirm that dopamine in the TRn increases anxiety and that the involved receptors are D2-like receptors, very efficiently blocked by the D2-like receptor antagonist haloperidol. The present confirm that dopamine in the TRn controls anxiety and they also may explain the failure of selective D4 receptor antagonists in the control of schizophrenia.

C57

EFFECTO DE LA HA SOBRE LA DIFERENCIACIÓN DE CELULAS TRONCALES NEURALES *IN VITRO*.

MOLINA-HERNÁNDEZ A.¹ Y VELASCO P.²

¹ Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Departamento de Biología Celular. ² Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

anayansimolina@gmail.com

Durante el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) y en específico durante los picos de diferenciación neuronal la concentración de histamina (HA) se encuentra elevada hasta 8 veces. Durante los días embrionarios (E) 13-18 la HA y la enzima descarboxilasa de histidina se encuentran presentes en el rombencéfalo, el plexo coroideo y adyacente al tercer y cuarto ventrículo (Auvinen and Panula 1988; Vanhala et al. 1994). En cultivos de células troncales neurales (CTN) en pasaje 2 controles y tratados diariamente con HA, mantenidos en proliferación durante 4 días en presencia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) seguido de un periodo de 6 días sin FGF para permitir la diferenciación celular, hemos encontrado por RT-PCR y western blot la presencia de RH₁, RH₂ y RH₃. Por inmunocitoquímica hemos observado que en particular la activación del receptor HAérgico 1 (RH₁) es capaz de incrementar 1.9 veces y 2.8 veces la diferenciación neuronal de CTN corticales al cuantificar en cultivos a baja densidad (cultivo clonal) y en cultivos a 80-90% de confluencia respectivamente (Molina-Hernandez and Velasco, 2008. Molina-Hernandez, *et al.* en preparación). Al analizar el efecto de la HA sobre los fenotipos corticales presentes en los cultivos tratados con HA encontramos un incremento de células positivas para el marcador de capas profundas FoxP2 (de 41.4 ± 3 % a 62 ± 5.8 %), calretinina (capas I y VIb; 18.9 ± 2 % a 29.5 ± 2 %) y la aparición de 2% de células positivas a Cux1 (capas II-IV). En conclusión la HA es capaz de promover la diferenciación neuronal de CTN por activación del H₁R primordialmente hacia neuronas de capas profundas de la corteza cerebral.

C58**THE FUNCTION OF COSTAMERES IN EXTENSOR DIGITORUM MUSCLE FROM DESMIN- OR DYSTROPHIN- NULL MICE: A BIOMECHANICAL APPROACH.**KARLA P. GARCÍA-PELAGIO¹, ROBERT J. BLOCH² AND HUGO GONZALEZ-SERRATOS^{1,2,†}¹ School of Medicine, Universidad Nacional Autónoma de México, 04320, Mexico City² School of Medicine, University of Maryland, Baltimore, MD 21201, USA

Costameres at the sarcolemmal skeletal myofibers transmit the lateral force generated by myofibrils to the extracellular matrix. Dystrophin and Desmin are two proteins that belong to costameres. We studied the biomechanical properties of the sarcolemma and its links through costameres to the contractile apparatus in single mammalian myofibers of *Extensor digitorum longus* muscles isolated from wild (WT), dystrophin (mdx)- or desmin (des-/-) - null mice. Negative pressure (P) was applied with an Elastimeter through a pipette to the sarcolemma of myofibers, which generated a bleb of variable height that depends on P, and sarcomere length. It took some time for the bleb to reach a stable height after applying P. This time delay indicates that the sarcolemma-costamere-myofibril system acts as a viscoelastic system. As P was increased further, connections between the sarcolemma and myofibrils broke; eventually the sarcolemma burst. From the values of P at which these changes occurred, we estimated the tensions, pressures, viscoelasticity and stiffness of the system and its individual elements. Tensions of the whole system, the sarcolemma and the maximal tension sustained by the costameres were all significantly lower (1.8-3.3 fold) in mdx than in WT muscles, but desmin null values were comparable to WT. Separation and stiffness of the whole system and the isolated sarcolemma were ~2-fold lower in mdx than in WT. The time course of the bleb formation was biphasic and reached a plateau between 3.0 to 4.9 min for normal and desmin- or dystrophin- null mice. Our results show that dystrophin is the protein that contributes the most to the strength of the connections between the sarcolemma and the contractile apparatus at the costameres, so the absence of desmin or dystrophin affects the mechanical properties of the complex differently.

Supported partially by CONACyT to KPGP

C59

VOLTAGE-DEPENDENT AMPLIFICATION OF SYNAPTIC INPUTS IN RESPIRATORY MOTONEURONES OF THE CAT.

M. ENRÍQUEZ DENTON², J. WIENECKE^{1*}, H. HULTBORN¹ Y P.A. KIRKWOOD²

¹ Department of Neuroscience and Pharmacology, University of Copenhagen, Panum Institute, Blegdamsvej 3, DK-2200 Copenhagen N, Denmark. ^{1*} Department of Exercise and Sport Sciences, Faculty of Science, University of Copenhagen. ² Sobell Department for Motor Neuroscience and Movement Disorders, UCL Institute of Neurology, Queen Square, London WC1N 3BG, UK. Email: mdenton@ion.ucl.ac.uk (mdenton@yahoo.co.uk); jwie@sund.ku.dk; hhu@sund.ku.dk; pkirkwoo@ion.ucl.ac.uk

Estimates of passively summed excitatory inputs to motoneurons strongly suggest that there must be intrinsic mechanisms to enhance, or amplify, the excitatory current to reach the level of firing frequencies that is known to occur. There could be two major sources for such an amplification; 1) purely voltage dependent non-inactivating ion channels mediating inward current (persistent inward current, PIC) or 2) a voltage dependent increase in conductance of transmitter-gated channels (such as the NMDA receptor channels; Nowak et al. 1984). It is already suggested that such mechanisms can amplify at least 5-fold the amount of inward current as compared to the synaptic excitation per se.

PIC properties have most often been studied in motoneurons depolarized by currents passed via the recording electrode. Here we have tested the mechanisms underlying amplification during the operation of a physiologically meaningful, centrally-derived synaptic input, the respiratory drive, in motoneurons that control muscles with respiratory function. Under neuromuscular blockade with an artificial ventilation rate different from the centrally driven respiratory rhythm, such that ensures the drive was derived from central sources as respiration was stimulated with CO₂ providing thus conditions for a strong drive that would normally lead to a strong excitation of a reasonable proportion of motoneurons (Kirkwood and Sears 1978).

