



**REUNION ANUAL  
HOTEL SANTA CRUZ  
SANTA CRUZ, CHILE  
OCTUBRE 23-26  
2010**

# HORARIO

Horario	Sábado 23 Octubre	Domingo 24 Octubre	Lunes 25 Octubre	Martes 26 Octubre
9:00 - 11:00	Inscripciones	Simposio Progenitor cells in Diseases Salón Vichuquén	Simposio Transporters in Cancer Salón Vichuquén	Simposio Neurobiología Investigadores Jóvenes Salón Vichuquén Coordina:
11:00 - 11:30		Café	Café	Café
11:30 - 12:30		Conferencia Dr. Mike Marks Salón Vichuquén	Conferencia Dr. Nick Ferreri Salón Vichuquén	Conferencia clausura y Premiación Salón Vichuquén
13.00 – 14:30		Almuerzo	Almuerzo	
15:00 - 16:30	Conferencia Dr. Gernot Desoye Salón Vichuquén	poster Salón Colchagua	poster Salón Colchagua	
16:30 - 17:00	Café	Café	Café	
17:00 - 19:00	Simposio Mecanismos de disfunción endotelial Salón Vichuquén	Simposio Role of connexin and pannexin based channels in inflammatory responses Salón Vichuquén	Simposio Key Issues in Nicotinic receptors Salón Vichuquén	
19:15 - 21:00	Incorporaciones y Orales Salón Vichuquén	Simposio Vascular Investigadores Jóvenes Salón Vichuquén Coordina Sandra Villanueva	Reunión de Socios Salón Vichuquén	
21:00-21:15			Cena Salón Colchagua	
21:00 - 22:30				
22:30 - 24:00			FIESTA Salón Colchagua	

## CONFERENCIAS PLENARIAS

### **SABADO 23 DE OCTUBRE 15:00 A 16:30**

Dr. Gernote Desoye. Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical University of Graz, Austria.  
**INSULIN AND THE PLACENTA: THE FIRST PUBERTY IN HUMAN LIFE.**

### **DOMINGO 24 DE OCTUBRE 11:30 A 12:30**

Dr. Michael J. Marks, University of Colorado, Boulder, Colorado, USA.

**NICOTINE AND NICOTINIC RECEPTORS: DIVERSITY, FUNCTION AND ROLE IN RESPONSE TO ACUTE AND CHRONIC NICOTINE EXPOSURE.**

### **LUNES 25 DE OCTUBRE 11:30 A 12:30**

Dr. Nicholas R. Ferreri, Ph.D. Department of Pharmacology, New York Medical College, Valhalla, USA.

**ROLE OF TNF IN HYPERTENSION AND RENAL FUNCTION.**

### **MARTES 26 DE OCTUBRE 11:30 A 12:30**

Dr. Ramon Latorre, Centro Interdisciplinario de Neurociencia Celular y Molecular de Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Chile.

**THE ANATOMY OF AN ION CHANNEL REVEALED USING LUMINESCENCE RESONANCE ENERGY TRANSFER.**

## SIMPOSIOS

### **SÁBADO 23 OCTUBRE 17:00 A 19:00**

**SIMPOSIO 1: MECHANISMS OF ENDOTHELIAL CELL DYSFUNCTION** (modera: L Sobrevia)

Carmen Vázquez (U Sevilla, Spain)

**L-CARNITINE IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN HYPERTENSION.**

Gernote Desoye (Medical University of Graz, Austria)

**Insulin and endothelial dysfunction.**

Alfonso Mate (U Sevilla, Spain)

**ANTIOXIDATIVE MECHANISM OF L-CARNITINE IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION.**

Gregory Rice (U Queensland, Australia)

**PROTEOMICS AS A TOOL FOR PREDICTION OF CELL DYSFUNCTION IN PREGNANCY.**

### **DOMINGO 24 DE OCTUBRE 9:00 A 11:00**

**SYMPOSIUM 2: PROGENITOR CELLS IN DISEASE** (modera: L Sobrevia)

Bill Kalionis (U Melbourne, Australia)

**THE ROLE OF THE MESENCHYMAL STEM CELLS IN HUMAN PLACENTAL DISORDERS.**

Peter Sipos (U Manchester, UK)

**PLACENTAL ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS AND VASCULAR COMPLICATIONS.**

Claudio Aguayo (U Concepción, Chile)

**HUMAN ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS (HEPCS) AND ITS POTENTIAL ROLE IN VASCULAR DYSFUNCTION.**

Paulette Conget (U del Desarrollo, Chile)

**MESENCHYMATIC STEM CELLS: THE TOOL TO TREAT DIABETIC SUBJECTS AND THEIR COMPLICATIONS.**

**DOMINGO 24 DE OCTUBRE 17:00 A 19:00**

**SIMPOSIO 3: ROLE OF CONNEXIN AND PANNEXIN BASED CHANNELS IN INFLAMMATORY RESPONSES**

(modera: JC Sáez)

Xavier Figueroa (Pontificia Universidad Católica de Chile)

**THE VASOGENIC RESPONSE OF INFLAMMATION: ROLE OF GAP JUNCTION CHANNELS AND HEMICHANNELS.**

Christian Naus (Life Sciences Institute, Canada)

**GAPS IN NEUROPROTECTION: CONNEXINS AND STROKE.**

Juan Carlos Sáez (Pontificia Universidad Católica de Chile)

**HEMICHANNEL IN CACHECTIC SKELETAL MUSCLES.**

Luis Michea (U Chile)

**EARLY INDUCTION OF TH17 IN HEART AND KIDNEY OF MINERALOCORTICOID-DEPENDENT HYPERTENSIVE RATS.**

**DOMINGO 24 DE OCTUBRE 19:15 A 21:15**

**SIMPOSIO 4: INVESTIGADORES JÓVENES EN CARDIOVASCULAR (modera: S. Villanueva)**

**19:15 a 19:35**

**CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO HUMANO Y SU RELACIÓN FUNCIONAL CON ADENOSINA.**

Fernández P,<sup>1</sup> Guzmán E,<sup>2</sup> Aguilera V,<sup>1</sup> Díaz F,<sup>1</sup> Caviedes L,<sup>1</sup> Veas C,<sup>1</sup> Sobrevia L,<sup>2</sup> Lamperti L.<sup>1</sup>, Aguayo C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Dpto. Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

**19:35 a 19:55**

**INVOLVEMENT OF TYROSINE KINASES IN THE REGULATION OF VASCULAR TONE IN UMBILICAL AND PLACENTAL VESSELS EXPOSED TO OXIDATIVE STRESS.**

**González M**<sup>1</sup>, Rojas S<sup>1</sup>, Gallardo V<sup>1</sup>, Sobrevia L<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Vascular Physiology Laboratory, Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile. <sup>2</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

**19:55 a 20:15**

**REGULATION OF D-GLUCOSE TRANSPORT BY HIGH EXTRACELLULAR D-GLUCOSE AND INSULIN IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS.**

**Puebla C**, Casanello P, Sobrevia L.

Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

**20:15 a 20:35**

**ALTA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE D-GLUCOSA INHIBE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS TIPO 1 MEDIANTE ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR TIPO II PARA TGF- $\beta$ 1 EN ENDOTELIO FETAL HUMANO.**

**Vega JL\***, Sobrevia L.

Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL) & Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), División de Obstetricia y Ginecología, Centro de Investigaciones Médicas (CIM), Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

**20:35 a 20:55**

**PARTICIPACIÓN DE ANGIOTENSINA-II Y EL FACTOR DE TEJIDO CONECTIVO (CTGF) EN LA FIBROSIS MUSCULAR ESQUELÉTICA: NUEVAS ESTRATEGIAS ANTI-FIBRÓTICAS.**

**Cabello-Verrugio C**, Morales MG, Acuña MJ, Painemal P, Brandan E.

Laboratorio de Diferenciación Celular y Patología, MIFAB, CARE, Universidad Católica de Chile

**20:55 a 21:15**

**GUGULÍPIDO ELEVA EL COLESTEROL PLASMÁTICO, FAVORECE EL DESARROLLO DE ATEROESCLEROSIS Y PREVIENE LA FORMACIÓN DE LITIASIS BILIAR EN EL RATÓN.**

**Andrea Leiva**<sup>1</sup>, Juan Tichauer<sup>1</sup>, Ludwig Amigo<sup>1</sup>, Susana Contreras<sup>1</sup>, Esteban Sepúlveda<sup>2</sup>, Gonzalo Carrasco<sup>3</sup>, Mauricio Boric<sup>2</sup>, Attilio Rigotti<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Hospital Parroquial de San Bernardo, Chile.

### **LUNES 25 DE OCTUBRE 9:00 A 11:00**

**SIMPOSIO 5: TRANSPORTADORES DE MEMBRANA EN CÁNCER** (modera: L Sobrevia)

Marçal Pastor-Anglada (U Barcelona, España)

**TRANSPORTADORES DE NUCLEÓSIDOS Y CÁNCER.**

Claudia Quezada (U Austral de Chile)

**TRANSPORTADORES DE DROGAS Y CÁNCER CEREBRAL.**

Sandra Pérez-Torras (U Barcelona, España)

**CONEXINAS Y TRANSPORTADORES DE NUCLEÓSIDOS EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE PÁNCREAS.**

### **LUNES 25 DE OCTUBRE 17:00 A 19:00**

**SIMPOSIO 6: KEY ISSUES ON NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS RESEARCH** (modera: R Varas)

Mike J. Marks (U Colorado, U.S.A.)

**SEARCHING FOR THE NICOTINIC NATIVES: GENETIC, PHARMACOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL APPROACHES TO SUBTYPE IDENTIFICATION".**

Isabel Bermudez (Oxford Brookes University, U.K.)

**USE OF CONCATENATED RECEPTORS TO STUDY THE FUNCTIONAL STRUCTURE OF THE A4B2 NICOTINIC RECEPTORS".**

Bruce K. Cassels (U Chile)

**EMERGING PHARMACOLOGICAL STRATEGIES IN THE FIGHT AGAINST TOBACCO ADDICTION.**

**MARTES 26 DE OCTUBRE 9:00 A 11:00****SIMPOSIO 7: INVESTIGADORES JÓVENES EN NEUROBIOLOGÍA** (modera: R Iturriaga)**9:00 a 9:20****NICOTINE SELF-ADMINISTRATION IN MICE: ANALYSIS OF ANXIETY AND TOLERANCE TO NICOTINE-INDUCED HYPOTHERMIA, AND  $\alpha 4\beta 2^*$ ,  $\alpha 3\beta 4^*$  AND  $\alpha 6$ -CONTAINING RECEPTOR DENSITIES.****Zambrano CA**, Salamander R, Collins AC, Grady SR and Marks MJ.

Institute for Behavioral Genetics, University of Colorado at Boulder, U.S.A.

**9:20 a 9:40****NURR1: REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR TIROSINA QUINASA RET Y FUNCIÓN EN EL SISTEMA DOPAMINÉRGICO****Galleguillos, D.** y Andrés, M.E.

Núcleo Mileno Estrés y Adicción, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

**9:40 a 10:00****PARTICIPACIÓN DE COREST EN LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HSP70.****Gómez AV.** y Andrés ME. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.**10:00 a 10:20****LA MUERTE NEURONAL INDUCIDA POR  $\beta$ -AMILOIDE ESTA ASOCIADA CON LA ACTIVIDAD DE HEMICANALES GLIALES Y NEURONALES.****Orellana JA**, Shoji KF, Abudara V, Ezan P, Amigou E, Jiang JX, Sáez JC and GiaumeC.

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. INSERM-U840, Collège de France. Departamento de Fisiología, Universidad de la República, Uruguay.

**10:20 a 10:40****DEGRADACIÓN DEL RECEPTOR DE RYANODINA A TRAVÉS DEL PROTEOSOMA Y LA AUTOFAGIA MEDIADA POR CHAPERONAS.****Pedrozo Z<sup>1,2</sup>**, Torrealba N<sup>2</sup>, Toro B<sup>2</sup>, Sánchez G<sup>1</sup>, Lavandero S<sup>1,2</sup>, Donoso P<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Programa de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Chile, Santiago, Chile.**10:40 a 11:00****CAMBIOS TEMPORALES DE LA EXPRESIÓN DE MODULADORES QUIMIOSENSORIALES CAROTÍDEOS EN RATAS EXPUESTAS A HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA.****Del Rio R**, Moya EA, Arias P, Iturriaga R.

Lab. Neurobiología, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

## SESION DE PRESENTACIONES ORALES

SABADO 23 DE OCTUBRE 19:15 A 21:15

- O1. INSULIN-INCREASED L-ARGININE TRANSPORT IS MODULATED BY ADENOSINE IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS.** Guzmán-Gutiérrez E, Leiva A, Salomón C, Westermeier F, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.
- O2. PAPEL DEL RESIDUO DE CISTEÍNA C-1093 DE TRPM4 EN LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR ESTRÉS OXIDATIVO.** Riveros A, \*Wood M, Pérez H y Stutzin A. ICBM & CEMC, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. \*Departamento de Toxicología Medioambiental de la Universidad de Davis, California, USA.
- O3. MUERTE NEURONAL INDUCIDA POR LIPOPOLISACÁRIDO MEDIADA POR NAD(P)H OXIDASA Y PKC: POSIBLE PARTICIPACIÓN DEL CANAL TRPM7.** Echeverría C, Becerra A, Núñez-Villena F, Sarmiento D, Simon F. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas & Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.
- O4. EL NEUROPEPTIDO CART INCREMENTA LOS NIVELES EXTRACELULARES DE DOPAMINA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS.** Blanco E, Araya K, Gysling K. Núcleo Científico Milenio "Estrés y Adicción". Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- O5. INSULIN SIGNALLING PATHWAYS INVOLVED IN MODULATION OF HENT1-MEDIATED ADENOSINE TRANSPORT IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIUM FROM GESTATIONAL DIABETES.** Westermeier E, Salomón C, Guzmán-Gutiérrez E, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.
- O6. ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE ADENOSINA FAVORECE LA ADHESIÓN Y MOVILIZACIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO HUMANO.** Fernández P, Guzmán E, Aguilera V, Díaz F, Caviedes L, Lamperti L, & Aguayo C. Dpto. de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.
- O7. UNSATURATED FATTY ACIDS REDUCE CX46 HEMICHANNEL BUT NOT GAP-JUNCTION CHANNEL CURRENTS ON XENOPUS LAEVIS OOCYTES.** Retamal MA<sup>1,2</sup>, Evangelista-Martínez F<sup>1</sup>, León CG<sup>1</sup>, Altenberg GA<sup>2</sup> and Reuss L<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología-Electrofisiología, Facultad de Medicina, Clínica Alemana - Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. <sup>2</sup> Department of Cell Physiology and Molecular Biophysics and Center for Membrane Protein Research, Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock, Texas, USA.
- O8. LA EXTRACCIÓN PARCIAL DE COLESTEROL DE LAS FIBRAS MUSCULARES MODIFICA SU ACTIVIDAD ELÉCTRICA.** Barrientos G., Llanos P., Hidalgo J. y C. Hidalgo. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