Many of our experiments were performed in decerebrate animals, since under anaesthesia the activation of PICs are largely depressed. However, an important motivation for this study was that, despite this depression, anaesthetized animals continue to breathe, with strong excitation being achieved in some motoneurons. Moreover, for one particular motoneuron input, the respiratory drive to hindlimb motoneurons (Ford & Kirkwood, 2006). PIC mechanisms are readily activated under anaesthesia: this input actually trigger plateau potentials in this condition (Kirkwood et al. 2002), as it does in the decerebrate (Kirkwood et al 2005). Some experiments using barbiturate anaesthesia were therefore also included.

The results show that expiratory motoneurons in the thoracic segments behave much as would be expected from previous data on passive or reflexly excited hindlimb motoneurons, i.e. PICs being readily activated in the decerebrate preparation but not under anaesthesia. However, for the central excitation of phrenic motoneurons, which innervate the most important of the respiratory muscles in mammals, the diaphragm, minimal activation of PICs seems to be involved. Instead, a voltage-dependent amplification occurs which likely involves the activation of NMDA receptors.

We thank Lillian Grøndahl for her unfailing help in all phases of this investigation. The project is supported by the Royal Society, Ludvig and Sara Elsass' Foundation, Friis Foundation and the Danish MRC.

C60

EL ATP COMO TRANSMISOR PARACRINO ENTRE LAS CÉLULAS DEL OVARIO.

ROGELIO O. ARELLANO, FRANCISCO VÁZQUEZ-CUEVAS, EDITH GARAY.
Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus UNAM
Juriquilla Querétaro.

Los procesos fisiológicos involucrados en el crecimiento, desarrollo y maduración meiótica de las células gaméticas requieren de la participación concertada de los diversos tipos celulares que componen los órganos reproductivos; además de la bien conocida participación y control ejercidos a través del sistema neuroendocrino. En el ovario, la comunicación entre las diversas células somáticas y el gameto en desarrollo, es un factor indispensable en cada uno de los procesos de la foliculogénesis. Esta comunicación se lleva a cabo a través de transmisores químicos producidos intra-folicularmente, así como por su acoplamiento eléctrico y metabólico a través de uniones comunicantes. El ejemplo más evidente de la importancia de estos sistemas de comunicación es el establecido entre las células de la granulosa con el ovocito, que se expresa desde las etapas tempranas del desarrollo del folículo primario, y que alcanza su mayor complejidad en el sincicio funcional formado por las células del cumulus en comunicación con el ovocito en los estados avanzados de crecimiento del folículo. Ha sido mostrado que la comunicación deficiente entre estos tipos celulares afecta de manera determinante el desarrollo normal del gameto. Los sistemas de comunicación química intra-folicular incluyen moléculas de diferente naturaleza, que son sintetizadas y liberadas al medio extracelular, tanto por las células somáticas como por el ovocito. En el laboratorio, hemos mostrado que la señalización purinérgica es uno de los sistemas que son expresados funcionalmente en el folículo ovárico de diferentes especies de vertebrados, y que su estimulación específica modula diversos fenómenos celulares de potencial importancia en la foliculogénesis. El ATP y la adenosina son los transmisores químicos principales de esta vía, los cuales actúan a través de su unión a receptores específicos llamados receptores P2 y P1 respectivamente. Los receptores del tipo P2 incluyen tanto moléculas que conforman receptores-canal, llamados receptores P2X, como también receptores de siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G (GPCR) que son llamados P2Y. Los receptores P1 incluyen solo receptores del tipo GPCR. En general, han sido identificados 8 diferentes receptores del tipo P2Y, 7 del tipo P2X, y 4 receptores P1, en el caso específico del ovario de rana y mamífero tenemos evidencia de la expresión de varios subtipos en los distintos tipos celulares. Entre estos, son de gran interés los subtipos P2Y2 y P2Y4 en las células del cumulus de mamífero, y en las células foliculares de rana, y de los receptores P2X7 en las células de la teca y las células del epitelio ovárico de mamífero. Utilizando los folículos ováricos de la rana *Xenopus* hemos demostrado que el ovocito tiene la capacidad de liberar ATP al medio, tanto de forma basal como estimulada, y esto provoca la activación de los receptores tipo P2Y expresados en las células foliculares, la activación de estos receptores estimula tanto la síntesis de IP₃ como de AMPc. El consecuente aumento del Ca²⁺ intracelular por IP₃, y del AMPc, provoca la apertura de canales iónicos por la participación de alguno de estos segundos mensajeros; también hemos demostrado que a través de mecanismos semejantes, en el folículo de mamíferos el ATP genera una diversidad de respuestas celulares, activando varias vías de señalización. La participación de la vía de síntesis de IP₃/DG por la acción de la fosfolipasa C tiene importantes consecuencias en diversos fenómenos fisiológicos y los datos sugieren que su acción en el folículo afecta fenómenos de proliferación y muerte celular, producción y liberación de transmisores, y control del volumen celular. El caso de la expresión del receptor P2X7 representa un caso de gran interés por su implicación en fenómenos de muerte programada en diversos tejidos y su participación en procesos de progresión tumoral, nuestros estudios recientes muestran que su expresión es regulada a lo largo del ciclo estral, lo que sugiere su participación en la ovulación y la reparación del daño que este mismo fenómeno provoca en la superficie del ovario.

Agradecemos el apoyo a través de CONACyT No. 82340 y DGAPA-UNAM Nos. IN214409 e IN208209.

C61

LA ANALGESIA MULTIMODAL EN PANANGIOGRAFÍA

SOCORRO CÓRDOBA JUÁREZ, ROBERTO LAGUNES CÓRDOBA*.

Hospital Regional de Alta Especialidad de Veracruz. 20 de Noviembre 1074. Col. Centro.
C.P. 91700. Veracruz, Ver. *e-mail contacto: rlc2001halt@hotmail.com

La panangiografía cerebral es un método radiológico invasivo que se utiliza para hacer el diagnóstico de enfermedad vascular cerebral (EVC). Para obtener imágenes de alta calidad, es necesario que el paciente permanezca inmóvil y consciente. Sedar a los pacientes se asocia con una baja en la morbimortalidad perioperatoria y mejora la capacidad ventilatoria del paciente al disminuir el estrés y el dolor que presentan. El esquema de manejo multimodal que proponemos utiliza los fármacos flunitrazepam, nalbufina y dexmedetomidina. Realizamos este estudio para observar los efectos analgésicos y hemodinámicos con un enfoque multimodal que permiten minimizar las dosis empleadas y obtener adecuada sedación (Ramsay de 2 a 3) y analgesia con un mínimo de efectos adversos.

Metodología: se incluyeron pacientes sometidos a estudio de panangiografía, de ambos sexos y de cualquier edad, con riesgo anestésico ASA de I a IV. Se consideraron las siguientes variables hemodinámicas: frecuencia cardíaca (FC), saturación de O₂ (SO₂) y tensión arterial (TA), así como la escala de sedación de Ramsay. Estas variables se midieron durante todo el procedimiento anestésico. Además, se tomaron los datos descriptivos del paciente, que incluyen: sexo, edad, peso, diagnóstico inicial, el tiempo total de duración del estudio y el reporte de los eventos adversos durante el transanestésico.

Resultados: se reclutaron 60 pacientes, con edades comprendidas entre los 6 y los 84 años (45.35 ± 17 años) y un peso corporal entre los 30 y los 96 kg (69.33 ± 12.39 Kg). Todos los pacientes permanecieron con un Ramsay de 2 o 3 durante el transoperatorio, que es adecuado para que el paciente este tranquilo y siga instrucciones. En 5 casos (8.3%) fue necesario reducir la tasa de infusión de dexmedetomidina para lograr el nivel de sedación adecuado. Todos los pacientes fueron dados de alta del servicio con un Ramsay de 2. El tiempo promedio del procedimiento fue de 40.5 ± 8.7 minutos. La TA y la FC disminuyeron de manera significativa durante la infusión de dexmedetomidina ($p < 0.0001$), pero se mantuvieron en los intervalos normales. En cambio, la SO₂ se mantuvo sin cambios significativos ($p = 0.202$). Dos pacientes presentaron náusea posterior al procedimiento, la cual fue controlada con 4 mg de ondasetron en ambos casos.

Conclusiones: aunque son necesarios más estudios para establecer un régimen de dosificación multimodal óptimo, consideramos que los datos aportados por nuestro estudio sugieren que analgesia multimodal representa una opción segura para los pacientes sometidos a panangiografía, al disminuir las dosis de fármacos necesarios, y con ello, los efectos adversos asociados a su uso.

C62

TOXICIDAD Y PROTECCIÓN DE LA PROTEÍNA TAU EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

JOSÉ LUNA-MUÑOZ^{1,2}, PAOLA FLORES¹, SERGIO ZAMUDIO², FIDEL DE LA CRUZ², CHARLES R. HARRINGTON³, CLAUDE M. WISCHIK³, RAUL MENA¹,

¹ Depto. Neurociencias. CINVESTAV, DF, Mexico; ² Depto. De Fisiología, ENCB, IPN, DF, Mexico; ³ Depto. De salud mental Mental. Universidad de Aberdeen, Aberdeen, Reino Unido

La densidad de las marañas neurofibrilares (MNF) correlaciona con la demencia en la enfermedad de Alzheimer. Las MNF representan agregados insolubles de filamentos helicoidales apareados (FHA). Estos polímeros están conformados por la proteína tau, la cual tiene especies truncadas e hiperfosforiladas. La truncación más importante encontrada en los FHA se encuentra en el Glu391 y es identificada por el anticuerpo monoclonal AcM 423. Las formas fosforiladas son muy numerosas y se encuentran a lo largo de toda la molécula. La truncación del Glu391 parece estar asociado a un fragmento de la proteína tau que corresponde al “núcleo” del FHA. Este núcleo puede ser la subunidad de los FHA. Hasta hoy no se conocen las relaciones entre la forma truncada de tau y las hiperfosforiladas en la formación inicial del FHA. En este estudio combinamos el uso de marcadores contra fosforilaciones (pSer396, pSer400, pSer404, pSer409, AD2 y pSer422) con el 423. Las muestras fueron analizadas con microscopía confocal. Nuestro objetivo fue tratar de determinar si existe alguna forma de asociación entre estos marcadores en las primeras etapas de agregación de tau en el proceso de polimerización. Nuestros resultados indican que la truncación del Glu391 no sólo precede la aparición de las formas fosforiladas de la proteína tau sino que parece ser el evento inicial en la formación de los FHA. Trabajo financiado por CONACyT (RM 102278).

C63

TAENIA SOLIUM AND TAENIA CRASSICEPS CAPACITY TO SYNTHESIZE AND INTERCONVERT SEX STEROIDS HORMONES. 17 β -HYDROXYESTEROID DEHYDROGENASE IS EXPRESSED IN THE CYSTICERCII.

M. C. ROMANO, L. HINOJOSA, R. VALDEZ, P. ¹JIMÉNEZ, ²K. WILLMS, ³J.P. LACLETTE, ³R. BOBES

Dpto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Cinvestav, Apdo. Postal 14-740, 07000, México D.F.; ¹CIRA, CINVESTAV-UAT, Tlaxcala, México; ²Depto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, México 04510, D.F.; ³Dpto. de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

The larval (cysticerci) stage of *Taenia solium* (*Ts*) develops in pork meat and causes severe disease in the human nervous system. The worms developed from cysticerci have reproductive units called proglottids that contain testis and ovaries in different stages of development. We have demonstrated the ability of cysticerci to synthesize steroid hormones *in vitro*. Using histochemistry and thin layer chromatography (TLC) we have also recently shown that *Ts* and *T. crassiceps* WFU (*Tc* WFU) taenias and cysticerci have a functional 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, a key enzyme in the steroidogenic pathways involved in the synthesis of androgens and estrogens in vertebrates. The 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases (17 β -HSDs) are also key enzymes that participate in the formation and the inactivation of sex steroids, having reductive and oxidative functions. In vertebrates the reductive group synthesizes active androgens and estrogens, the oxidative groups inactivate the steroids.

The aim of this work was to study the ability of cysticerci and worms from *Ts* and *Tc* WFU to synthesize androgens in the $\Delta 4$ steroidogenic pathway and the capacity to interconvert androgens and estrogens, a function performed by 17 β -HSDs. In this regard, the expression of this enzyme has been studied by RT-PCR in *Ts* cysticerci.