## SESION DE POSTERS

### DOMINGO 24 DE OCTUBRE 15:00 A 16:30

- P1. EFECTO DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE BFGF SOBRE LA PROGRESIÓN DEL DAÑO EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.** Contreras F<sup>1</sup>, Vergara C<sup>1</sup>, Tapia A<sup>1</sup>, Céspedes<sup>2</sup>, Carreño JE<sup>1</sup>, Irrazabal C<sup>1</sup>, Vio CP<sup>2</sup>, Villanueva S<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes. <sup>2</sup> Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration (CARE), Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- P2. ANGIOTENSINA II MODULA LOS NIVELES DE  $\beta$ -CATENINA EN EL RIÑÓN.** Cuevas CA<sup>1</sup>, Inestrosa NC<sup>2</sup>, Vio CP<sup>1</sup>.Departamento de Fisiología<sup>1</sup>, Departamento Biología Celular y Molecular<sup>2</sup>, Center for Aging and Regeneration CARE<sup>1,2</sup>, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P3. EFECTO DE TGF- $\beta$  Y ANGIOTENSINA II SOBRE LA TRANSDIFERENCIACION EPITELIO-MESÉNQUIMA.** Leguina A<sup>1</sup>, Vio CP<sup>1,2</sup>, Velarde V<sup>1,2</sup>. Departamento de Fisiología<sup>1</sup>, Center for Aging and Regeneration<sup>2</sup>, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P4. EXPRESIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN QUE RESPONDE A TONICIDAD, TONEBP, EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMACIÓN COLÓNICA EN RATAS.** Quiroz M, Inostraza C, Suazo C, Carrasco G, Villanueva S, Correa I, Irrazabal CE. Facultad de Medicina Universidad de los Andes.
- P5. ROL ANTIFIBRÓTICO DE ANGIOTENSINA-(1-7) EN RATAS CON OBSTRUCCIÓN URETERAL UNILATERAL.** Rivera JC<sup>1</sup>, Céspedes C<sup>1</sup>, Erpel JM<sup>1</sup>, Santos RAS<sup>2</sup>, Vio CP<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration CARE, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología y Biofísica, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología en Nanobiofarmacéutica Nano-Biofar, Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- P6. ALTERACIONES EN EL BLOQUEO POR SODIO DE CANALES DE POTASIO DE MEMBRANA APICAL DE SINCITIOTROFOBLASTO DE PLACENTAS NORMALES Y PATOLÓGICAS: TASK-2, POSIBLE CANDIDATO RESPONSABLE DE ESTAS CORRIENTES.** De Gregorio N y Riquelme G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- P7. LA ACTIVIDAD CILIAR BASAL DEPENDE DE LA LIBERACIÓN CONSTITUTIVA DE ATP A TRAVÉS DE HEMICANALES EN EL EPITELIO RESPIRATORIO.** K. Droguett<sup>1</sup>, K. Zhao<sup>2</sup>, NA. Cohen<sup>2</sup>, M. Villalón<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Rinología, Departamento de Otorrinolaringología, Universidad de Pensilvania, Filadelfia, EEUU.
- P8. EXPRESSION OF EQUILBRATIVE AND CONCENTRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTERS IN DIFFERENT HISTOLOGIC SUBTYPES OF PRIMARY EPITHELIAL OVARIAN TUMORS.** Aylwin MP<sup>1</sup>, Brañes J<sup>1</sup>, Ziegler AM<sup>2</sup>, Pastor-Anglada M<sup>3</sup>, Sobrevia L<sup>1</sup>, Casanello P<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Perinatology Research Laboratory (PRL) & Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Marcoleta 391, Santiago. <sup>2</sup>Center for Human Genetics, Faculty of Medicine, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Department of Biochemistry, Universitat de Barcelona, Spain.
- P9. LA ACTIVIDAD DE CD73 MEDIA LA SOBREPRESIÓN DE MRP1 EN GLIOBLASTOMA MULTIFORME.** Garrido, W., Salinas J, Quezada C, San Martín R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- P10. CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA VARIANTE DEL TRANSPORTADOR FACILITATIVO DE HEXOSAS GLUT11.** Morales C<sup>1</sup>, Villagrán V<sup>3</sup>, Ibáñez S<sup>1</sup>, Faúndez V<sup>2</sup>, Vera JC<sup>3</sup>, Rivas Cl<sup>3</sup> y Mardones L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas y Morfología, Facultad de Medicina. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Biotecnología en Acuicultura. Facultad de Ingeniería; Universidad Católica de la Santísima Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Antioxidantes. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.
- P11. ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO AUMENTAN LA EXPRESIÓN DE TRPM7 EN CÉLULAS PC12 DIFERENCIADAS EXPUESTAS A LIPOPOLISACÁRIDO.** Núñez-Villena F, Briceño N, Montorfano I, Becerra A, Echeverría C, Sarmiento D, Simon F. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas & Facultad de Medicina Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.
- P12. LOS CANALES FORMADOS POR CONEXINAS MEDIAN LA ACTIVACIÓN DE LA ENOS INDUCIDA POR FLUJO: UNA NUEVA HIPÓTESIS SOBRE EL DETECTOR DE FLUJO.** Pérez FR, Lillo M, Gaete PS y Figueroa XF. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P13. ENDOCANABINOIDES Y ACETILCOLINA REGULAN LA EFICACIA SINÁPTICA DURANTE EL DESARROLLO.**

Ahumada J, Bonansco C, Roncagliolo M y Fuenzalida M. Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

- P14. DOPAMINE RELEASE IS INCREASED IN THE NUCLEUS ACCUMBENS OF SENSITIZED RATS AFTER REPEATED ADMINISTRATION OF AMPHETAMINE; AN EFFECT REVERTED BY THE KAPPA OPIOID AGONIST U69593.**  
Escobar A.P.<sup>1,2</sup>, Andrés M.E.<sup>1,3</sup> Fuentealba J.A.<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Millenium Science Nucleus in Stress and Addiction; <sup>2</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Chemistry. <sup>3</sup>Department of Cellular and Molecular Biology. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P15. ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN MOLECULAR ENTRE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS DA-D1 Y DE LA HORMONA LIBERADORA DE CORTICOTROFINA CRH-R2.** Fuenzalida J, Araya K, Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA). Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P16. EFECTO DE LA MODALIDAD SENSORIAL DE APRENDIZAJE SOBRE EL RENDIMIENTO ACADÉMICO.**  
López S, Ramirez BU. Facultad de Ciencias Médicas, USACH.
- P17. LA PROYECCIÓN DESDE EL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL AL SEPTUM LATERAL PROVIENE DE UN SUBNÚCLEO DE FENOTIPO UROCORTINÉRGICO.** Quiroz, G., Ehret, S., Pozo, S., Abarca, S. Ibáñez, M.R., Sotomayor-Zárate, R. y Gysling, K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P18. ESTUDIO DE LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN DE UROCORTINA POR EL FACTOR SILENCIADOR RESTRICTIVO NEURONAL REST.** Yarur H, Munita R, Andrés, ME y Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA). Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P19. ACUTE NICOTINE ADMINISTRATION INCREASES EXTRACELULAR DOPAMINE LEVELS IN THE VENTRAL TEGMENTAL AREA OF THE ADULT RAT.** Alcaíno, C.A., Sotomayor-Zárate, R., Gysling, K., Varas, R. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago Chile.
- P20. CARACTERIZACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE COREST Y LSD1 EN CEREBRO DE RATA.** Gómez AV, Torres R, Sáez J, Barrios A y Andrés ME. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P21. DESARROLLO DE UNA VARIANTE DE KINDLING RAPIDO PARA EL ESTUDIO DE EPILEPTOGENESIS HIPOCAMPAL EN RATAS.** Morales J, Álvarez Ferradas A, Zárate A, Fuenzalida M, Ahumada J, Bonansco C y Roncagliolo M. Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, CHILE.
- P22. EXPOSICIÓN CONJUNTA DE COMPONENTES BACTERIANOS PRODUCE UN EFECTO SINÉRGICO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE IL-8 EN EL EPITELIO RESPIRATORIO HUMANO.** Carreño DV<sup>1</sup>, León MC<sup>1</sup>, González C<sup>2</sup>, Lladós C<sup>1</sup>, Fonseca X<sup>2</sup>, Callejas C<sup>2</sup>, Villalón M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Departamento de Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- P23. COUNTERACTION OF NO-DEPENDENT VASODILATION BY ARGINASES IS INCREASED IN A RAT MODEL OF CHRONIC INTERMITTENT HYPOXIA.** Krause BJ, <sup>2</sup>Moya E, <sup>2</sup>Del Río R, <sup>2</sup>Arias P, <sup>1</sup>Casanello P, <sup>2</sup>Iturriaga R. <sup>1</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory and Perinatology Research Laboratory, Division of Obstetrics and Gynecology, Fac. Medicine, and <sup>2</sup>Laboratory of Neurobiology, Fac. Biological Sciences, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- P24. CHRONIC INTERMITTENT HYPOXIA INCREASES THE INHIBITION OF TASK-LIKE CURRENT AND THE DEPolarIZATION EVOKED BY ACUTE HYPOXIA IN RAT CB TYPE-I CELLS.** Ortiz FC, Varas R, Iturriaga R. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
- P25. ACTIVATION OF  $\alpha 7$  AND  $\alpha 4\beta 2^*$  NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS REGULATE CATECHOLAMINE RELEASE IN THE RAT CAROTID BODY.** Meza RC, <sup>1</sup>Ortiz FC, <sup>2</sup>Iturriaga-Vásquez P, <sup>1</sup>Varas R. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago Chile, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- P26. EXPRESIÓN DE CITOQUERATINA 7 (K7) EN SINCICIOTROFOBLASTO PLACENTARIO HUMANO NORMAL Y PATOLÓGICO.** Bastías, N.; De Gregorio, N. y Riquelme, G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- P27. INSULIN REVERSES GESTATIONAL DIABETES-REDUCED EXPRESSION AND ACTIVITY OF EQUILBRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTERS 2 IN HUMAN PLACENTAL MICROVASCULAR ENDOTHELIUM.** Salomón C, Westermeier F, Guzmán-Gutiérrez E, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory

(PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

- P28. EL TRATAMIENTO CON BLOQUEADORES DE CANALES SOC ATENÚA LA HIPERTENSIÓN PULMONAR EN CORDEROS DE TIERRAS ALTAS.** Parrau D<sup>a,f</sup>, Ebensperger G<sup>a</sup>, Díaz M<sup>b</sup>, Rojas R<sup>a</sup>, Maass, R<sup>a</sup>, Santos D<sup>a</sup>, Moraga F<sup>g</sup>, Herrera E<sup>a,d</sup>, Riquelme R<sup>c</sup>, Llanos AJ<sup>a,d,e</sup>, Reyes VR<sup>a</sup>. ICBM<sup>a</sup>, Facultades de Medicina<sup>b</sup> Ciencias Químicas-Farmacéuticas<sup>c</sup>, INCAS<sup>d</sup>, Universidad de Chile; <sup>e</sup>Universidad de Tarapacá; Facultad de Medicina<sup>f</sup>, Universidad Diego Portales Facultad de Medicina, <sup>g</sup> Universidad Católica del Norte.
- P29. PARTICIPATION OF ARGINASES IN IUGR PLACENTAL VASCULAR TONE: ROLE OF HYPOXIA.** Muñoz E, Krause B, Prieto C, Lavín C, Sobrevia L, Casanello P. Perinatology Research Laboratory (PRL) and Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P30. CANALES DE CLORURO DE LA MEMBRANA BASAL DEL SINCICIOTROFOBLASTO HUMANO CON PATOLOGÍA: PREECLAMPSIA (PE) Y RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO (RCIU).** Morales B; Vallejos C.; Riquelme G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM). Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- P31. PARTICIPACIÓN DE ALDEHÍDO DESHIDROGENASA 2 (ALDH2) EN EL PRE-CONDICIONAMIENTO CARDÍACO.** Callejas, M<sup>1</sup>, Vielma, A<sup>1</sup>, Tampier, L<sup>2</sup>, Boric, MP<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, F. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- P32. LA ADMINISTRACIÓN DE CORM-2, UN DADOR DE MONÓXIDO DE CARBONO, EN CORDEROS RECIÉN NACIDOS DEL ALTIPLANO ANDINO PRODUCE PARADOJALMENTE HIPERTENSIÓN PULMONAR.** Ebensperger G<sup>1</sup>, Ulloa C<sup>1</sup>, Parrau D<sup>1</sup>, Rojas R<sup>1</sup>, Reyes RV<sup>1</sup>, Llanos AJ<sup>1,2,3,4</sup>. Programa Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina<sup>1</sup>, INCAS, Universidad de Chile<sup>2</sup>, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica<sup>3</sup>, Universidad Católica del Norte, Coquimbo<sup>4</sup>.
- P33. LOS CANALES IK<sub>Ca</sub> Y SK<sub>Ca</sub> CONTROLAN LA SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTE DE NO A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DE LA NADPH OXIDASA.** Gaete PS, Lillo M, Poblete I, Figueroa XF. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P34. FACTOR ACTIVANTE DE PLAQUETAS INCREMENTA LA PERMEABILIDAD MICROVASCULAR MODIFICANDO PROTEÍNAS DE LA UNIÓN INTERCELULAR Y ADHESIONES FOCALES.** Marín N<sup>1</sup>; Cárcamo R<sup>1</sup>; Zamorano P<sup>1</sup>; Durán, WN<sup>2</sup>; Sánchez, FA<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, UACH, Valdivia. <sup>2</sup>Physiology and Pharmacology Institute, New Jersey Medical School, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, Newark, USA.
- P35. ROL DE PKC $\delta$ , eNOS y cGMP EN LA PREVENCIÓN DE LA AGREGACIÓN DE PLAQUETAS INDUCIDA POR DHEA.** Muñoz Y, Gómez G, Valladares L, Velarde V. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P36. REVERSION OF A GESTATIONAL DIABETIC- TO A NORMAL-PHENOTYPE BY ENDOTHELIUM FROM NORMAL PREGNANCES AND INSULIN IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS.** Sepúlveda C, Puebla C, Guzmán-Gutiérrez E, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P37. EXPRESIÓN DE LOX-1 Y EFECTO DE LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD OXIDADA SOBRE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES HUMANAS.** Veas Barboa C, Fernández P, Aguilera V, Díaz F, Lamperti L, Aguayo C. Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

#### LUNES 25 DE OCTUBRE 15:00 A 16:30

- P38. LA INHIBICIÓN DE CICLOOXIGENASA-2 CONTRIBUYE A LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD RENAL EN UN MODELO DE INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.** Erpel JM, Rivera JC, Céspedes C, Vio CP. Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration CARE, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- P39. EFECTO DE BOLDINA EN RATAS DIABÉTICAS.** Hernández R. Cea LA, Vielma A, Cigarra L, Calquin F, Sáez JC, Boric MI, Velarde MV. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P40. BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL FETAL EN LA RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO EN UN MODELO EXPERIMENTAL EN CONEJAS.** Suazo C<sup>1</sup>, Figueroa H<sup>1,2</sup>, Carreño JE<sup>1</sup>, Quiroz M<sup>1</sup>, Vergara C<sup>1</sup>, Verdugo F<sup>1</sup>, Eixarch E<sup>3</sup>,

Hernández E<sup>3,4</sup>, Gratacos E<sup>2</sup>, Villanueva S<sup>1</sup>, Irrarázabal CE<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Santiago-Chile; <sup>2</sup>Clínica Dávila; <sup>3</sup>Departamento de Medicina Materno-Fetal (ICGON), Hospital Clinic-IDIBAPS, Universidad de Barcelona y Centro de Investigación de Enfermedades Raras (CIBER-ER), España; <sup>4</sup>Instituto Nacional de Perinatología (INPER), México.

- P41. LA ADMINISTRACION DE CELULAS TRONCALES REDUCEN EL DAÑO EN ENFERMEDAD RENAL CRONICA.** Vergara C<sup>1</sup>, Carrión A F<sup>2</sup>, Ewertz M E<sup>1</sup>, Céspedes C<sup>3</sup>, Irrarázabal C<sup>1</sup>, Carreño JE<sup>1</sup>, Figueroa F<sup>2</sup>, Vio CP<sup>3</sup> y Villanueva SM<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes. <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología, Universidad de los Andes. <sup>3</sup>Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration (CARE), Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- P42. PAPEL DE ADENOSINA EN LA INDUCCIÓN DE UN FENOTIPO PROFIBRÓTICO EN CÉLULAS MESANGIALES DE RATA.** Fuentealba V, Guaiquil O, Roa H, Peiñan L, Quezada C, San Martín R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- P43. RESIDUOS DE CISTEÍNA INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN POR ÓXIDO NÍTRICO DE HEMICANALES DE CX46 EXPRESADOS EN OOCITOS DE XENOPUS LEAVIS.** Alcaíno CA, Retamal MA. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo. Santiago, Chile.
- P44. TRIÓXIDO DE ARSÉNICO AUMENTA LA ACTIVIDAD NHE1 Y AUMENTA LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÉLULAS MDCK.** Aravena C, <sup>1,2</sup>Beltrán A, <sup>1</sup>Cornejo M, <sup>3</sup>Sobrevia L, <sup>1</sup>Ramírez MA. <sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, <sup>2</sup>Departamento de Educación, Facultad de Educación y Ciencias Humanas, Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P45. EFECTO DEL INMUNOSUPRESOR TACROLIMUS SOBRE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DE LA PROTEINA DE RESISTENCIA MULTIPLE A DROGAS MRP1 EN GLIOMAS DE ALTO GRADO.** Muñoz M, Peiñan L, Garrido W, Salinas J, Quezada C. Laboratorio Patología molecular y Bioquímica Farmacología, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- P46. EL EXTREMO AMINO TERMINAL DEL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT11 ES IMPORTANTE PARA SU LOCALIZACION SUBCELULAR.** Ibáñez S<sup>1</sup>, Villagrán M<sup>3</sup>, Morales C<sup>1</sup>, Faúndez V<sup>2</sup>, Vera JC<sup>3</sup>, Rivas Cl<sup>3</sup> y Mardones L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas y Morfología, Facultad de Medicina. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Biotecnología en Acuicultura. Facultad de Ingeniería. Universidad Católica de la Santísima Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Antioxidantes. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción, Chile.
- P47. TRPM4 PRODUCE NECROSIS ENDOTELIAL INDUCIDA POR LIPOPOLISACÁRIDO: NUEVO BLANCO FARMACOLÓGICO CONTRA LA SEPSIS.** Becerra A<sup>1</sup>, Echeverría C<sup>1</sup>, Sarmiento D<sup>1</sup>, Varela D<sup>3</sup>, Armisen R<sup>3</sup>, Núñez-Villena F<sup>1</sup>, Montecinos M<sup>2</sup>, Simón F<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas & Facultad de Medicina y <sup>2</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. <sup>3</sup>CEMC & ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- P48. CICLOOXIGENASA-2 ES REGULADA POR RETROALIMENTACIÓN NEGATIVA VÍA RECEPTOR rEP3 DE PGE<sub>2</sub>.** Vio CP<sup>1</sup>, Pedraza P<sup>2</sup>, Céspedes C<sup>1</sup>, Ferreri NR<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration CARE, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. <sup>2</sup>Department of Pharmacology, New York Medical College, New York, USA.
- P49. LA GLIOTRANSMISIÓN ESPONTÁNEA DE GLUTAMATO REGULA EL UMBRAL DE INDUCCIÓN DE PLASTICIDAD SINÁPTICA.** Álvarez Ferradas C, Fuenzalida M, Roncagliolo M, Bonansco C. Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.
- P50. RELACIÓN ENTRE UNA CORRIENTE ACTIVADA POR HIPERPOLARIZACIÓN (I<sub>h</sub>) Y LAS PROPIEDADES ELÉCTRICAS EN NEURONAS PETROSAS DE CONEJO.** Boncompagni G, Ortiz FC, Alcayaga J. Laboratorio de Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- P51. EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS NEUROQUÍMICOS EN EL NÚCLEO ACCUMBENS DE LA RATA INDUCIDOS POR EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON QUINPIROLE, UN MODELO ANIMAL DEL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO.** Cornejo E, Gysling K, Fuentealba JA y Andrés MA. Núcleo Milenio en Estrés y Adicción; Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P52. CLOZAPINE PRE-TREATMENT ATTENUATES THE EXPRESSION OF LOCOMOTOR SENSITIZATION AFTER REPEATED TREATMENT WITH AMPHETAMINE.** Fuentealba JA<sup>1,2</sup>, Herrera A<sup>1,2</sup>, Casanova JP.<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Millennium Science Nucleus in Stress and Addiction; <sup>2</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Chemistry.
- P53. α-BUNGAROTOXIN-SENSITIVE NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS REGULATE BIOGENIC AMINES RELEASE FROM THE DROSOPHILA MELANOGASTER BRAIN.** Fuenzalida-Urbe N, <sup>2</sup>Hoffmann HA, <sup>1</sup>Meza RC, <sup>1</sup>Varas R,

<sup>1</sup>Campusano JM. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y <sup>2</sup>Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

- P54. LA ADMINISTRACIÓN REPETIDA DE COCAÍNA PREVIENE LA LIBERACIÓN DE DA INDUCIDA POR ESTRESINA-I EN EL SEPTUM LATERAL DE RATAS.** Sotomayor-Zárate R, Renard GM, Araya KA, Ibañez MR, Carreño P, Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA). Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P55. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NEURONAS OREXINÉRGICAS EN EL SEPTUM MEDIAL DEL CEREBRO DE RATA.** Vergara M, Noches V, Blanco E, Gysling K. Núcleo Científico Milenio “Estrés y Adicción”. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P56. CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR DE SINAPTOGIRINA-3: EFECTO INDUCTOR DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NURR1 EN LA EXPRESIÓN DE SINAPTOGIRINA-3.** Cortez S, Galleguillos D y Andrés ME. Núcleo Milenio Estrés y Adicción; Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile
- P57. ACLIMATIZACIÓN A LA HIPOXIA CRÓNICA NORMOBÁRICA: RESPUESTAS VENTILATORIAS EN EL CONEJO.** Alcayaga J, <sup>1</sup>Freire M, <sup>2</sup>Del Rio R, <sup>2</sup>Moya EA, <sup>2</sup>Iturriaga R. <sup>1</sup>Lab. Fisiología Celular, Fac. Ciencias, Univ. de Chile y <sup>2</sup>Lab. de Neurobiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Univ. Católica de Chile.
- P58. LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA HEMOXIGENASA-CO MEDIANTE TRATAMIENTO CON HEMINA, REDUCE PARCIALMENTE LA HIPERTENSIÓN PULMONAR HIPÓXICA EN CORDEROS RECIÉN NACIDOS DEL ALTIPLANO ANDINO.** Ebensperger G, <sup>1</sup>Ulloa C, <sup>4</sup>Moraga FA, <sup>1</sup>Parrau D, <sup>1</sup>Rojas R, <sup>1</sup>Díaz M, <sup>1</sup>Hernández I, <sup>1</sup>Reyes RV,<sup>1,2,3</sup> Llanos AJ. <sup>1</sup>Programa Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, <sup>2</sup>INCAS, Universidad de Chile,<sup>3</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica, <sup>4</sup>Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile
- P59. PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO Y CAMBIOS DE EXPRESIÓN DE ENOS E INOS EN EL CUERPO CAROTÍDEO DE RATAS SOMETIDAS A HIPOXIA INTERMITENTE.** Moya EA, Del Rio R, Iturriaga R. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
- P60. CONTRIBUCIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN EL AUMENTO DE CITOQUINAS INFLAMATORIAS EN EL CUERPO CAROTÍDEO DE RATAS EXPUESTAS A HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA.** Parga MJ, Del Rio R, Iturriaga R. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
- P61. ARGINASE-2 KNOCKDOWN PARTIALLY RECOVERED THE PHOSPHORYLATION OF ENOS AT SER<sup>1177</sup> IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS EXPOSED TO HYPOXIA.** Prieto C, Sobrevia L, Casanello P. Perinatology Research Laboratory (PRL) & Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.
- P62. EFECTOS DEL POSTCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO SOBRE LA CREATINA QUINASA MITOCONDRIAL.** Sánchez G, Henríquez P, Montecinos L, Donoso P. Instituto de Ciencias Biomédicas y Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- P63. SEGREGACIÓN DEL CANAL DE POTASIO K<sub>IR</sub> 2.1 EN LIPID RAFTS DE MEMBRANA APICAL DEL SINCICIOTROFOBLASTO PLACENTARIO HUMANO (HSTB) EN PLACENTAS NORMALES (PN), CON PREECLAMPSIA (PE) Y RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO (RCIU).** Berrios M, De Gregorio N, Vallejos C y Riquelme G. Laboratorio de electrofisiología de membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- P64. EXPRESIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO SINTASA EN SINCICIOTROFOBLASTO PLACENTARIO HUMANO NORMAL Y PATOLÓGICO.** Rodríguez C, Berrios M, Vallejos C y Riquelme G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- P65. CANAL EPITELIAL DE SODIO (ENAC) EN PATOLOGÍAS DEL EMBARAZO: FUNCIONALIDAD Y EXPRESIÓN EN MEMBRANAS DEL SINCICIOTROFOBLASTO PLACENTARIO HUMANO (HSTB).** Vallejos C y Riquelme G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- P66. AMILORIDE MEJORA LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN RATAS TRATADAS CON DOSIS SUBPRESORAS DE ANGIOTENSINA II (AII).** Beltrán MP, Soto N, Sepúlveda-Kattan E, Figueroa XF, Boric MP. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- P67. ADENOSINA CAUSA RELAJACIÓN DEPENDIENTE DE ENDOTELIO EN VENA UMBILICAL HUMANA DE EMBARAZOS NORMALES Y CON DIABETES GESTACIONAL.** Cifuentes F<sup>1,2</sup>, Palacios J<sup>2</sup>, Sepúlveda C<sup>1</sup>, Sobrevia L<sup>1</sup>. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL) & Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), División de Obstetricia y Ginecología, Centro de Investigaciones Médicas (CIM), Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia

Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Investigación en Fisiología, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

- P68. LA ACTIVACIÓN DEL MODO REVERSO DEL INTERCAMBIADOR  $Na^+/Ca^{2+}$  MEDIA LAS RESPUESTAS VASODILADORAS DEPENDIENTES DEL ENDOTELIO EN LOS VASOS DE RESISTENCIA.** Ardiles N, Figueroa XF. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P69. LOS CANALES DE  $K^+$  ACTIVADOS POR  $Ca^{2+}$  DE PEQUEÑA ( $SK_{Ca}$ ) E INTERMEDIA ( $IK_{Ca}$ ) CONDUCTANCIA PARTICIPAN EN EL CONTROL DEL ESTADO DE FOSFORILACIÓN DE LA ENOS.** Lillo M, Gaete PS, Ardiles N, Figueroa XF. Departamento de Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- P70. Boldina aumenta la supervivencia en un modelo de shock séptico.** Cigarra, L; Eller, G, Vielma, A, Boric, MP. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- P71. INSULIN BLOCKS HYDROGEN PEROXIDE-INDUCED VASOCONSTRICTION IN HUMAN UMBILICAL VESSELS.** Palma C<sup>1</sup>, Cabrera L<sup>1</sup>, Rojas S<sup>1</sup>, Gallardo V<sup>1</sup>, Sobrevia L<sup>2</sup>, González M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Vascular Physiology Laboratory, Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile. <sup>2</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.
- P72. PAF (FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS) PRODUCE S-NITROSILACIÓN DE PROTEÍNAS EN CÉLULAS ENDOTELIALES MICROVASCULARES DE MEJILLA DE HÁMSTER.** Hirigoyen D<sup>1</sup>, González, FG<sup>2</sup>, Eller G<sup>1</sup>, Boric MP<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, F. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Department of Physiology & Pharmacology, UMDNJ-New Jersey Medical School, Newark, NJ, USA.
- P73. EFECTO VASODILADOR DE P-HIDROXIACETOFENONA PURIFICADA DESDE *SENECIO NUTANS* EN ANILLOS DE AORTA DE RATA.** Subiabre M, <sup>1</sup>Pizarro N, <sup>1</sup>Moreno D <sup>1</sup>Hernandez R, <sup>1</sup>Peña M, <sup>2</sup>Paredes A, <sup>2</sup>Morales G, <sup>1</sup>Cifuentes F, <sup>1</sup>Vega JL. <sup>1</sup>Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Laboratorio de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.
- P74. PARTICIPACIÓN DE CORRIENTES DE POTASIO ENDOTELIALES EN LA REGULACIÓN DEL TONO MIOGÉNICO POR ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS).** Sepúlveda-Kattan E, Varas R, Boric MP. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

## CONFERENCIAS Y SIMPOSIOS

### INSULIN AND THE PLACENTA: THE FIRST PUBERTY IN HUMAN LIFE.

Hidden U, Desoye G. Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical University of Graz, Graz, Austria.

Insulin is a well conserved hormone and growth factor and regulates a wide range of effects. In early human pregnancy insulin sensitivity is increased to facilitate anabolic actions. One target tissue for maternal insulin in this pregnancy period is the placenta, which then expresses receptors on its microvillous membrane exposing it to the maternal circulation. The predominant expression of the long insulin receptor isoform on the trophoblast with its preferential activation of signalling through the MAPK pathway suggests a growth promoting function for the trophoblast. In addition insulin also inhibits the activity of FOXO3A and it negatively regulates secretion of placenta specific hormones (human chorionic gonadotropin, placental growth hormone). Throughout pregnancy the location of the insulin receptors shifts from the maternal surface of the placenta to the fetal surface ie the placental endothelium. This will reduce the maternal influence and allow the fetus to become independent of maternal regulation. The prevailing short insulin receptor isoform on the endothelium and a different expression pattern of insulin receptor adaptor proteins on the endothelium vs the trophoblast indicate different placental processes being under fetal vs maternal control. In fact, here insulin signals preferentially through the PI3-K/PkB pathway and – different from the trophoblast - stimulates glycogen deposition. It appears that maternal and fetal effects of insulin on the placenta are clearly separated, which may have important implications for pregnancy disorders with altered insulin levels in either circulation. GD is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### NICOTINE AND NICOTINIC RECEPTORS: DIVERSITY, FUNCTION AND ROLE IN RESPONSE TO ACUTE AND CHRONIC NICOTINE EXPOSURE.

Michael J. Marks, University of Colorado, Boulder, Colorado, USA

Tobacco use in general and cigarette smoking in particular is a major cause of premature mortality throughout the world. The primary initial sites of action for nicotine, the primary pharmacologically active component in tobacco, are the nicotinic acetylcholine receptors. These receptors are pentameric assemblies of homologous subunits that comprise a diverse family of ligand gated ion channels. The best known and most intensely studied member of this family is the receptor located at the neuromuscular junction and information obtained with this subtype has been central for understanding neuronal receptors. Chronic nicotine exposure of cells, animals and humans results in an increase in the numbers of nicotinic receptors with high affinity for agonists, a response that has been termed upregulation. Immunochemical experiments indicate that this upregulation is most pronounced in the  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic receptor subtype and represents an increase in subunit protein. In mice the receptor upregulation is accompanied by tolerance to the effects of an acute nicotine challenge the extent of which differs among different strains of mice. The role of nicotinic receptor subtypes in tolerance development, upregulation and functional adaptation is currently being investigated using mice that differ in receptor expression, using primarily nicotinic receptor gene knockout mice. The importance of establishing the role of receptor subtypes in nicotine (or tobacco) effects is supported by genome wide screens of human populations which have established a link between gene differences and several aspects of smoking behavior. Of particular interest is the role of the  $\alpha 5$  subunit, which has been repeatedly found to be associated with smoking. Understanding which receptor subtypes are altered by smoking would help to establish appropriate targets for smoking cessation agents. Supported by grants from the National Institutes of Health of the United States of America: U19 DA019375, R01 DA003194, R01 DA12242 and P30 DA015663.

### ROLE OF TNF IN HYPERTENSION AND RENAL FUNCTION. Nicholas R.

Ferreri, Ph.D. Department of Pharmacology, New York Medical College Valhalla, NY 10596, USA

Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF) plays an integral role in immunity and inflammation and exerts diverse actions on the cardiovascular and renal systems, as it exhibits both vasoconstrictor and natriuretic properties. For instance, TNF can stimulate as well as inhibit the renin-angiotensin system, suggesting it may exhibit both pro- and anti-hypertensive functions. Either pharmacological blockade or genetic deletion of TNF attenuated angiotensin II (Ang II)-induced hypertension and slowed the progression of blood pressure elevation in rats receiving Ang II and high-salt concurrently. TNF increased blood pressure in a rat model of pregnancy-induced hypertension, in association with decreases in glomerular filtration rate (GFR) and renal plasma flow and an increase in renal vascular resistance. However, TNF does not increase blood pressure in non-pregnant rats or two additional rat models of hypertension; namely, double-transgenic rats (dTGR) and DOCA-salt. We previously reported that Ang II and activation of calcium sensing receptor (CaR) induced TNF production by the medullary thick ascending limb (mTAL) that, in turn, induced cyclooxygenase (COX)-2 expression and synthesis of PGE<sub>2</sub>, which has been reported to inhibit activity of the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter (NKCC2). This cytokine-eicosanoid pathway could be part of a mechanism that mitigates increases in blood pressure. TNF signals through two distinct receptors, a 55 kDa TNFR1 and a 75 kDa TNFR2 containing similar extracellular domains but distinct intracellular sequences, which mediate different functions of TNF. As the contribution of TNFR1 to chronic blood pressure regulation and renal function has not been addressed, the hypothesis that TNF receptor 1 deficient (TNFR1<sup>-/-</sup>) mice display blood pressure and renal functional responses that differ from wild type (WT) mice was tested in an Ang II-dependent model of hypertension. A critical renal protective role for TNFR1 is postulated since deletion of this receptor is associated with adverse effects, including higher systolic blood pressure and urinary albumin excretion, as well as altered renal function in response to infusion of Ang II.

### THE ANATOMY OF AN ION CHANNEL REVEALED USING LUMINESCENCE RESONANCE ENERGY TRANSFER. Ramon Latorre<sup>a</sup>,

Clark Hyde<sup>b</sup>, Ariela Vergara<sup>c</sup>, Horacio Poblete<sup>c</sup>, David Aguayo<sup>c</sup>, Walter Sandtner<sup>b</sup>, Fernando D. Gonzalez-Niloc, Francisco Bezanillab, Cristian A. Zaelzera<sup>d</sup>, <sup>a</sup>Centro de Interdisciplinario de Neurociencia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile, <sup>b</sup>University of Chicago, Chicago, IL, USA, <sup>c</sup>Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Talca, Chile, <sup>d</sup>Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

BK channels are involved in a large variety of physiological processes and regulatory  $\beta$  subunits are one of the mechanisms responsible of creating BK channel diversity fundamental to their adequate function of many tissues. Regardless the proven importance of this channel little is known about its detailed structure. Here we disclose the external architecture of BK channels using Luminescence Resonance Energy Transfer (LRET). We used a genetically encoded Lanthanide Binding Tag (LBT) that binds Tb3<sup>+</sup> as LRET donor and a scorpion toxin, charibdotoxin (ChTX), labeled with a fluorophore, SulphoRodhamine Methanothiosulfonate (MTSR) as the acceptor for in vivo spectroscopic studies of intramolecular distances of the BK channel. By introducing LBTs in the external aspect of the  $\beta 1$  subunit we determined intermolecular distances between the LBTs and the MTSR. The methodology presented gives us the first glimpses to the BK channel external surface structure in its different functional states with and without the  $\beta$ -subunit. Supported by FONDECYT N°1070049, Anillo Científico ACT/24 and NIHGM030376

## Mechanisms of endothelial cell dysfunction

### **L-CARNITINE IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN HYPERTENSION.**

Vázquez CM. Departamento de Fisiología y Zoología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. c/Profesor García González 2, 41012 Sevilla, Spain.