For this purpose *Ts* and *Tc* WFU worms were grown in the intestine of experimentally infected hamsters. Thirty to sixty days postinfection, the worms were recovered and thoroughly washed in PBS plus antibiotics/antimycotics. The parasites were incubated in DMEM plus antibiotics/antimycotics plus tritiated steroid hormone precursors (Progesterone (P_4), Androstenedione (A_4), Estrone (E_1) and 17 β -estradiol (E_2)) for 3h at 37°C. Vials containing DMEM and only the tritiated steroid precursors (blanks) were simultaneously incubated. Blanks and parasite culture media were either extracted and analyzed by thin layer chromatography (TLC) in a dichloromethane-ethyl acetate (8:2 v/v) system. Data are expressed as percent transformation of the tritiated precursors. For RT-PCR studies total ARN was extracted with TrisReagent from *Ts* cysticerci dissected from pig muscles. RT-PCR was performed by SuperScript™ One-Step RT-PCR with Platinum® Taq using gene specific primers designed from a EST sequence identified in the larval library of the *Taenia solium* Genome Project.

TLC results showed that *T. solium* and *T. crassiceps* worms synthesize androgens and estrogens from ³H- P_4 . In addition they interconvert ³H- E_1 into ³H-17 β - E_2 and conversely, an observation which strongly suggests the activity of 17 β -HSDs. The expression of a 17 β -HSD RNAm was found in *T. solium* cysticerci. The sequence has at least 78% homology with 17 β -HSD cDNAs of rats, mice and the *Schistosoma mansoni*. In summary, the present results show for the first time that cestode worms have the ability to synthesize androgens and estrogens by the $\Delta 4$ -steroidogenic pathways, and they also have the capacity to inactivate these hormones by converting them to weak molecules, or to activate the weak hormones to provide active sex steroids. Finally we have found the RNAm expression of a 17 β -HSD that is probably involved in the sex steroid interconversion referred above.

Partially financed by CONACyT grant # 69347. The authors acknowledge MVZ José A. Jiménez for technical assistance.

C64**PATRÓN DE AGREGACIÓN DE LA PROTEÍNA TAU EN HIPOCAMPO Y CORTEZA TEMPORAL DE CASOS CENTENARIOS SANOS Y ADULTOS MAYORES CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.**

Pérez Solís E, Luna-Muñoz J, García-Sierra F, Mena R. Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, México D.F. eperez@fisio.cinvestav.mx

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la enfermedad neurodegenerativa de mayor prevalencia e incidencia alrededor del mundo, es de etiología desconocida y su principal factor de riesgo es la edad y hasta el momento no se sabe si la EA es una forma de envejecimiento acelerado o un proceso independiente del envejecimiento. Histológicamente se caracteriza por dos lesiones en el tejido cerebral: Las placas neuríticas y las marañas neurofibrilares (MNF). En 1991 Braak & Braak determinaron que la progresión de las MNFs correlaciona positivamente con el diagnóstico clínico de demencia. El componente principal de la MNF es la proteína tau. En la EA se han reportado diversas modificaciones postraduccionales de la proteína tau, principalmente fosforilaciones y truncaciones; el estudio de estas ha sido posible gracias al uso de diversos anticuerpos que reconocen fosforilaciones o truncaciones. En el presente proyecto se utilizaron los anticuerpos contra las fosforilaciones en el lado amino Thr²³¹ (p231), Ser²⁰² y Thr²⁰⁵ (AT8), del lado carboxilo Ser³⁹⁶ (396), Ser⁴⁰⁴ (404) así como las truncaciones en el Glu³⁹¹ (423) y en el Asp⁴²¹ (TauC3) en un grupo de muestras de adultos mayores sin síntomas clínicos de EA y con demencia de EA, así como en muestras de un grupo de centenarios franceses que fallecieron sin síntomas de demencia, con el objetivo de determinar que modificaciones de la proteína tau forman parte del desarrollo de la patología de EA y cuales forman parte de un proceso de envejecimiento libre de demencia. Los resultados indican que las fosforilaciones en el lado amino son modificaciones que ocurren como parte del procesamiento de tau tanto en el envejecimiento normal como en la EA. Las fosforilaciones en el lado carboxilo son modificaciones relacionadas con la edad. Las formas truncadas están presentes de manera significativa en la EA. Tomando en cuenta las diferencias en la densidad de las MNF inmunoreactivas a las diversas formas de la proteína tau de acuerdo a la edad y etapa de patología de patología neurofibrilar, se concluye que la EA es independiente de la edad.

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS PROFESORES

Investigador Titular	Ext. Oficina	Correo Electrónico @fisio.cinvestav.mx
<u>Aceves Ruíz, Jorge</u>	3365	jaceves
<u>Arias Montaña, José Antonio</u> <u>Gilberto</u>	3964	jaarias
<u>Cereijido Mattioli, Marcelino</u>	3364	cereijido
<u>Colomer Gould Veronica Frances</u>	3859	vcolomer
<u>Contreras Patiño, Rubén Gerardo</u>	3369	rcontrer
<u>Delgado Lezama, José Rodolfo</u>	5128	rdelgado
<u>Florán Garduño Benjamín</u>	5137	bfloran
<u>García Hernández, Ubaldo</u>	3965	ugarcia
<u>García Villegas, María del Refugio</u>	5101	rgarciav
<u>González-Mariscal y Muriel,</u> <u>Lorenza</u>	3966	lorenza
<u>Gutiérrez Aguilar, Rafael</u>	3368	grafael
<u>Hernández Rodríguez, Jorge</u> <u>Manuel</u>	5124	jorgeh
<u>Jiménez Estrada, Ismael</u>	3363	ijimenez
<u>Martínez Rojas, Dalila</u>	3361	damartin
<u>Martínez Fong, Daniel</u>	3959	dmartine
<u>Mena López, Raúl</u>	5130	rmena
<u>Mendoza Garrido, María Eugenia</u> <u>del Carmen</u>	5714	mmendoza
<u>Muñoz Martínez, Emilio Julio</u>	3960	munoz
<u>Ponce Balderas, Arturo</u>	5193	aponce
<u>Quevedo Durán, Jorge Noel</u>	5721	jquevedo
<u>Reyes Sánchez, José Luís</u>	3962	jreyes
<u>Romano Pardo, Marta Catalina</u>	3961	mromano
<u>Rudomín Zevnovaty, Pablo</u>	3366	rudomin
<u>Segovia Vila, José</u>	3958	jsegovia
<u>Shoshani, Liora</u>	3360	shoshani