L-carnitine (LC) is a natural compound whose main physiological function is the transport of fatty acids inside the mitochondria for ATP production. The kidney plays an important role in the maintenance of LC in the body since this organ reabsorbs more than 95% of filtered LC. LC transport is carried out by a transporter family called OCTN, the OCTN2 member being specifically involved in LC renal absorption. On the other hand, arterial hypertension is one of the most important diseases worldwide and it is a main risk factor for the development of cardiovascular and renal diseases. It is well known that endothelial nitric oxide synthase (eNOS) is the enzyme responsible for the production of NO, a potent vasodilator, in endothelial cells. Numerous studies have demonstrated that low nitric oxide (NO) availability is one factor, among others, involved in the development of endothelial dysfunction which lead to the origin, development and maintenance of arterial hypertension. In addition, oxidative stress and inflammation have also been involved in the molecular mechanisms contributing to the pathophysiology of hypertension. With this background we will try to demonstrate the beneficial effect of LC in arterial hypertension. The hypotensive, vasodilator, antioxidant and anti-inflammatory properties of LC make it a good candidate to be considered for treatment of arterial hypertension and hypertension-related organ diseases.

Supported by Instituto de Salud Carlos III-Fondo de Investigación Sanitaria, PN de I+D+I 2004-2007 (PI051026), Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, PN de I+D+I 2008-2011 (PS09/01395) and Junta de Andalucía, Consejería de Salud (PI-0034). The group is member of the Network for Cooperative Research on Membrane Transport Proteins (REIT), co-funded by the Ministerio de Educación y Ciencia, Spain and the European Regional Development Fund (ERDF) (Grant BFU2007-30688-E/BFI), and AECID C/024225/09 (Spain). CMV is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **PROTEOMICS AS A TOOL FOR PREDICTION OF CELL DYSFUNCTION IN**

**PREGNANCY.** Rice GE<sup>1,2</sup>, Lappas M<sup>2</sup>, Oliva K<sup>1</sup>, Illanes S<sup>3</sup>, Sobrevia L<sup>4</sup>, Ayhan M<sup>1</sup>, Bailey M<sup>1</sup>, Georgiou H<sup>2</sup>, Tong S<sup>5</sup>, Di Quinzio M<sup>2</sup>, Barker G<sup>1</sup>, Dellios N<sup>1</sup>, Permezel M<sup>2</sup>, Mitchell M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>University of Queensland's Centre for Clinical Research, Building 71/918, RBWH Campus, Herston, QLD 4029, Australia; <sup>2</sup>Mercy Perinatal Research Centre, Department of Obstetrics and Gynaecology, U. Melbourne, Heidelberg, VIC 3084, Australia; <sup>3</sup>Fetal Medicine Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, U. los Andes, San Carlos de Apoquindo, Santiago, Chile; <sup>4</sup>CMPL & PRL, Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre, School of Medicine, Faculty of Medicine, PUC, Santiago, PO Box 114-D, Chile; <sup>5</sup>Monash Institute for Medical Research, Monash University, Clayton, VIC 3168, Australia.

Proteomic analysis of gestational tissues is key to understanding cellular processes requisite for normal ontogenesis and for identification of variance contributing to abnormal development and complications of pregnancy. Such variance is most often observed at the protein level involving differential protein expression and/or activity. Thus, proteomics affords opportunity to identify changes in specific subsets of proteins that are associated with variance from normal and to interrogate their role in the etiology of pregnancy disorders. Changes in cell function may be reflected within specific subcellular compartments or as alterations in the protein and peptide composition of biological fluids. To further understand the aetiology of complications of pregnancy, studies have been conducted to establish underlying alterations in cell phenotype and identify changes in the protein and peptide complement of maternal plasma, amniotic fluid, cervicovaginal fluid and gestational tissues. The data obtained to date identify novel correlates of cell dysfunction that are associated with complications of pregnancy and afford opportunity to develop multivariate classification models for the assignment of disease risk. Such models may be of utility in the early identification of asymptomatic women at risk of subsequent complications of pregnancy (including, gestational diabetes; preeclampsia; intrauterine growth restriction and preterm delivery).

GER is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **INSULIN AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION.**

Hidden U, Lassance L, Augsten M, Desoye G. Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical University of Graz, Graz, Austria.

One of the consequences of diabetes in pregnancy is fetal hyperinsulinemia, which will act upon functional insulin receptors expressed on the placental endothelium. Thus insulin may be implicated in placental vascular dysfunction in diabetes. In the medium-to long term this may translate to endothelial dysfunction in later life and hence play a key role in the pathogenesis of some adult diseases. Placental angiogenesis is often dysregulated in diabetes resulting in hypervascularisation and increased branching. Angiogenesis involves endothelial cell proliferation, their migration including extracellular matrix degradation and tube formation. When endothelial cells from the placenta proper were used in an angiogenesis assay (2-D network formation), then insulin increased the total length of the network and the number of branching points. Insulin via a PI3-kinase dependent pathway stimulated the expression of matrix-metalloproteinase 14 (MMP14), a matrix degrading enzyme and key regulator of angiogenesis. Blocking its activity leads to a reduction in tube formation and branching angiogenesis. Insulin induces phosphorylation of PKB and the downstream targets GSK-3 and eNOS. This may represent one of the underlying mechanisms since authentic NO donors resulted in increased angiogenesis, whereas L-NAME reduced it. An additional regulating pathway may involve VEGF since insulin stimulated its expression. Overall, the data suggest that insulin has an effect on placental angiogenesis at various mechanistic levels. Increased insulin levels in the fetal circulation will result in a dysregulation of this process.

GD is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **ANTIOXIDATIVE MECHANISM OF L-CARNITINE IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION.**

Mate A. Departamento de Fisiología y Zoología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. c/ Profesor García González 2. 41012 Sevilla, Spain.

Since the discovery of the first L-carnitine (LC) deficiency syndromes, there has been a growing interest in exploring the potential therapeutic uses of this compound. Many of the beneficial effects of LC are conferred by its antioxidant properties, which make it an effective choice to treat those pathologies characterized by increased oxidative status. In this sense, there has been increasing evidence in the last few years that oxidative stress is one of the mechanisms involved in the initiation, progression, and long-term complications of cardiovascular disease, including various forms of hypertension. Thus, excessive reactive oxygen species (ROS) generation triggers tissue injury and dysfunction through the activation of different signalling pathways, leading to endothelial dysfunction and increased peripheral resistance with subsequent elevated blood pressure. Chronic treatment with LC is effective in diminishing the systemic oxidative stress that is either induced by a long-term blockade of nitric oxide (NO) synthesis (which is the case of L-NAME-treated rats) or that is intrinsic in other models of hypertension (e.g. the spontaneously hypertensive rat, SHR). The antioxidant effect of LC is carried out through a regulation of antioxidant enzyme activity/expression, glutathione system availability, plasma total antioxidant capacity, nitric oxide bioavailability, ROS generation, and an inhibition of the renin-angiotensin system, among others. In addition, the actions of LC follow a pattern similar to that of captopril, an antihypertensive drug widely used nowadays. This suggests a decrease in the systemic oxidative stress and a higher availability of NO induced by LC that might be relevant in the management of arterial hypertension eventually.

Supported by Instituto de Salud Carlos III-Fondo de Investigación Sanitaria, PN de I+D+I 2004-2007 (PI051026), Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, PN de I+D+I 2008-2011 (PS09/01395) and Junta de Andalucía, Consejería de Salud (PI-0034). The group is member of the Network for Cooperative Research on Membrane Transport Proteins (REIT), co-funded by the Ministerio de Educación y Ciencia, Spain and the European Regional Development Fund (ERDF) (Grant BFU2007-30688-E/BFI), and AECID C/024225/09 (Spain). AM is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

## Progenitor cells in disease

**THE ROLE OF THE MESENCHYMAL STEM CELLS IN HUMAN PLACENTAL DISORDERS.** Kalionis B, Pace RA, Kusuma G, Qin S. Department of Perinatal Medicine Pregnancy Research Centre and University of Melbourne Department of Obstetrics and Gynaecology, Royal Women's Hospital, Parkville, Victoria, Australia, 3052.

Cultured mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) have been the subject of intense research because of their outstanding potential for use in regenerative therapies. Much less is known about the properties and role(s) of these cells in placental tissues or their contribution to placental pathologies. In a recent study, we showed that the stem cell niche for MSCs in placental villi is perivascular. This arrangement involves MSCs in intimate contact with the vessel basement membrane and in close proximity to endothelial cells suggests an important role for MSCs in vessel maintenance and/or function. We postulated that defective MSC function may contribute to the villous defects characteristic of the placental disorder of fetal growth restriction. Using a variety of assays including colony forming ability, we provided evidence for defective MSC function in fetal growth restriction-affected placentae. We have recently shown that the MSC niche in the maternal decidua basalis and parietalis is also perivascular. The perivascular MSC niche in maternal decidua tissue implicate MSCs in the process of trophoblast invasion and vessel remodeling, which is essential for normal placental development. Increasing evidence associates defective MSCs with the significant placental disorder of preeclampsia. We present evidence from functional assays that abnormal MSCs play a role in preeclampsia. BK is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **ROLE OF TWO SUBTYPES OF FETAL ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS (EPC) -ENDOTHELIAL COLONY FORMING CELLS (ECFC) AND CIRCULATING ANGIOGENIC CELLS (CAC)- IN PLACENTAL VASCULOGENESIS AND IUGR**

Sipos P<sup>1</sup>, Fren F<sup>2</sup>, Sibley C<sup>1</sup>, Crocker I<sup>1</sup>, Baker P<sup>2</sup> <sup>1</sup>Maternal and Fetal Health Research Center, The University of Manchester, Manchester, UK. <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, The University of Alberta, Edmonton, Canada.

EPCs are circulating vasculogenic cells. We investigated if (1) fetal-derived EPCs are significant in placental vascularisation; (2) if EPC-characteristics are altered in IUGR. **Methods.** Arterial and venous umbilical blood from 15 normal and 9 IUGR newborns (GA:28-38;IBR<5) were examined: (1) By flow cytometry 7AAD/CD31<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup> cells (CAC) and 7AAD/CD31<sup>high</sup>/CD45<sup>+</sup>/KDR<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup> cells (ECFC) were counted. (2) ECFC were expanded in culture, retrovirally transduced to express EGFP (EGFP-ECFC) or LacZ (LacZ-ECFC). Genuine angiogenic capacity of EGFP/LacZ-ECFC was confirmed by formation of human vessels, when implanted into immunodeficient(NOD/SCID) mice (n=22). (3) Under ultrasound guidance 5x10<sup>6</sup> EGFP-ECFC (n=15) or 5x10<sup>5</sup> LacZ-ECFC (n=12) were injected into the circulation of NOD/SCID fetuses on 15<sup>th</sup> day of pregnancy *in vivo*. On day 18.5, localization and morphology of EGFP/LacZ-ECFC were determined by fluorescent animal visualiser and microscopy. **Results.** (1) Arterial EPC-levels were higher than venous levels (determined as percentage of mononuclear cells) (CAC: 0.28±0.11% vs.0.22±0.10%, p<0.01, n=13; ECFC: 4.12x10<sup>-3</sup>±4.96x10<sup>-3</sup> % vs.7.40x10<sup>-4</sup>±1.44x10<sup>-3</sup> %, p<0.01, n=12). (2) Imaging techniques revealed that in the fetal transplantation model EGFP/LacZ-ECFC migrated from the murine fetuses to the placentae, where they formed intact neo-vessels with active circulation (100%; n=27). (3) Placentae of growth restricted babies sequestered fewer EPCs (ECFC: 5.980±1.543x10<sup>-3</sup> % vs. 0.0±0.0%; p<0.01, n=10; CAC: 0.1085±0.0327% vs.0.0449±0.0348%, p<0.01, n=10), and showed impaired proliferative characteristics in culture, compared to those of normal babies. **Conclusion.** (1) ECFC-transplantation assay provides first evidence of role of ECFCs in endothelium formation during physiological angiogenesis *in vivo*. (2) Clinical related observations suggest potential link between EPC-based placental angiogenesis and IUGR.

PS is partially supported by Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **HUMAN ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS AND ITS POTENTIAL USE IN VASCULAR DYSFUNCTION.**

Aguayo C. Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Las células madres son autorrenovables y responden a estímulos generados en el micro ambiente en donde se encuentran, lo cual determina su diferenciación hacia linajes celulares con funciones especializadas. Las células madres se pueden clasificar según el tejido de origen: en células madre embrionarias o adultas (CMA). Las CMA se localizan en la medula ósea como células de tipo hematopoyético, mesenquimal y progenitora endotelial. Las células progenitoras endoteliales humanas (hEPC) se diferencia a células endoteliales maduras y contribuye a la formación de vasos sanguíneos en circunstancias fisiológicas y patológicas. Así, factores de riesgo cardiovascular tales como, hipercolesterolemia, hipertensión, diabetes y aterosclerosis se asocian con una disminución en el número de hEPCs circulantes. Sin embargo, su número aumenta en forma significativa luego de un infarto al miocardio y/o infarto cerebro-vascular. Durante este proceso isquémico se desencadena la movilización y reclutamiento de hEPC desde la medula ósea, favorecido por liberación de una serie de mediadores tales como óxido nítrico (NO), factor inducido por hipoxia (HIF-1) y TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa). Esto inicia el *homing* celular al tejido isquémico, de tal forma de contribuir al fenómenos de reparación y regeneración vascular. Las evidencias actuales demuestran que las hEPC participa en procesos de angiogénesis, vasculogénesis y neovascularización tanto in vitro como en modelos animales, y por lo tanto permiten sugerir que puede ser utilizadas con fines terapéuticos en patologías de origen vascular. Financiamiento: FONDECYT de Iniciación 11070035, DIUC-UDEC 205.072.032-1.0 & 205.072.031-1.0 (Chile). CA con apoyo parcial de Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **CÉLULAS MADRE MESENQUIMÁTICAS: LA HERRAMIENTA PARA TRATAR INDIVIDUOS CON DIABETES Y SUS COMPLICACIONES (MESENCHYMATIC STEM CELLS: THE TOOL TO TREAT DIABETIC SUBJECTS AND ITS COMPLICATIONS).**

Ezquer F,\* Ezquer M\*, Conget P. Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

Actualmente no existe cura para los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (T1D), ni tipo 2 (T2D). Su cuidado se basa en monitorizar la glicemia, controlar la dieta, y usar profilácticamente insulina exógena e hipoglucemiantes. Lograr un buen control metabólico es difícil, en consecuencia los pacientes desarrollan complicaciones en distintos órganos, que reducen significativamente su calidad y expectativas de vida. Nuestro objetivo es evaluar el efecto del trasplante de células madre mesenquimáticas (MSC) en individuos con diabetes y sus complicaciones. Para ello hemos utilizado como modelo de estudio ratones C57BL6J con T1D inducida por streptozotocina o con T2D secundaria a obesidad. Hemos observado que la administración intravenosa de MSC a ratones con T1D revierte la hiperglicemia, reduce los niveles de hemoglobina glicada, aumenta la insulinemia y recupera los islotes pancreáticos. Todo lo anterior, se asocia a una disminución de la respuesta pro-inflamatoria dada la aparición de linfocitos T reguladores. Por su parte, los ratones con T2D que reciben MSC no pierden peso, tampoco normalizan sus parámetros metabólicos. Sin embargo, no desarrollan esteatohepatitis no-alcohólica. La hepatoprotección observada se relaciona a una recuperación de las linfocitos NKT residentes en el hígado, los que previene la inflamación y fibrosis secundarias a la esteatosis. Por último, en ambos modelos observamos renoprotección independiente de la corrección de la diabetes. Nuestros resultados pre-clínicos, junto con evidencia generada por otros investigadores, sustentan la realización de estudios clínicos fase II para evaluar el impacto del trasplante de MSC en pacientes con diabetes mellitus.

Financiamiento: FONDECYT 11085033 y 11085034. \*contribuyeron igualmente. PC con apoyo parcial de Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

## Transportadores de membrana en cáncer

### **TRANSPORTADORES DE NUCLEÓSIDOS Y CÁNCER.**

Pastor-Anglada M. Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat de Barcelona, Institut de Biomedicina (IBUB) y CIBER EHD, Barcelona, España.

Los derivados de nucleósidos se están empleando en primera línea terapéutica en un amplio espectro de enfermedades humanas: tumores sólidos, enfermedades linfoproliferativas, autoinmunes, infecciosas de origen viral e inflamatorias. El paso a menudo limitante en la acción terapéutica y farmacocinética de estos fármacos se corresponde con su transporte a través de la membrana plasmática celular. La respuesta transcriptómica a fármacos de amplio uso en la terapia del cáncer como la capecitabina o la fludarabina, dependen de isoformas concretas de transportadores de nucleósidos. El análisis farmacogenómico de su acción nos ha permitido también identificar nuevas dianas terapéuticas como la Aquaporina 3 o el modulador del metabolismo energético TIGAR. Estos transportadores también presentan variantes polimórficas en humanos susceptibles de condicionar la farmacocinética y acción terapéutica de estos fármacos. Además, la posibilidad de modular su expresión y actividad en la membrana plasmática se anticipan como posibilidades de tratamiento co-adyuvante en la terapia del cáncer.

Financiado por Ministerio de Ciencia e Innovación, Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) Enfermedades Hepáticas y Digestivas (EHD), Universitat de Barcelona, Generalitat de Catalunya, Fundación Ramón Areces, Fundación para la Investigación y la Prevención del Sida en España (FIPSE) y Acción Transversal en Cáncer (Instituto de Salud Carlos III, España), y AECID C/024225/09 & A/024549/09 (España). MPA con apoyo parcial de Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **TRANSPORTADORES DE DROGAS Y CÁNCER CEREBRAL.**

Quezada C. Laboratorio de Patología Molecular y Bioquímica Farmacológica. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La incidencia de los gliomas en humanos ha tenido un notorio incremento en las últimas décadas. A pesar de los avances en tecnologías de imágenes para la detección temprana de estos tumores, no ha habido mejoras para tratar las formas más agresivas del cáncer cerebral, el glioblastoma multiforme (GBM). La resistencia de las células tumorales a fármacos anticancerígenos es una de las causas de fracaso en la quimioterapia. Uno de los principales mecanismos involucrados en este fenotipo denominado resistencia múltiple a drogas (MDR), es la expresión de una o más proteínas de la familia de transportadores ABC (ATP-binding cassette) que funcionan como bombas dependientes de ATP para la remoción de diversos metabolitos y también fármacos y sus derivados. En GBM la actividad de multidrug resistance protein-1 (Mrp1) confiere un fenotipo de resistencia a muchos de los fármacos que son utilizados actualmente en el tratamiento del cáncer. Actualmente es de gran relevancia clínica descubrir y diseñar moléculas "quimiosensibilizadoras" las cuales inhiban la actividad de transportadores de MDR, pudiendo favorecer la efectividad de los agentes antitumorales. Estudios in vitro indican que las moléculas FK506, MK571 y Probenecid inhiben efectivamente la actividad de Mrp1 en células de GBM. Además, la viabilidad celular disminuyó considerablemente al utilizar estos inhibidores en conjunto con drogas antitumorales, sugiriendo su utilidad como agentes quimiosensibilizadores.

Financiado por Fondecyt N° 11080226 y la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Austral de Chile (DIDUACH SB-2007-68). CQ con apoyo parcial de Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

### **CONEXINAS Y TRANSPORTADORES DE NUCLEÓSIDOS EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE PÁNCREAS.**

Pérez-Torras S. Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona, Universitat de Barcelona, and Centro de Investigación Biomédica en Red-Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Barcelona, Spain.

El cáncer de páncreas es uno de lo más letales, siendo la cuarta causa de mortalidad en el mundo industrializado. La gemcitabina, el fármaco de elección para su tratamiento, es un análogo de la deoxicitidina internalizado en la célula por transportadores de nucleósidos donde es fosforilado a sus metabolitos activos. En este sentido la modulación del transportador de nucleósidos equilibrativo 1 (hENT1) implicado en su vía de entrada afecta a su bioasequibilidad y contribuye significativamente a la sensibilización de las células tumorales a este fármaco. Por otro lado, ha sido ampliamente descrito que algunos análogos de nucleósidos fosforilados como el ganciclovir son movilizados a través de las uniones gap contribuyendo de este modo a su efecto. Las similitudes estructurales con la gemcitabina sugieren que ésta también puede verse beneficiada de una buena comunicación intercelular. La heterogeneidad en los niveles de expresión de conexina 26 (Cx26) y conexina 43 (Cx43) en un panel de líneas derivadas de cáncer de páncreas ha mostrado una clara asociación con los niveles de comunicación intercelular mediada por uniones gap, así como una correlación con la citotoxicidad de la gemcitabina por efecto adyacente. El tratamiento con gemcitabina de ratones con tumores subcutáneos, establecidos a partir de una línea celular con elevada comunicación intercelular, induce un retraso en el crecimiento tumoral. Además la administración del fármaco en ratones con tumores que sobrepresen Cx26 provoca una disminución del tamaño del tumor del 50%. El efecto citotóxico de la gemcitabina usada para el tratamiento del cáncer de páncreas mejora significativamente aumentando los niveles del transportador de nucleósidos hENT1 y la comunicación intercelular dependiente de uniones tipo gap.

Financiado por Ministerio de Ciencia e Innovación, Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) Enfermedades Hepáticas y Digestivas (EHD), Universitat de Barcelona, Generalitat de Catalunya, Fundación Ramón Areces, Fundación para la Investigación y la Prevención del Sida en España (FIPSE) y Acción Transversal en Cáncer (Instituto de Salud Carlos III, España), y AECID C/024225/09 & A/024549/09 (España). SP-T con apoyo parcial de Anillos ACT-73 (PIA) CONICYT & FONDECYT 1070865/1070354 (Chile).

## **Role of connexin and pannexin based channels in inflammatory responses**

### **GAPS IN NEUROPROTECTION: CONNEXINS AND STROKE.**

Christian Naus, Life Sciences Institute, Vancouver, Canada. Gap junction channels provide cytoplasmic continuity between adjacent cells by allowing ions and molecules less than 1.8 kD to pass. The role of gap junctions in stroke is controversial. Some reports suggest that gap junctions allow passage of cytotoxic substances, while other suggest gap junctions pass required metabolites (e.g. antioxidants, ATP, glucose) to areas of demand while also buffering cytotoxic levels of excitatory amino acids and ions through the astrocytic syncytium. We have shown that selectively knocking out the gap junction protein connexin43 (Cx43) in astrocytes results in larger infarct volumes after middle cerebral artery occlusion (MCAO)<sup>3</sup>, suggesting that astrocytic Cx43 limits damage due to stroke. In addition to forming gap junctions, unopposed Cxs may form hemichannels which are known to release substances such as ATP, glutamate and glutathione. A site of interest in elucidating Cx43's neuroprotective role is the C-terminal region (CT), which exhibits several phosphorylation sites that are believed to play a role in gap junction assembly and activity. Moreover, the Cx43CT is known to bind to other proteins such as actin, tubulin, CCN3, c-src and ZO-1. Given the wide range of interactions we were interested in determining if truncation of Cx43 alters cellular injury. We utilized mutant mice in which the CT of Cx43 has been truncated at amino acid residue 258. To determine susceptibility to cellular injury we subjected these mice to MCAO and subsequently measured infarct volume. The expression pattern and function of full length and truncated Cx43 were examined in sectioned brains and in cultured astrocytes. Our results support a strong protective role of the CT during stroke. We are exploring therapeutic approaches targeting Cx43. Supported by the Heart & Stroke Foundation of British Columbia and Yukon.

### **ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN INFLAMMATION: ROLE OF GAP JUNCTIONS AND HEMICHANNELS.**

Figueroa X.F. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Peripheral vascular resistance and blood flow distribution depends on the control and coordination of changes in diameter along the length of resistance arteries and arterioles. The endothelium plays a central role in this process, but the precise communication between endothelial cells, smooth muscle cells and among both cells types is critical for fine, well-timed regulation of vasomotor tone. Although the importance of paracrine signaling in vascular function is evident, it has become apparent that communication by pannexin- and connexin-based channels are part of a complex signaling system that allows specific interactions between other signaling mechanisms and coordinates endothelial and smooth muscle function. Pannexin-1 in combination with Cx37, 40 and 43 are expressed in blood vessels. Pannexin-1, Cx37 and 40 are primarily found in endothelial cells and, recently, it was suggested that Cx32 is also expressed in the endothelium. The earliest event observed in inflammation and inflammation-associated cardiovascular diseases such as hypertension is the development of endothelial dysfunction, which is paralleled by changes in connexin and pannexin expression or distribution. In this context, in inflammatory conditions, the expression of Cx40 is reduced whereas the incidence of pannexin-1 and Cx32 is increased. Downregulation of Cx40 is likely to have a great impact on the development of endothelial dysfunction because this connexin plays a key role in the communication of endothelial and smooth muscle cells, coordination of vasomotor tone and conduction of endothelium-dependent vasodilator responses. The increased expression of pannexin-1 may affect endothelial cell function by changing resting membrane potential and reducing ion electrochemical gradient. All these findings together highlight the importance of pannexins and connexins in the inflammation-associated impairment of vascular function.

Anillos ACT-1, FONDECYT 1100850, FONDECYT 1090757, Límite 15/2009.

### **UPREGULATION OF CONNEXIN HEMICHANNELS IN DENERVATED SKELETAL MUSCLES AND IN CULTURED MYOFIBERS, A RESPONSE ENHANCED BY TNF- $\alpha$ AND PARTIALLY PREVENTED BY IL-6 AND ATP.**

<sup>1</sup>Cea L.A., <sup>1</sup>Riquelme MA, <sup>2</sup>von Maltzahn J., <sup>2</sup>Willecke K. and <sup>1</sup>Sáez J.C. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Institut für Genetik, Universität Bonn, Germany.

Since adult skeletal muscles do not express connexin levels, the present work was under taken to identify conditions that release them from the inhibition. Then, the preventive effect of ATP and IL-6, both released by active muscle fibers, on connexin upregulation was studied in cultured myofibers. No changes in Cx levels or membrane permeability were observed in muscles immobilized for 6 days. However, EDL muscles (fast), but not in soleus (slow) muscles, showed upregulation of connexins 39, 43 and 45 after 6 days of denervation. The three connexins were not detected in freshly isolated FDB myofibers (fast) but their levels increased over 48-72h in culture. All three connexins were detected mainly in the sarcolemma and ethidium uptake revealed high membrane permeabilization through a pathway inhibited by connexin hemichannel blockers. These changes were prevented with IL-6 or ATP. Moreover, 3h treatment with TNF- $\alpha$  induced connexin expression and formation of functional hemichannels. Therefore, upregulation of connexins and formation of hemichannels, which are permeable to ions and small molecules, induced by muscle denervation or TNF- $\alpha$  could contribute to muscle wasting of fast skeletal muscles induced by denervation and cachexia.

(CONICYT24091065 to LC, CONICYT/DAAD to JCS and KW, FONDEF D0711086 to JCS).

### **EARLY INDUCTION OF TH17 IN HEART AND KIDNEY OF MINERALOCORTICOID-DEPENDENT HYPERTENSIVE RATS.**

Cristián Amador<sup>1,2</sup>, Juan P. Peña<sup>1,2</sup>, Magdalena González<sup>1,2</sup>, Andrés Herrada<sup>2</sup>, Alexis Kalergis<sup>2</sup> and Luis Michea<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>ICBM. Centro de Estudios Moleculares de la Célula. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. <sup>2</sup>Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

High levels of aldosterone and salt cause hypertension and low grade inflammation that mediates heart and kidney damage. However, immunological mechanisms implicated in mineralocorticoid-dependent inflammation are not known. Interleukin-17 (IL-17) has been recognized as a pathogenic mechanism in autoimmune diseases. We hypothesized that the Th17 phenotype is activated in mineralocorticoid-dependent hypertension (deoxycorticosterone, DOCA-salt model). We studied three groups of uninephrectomized rats (n=4, 8 and 16 days): Vehicle, DOCA-salt (0.5mg/0.1kg + 0.9% NaCl/0.3% KCl in drinking water), and DOCA-salt+spironolactone (50 mg/kg/d). The DOCA-salt group developed hypertension starting at day 4 (p<0.001). IL-17 mRNA and protein increased in the DOCA-salt group (8 and 16 days of treatment) in blood mononuclear cells, heart and kidney. Cardiac and renal tissue from DOCA-salt rats showed infiltration of CD4+ and Th17 lymphocytes. The expression of Th17 was associated to increased expression of TGF- $\beta$ 1, IL-23, and IL-1 $\beta$ , a group of cytokines necessary for Th17 polarization/expansion. The MR blocker spironolactone prevented the development of hypertension, induction of Th17 and the expression of cytokines characteristic of the Th17 phenotype. These results show activation of Th17 in DOCA-salt hypertension that is dependent on MR activation. (Supported by CONICYT AT-24091044, FONDECYT 1090223, Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy P07/088-F, Fondecyt-FONDAP 15010006 and Anillo ACT 71).

## Key Issues on Nicotinic Acetylcholine Receptors Research

### **PENTAMERIC CONCATENATED $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$ AND $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$ NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS: FUNCTIONAL PROPERTIES AND SUBUNIT ORIENTATION.**

I Bermudez. School of Life Sciences, Oxford Brookes University, Gipsy Lane, Oxford OX3 0BP, UK.

$\alpha 4$  and  $\beta 2$  nicotinic acetylcholine receptor subunits expressed heterologously in *Xenopus* oocytes or mammalian clonal cell lines assemble into a mixed population of  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  and  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$  receptors. In order to express these receptors separately in heterologous systems, we have engineered pentameric concatenated  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  and  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$  receptors.  $\alpha 4$  and  $\beta 2$  subunits were concatenated by synthetic linkers into pentameric constructs to produce either  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  or  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$  receptors. We found that pentameric concatamers with a subunit arrangement of  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\beta 2$  or  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\alpha 4$  were stable and functional in *Xenopus* oocytes. By comparison, when  $\alpha 4$  and  $\beta 2$  were concatenated with a subunit order of  $\beta 2/\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4$  or  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\alpha 4$ , functional expression in *Xenopus* oocytes was very low, even though the proteins were synthesised and stable. Both  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\beta 2$  and  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\alpha 4$  concatamers recapitulated the ACh concentration response curve, the sensitivity to  $Zn^{2+}$  modulation,  $Ca^{2+}$  permeability and the sensitivity to up-regulation by chaperone protein 14-3-3 of the corresponding non-linked  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  and  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$  receptors respectively.

Using these concatamers, it was found that most  $\alpha 4\beta 2$ -preferring compounds studied, including A85380, 5I-A85380, cytosine, epibatidine, TC2559 and dihydro- $\beta$ -erythroidine demonstrate stoichiometry-specific potencies and efficacies. Selective impairment of  $Zn^{2+}$  binding sites at  $\beta 2/\alpha 4$ ,  $\alpha 4/\alpha 4$  and  $\beta 2/\beta 2$  interfaces showed that the subunits orientate anti-clockwise within the concatamer, which implies that the ACh binding sites are formed at the interfaces of the first and second subunits and between the third and fourth subunits of the concatamers. We concluded that the  $\alpha 4\beta 2$  receptors produced with  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\beta 2$  or  $\beta 2/\alpha 4/\beta 2/\alpha 4/\alpha 4$  pentameric constructs are valid models of non-linked  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  and  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$  receptors, respectively. Work was funded by the Royal Society and Oxford Brookes University

### **SEARCHING FOR THE NICOTINIC NATIVES: GENETIC, PHARMACOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL APPROACHES TO SUBTYPE IDENTIFICATION.**

Michael J. Marks, University of Colorado, Boulder, Colorado, USA

Nicotinic acetylcholine receptors in skeletal muscle and the electric organs are among the best characterized ligand gated ion channels. These receptors are pentameric. Available evidence indicates that neuronal nicotinic receptors are also pentameric. Many nicotinic acetylcholine receptor genes that are expressed in mammalian brain have been identified. One subunit ( $\alpha 7$ ) appears to assemble primarily as a homopentamer containing five copies of the  $\alpha 7$  receptor protein. The other subunits that have been identified in mammalian brain include four identified as primary ligand binding subunits ( $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 6$ ), two identified as primarily structural subunits ( $\beta 2$  and  $\beta 4$ ), and two auxiliary subunits ( $\alpha 5$  and  $\beta 3$ ). Since these heteromeric receptors are also pentameric, the potential for subtype diversity is very large. One of our interests has been to identify those subtypes that are actually expressed in mouse brain. To this end we have

used genetic (primarily the use of null mutant mice), pharmacological (including subtype selective agonists and antagonists), biochemical (including biochemical assays for receptor expression, such as ligand binding, and function, such as ion flux and neurotransmitter release assays) and immunological (employing subunit specific monoclonal and polyclonal antibodies) to identify native receptor subtypes. These studies reveal that the range of nicotinic receptor subtypes expressed in mouse brain is much more restricted than theoretically possible. These studies confirm that three major classes of nicotinic receptors exist: homomeric  $\alpha 7$ , heteromeric  $\beta 2$  containing and heteromeric  $\beta 4$  containing. The  $\beta 2$  containing subtypes are the most widely expressed and also are also structurally diverse. Supported by the following grants from the National Institutes of Health of the United States of America U19 DA019375, R01 DA003194, R01 DA012242 and P30 DA015663.