EX-ALUMNOS

NOMBRES	APELLIDOS	INSTITUCION	CORREO ELECTRONICO
Roberto	Aceves Rangel	U. COLIMA	
Jorge	Aceves Ruiz	CINVESTAV	jaceves@fisio.cinvestav.mx
Graciela de los Angeles	Aguilera Suárez	FARM. RAYERE S.A.	gaguilera@rayere.com.mx
Fernando	Alfaro Bustamante		FINADO
Rogelio	Arellano Ostoa	UNAM	arellano.ostoa@unam.mx
Hugo Hernando	Aréchiga Urtuzuástegui		FINADO
José	Bargas Díaz	UNAM	jbargas@ifc.unam.mx
Graciela Nora	Beaty Parodi		FINADO
Juan	Bernal Martínez	U.T. DE AGUASCALIENTES	bernaiv@prodigy.net.mx
Norma	Blazquez Graf	UNAM	blazquez@servidor.unam.mx
Juan José	Bolívar González	UNAM	jjboliv@servidor.unam.mx
Humberto	Bracho Herrera	PARK PLACE M. C.	
Ana Josefa	Cardona Lira	U. CHICAGO	solodkin@uchicago.edu
Daniel Heriberto	Castillo Aguilar	U. A. CHIHUAHUA	dcastill@hotmail.com
Ana Silvia	Cordero Gómez del Campo	CONS. PRIV. DE NUT.	harishna@hotmail.com
José Luis	Cortés Peñaloza	U. JUAREZ A. TABASCO	
Gabriel	Cota Peñuelas	CINVESTAV	gcota@fisio.cinvestav.mx
Humberto	Cruzblanca Hernández	U. COLIMA	cruzblan@cgc.icol.mx
José de Jesús	Cueva Chávez		*****
Rafael	Cueva Rolón		FINADO
Eduardo	de la Cerda González	U. A. AGUASCALIENTES	edlcerda@correo.uaa.mx
José Rodolfo	Delgado Lezama	CINVESTAV	rdeldago@fisio.cinvestav.mx
Mario	Délmarm Junco	STATE U. NEW YORK	delmarm@upstate.edu
María Cristina	Eguía Lis Gutiérrez	IPN	
Alejandro Manuel	Elizalde Lozano	U. COLIMA	elizalde_alex@ucol.mx
David	Erlj Jazcilevich	C. M. SUNY DOWNSTATE	derlij@netmail.hscbklyn.edu
Alfredo Ignacio	Feria Velasco	U. DE GUADALAJARA	fva35671@cucba.udg.mx
José Alonso	Fernández Guasti	CINVESTAV	jfernand@cinvestav.mx
Francisco Rafael	Fernández de Miguel	UNAM	ffernand@ifc.unam.mx
Francisco Javier	Flores López	CINVESTAV	fjflores@servidor.unam.mx
Benjamín	Florán Garduño	CINVESTAV	bfloran@fisio.cinvestav.mx
Arriano Eugenio	Frixione Garduño	CINVESTAV	frixione@cinvestav.mx
Benito			
Ignacio	Galar Castelán		
María Elvira	Galarraga Palacio	UNAM	egalarra@ifc.unam.mx
José Octavio	Galindo Carvajal		jogal09@terra.com.mx
Jesús Roberto	Gamboa Aldeco	U. JUAREZ AUT. TABASCO	robertogamboa@usa.net
María del Carmen	García García	CINVESTAV	cgarcia@cinvestav.mx
Ubaldo	García Hernández	CINVESTAV	ugarcia@fisio.cinvestav.mx
	García Martínez	U. OF ILLINOIS-CHICAGO	garmar@uic.edu

Jesús			
Juan	García Ramos		FINADO
Silvio	Glusman Glosman	COOK COUNTY HOSPITAL	glusil@aol.com
José Rafael	Godínez Fernández	Uam-IZTAPALAPA	gfr@xanum.uam.mx
José	González Florez	U. PEDAG. NAL. (COL.)	josegonzalezf2000@yahoo.es
Gertrudis Hortensia	González Gómez	UNAM	hortecgg@ciencias.unam.mx
Lorenza	González Mariscal y Muriel	CINVESTAV	lorenza@fisio.cinvestav.mx
Rebeca	González Rudo	ORTEGA Y ORTIZ EDITORES	rebecaglzrudo@yahoo.com
Hugo	González Serratos		FINADO
Sergio	Grinstein Aks	HOSP. FOR SICK CHILDREN	sga@sickkids.ca
María Eugenia	Gutiérrez Castillo	IPN	uram59@yahoo.com
Arturo	Hernández Cruz	UNAM	ahernan@ifc.unam.mx
Vicente	Hernández García		vicherna@uacj.mx
Marcia	Hiriart Urdanivia	UNAM	mhiriart@ifc.unam.mx
Miguel	Huerta Viera	U. COLIMA	huertam@ucol.mx
Pompilio	Huizar Sánchez	UAM-IZTAPALAPA	pynhuizar@hotmail.com
Delia Rosa	Jaen Tejada	U. DE PANAMA	fisiolo@ancon.up.ac.pa
Octavio	Jaramillo Monroy	P. SEL. MEJ. GEN. ABEJAS	ojara20@hotmail.com
Ismael	Jiménez Estrada	CINVESTAV	ijimenez@fisio.cinvestav.mx
Jorge Rodrigo	Jovane Jaramillo	HOSPITAL DAMAS	
Gérard	Leblanc Rozay		FINADO
Mario Rogelio	López Torres	UNAM	mrlt@servidor.unam.mx
Alejo	Magallanes Zamora	IMSS	
Daniel	Martínez Fong	CINVESTAV	dmartine@fisio.cinvestav.mx
Jesús Flavio	Martínez Morales	U.A. SAN LUIS POTOSI	martinej@uaslp.mx
María Eugenia del Carmen	Mendoza Garrido	CINVESTAV	mmendoza@fisio.cinvestav.mx
Herón	Mendoza Larraguivel	U.A. TAMAULIPAS	hmendoz@med-tam.uat.mx
Rosalío	Mercado Camargo	U. MICH. S. NIC. DE HGO	ros421@hotmail.com
Jesús Alonso	Moreno Patrón	INDIANA UNIVERSITY	amoreno@iupui.edu
José de Jesús	Muñiz Murguía	U. COLIMA	mmurguia@ucol.mx
Emilio Julio	Muñoz Martínez	CINVESTAV	jmunoz@fisio.cinveseta.mx
Sergio	Márquez Gamiño	U. GUANAJUATO	smgamino@ifug5.ugto.mx
Leonardo Cristián	Nicola Siri	U.N. DE ENTRE RIOS (Arg)	nicolasirileo@hotmail.com.ar
María Isabel	Noguerón de la Roquette	MILWAUKEE PUB. SCH. SYST.	
Ramón	Nuñez Hernández	U. CONNECTICUT	
Carlos Guillermo	Onetti Percello	U. COLIMA	cgonetti@ucol.mx
José Carlos	Orozco Buenrostro	IPN	jorozco@ipn.mx
Arturo	Ortega Soto	CINVESTAV	arortega@cinvestav.mx
Mauricio	Ortiz Robles	ORTEGA Y ORTIZ EDIT.	mortix1054@yahoo.com.mx
Mauro Francisco	Pacheco Carrasco		FINADO
Arturo	Picones Medina	U. OF CALIFORNIA	arturo@phy.ucsf.edu
Juan Carlos	Pineda Cortés	U.A. YUCATAN	pcortes@tunku.uady.mx
Francisco Bernardo	Pliego Rivero	U.A. DEL EDO DE MEXICO	hpiego@uamex.mx
Arturo	Ponce Balderas	CINVESTAV	aponce@fisio.cinvestav.mx
	Porras Villalobos	UNAM	mgpv60@hotmail.com