### **PHARMACOLOGICAL STRATEGIES FOR SMOKING CESSATION.**

Cassels BK. Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Tobacco smoking is the main preventable cause of death and disability in most countries. Although there is widespread awareness of this fact, a large majority of smokers wishing to quit are unsuccessful. Nicotine replacement therapy (NRT) and/or bupropion are helpful in not more than 15% of cases, and the synthetic nicotinic partial agonist varenicline, only claimed to be less than 30% effective, has been the subject of an FDA alert due to the serious neuropsychiatric symptoms occurring in patients taking this drug. The plant alkaloid cytosine, like varenicline, is another partial agonist with selectivity for the  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic acetylcholine receptor, by modulating dopamine release in the reward pathway. Cytosine is also somewhat similar to varenicline in its modulation of nicotine's discriminative stimulus effects and, has been used for about forty years as an aid for smoking cessation in Eastern and Central Europe, with a success rate similar to the best achieved with NRT and bupropion, at a considerably lower cost. Cytosine is an attractive template for structural modification. Substitution on the basic nitrogen atom generally seems to decrease its affinity and functional potency, probably to unacceptably low values. On the other hand, the introduction of substituents at carbon atoms 3 and 5 is a fairly straightforward process, and the 3-bromo- and 3-iodo derivatives have subnanomolar affinities for the epibatidine binding site in rat brain and are highly efficacious in different functional assays including dopamine release from striatal slices. It is still an open question whether full or partial nAChR agonists, antagonists or modulators will be the most effective drugs for smoking cessation, but cytosine itself, or some of its derivatives, seem to be good candidates for further study as possible inexpensive alternatives to the current treatments. Supported by grants from FONDECYT (1040776 and 11060502), CONICYT (PBCT 2004), Universidad de Chile (INI 06/03-2), ICM (P05-001-F), PEDECIBA, ANII, and FCE (Uruguay, 2007\_421), NIDA (DA003194 and DA015663), The Wellcome Trust (073295/Z/03/Z), and Oxford Brookes University.

## SIMPOSIO INVESTIGADORES JÓVENES: CARDIOVASCULAR

**CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO HUMANO Y SU RELACIÓN FUNCIONAL CON ADENOSINA.** Fernández P,<sup>1</sup> Guzmán E,<sup>2</sup> Aguilera V,<sup>1</sup> Díaz F,<sup>1</sup> Caviedes L,<sup>1</sup> Veas C,<sup>1</sup> Sobrevia L,<sup>2</sup> Lamperti L.<sup>1</sup> & Aguiayo C.<sup>1</sup> Dpto. de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.<sup>2</sup>Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Dpto. Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La angiogénesis y vasculogénesis se presenta como un mecanismo de regeneración del tejido vascular en condiciones normales o frente a condiciones de isquemia. En este fenómeno participan las Células Progenitoras Endoteliales humanas (hEPC) y el nucleósido purínico adenosina. Sin embargo, no existen estudios que demuestren una relación funcional entre adenosina y hEPC. Las hEPC a los 3 días de cultivo (hEPC-3d) son una población CD34<sup>+</sup>/KDR<sup>+</sup>, mientras que a los 14 días (hEPC-14d) las células predominantes son CD34<sup>+</sup>/KDR<sup>+</sup>. Las hEPC-3d transportan adenosina mediado por un transportador tipo hENT1 y en hEPC-14d el transporte parece ser mediado por dos componentes: el componente 1 es compatible con un sistema hENT1 y componente 2 similar a un sistema CNT3. Las hEPC-3d y hEPC-14d expresan los receptores A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> y A<sub>3</sub>. En hEPC-3d, la expresión de A<sub>2A</sub> es mayor que los niveles de A<sub>2B</sub> y A<sub>3</sub>. La expresión de A<sub>2A</sub> disminuye a los hEPC-14d. Adenosina y NECA aumenta la movilización de las hEPC, un efecto que es bloqueado por ZM 231384 (antagonistas de los receptores A<sub>2A</sub>). Adenosina induce un aumento en la adhesión de hEPC-3d, sin embargo, no contribuye a la formación de estructuras tipo capilares *in vitro*. Estos resultados representan las primeras evidencias que demuestran un efecto directo de adenosina sobre las hEPC y nos permiten sugerir que adenosina está involucrada en la adhesión y movilización de hEPC tempranas, mediado por la activación de receptores de adenosina. Financiamiento: Proyecto FONDECYT de Iniciación 11070035, DIUC-UDEC 205.072.032-1.0, 205.072.031-1.0

**GUGULÍPIDO ELEVA EL COLESTEROL PLASMÁTICO, FAVORECE EL DESARROLLO DE ATEROESCLEROSIS Y PREVIENE LA FORMACIÓN DE LITIASIS BILIAR EN EL RATÓN.** Andrea Leiva<sup>1,\*</sup>, Juan Tichauer<sup>1</sup>, Ludwig Amigo<sup>1</sup>, Susana Contreras<sup>1</sup>, Esteban Sepúlveda<sup>2</sup>, Gonzalo Carrasco<sup>3</sup>, Mauricio Boric<sup>2</sup>, Attilio Rigotti<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Hospital Parroquial de San Bernardo, Chile.

El guggulípido es un compuesto natural utilizado para controlar los niveles plasmáticos de colesterol, aunque no existen estudios clínicos convincentes que establezcan sus efectos sobre la hipercolesterolemia o el desarrollo de aterosclerosis. **Objetivo:** Estudiar el efecto del guggulípido sobre la homeostasis del colesterol corporal, la funcionalidad vascular y su impacto en el desarrollo de patologías asociadas a trastornos del metabolismo del colesterol como la aterosclerosis y la litiasis biliar en el ratón. **Resultados:** Guggulípido aumentó el colesterol plasmático total en un 30% asociado a una disminución post-transcripcional de un 67% de la expresión hepática del receptor de HDL SR-BI por mecanismos independientes de la activación del factor nuclear FXR. A nivel vascular, guggulípido determinó el desarrollo de disfunción endotelial evaluada como respuesta a acetilcolina en anillos aórticos y generó una respuesta proinflamatoria vascular, favoreció el desarrollo de aterosclerosis (incrementando en un 130% el área de las lesiones ateromatosas de la raíz aórtica) y aceleró significativamente la muerte de origen cardiovascular en un modelo de enfermedad isquémica coronaria severa. Por otra parte, guggulípido previno totalmente la formación de litiasis biliar, modificando la motilidad vesicular sin afectar la solubilidad del colesterol en la bilis de la vesícula biliar. **Conclusión:** Los resultados de este estudio mostraron un efecto adverso del guggulípido en un modelo animal de aterosclerosis y sugieren posibles efectos cardiovasculares deletéreos para la salud de quienes consumen este producto, lo que evidencia la necesidad de realizar estudios adicionales para evaluar las consecuencias de uso no regulado de este producto natural en humanos. Financiado por Proyecto FONDECYT No. 1070634 (AR) y Beca de Apoyo a la Realización de Tesis Doctoral CONICYT (AL). \*Dirección actual: Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL) y Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), División de Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

**INVOLVEMENT OF TYROSINE KINASES IN THE REGULATION OF VASCULAR TONE IN UMBILICAL AND PLACENTAL VESSELS EXPOSED TO OXIDATIVE STRESS.** González M<sup>1</sup>, Rojas S<sup>1</sup>, Gallardo V<sup>1</sup>, Sobrevia L.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Vascular Physiology Laboratory, Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile. <sup>2</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Endothelial dysfunction in early stages of cardiovascular diseases is characterized by increase in the synthesis of reactive oxygen species (ROS). Among ROS, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) has greater stability and is a source of radical species. Insulin has demonstrated a potential role like antioxidant; however, the cellular mechanisms induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the regulation of this phenomenon by insulin has not been evaluated in the human vasculature. Methods. Umbilical vein and arterial rings were isolated from normal pregnancies (ethics committee approval and informed patient consent were obtained) and mounted on an isometric force transducer. To determine changes in placental circulation, a suitable fetal vein and artery pair on the surface of the chorionic plate, leading to a peripheral cotyledon, were cannulated. The perfusion pressure was continuously monitored. Umbilical vessels and placental bed were exposed to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-2</sup> M) in absence or presence of insulin (1 nM) and/or genistein (5 μM, tyrosine kinases inhibitor). Results. Insulin induced relaxation of U46619-precontracted umbilical artery (61 ± 11%) and vein (46 ± 8%) rings (P<0.05, ANOVA two ways, n=3-6). In placenta, insulin decreased the perfusion pressure (51 ± 5%), without changes in the perfusion flow rate. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced vasoconstriction in umbilical vessels and increased perfusion pressure in placental circulation. The effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were blocked by preincubation with insulin and genistein. Conclusions. Insulin could act as a protective factor against vasoconstriction induced by ROS in fetoplacental circulation. The cellular mechanism is not resolved, but it is conceivable that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> effect could depend on the activity of tyrosine kinases. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-23070213, FONDECYT 1070865, and DIUC 210.033.103-1.0 (Chile).

**ALTA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE D-GLUCOSA INHIBE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS TIPO 1 MEDIANTE ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR TIPO II PARA TGF-β1 EN ENDOTELIO FETAL HUMANO.** Vega JL<sup>\*</sup>, Sobrevia L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL) & Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), División de Obstetricia y Ginecología, Centro de Investigaciones Médicas (CIM), Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

Niveles altos de D-glucosa extracelular (25 mM) causan inhibición del transportador equilibrativo de nucleósidos tipo 1 (hENT1) en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC). Debido que alta D-glucosa estimula la secreción del factor transformante β1 (TGF-β1) en HUVEC, el objetivo de este trabajo fue determinar la participación de TGF-β1 en el efecto inhibitorio de alta D-glucosa sobre hENT1. **Métodos.** HUVEC monocapas (pasaje 2) fueron expuestas a diferentes concentraciones de D-glucosa (5-25 mM). Se determinó el transporte de adenosina (0-500 μM, 2 μCi/ml [<sup>3</sup>H]adenosina, 20 segundos, 22°C), la abundancia de proteína (western-blot) y el mRNA (RT-PCR) de hENT1, y la actividad transcripcional del promotor del gen *SLC29A1* (para hENT1) en HUVEC que expresan el receptor tipo II nativo (TβRII) o trunco (tTβRII) para TGF-β1. **Resultados.** D-Glucosa disminuye significativamente (P<0.05, ANOVA two ways, n=12), de manera concentración dependiente el transporte de adenosina vía hENT1 (IC<sub>50</sub> = 14 ± 0.5 mM), la abundancia de la proteína (~50%) y niveles de mRNA (~70%) para hENT1. Además disminuye la actividad transcripcional del promotor de *SLC29A1* (~20%). Todos estos efectos no fueron observados en HUVEC infectadas con tTβRII. **Conclusión.** La inhibición del transporte de adenosina vía hENT1 por alta D-glucosa extracelular requiere la expresión de TβRII en HUVEC. Se propone que la vía de señalización de TGF-β1 es esencial en los efectos deletéreos de alta D-glucosa extracelular en este tipo celular. Financiado por CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24090199, FONDECYT 1070865 & 1080534 (Chile). \*Dirección actual: Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile.

#### REGULATION OF D-GLUCOSE TRANSPORT BY HIGH EXTRACELLULAR D-GLUCOSE AND INSULIN IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS.

Puebla C, Casanello P, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Facilitative, insulin-insensitive transport mechanisms mediate D-glucose transport in endothelium, including human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). It is controversial whether insulin actually modulates D-glucose transport in HUVEC, and whether abnormal levels of D-glucose will alter a potential insulin effect in this cell type. We studied whether D-glucose and insulin modulate 2-deoxy-D-glucose (2DG) uptake in HUVEC from normal pregnancies exposed to high extracellular concentrations of D-glucose. **Methods.** HUVEC monolayers (passage 2) were exposed (3-24 hours) to 5 or 25 mM D-glucose in absence or presence of insulin (0.1-10 nM, 8 hours). Uptake of 2DG (1.6 mM, 2  $\mu$ Ci/ml [<sup>3</sup>H]2DG, 5-40 seconds, 22°C) was measured. GLUT1 and GLUT4 mRNA level and protein abundance were evaluated by RT-PCR and western blot, respectively. **Results.** Initial rates of 2DG uptake were linear up to 40 seconds and lower ( $P < 0.05$ , ANOVA two ways,  $n = 5-6$ ) in 25 mM ( $0.34 \pm 0.1$  pmol/ $\mu$ g protein) compared with 5 mM ( $1.04 \pm 0.3$  pmol/ $\mu$ g protein) D-glucose. Insulin blocked D-glucose effect on 2DG uptake, but did not alter 2DG uptake in cells in 5 mM D-glucose. Cell exposure to 25 mM D-glucose resulted in time-dependent reduction of GLUT1 mRNA level ( $74 \pm 12\%$ , half-maximal time effect ( $IT_{50}$ ) =  $6.8 \pm 1.1$  hours) and protein abundance ( $48 \pm 16\%$ ,  $IT_{50} = 17.2 \pm 2.3$  hours), effect that was reversed by insulin. On the contrary, GLUT4 mRNA or protein was not detected in HUVEC either in 5 or 25 mM D-glucose, in absence or presence of insulin. **Conclusion.** HUVEC down-regulation of 2DG uptake in response to high D-glucose could result from decreased GLUT1 expression in HUVEC. Since insulin reverses high D-glucose-reduced 2DG uptake, it is feasible that under this pathological environmental condition GLUT1 transporters expression and/or activity becomes modulated by insulin. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24090190, FONDECYT 1070865 & 1080534 (Chile). C Puebla holds a CONICYT-PhD (Chile) fellowship.

#### PARTICIPACIÓN DE ANGIOTENSINA-II Y EL FACTOR DE TEJIDO CONECTIVO (CTGF) EN LA FIBROSIS MUSCULAR ESQUELÉTICA: NUEVAS ESTRATEGIAS ANTI-FIBRÓTICAS.

Cabello-Verrugio C, Morales MG, Acuña MJ, Painemal P, Brandan E. Laboratorio de Diferenciación Celular y Patología, MIFAB, CARE, Universidad Católica de Chile.

Fibrosis es una característica de la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), que afecta la función del músculo esquelético e involucra, al menos, la participación del factor de crecimiento transformante tipo beta (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) y el sistema renina-angiotensina (RAS), cuyo principal exponente fibrótico es Angiotensina II (Ang-II).

**Objetivos:** 1) Evaluar la participación y mecanismo de acción de Ang-II en la fibrosis muscular esquelética. 2) Determinar el efecto de bloqueadores del receptor AT-1 para Ang-II (ARB) en los niveles y actividad de factores pro-fibróticos.

**Resultados:** a) Ang-II induce la expresión de CTGF, TGF- $\beta$ 1, fibronectina y colágeno III en células musculares esqueléticas a través de su receptor AT-1 y activación de p38MAPK. b) Incubación de células C2C12 con ARB disminuye la actividad fibrótica dependiente de CTGF. c) La inducción de fibrosis muscular esquelética por inyección intramuscular de un adenovirus que codifica para CTGF, es disminuida por tratamiento de los ratones con ARB. d) ARB disminuye los niveles de CTGF y fibrosis observados en el modelo murino de la DMD, el ratón mdx.

**Conclusiones:** En células musculares esqueléticas Ang-II presenta actividad fibrótica y aumento en la expresión de factores pro-fibróticos. De manera interesante, la fibrosis inducida por CTGF, tanto in vitro como in vivo, disminuyó por el uso de ARB. Los resultados en su conjunto, nos permiten proponer que RAS contribuye al fenotipo fibrótico del músculo esquelético, y constituye un novedoso blanco para terapias anti-fibróticas orientadas a revertir en parte la disfunción muscular asociada a DMD.

FONDECYT-11080212, Conicyt-PFB12/2007, MDA89419.

## SIMPOSIO INVESTIGADORES JÓVENES: NEUROBIOLOGÍA

**CAMBIOS TEMPORALES DE LA EXPRESIÓN DE MODULADORES QUIMIOSENSORIALES CAROTÍDEOS EN RATAS EXPUESTAS A HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA.** *Del Río R, Moya EA, Arias P, Iturriaga R.* Lab. Neurobiología, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

La hipoxia intermitente crónica (CIH) es la característica principal de la apnea obstructiva del sueño y produce hipertensión. Uno de los mecanismos que contribuye a la hipertensión es la potenciación de las respuestas quimiosensoriales del cuerpo carotideo a la hipoxia. El aumento del estrés oxidativo (ROS) inducido por CIH tendría un papel fundamental en el desarrollo de la potenciación quimiosensorial. El aumento en los niveles de ROS en las células quimiorreceptoras podría modificar la expresión de agentes moduladores de la actividad quimiosensorial carotídea en animales expuestos a CIH. En ratas Sprague-Dawley machos expuestos a 7-21 de CIH F<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5-6%, 12veces/h, 8h/día) estudiamos en el cuerpo carotideo, mediante inmunohistoquímica, los niveles de expresión relativos de endotelina-1 (ET-1), del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), de interleuquina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) y de interleuquina 6 (IL-6). Como indicador del estrés oxidativo medimos la formación de 3 nitrotirosinas (3-NT). Encontramos que 3-NT aumenta a los 7 días, permaneciendo elevadas hasta los 21 días, mientras que ET-1 aumenta durante los primeros 7 días de CIH y luego cae a los niveles controles. El TNF- $\alpha$  y la IL- $\beta$  sufren cambios tardíos, aumentando su expresión después del día 14 y manteniéndose elevados hasta el día 21. Los niveles de IL-6 no cambiaron durante los 21 días de CIH. Nuestros resultados sugieren que la CIH regularía de manera diferencial la expresión de diversos moduladores de la actividad quimiosensorial carotídea  
Financiado por FONDECYT 1100405 y CONICYT AT#24091043.

**NURR1: REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR TIROSINA QUINASA RET Y FUNCIÓN EN EL SISTEMA DOPAMINÉRGICO.** *Gallequillos D y Andrés ME.* Núcleo Milenio Estrés y Adicción, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Los Sistemas Nigro-Estriatal y Mesocorticolímbico regulan el comportamiento, las emociones y los movimientos voluntarios. La generación de las neuronas dopaminérgicas que forman estos Sistemas depende del receptor nuclear huérfano Nurr1, un factor de transcripción indispensable para la diferenciación, maduración y supervivencia de estas neuronas durante el desarrollo. En etapas prenatales, Nurr1 es necesario para la expresión de varios genes que especifican el fenotipo neuroquímico de estas neuronas. En el adulto, Nurr1 es necesario para la correcta función de las neuronas dopaminérgicas. Se desconocen los promotores de genes a los cuales se une Nurr1 in vivo y los mecanismos mediante los cuales regula la expresión de estos. En este trabajo se describe la unión de Nurr1 al promotor de Ret en neuronas dopaminérgicas en animales adultos y se estudia el mecanismo por el cual Nurr1 activa el promotor de Ret en una línea celular. Mediante el uso de vectores Adeno-Asociados se genera un modelo de disminución somática de la expresión de Nurr1 para estudiar su función en el cerebro adulto. En ratas en las que se disminuye la expresión de Nurr1 se encuentran disminuidos tanto la expresión de Ret como el contenido extracelular de DA. Estos resultados nos permite concluir que Nurr1 regula la expresión del receptor tirosina quinasa Ret a través de un mecanismo que involucra la unión de este factor de transcripción a la región promotora de Ret.  
FONDECYT 1070349 y Núcleo Milenio Estrés y Adicción MSI N° P06/008-F

**PARTICIPACIÓN DE COREST EN LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HSP70.** *Gómez AV y Andrés ME.* Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La respuesta celular a estrés, conocida como Heat Shock Response (HSR), consiste en la activación rápida y transitoria de los genes *hsp*, los que codifican una familia de chaperonas moleculares que actúan favoreciendo la supervivencia celular. Dentro de este grupo destaca la proteína Hsp70, la que regula su propia transcripción y la del resto de los genes *hsp*, actuando como co-represor de HSF1, el factor responsable de la transcripción de estos genes; sin embargo se desconoce cómo *hsp70* modifica la actividad de HSF1.

En este trabajo demostramos que CoREST, componente del complejo remodelador de cromatina LHC (LSD1-CoREST-HDAC), participa en la regulación de la expresión basal e inducible del gen de *hsp70*. CoREST interactúa con la chaperona y además reprime la actividad de HSF1. La disminución experimental de CoREST, a través de shRNA, generó la pérdida del efecto co-represor de Hsp70, un aumento en la actividad basal e inducible del promotor del gen y un incremento de los niveles basales de la chaperona. Asimismo, demostramos que CoREST y HDAC1 se unen al promotor del gen *hsp70* y que durante el desarrollo de la HSR, CoREST forma un complejo con HSF1 y Hsp70. En resumen, en este trabajo caracterizamos un nuevo mecanismo regulador de la expresión del gen *hsp70*, el cual es mediado por el co-represor transcripcional CoREST.  
Financiamiento: Proyecto FONDECYT N° 1070349 y Núcleo-Milenio N° P06/008-F.

**AMYLOID B-INDUCED NEURONAL DEATH INVOLVES GLIAL AND NEURONAL HEMICHANNELS.** *Juan A. Orellana, Kenji F. Shoji, Verónica Abudara, Pascal Ezan, Edwige Amigou, Jean X. Jiang, Juan C. Sáez and Christian Giaume* Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. INSERM-U840, Collège de France. Departamento de Fisiología, Universidad de la República.

The mechanisms involved in Alzheimer's disease are not completely understood and how glial cells contribute to this neurodegenerative diseases remains to be elucidated. Because inflammatory treatment and products release from activated microglia increase glial hemichannel activity, we investigated whether amyloid- $\beta$  peptide ( $A\beta$ ) could regulate these channels in glial cells and affect neuronal viability. Microglia, astrocytes or neuronal cultures as well as acute hippocampal slices made from GFAP-EGFP transgenic mice were treated with the active fragment of  $A\beta$ . Hemichannel activity was monitored by single channel recordings and by time-lapse ethidium uptake while neuronal death was assessed by Fluoro-Jade C staining. We report that low concentrations of  $A\beta$ 25-35 increased hemichannel activity in all three cell types and microglia was an early step triggered by  $A\beta$ . Finally, neuronal damage occurs by activation of neuronal hemichannels induced by ATP and glutamate released from  $A\beta$ 25-35-activated glia. These responses were observed in the presence of external calcium and were differently inhibited by hemichannel blockers, while the  $A\beta$ 25-35-induced neuronal damage was importantly reduced in acute slices made from Cx43 knock-out mice. Thus,  $A\beta$  leads to a cascade of hemichannel activation where microglia promotes the release of glutamate and ATP through glial (microglia and astrocytes) Cx43 hemichannels that induce neuronal death by triggering hemichannels in neurons. Consequently, this work opens novel avenues for alternative treatments that target glial cells rather than neurons to maintain neuronal survival in the presence of  $A\beta$ .

#### DEGRADACIÓN DEL RECEPTOR DE RYANODINA A TRAVÉS DEL PROTEOSOMA Y LA AUTOFAGIA MEDIADA POR CHAPERONAS.

*Pedrozo Z<sup>1,2</sup>, Torrealba N<sup>2</sup>, Toro B<sup>2</sup>, Sánchez G<sup>1</sup>, Lavandero S<sup>1,2</sup>, Donoso P<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Programa de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Los receptores de Ryanodina (RyR2) tienen un rol crucial en el corazón ya que permiten la liberación de calcio desde el retículo sarcoplasmático para activar la contracción. Cuando el corazón es sometido a isquemia y reperfusión los RyR2 se degradan rápidamente. Estudiamos las vías responsables de esta degradación en cultivos de cardiomiocitos de ratas neonatas sometidas a isquemia y reperfusión simulada (I/Rs) o a incubación con geldanamicina, inductora de la autofagia mediada por chaperonas (CMA). Encontramos que tanto E64d, inhibidor de calpaínas, como clasto-lactacistina- $\beta$ -lactona, inhibidor del proteosoma, previnieron la degradación del RyR2 inducida por si/R. Además, la inhibición del proteosoma impidió la degradación de la calpastatina, el inhibidor fisiológico de las calpaínas. En contraste, la inhibición de la macroautofagia con 3-metil-adenina, produjo una mayor degradación del RyR2, lo cual sugiere que la inhibición de la macroautofagia activa, en compensación, otro sistema de degradación de proteínas. Por otra parte, la incubación con geldanamicina, provocó la degradación del RyR2 lo cual fue prevenido al inhibir la CMA con un siRNA para LAMP-2A o por inhibición de la generación de especies reactivas de oxígeno. Los resultados sugieren que durante la I/R la degradación proteosomal de calpastatina activa las calpaínas, las que fragmentarían el RyR2. El proteosoma sería el encargado de la degradación total del RyR2. Adicionalmente la activación de la CMA también conducirían a la degradación del RyR2, lo cual sería mediado por el aumento de la concentración de especies reactivas de oxígeno.

FONDAP 1501006, CONICYT AT-24080044, Fondecyt 1040717

#### NICOTINE SELF-ADMINISTRATION IN MICE: ANALYSIS OF ANXIETY AND TOLERANCE TO NICOTINE-INDUCED HYPOTHERMIA, AND $\alpha 4\beta 2^*$ , $\alpha 3\beta 4^*$ AND $\alpha 6$ -CONTAINING RECEPTOR DENSITIES. *Cristian A Zambrano, Rakel Salamander, Allan C Collins, Sharon R Grady and Michael J Marks.* Institute for Behavioral Genetics, University of Colorado at Boulder

Chronic nicotine infusion has been well characterized in mice and rats: Tolerance develops to both nicotine-induced hypothermia and locomotor depression. At a biochemical level, the density of receptors (principally the major subtype  $\alpha 4\beta 2^*$ -nACh) are upregulated after chronic nicotine infusion.

We have explored a nicotine self-administration model with C57BL/6J mice allowed a 12-hour (dark cycle of the day when the mice are naturally active) access to I.V. nicotine administration where a single nose poke delivers an infusion of 0.03, 0.06, and 0.12 mg/kg. Mice received approximately 2, 4 and 6 mg/kg/session at 0.03, 0.06 and 0.12 mg/kg/infusion respectively.

Elevated plus maze was used as an anxiety test after 7 days of treatment. Time spent in open arms, total entries to open and close arms were observed. This measure of anxiety is useful to further correlate with levels of anxiety in a nicotine withdrawal experiment.

Tolerance to 1 mg/kg nicotine-induced hypothermia was determined also after 7 days of treatment. Some partial tolerance was detected for the 0.12 mg/kg/infusion dose.

Cytisine-resistant, cytosine-sensitive and  $\alpha$ -Conotoxin MII-sensitive [<sup>125</sup>I]epibatidine binding was determined in 14 brain regions after 7 days of nicotine self-administration. There is upregulation of  $\alpha 4\beta 2^*$  receptors in some brain regions. The most representative are Cerebral Cortex and Hippocampus.

These experiments are intended to be use for the characterization of a model of nicotine administration relevant to the schedule used by smokers, and should prove to be a valuable method to test potential drugs for a smoking cessation therapy and to evaluate the role of nicotine receptor subtypes in regulating voluntary nicotine intake.

NIDA Grants: DA003194, DA012242, DA015663.

## PRESENTACIONES ORALES

### 01. INSULIN-INCREASED L-ARGININE TRANSPORT IS MODULATED BY ADENOSINE IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS.

Guzmán-Gutiérrez E, Leiva A, Salomón C, Westermeier F, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

Insulin induces vasodilatation in humans, and increases L-arginine transport and nitric oxide (NO) synthesis in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). Recent studies suggest that the vasodilator adenosine increases insulin sensitivity in humans and experimental animals. Biological effects of adenosine are mediated by the adenosine receptor isoforms A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> and A<sub>3</sub>. Since these adenosine receptors are expressed in HUVEC, any of them may be involved in a potential modulation of insulin action by adenosine in this cell type. Our aim was to evaluate whether adenosine modulates insulin-stimulation of L-arginine transport in HUVEC. **Methods.** L-Arginine uptake (300 μM, 3 μCi/ml, 37°C, 1 minute) was measured in HUVEC monolayers (passage 2) preincubated (8 hours) with insulin (1 nM) in absence or presence of the adenosine receptors agonist 5'-N-ethyl-carboxamidoadenosine (NECA, 0-1000 nM), the A<sub>2A</sub> adenosine receptor specific antagonist 4-(2-[7-amino-2-[2-furyl]-[1,2,4]triazolo[2,3-a][1,3,5]triazin-5-yl-amino]ethyl)phenol (ZM-241385, 10 nM). **Results.** Insulin-stimulation of L-arginine uptake (1.9 ± 0.2 fold) was increased (1.8 ± 0.2 fold) ( $P < 0.05$ , ANOVA two ways, n=3-8) by NECA ( $IC_{50} = 9.3 \pm 0.9$  nM). When NECA was used between 1-30 nM in absence of insulin, L-arginine uptake was increased (3.1 ± 0.2 fold). However, NECA effect was lost when higher concentrations were used in presence ( $IC_{50} = 66 \pm 5$  nM) or absence ( $IC_{50} = 30 \pm 1$  nM) of insulin. ZM-241385 blocked insulin and NECA effects on uptake. **Conclusion.** Adenosine increases insulin-modulation of L-arginine uptake involving activation of A<sub>2A</sub> adenosine receptors in HUVEC.

Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24100210, FONDECYT 1070865 & 1080534 (Chile). E Guzmán-Gutiérrez and F Westermeier hold CONICYT-PhD

### 02. PAPEL DEL RESIDUO DE CISTEÍNA C-1093 DE TRPM4 EN LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR ESTRÉS OXIDATIVO.

Riveros, A.; \*Wood, M.; Pérez, H. y Stutzin, A. ICBM & CEMC, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. \*Departamento de Toxicología Medioambiental de la Universidad de Davis, California, USA.

TRPM4 es un canal catiónico no selectivo permeable a cationes monovalentes, activado por Ca<sup>2+</sup> intracelular e inhibido por ATP. Recientemente se demostró que la actividad de este canal puede ser modulada por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a concentraciones micromolares, lo que predispone a las células HeLa y HEK a la muerte celular necrótica. Postulamos que este fenómeno se debería, en parte, a la modificación de residuos de cisteína en la proteína del canal. En este trabajo, reemplazamos las cisteínas C-1093, C-1011 y C-993 del canal por alanina mediante mutación sitio-dirigida generando distintas mutantes de TRPM4. Para estudiar el efecto de peróxido de hidrógeno, células HEK fueron transfectadas con TRPM4 nativo, TRPM4 C1093A, TRPM4 C1011A y TRPM4 C993A. Las células que expresaban el TRPM4 C1093A fueron más resistentes a la muerte inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que las portadoras del canal nativo y las otras mutantes. Por otra parte, experimentos de Western blot señalan que la sustitución C1093A influye en la formación de un complejo proteico, que podría relacionarse con la modulación de la actividad del canal por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Estos datos sugieren que el tono oxidativo podría determinar el modo de operación del TRPM4, lo que podría explicar en parte, el aumento de la susceptibilidad a la muerte celular necrótica.

PROYECTO FONDAP 15010006, Beca de Doctorado otorgada por CONICYT, Beca de pasantía en el extranjero otorgada por MECESUP.

### 03. MUERTE NEURONAL INDUCIDA POR LIPOPOLISACÁRIDO MEDIADA POR NAD(P)H OXIDASA Y PKC: POSIBLE PARTICIPACIÓN DEL CANAL TRPM7.

Echeverría C, Becerra A, Núñez-Villena F, Sarmiento D, Simon F. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas & Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello.

Desde hace varios años se ha demostrado que el lipopolisacárido (LPS) produce muerte neuronal. Sin embargo, el mecanismo mediante el cual este proceso se lleva a cabo es desconocido. Además, TRPM7 (*transient receptor protein melastatine-7*) es un canal permeable a Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>, el cual está fuertemente relacionado con muerte neuronal. Tomando en cuenta esto, nosotros investigamos el mecanismo de muerte neuronal inducida por LPS y exploramos la posible participación de TRPM7 en este proceso. **Resultados:** LPS produce muerte de células PC12 diferenciadas (PC12), además de un aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelular. Usando el agente reductor DTT, se inhibió la muerte neuronal inducida por LPS, mientras que la exposición de PC12 a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en ausencia de LPS mostró una muerte celular dependiente de la dosis. Estos datos sugieren que los ROS generados por el LPS podrían ser los responsables de la muerte neuronal. PC12 expuestas a LPS en presencia de: un inhibidor de la NADPH oxidasa, DPI; un inhibidor genérico de PKC, Chelerritrina; un inhibidor genérico de PI3-K, Ly294002 y un inhibidor genérico de PLC, U73122, inhibieron la muerte neuronal inducida por LPS. PC12 expuestas a LPS en presencia de Gd<sup>3+</sup> y Zn<sup>2+</sup>, ambos inhibidores de TRPM7, inhibieron la muerte neuronal inducida por LPS. Adicionalmente, PC12 expuestas a LPS mostraron un aumento de Ca<sup>2+</sup> intracelular, concordante con la actividad de TRPM7. **Conclusión:** Estos resultados muestran que la muerte neuronal inducida por LPS involucra la generación de ROS por la NAD(P)H oxidasa, además de la participación de PKC, PI3-K y PLC. Nuestros resultados sugieren que TRPM7 posee un papel importante en este proceso.

Financiamiento: Fondecyt 11080119 (FS), UNAB-DI-40-09/R (FS).