Mercedes Graciela			
Elia Martha	Pérez Armendáriz	UNAM	eperez@servidor.unam.mx
Héctor Francisco	Rasgado Flores	FINCH U. HEALTH SCI.	hector.rasgado@rosalindfranklin.edu
Joaquín	Remolina López		FINADO
Leopoldo Conrado	Reyes Bautista	IPN	
José Luis	Reyes Sánchez	CINVESTAV	jreyes@fisio.cinvestav.mx
Martín Gerardo	Rodríguez	U. MICH. S. NIC. DE HGO	
Juan Daniel	Rodríguez Choreño	IPN	presidencia@ameo.org.mx
Hilda	Rodríguez Ortiz		
Leonardo	Rodríguez Sosa	UNAM	lrsosa@servidor.unam.mx
Pedro Pablo	Rudomín Zevnovaty	CINVESTAV	rudomin@fisio.cinvestav.mx
Bárbara	Schlig de Remolina		
Carlos Isaac	Silva Barrón	U.A. QUERETARO	isaac@uaq.mx
Marcos	Solodkin Horowitz		FINADO
Jorge Alberto	Sánchez Rodríguez	CINVESTAV	jsanchez@cinvestav.mx
Salvador Alfonso	Sánchez de la Peña	IPN	
Ligia Guadalupe	Toro Calzada	U. CALIFORNIA	ltoro@ucla.edu
José Luis	Torres Escalante	IMSS	
Ismael David	Uribe Arriaga	U. COLIMA	
René Francisco	Valdiosera Vázquez	CINVESTAV	rvaldios@fisio.cinvestav.mx
Juan Roberto	Valle Aguilera	U.A. SAN LUIS POTOSI	vallerob@uaslp.mx
Froylán	Vargas Martínez	CINVESTAV	fmvargas@fisio.cinvestav.mx
José Miguel	Cristancho Fierro	U. SURCOLOMBIANA	micrista@usco.edu.co
Sergio Horacio	Dueñas Jiménez	U. GUADALAJARA	sduenas@cucs.udg.mx
Manuel	Enríquez Denton	COLLEGE LONDON U.	medenton@yahoo.co.uk
María Susana	Balda	COLLEGE LONDON U.	m.balda@ucl.ac.uk
Mario	Vázquez García	UNAM	mvazquez@liceaga.facmed.unam.mx
Gabriela	González Mariscal Muriel	CINVESTAV	gglezm@prodigy.net.mx
Jorge Víctor	Horta Vega	I.T. DE CIUDAD VICTORIA	jhortavega@yahoo.com.mx
José Antonio	Arias Montaña	CINVESTAV	jaarias@fisio.cinvestav.mx
Gilberto			
Oscar Hernando	Hernández Vázquez	U.A. CAMPECHE	ohhernan@yahoo.com.mx
David Erasmo	García Díaz	UNAM	erasmo@servidor.unam.mx
Diego Ricardo	Félix Grijalva	CINVESTAV	rfelix@cell.cinvestav.mx
Rafael	Mejía Alvarez	LOYOLA U.-CHICAGO	rmejia@lumc.edu
Manuel Gerardo	Rosales González	U. JUAREZ DE DURANGO	manuel_rosales_9@hotmail.com
Jorge Alberto	Reyes Esparza	U.A. EDO DE MORELOS	jareyes@uaem.mx
José Jesús	García Colunga	UNAM	garciacolunga@inb.unam.mx
Andrés	Quintanar Stephano	U.A. AGUASCALIENTES	aquinta@correo.uaa.mx
José Francisco	Ek Vitorín	U. ARIZONA	ekvitorin@netscape.net
Rosana Sofía	Fiorentino Pérez	CINVESTAV	rosana@fisio.cinvestav.mx
Rubén Gerardo	Contreras Patiño	CINVESTAV	rcontreras@fisio.cinvestav.mx
José Luis	Góngora Alfaro	U.A. YUCATAN	galfaro@uady.mx ; jlgongoralf@gmail.com
Luis	Castillo Hernández	U.A. AGUASCALIENTES	lcastill@correo.uaa.mx
	Talavera Adame	CEDAR'S SINAI M.C.	talaverad@cshs.org

Dodanim			
Gonzalo	Flores Alvarez	U.A. PUEBLA	gflores@siu.buap.mx
Francisco	García Sierra	CINVESTAV	fgarcia-sierra@cell.cinvestav.mx
Sergio Humberto	Elenes Zepeda	U. COLIMA	selenes@uacol.mx
Bertha	Segura Alegría	UNAM	bsegura@campus.iztacala.unam.mx
Ulises	Meza Villanueva	U.A. SAN LUIS POTOSI	umeza@uaslp.mx
Juan Carlos	Gómora Martínez	UNAM	jgomora@ifc.unam.mx
Salvador Leonardo	Hernández López	UNAM	
Ramón	Alvarado Alvarez	UNAM	aramon@correo.unam.mx
Alfonso	Garfías Arvizu	U. PANAMERICANA	agarfiasarvizu@hotmail.com
Macrina	Zamora Torres	U. COMUN. SLP	
Ma. Herlinda	Rivera Rosas	HOSP. MEDIC. ALTERNAT.	marilinriver@hotmail.com
Regina María	Brussolo Ceballos	I.T. DE CIUDAD VICTORIA	rmbussolo@gmail
Jorge Noel	Quevedo Durán	CINVESTAV	jnquevedo@gmail.com
Janet	Murbartian Aguilar	CINVESTAV	murbartian@cinvestav.mx
Juan Manuel	Gallardo Montoya	IMSS	jmgallardo@yahoo.com
Sergio Hugo	Sánchez Rodríguez	U.A. ZACATECAS	smdck@comunidad.veterinaria.org
Mirna Alicia	Pérez Moreno	ROCKEFELLER UNIVERSITY	maperez@cnio.es
Juana Antonia	Avila Flores	U.A. MADRID	jaavila@cnb.csic.es
Francisca	Pérez Severiano	I.N. NEUROL. Y NEUROCIR.	fseverian@yahoo.com
Catalina Elizabeth	Flores Maldonado	CINVESTAV	ceflores@fisio.cinvestav.mx
Dolores	Martín Tapia	CINVESTAV	dolores@fisio.cinvestav.mx
Adriana	Galván Zamudio	EMORY U.	agalvan@emory.edu
Enrique	Querejeta Villagómez	IPN	ennquerejeta2000@hotmail.com
José Ma.	Farías Sánchez	UNAM	jomafa@liceaga.facmed.unam.mx
Alfonso	Delgado Reyes	U.A. CHIHUAHUA	aldelgado@uach.mx
Claudia	Toral Juárez		eslemusmx@yahoo.com.mx
Ricardo	Bahena Trujillo	IPN	rbahena@ipn.mx
Amira del Rayo	Flores Urbina	U.A. PUEBLA	aflores@siu.buap.mx
Eduardo	Rangel Flores	U.A. ESTADO DE HIDALGO	lalo522001@yahoo.com.mx
Francisco Javier	Camacho Arroyo	CINVESTAV	fcamacho@cinvtav.mx
Norma Leticia	Gómez Viquez	CINVESTAV	letyviquez@hotmail.com
Tamara	Pérez Roselló	UNAM	
Julieta	Garduño Torres	UNAM	julietagt@gmail.com
Laura Concepción	Valencia Espinoza	U.A. BAJA CALIFORNIA	valencialc@uabc.mx
Luis Enrique	Soria Jasso	U.A. ZACATECAS	soriajasso@yahoo.com.mx
Marisol	Galván Valencia	U.A. ZACATECAS	mgalvanv@cantera.reduaz.mx
Guillermo	Avila Flores	CINVESTAV	gavila@cinvestav.mx
Eduardo	Monjaraz Guzmán	U.A. PUEBLA	emguzman@siu.buap.mx
Luis Félix	López Santiago		lopezslf@umich.edu
Natividad	Cortez Apreza		nati452@hotmail.com
José Ramón	Eguibar Cuenca	B.U.A. PUEBLA	jeguibar@siu.buap.mx
Carlos	Villatoro Domínguez	U.A. CHIAPAS	cportugal@prodigy.net.mx
Jacqueline	Moreno Uriza	STANFORD UNIVERSITY	jmoreno1@stanford.edu
	Ruiz de León		Octavio_Ruiz@brown.edu

Octavio			
Mario	Pérez Martínez	UNAM	perezmtmario@yahoo.com.mx
Bertha Alicia	León Chávez	B.U.A. PUEBLA	alileon@yahoo.com.mx
Rebeca Débora	Martínez Contreras	B. U.A. PUEBLA	acgt26@hotmail.com
Anayansi	Molina Hernández	UNAM	anayansimolina@yahoo.com.mx
Abigail	Betanzos Fernández	CINVESTAV	abigailbetanzos@gmail.com
Demetrio	Arcos Camargo	ITESM- MONTERREY	metioarcos@gmail.com
Alfonso	Bárbara Martínez	U. HEINRICH-HEIN	viento_azteka@yahoo.de
Eliás	Manjarrez López	B.U.A.PUEBLA	eliasmanjarrez@gmail.com
Juan Antonio	González Barrios	ISSSTE	jantgonzalez@issste.gob.mx
Ana Victoria	Vega Salcedo	CETIS	avega_1971@yahoo.com
Adriana	Hernández Angeles	CINVESTAV.	haadriana@yahoo.com.mx
Absalom	Zamorano Carrillo	IPN	absalomz2002@yahoo.com.mx
Martha	García Ramírez	IPN	martha_garcia_2005@yahoo.com.mx
Enrique	Sánchez Lemus	NAT. INST. OF HEALTH	eslemusmx@yahoo.com.mx
Joel	Lomeli González	IPN	jlomeli_glez@yahoo.com.mx
Sandra	Hernández Bustillos	I.M. DE LA PROP. IND.	sandyjess@hotmail.com
Pedro Isaías	Jiménez Estrada	U.A. TLAXCALA	abigailbetanzos@gmail.com
Gisela	Gómez Lira	INST. NAL. DE PEDIATRIA	gisogomez@hotmail.com
María del Carmen	Vivar Estudillo	NAT. INST. ON AGING	interneurona@hotmail.com
Jorge Alejandro	Benítez Hernández	U. CALIFORNIA S. DIEGO	benitezja@hotmail.com
Susana Monserrat	Lechuga Villarauz	UNITEC	susanalv@fisio.cinvestav.mx
Belén	Garduño Torres	U.A. DE LA CD. DE MEX.	belengt@gmail.com
David	Chamorro Plata	U DEL VALLE DE MÉXICO	dcp5731@yahoo.com.mx
Oswaldo	Ibáñez Sandoval	RUTGERS UNIVERSITY	osobanez@gmail.com
Rocío	Tapia Pastrana	CINVESTAV	rtpastrana@gmail.com
Germán	Cárdenas Manríquez	U. LATINA DE MEXICO	gastriti@terra.com
José Alejandro	Sandoval Romero	UNAM	asandoval@campus.iztacala.unam.mx
Carlos Enrique	Orozco Barrios	CINVESTAV	crls_2@hotmail.com
Carmen	Melchor Díaz	IMSS	calloyis@yahoo.com.mx
Víctor Manuel	García Acosta	UNAM	vgarcia@campus.iztacala.unam.mx
Blanca Estela	Jaramillo Loranca	INST. MEX. PROP. IND.	bejarami@upp.edu.mx
Liz del Rocío	Quintero Macías		lizquintero11@hotmail.com
Arturo Santiago	Andrade Andrade	BROWN UNIVERSITY	asaqfb@hotmail.com
Adán	Dagnino Acosta	BAYLOR COLL. MEDICINE	adan_chio@hotmail.com
David	Flores Benítez		davidfloresbenitez@hotmail.com
Luis Fernando	Razgado Hernández	CINVESTAV	luisfern@fisio.cinvestav.mx
Porfirio	Nava Domínguez	EMORY UNIVERSITY	pnav@emory.edu
Carlís de los Angeles	Rejón González	UNIVERSITY MCGILL	rcarlis@hotmail.com
Mario	Hernandes Alejandro	IPN	alanpoe51@hotmail.com
María Isabel	Larre Pérez	CINVESTAV	illarre@fisio.cinvestav.mx
Alejandra	Morales Paredes	BASHAM, RINGE Y CORREA	alett59@hotmail.com
Roberto	Lagunes Córdoba	HOSP. GRAL. VERACRUZ	rlc2001halt@hotmail.com
	Castro García de la Cadena	INST. NEUROC. BORDEAUX	amcastro06@gmail.com

Alberto Manuel			
Erika Patricia	Azorín Vega	CINVESTAV	ticuin@fisio.cinvestav.mx
Víctor Manuel	Castro Villela	CINVESTAV	castro(at)fmp-berlin.de
Paola	Pérez Polanco	CINVESTAV	pao0603@fisio.cinvestav.mx
Traudy Edith Teresita del Niño Jesús	Avila Schlottfeldt	CINVESTAV	tavila80@yahoo.com
Jasmín	Maqueda Mendoza	BECERRIL, COCA & BECERRIL	jmaqueda@bcb.com.mx
Jorge Alejandro	Cebada Ruiz	B.U.A PUEBLA	jcebadac@yahoo.com.mx
Corina	Silva Alvarez	INST. MEX. PROP. IND.	colebola@hotmail.com
Erika Cecilia	Garay Garduño	CINVESTAV	egaray.gar@gmail.com
Adán	Hernández Cortés	UNAM	adanhdez@fisio.cinvestav.mx
Verónica	Anaya Martínez	UNAM	anayamtz@yahoo.com.mx
Brenda	González Hernández	U.A.DE NUEVO LEON	galleta_gonzalez@yahoo.com
Adriana Magdalena	López Domínguez	INST. MEX. PROP. IND.	amlopez@impi.gob.mx
Luz Elba	López Alvarez	CINVESTAV	bioloal@yahoo.com.mx
Miguel Alejandro	López Ramírez		labroxmex@hotmail.com
Erika	Lara Flores	CINVESTAV	elara@fisio.cinvestav.mx
Armando de Jesús	Espadas Alvarez	CINVESTAV	espadas@fisio.cinvestav.mx
David	Reyes Corona	CINVESTAV	marsoltours@hotmail.com
Wendy Diana	Bautista Guzmán	SPINAL CORD RES. CENTER	wendy@scrc.umanitoba.ca
Francisco	Cuéllar Pérez	CINVESTAV	fcuellar@fisio.cinvestav.mx
Jesús Quetzalcóatl	Beltrán Mendoza	CINVESTAV	jbeltran@fisio.cinvestav.mx
Daniel	Hernández Baltazar	CINVESTAV	dan_terma@hotmail.com
Salvador	Quiroz González	CINVESTAV	quiroz@fisio.cinvestav.mx
Azucena	Ruiz Rosado	CINVESTAV	azucena@fisio.cinvestav.mx
Angélica	Osorio Espinoza	CINVESTAV	angelica.osorio.espinoza@hotmail.com
Héctor Armando	Rubio Zapata	U.A. YUCATAN	hearu71@hotmail.com
José Emanuel	Loeza Alcocer	CINVESTAV	loezayuc@fisio.cinvestav.mx
Elizabeth	Martínez Hernández	CINVESTAV	euridice@fisio.cinvestav.mx
Jacqueline	Martínez Rendón	CINVESTAV	jamare@fisio.cinvestav.mx
Augusto César	Poot Hernández	CINVESTAV	dragopoot@gmail.com
Vicky	García Hernández	CINVESTAV	vicky_gar@hotmail.com
Miguel Ángel	Quiros Quesada	CINVESTAV	miguel.quiros@gmail.com
Rosa Angélica	Castillo Rodríguez	CINVESTAV	asor108@hotmail.com
Enrique	Contreras Hernández	CINVESTAV	L_conread@fisio.cinvestav.mx
José de Jesús	Muñoz Estrada	CINVESTAV	jesus34_5@yahoo.com.mx
Paola del Rosario	Flores Rodríguez	CINVESTAV	drafloco@fisio.cinvestav.mx
Natanael	Zarco Salinas	CINVESTAV	zas_n@hotmail.com
Martha Beatriz	Canto Bustos	CINVESTAV	marthacanto@hotmail.com
María del Carmen	Andrés Barrera	CINVESTAV	mcandres@fisio.cinvestav.mx
Rosa Guadalupe	Meza Aguilar	CINVESTAV	czerwicz24@hotmail.com
Jorge Alberto	Lobato Alvarez	CINVESTAV	wirvern@gmail.com
Helga Nayelli	Palma Gutiérrez		helgapalm@gmail.com
Alejandro	García Godínez	CINVESTAV	algarcia@fisio.cinvestav.mx
	Arregui Mena	UAM-Cuajimalpa	arreguil@hotmail.com

Ana Leticia

Luis Manuel

Norma Angélica

Marco Antonio

Franco Méndez

Estrada Muñoz

Quezada Ramírez

UNAM

C. INV. BIOL. NOROESTE

IPN

lmfrancomendez@gmail.com

normaestrada9@hotmail.com

markogaba@gmail.com