### 04. EL NEUROPEPTIDO CART INCREMENTA LOS NIVELES EXTRACELULARES DE DOPAMINA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS.

Blanco E, Araya K, Gysling K. Núcleo Científico Milenio "Estrés y Adicción". Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El neuropéptido CART está involucrado en la gratificación y el reforzamiento gatillado por cocaína. CART se expresa abundantemente en el núcleo accumbens (NAcc). La administración de CART intra-NAcc bloquea el efecto gratificante de cocaína. Sin embargo, los mecanismos que subyacen a este efecto "antagónico" de CART sobre la acción de cocaína son desconocidos. Como cocaína afecta al sistema dopaminérgico, pensamos que CART estaría modulando los niveles extracelulares de dopamina (DA). Por lo tanto, determinamos el efecto de CART sobre los niveles extracelulares de DA en el NAcc usando microdiálisis en ratas. La perfusión inversa de 10 μM del neuropéptido CART produce un significativo incremento de los niveles de DA extracelular en el NAcc. Por su parte, la perfusión inversa de 1 μM del neuropéptido CART fue incapaz de alterar los niveles de DA. Ambas concentraciones del neuropéptido CART no alteran los niveles extracelulares de glutamato. Además, a través de ensayos de secreción *ex vivo* con cortes provenientes de NAcc de rata y cuantificación del CART por RIA determinamos que CART es secretado en el NAcc. Un estímulo despolarizante con KCl 55mM incrementa significativamente los niveles extracelulares de CART en los cortes provenientes del NAcc. Estos hallazgos muestran que el neuropéptido CART se secreta en el NAcc como un neurotransmisor, y gatilla un incremento del neurotransmisor DA en el mismo núcleo. El efecto del neuropéptido CART sobre DA en el NAcc y su efecto inhibitorio sobre la gratificación gatillada por los psicoestimulantes, plantea nuevas interrogantes sobre el efecto de CART en el cerebro.

Financiado por ICM N° 006/08-F y FONDECYT 1070340.

### 05. INSULIN SIGNALLING PATHWAYS INVOLVED IN MODULATION OF HENT1-MEDIATED ADENOSINE TRANSPORT IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIUM FROM GESTATIONAL DIABETES.

Westermeier F, Salomón C, Guzmán-Gutiérrez E, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory & Perinatology Research Laboratory, Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Gestational diabetes (GD) is associated with reduced human equilibrative nucleoside transporters 1 (hENT1) activity and expression in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). We studied insulin effect on GD-alterations of hENT1 activity in HUVEC. HUVEC from normal (OGTT = 88-114 mg/dl D-glucose, 2 hours) or GD pregnancies (OGTT = 142-239 mg/dl D-glucose, 2 hours) were used for experiments. hENT1-adenosine uptake (10  $\mu$ M adenosine, 4  $\mu$ Ci/ml, 22°C, 20 seconds), hENT1 protein abundance (western blot) and mRNA expression (q-PCR), *SLC29A1* (hENT1) transcriptional promoter activity (*firefly/renilla* luciferase, pGL3-hENT1<sup>-3198</sup> and pGL3-hENT1<sup>-1670</sup> constructs), and IR-A and IR-B mRNA expression (q-PCR) were determined in absence or presence of N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 100  $\mu$ M). Total (p42/44<sup>mapk</sup>, Akt, eNOS) and phosphorylated (P~p42/44<sup>mapk</sup>, P~Akt, P~eNOS) forms were also assayed. Insulin blocked ( $P < 0.05$ , ANOVA two ways, n=3-6) GD-associated reduce hENT1-adenosine transport ( $SC_{50} = 0.41 \pm 0.05$  nM), protein abundance ( $SC_{50} = 0.18 \pm 0.02$  nM) and mRNA expression ( $SC_{50} = 0.23 \pm 0.04$  nM), an effect potentiated by L-NAME. Insulin induced comparable phosphorylation of insulin receptor  $\beta$ -subunit in cells from normal [half-maximal time ( $T_{50}$ ) = 7  $\pm$  2 minutes] and GD ( $T_{50} = 6 \pm 2$  minutes) pregnancies. Basal pGL3-hENT1<sup>-3198</sup> activity was reduced (~30%), but pGL3-hENT1<sup>-1670</sup> was elevated (~1.3-fold) in GD. Insulin blocked GD effect only on pGL3-hENT1<sup>-3198</sup>. Basal IR-A mRNA expression was higher (~1.4-fold), but IR-B mRNA expression was unaltered by GD, effect blocked by insulin. Cells from GD pregnancies exhibit higher basal P~p42/44<sup>mapk</sup>/p42/44<sup>mapk</sup>, P~Akt/Akt and P~eNOS/eNOS ratios (~3.2, ~1.5, ~2-fold, respectively) compared with normal pregnancies in absence of insulin. Insulin-reversed GD-induced decrease of hENT1-mediated adenosine transport potentially involving IR-A isoform and via differential activation of insulin signalling pathways in HUVEC. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24100210, and FONDECYT 1070865 & 1080534 (Chile). E Guzmán-Gutiérrez and F Westermeier hold CONICYT-PhD (Chile) fellowships. C Salomón holds a Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile-PhD fellowship.

### 06. ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE ADENOSINA FAVORECE LA ADHESIÓN Y MOVILIZACIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO HUMANO.

Fernández P, Guzmán E, Aguilera V, Díaz F, Caviedes L, Lamperti L, Aguayo C. Dpto. de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

Las células progenitoras de endotelio (hEPC) y adenosina participan en procesos de reparación frente a hipoxia e isquemia, estimulando la angiogénesis y vasculogénesis en el sitio de la lesión. Sin embargo, no existen estudios que relacionen la presencia de adenosina y procesos de movilización y angiogénesis de hEPC. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto de adenosina sobre la movilización y migración de hEPC. Las hEPC fueron obtenidas de sangre periférica de donantes sanos, separadas con Histopaque1170 y cultivadas por 3 días. Los estudios de movilización se realizaron en transwells (8  $\mu$ m) en presencia de adenosina (0,1 – 10  $\mu$ M), NECA (5'-N-Etilcarboxamida adenosina, 0,005-1,0  $\mu$ M) e inhibidores específico de receptores de adenosina. Los estudios de vasculogénesis fueron realizados utilizando matriz gel *in vitro*. Adenosina y NECA aumenta la adhesión (200%) y movilización (60%) de las hEPC. El efecto de NECA es significativamente bloqueado solo por ZM 231384 (antagonista de receptores A<sub>2A</sub>). Adenosina, no induce la formación de estructuras tipo capilares *in vitro* en hEPC. La subpoblación de células movilizadas por adenosina corresponde preferentemente al subtipo CD34<sup>+</sup> y KDR<sup>+</sup>. Estos resultados permiten sugerir que adenosina podría estar involucrada en la migración, adhesión y movilización de las hEPC, mediado por la activación de receptores de adenosina.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT de Iniciación 11070035, DIUC-UDEC 205.072.032-1.0, 205.072.031-1.0

### 07. UNSATURATED FATTY ACIDS REDUCE CX46 HEMICHANNEL BUT NOT GAP-JUNCTION CHANNEL CURRENTS ON XENOPUS LAEVIS OOCYTES.

Retamal MA<sup>1,2</sup>, Evangelista-Martínez F<sup>1</sup>, León CG<sup>1</sup>, Altenberg GA<sup>2</sup>, Reuss L<sup>2,1</sup> Laboratorio de Fisiología-Electrofisiología, Facultad de Medicina, Clínica Alemana - Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. <sup>2</sup> Department of Cell Physiology and Molecular Biophysics and Center for Membrane Protein Research, Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock, Texas, USA.

Connexins (Cx) form ion channels at the undocked plasma membrane (hemichannels) and at the intercellular contacting zone (gap junction channels, GJC). Hemichannels communicate intra and extracellular spaces, whereas GJC communicate cytoplasm of adjacent cells. Under physiological conditions the hemichannels are mainly close. However, under pathological conditions hemichannels may open frequently, inducing and/or accelerating cell death. Certain Cx46 mutations accelerate cataract formation. However, little is known about the relationship between Cx46 post-translational modifications and cataract formation. Increases in unsaturated fatty acid concentrations in the lens induce or accelerate cataract development. Thus, we postulated that unsaturated fatty acids modify Cx46 hemichannels and/or GJC properties inducing cell damage. Here we report the effects of unsaturated fatty acids on the electrical properties of wild-type and mutant Cx46 hemichannels and GJC expressed in *Xenopus laevis* oocytes. Our results show that linoleic acid (LA) has a biphasic effect: current increase at 0.1  $\mu$ M and decrease at 100  $\mu$ M or higher LA concentration. The effect does not involve PKC- or Ca<sup>2+</sup>-activated pathways. The Cx46 C-terminus is not required for the LA effect, but changes the dose-response relationship. Other unsaturated fatty acids had a similar effect, which was directly correlated with the number of double bonds present in each molecule, being the double bound at the carbon in position 9 essential for the inhibition. Unexpectedly, LA did not affect Cx46 gap-junction currents. Our data support the idea that LA binds to Cx46 in a region located in the intracellular half of the plasma membrane and/or inside the channel-pore. Supported by: grant Fondecyt de Iniciación 11080061 to Dr. Mauricio A Retamal

### 08. LA EXTRACCIÓN PARCIAL DE COLESTEROL DE LAS FIBRAS MUSCULARES MODIFICA SU ACTIVIDAD ELÉCTRICA. Barrientos G., Llanos P., Hidalgo J. y C. Hidalgo. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Está ampliamente demostrado que el colesterol regula la función de varias proteínas de membrana, incluyendo canales iónicos y receptores. La membrana plasmática de la fibra muscular esquelética, y particularmente sus invaginaciones denominadas túbulos transversales (TT), posee un alto contenido de colesterol. Nuestro objetivo fue evaluar si la remoción parcial de colesterol con metil- $\beta$ -ciclodextrina (M $\beta$ CD) modifica la actividad eléctrica en fibras musculares aisladas del músculo Flexor digitor brevis de ratón. El tratamiento con M $\beta$ CD (7.6 mM) por 20 minutos disminuyó en un 21  $\pm$  9 % el contenido de colesterol de las fibras musculares con respecto a las fibras control, evaluado mediante un ensayo colorimétrico. Esta extracción parcial de colesterol produjo una significativa despolarización de la membrana y eliminó los potenciales de acción. Sin embargo, una concentración 10 veces menor de M $\beta$ CD (0,76 mM), que no cambió apreciablemente el contenido de colesterol, produjo un aumento en la excitabilidad de la membrana, que mantuvo la capacidad de generar potenciales de acción sin alteraciones evidentes del potencial de reposo. La incubación con  $\alpha$ -ciclodextrina (7.6 y 0.76 mM), una ciclodextrina que no remueve colesterol, no produjeron cambios en la actividad eléctrica de las fibras. Nuestros datos sugieren que la disminución de colesterol, principalmente desde los TT, altera la actividad eléctrica de la fibra muscular probablemente al modificar la actividad de canales iónicos de la membrana plasmática que intervienen en la excitabilidad celular.

(FONDAP/CEMC 15010006)

## PANELES

### **P1. EFECTO DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE bFGF SOBRE LA PROGRESIÓN DEL DAÑO EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.**

Contreras F<sup>1</sup>, Vergara C<sup>1</sup>, Tapia A<sup>1</sup>, Céspedes<sup>2</sup>, Carreño JE<sup>1</sup>, Irarrazabal C<sup>1</sup>, Vio CP<sup>2</sup>, Villanueva S<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration (CARE), Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

La insuficiencia renal crónica (IRC) implica la pérdida progresiva e irreversible de la función renal. Actuales tratamientos para la IRC disminuyen la proteinuria, pero no la progresión de la enfermedad. Se ha reportado que el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), induce proteínas reparadoras que aceleran la regeneración en daño renal agudo. Postulamos que en IRC, bFGF induce factores reparadores nefro/angiogénicos por las células tubulares del riñón, otorgando un efecto paliativo.

Ratas Macho Sprague Dowley sometidas a nefrectomía 5/6, fueron tratadas con bFGF (30µg/100g) al inicio del daño renal; un grupo control fue tratado con suero fisiológico. Los animales se sacrificaron cinco semanas post nefrectomía. Se analizó la función renal mediante creatinemia, el daño morfológico mediante la presencia de macrófagos (ED-1) y miofibroblastos (α-SMA), y la reparación renal mediante la inducción de proteínas nefro/angiogénicas determinadas por inmunohistoquímica y western blot. Los resultados muestran que los animales tratados con bFGF presentan una disminución de la creatinemia y los marcadores de daño ED-1 y α-SMA (p<0.05). Adicionalmente se observa en este grupo una mantenida expresión de las proteínas nefro/angiogénicas, correlacionando su inducción con la disminución del daño. Estos resultados sugieren bFGF podría aumentar la capacidad regenerativa para responder al daño renal crónico (Fondecyt 11075029, 1080590 y PFB 12-2007.).

### **P2. ANGIOTENSINA II MODULA LOS NIVELES DE β-CATENINA EN EL RIÑÓN.**

Cuevas CA<sup>1</sup>, Inestrosa NC<sup>2</sup>, Vio CP<sup>1</sup>. Departamento de Fisiología<sup>1</sup>, Departamento Biología Celular y Molecular<sup>2</sup>, Center for Aging and Regeneration CARE<sup>1,2</sup>, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Angiotensina II (Ang II) se encuentra involucrada en la patogénesis de la fibrosis renal tubulointersticial, a través de distintas vías de señalización. Sus efectos parecen estar mediados por su acción sobre el receptor AT1. Por otro lado, evidencia reciente sugiere que la vía de señalización Wnt/β-catenina estaría involucrada en la fibrosis renal. Con la hipótesis que el efecto profibrótico renal de Ang II es mediado por la vía de señalización Wnt, el objetivo de este trabajo fue estudiar si Ang II modula los niveles de β-catenina en el riñón y si este efecto es mediado por el receptor de Ang II AT1. Para ello, células MDCK fueron tratadas con dosis crecientes de Ang II (10<sup>-12</sup>–10<sup>-9</sup> M) y un antagonista del receptor AT1 (losartan 10<sup>-7</sup> M) y se midieron los niveles de β-catenina citosólica y genes blanco por western blot, observándose un aumento en los niveles de β-catenina citosólica y de los genes blancos, mientras que este efecto es atenuado por losartan. Usando inmunohistoquímica en un protocolo de infusión de Angiotensina II y losartan en ratas se observó localización de β-catenina en el nefrón distal. Estos resultados sugieren que Angiotensina II podría mediar sus efectos a través de la estimulación de la vía de señalización Wnt/β-catenina y que esta acción sería mediada por el receptor AT1.

Financiado por Fondecyt 1080590 y PFB 12-2007

### **P3. EFECTO DE TGF-β Y ANGIOTENSINA II SOBRE LA TRANSDIFERENCIACION EPITELIO-MESÉNQUIMA.**

Leguina A<sup>1</sup>, Vio CP<sup>1,2</sup>, Velarde V<sup>1,2</sup>. 1. Departamento de Fisiología, 2.Center for Aging and Regeneration, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Angiotensina II (AII) es un péptido que produce fibrosis renal y que estimula la producción de TGF-β1. La transdiferenciación epitelio-mesénquima (EMT) es fundamental en la progresión de la fibrosis renal. En este proceso, las células adquieren un fenotipo mesenquimal y capacidades migratorias. Este proceso reversible, observado en células del túbulo proximal, está finamente controlado por señales como el TGF-β1 el cual puede iniciar y mantener el proceso de transdiferenciación. Con la hipótesis que Angiotensina II era capaz de inducir EMT en células del asa ascendente gruesa de Henle (TAL) y tomando ventaja de la reciente descripción de la primera línea celular de TAL (raTAL), desarrollada por nuestro grupo, las células se incubaron con TGF-β1 o con AII y se analizó morfología, viabilidad celular, producción de óxido nítrico (NO), y niveles de proteínas marcadoras de EMT como Colageno III, E-Cadherina y Vimentina. Nuestros resultados muestran que TGF-β1 aumenta la viabilidad celular, reduce la producción de óxido nítrico, altera la morfología celular y altera los niveles de las proteínas anteriormente nombradas. AII disminuye la viabilidad celular, reduce los niveles de NO junto con cambiar la morfología celular y los niveles de proteínas marcadoras. El antagonista del receptor AT1, Losartan y Angiotensina1-7, moléculas con propiedades anti-fibróticas, utilizadas en concentraciones altas (50 µM) no contrarrestaron los efectos de TGF-β1 ni de AII bajo las condiciones utilizadas. Nuestros resultados sugieren que TGF-β1 y AII son potentes factores inductores de transdiferenciación y que es necesario evaluar los efectos de Losartan y Angiotensina1-7 en una curva de concentraciones.

Agradecimientos: Dr. Nick Ferreri. Financiamiento: FONDECYT 1080590 y PFB 12-2007.

### **P4. EXPRESIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN QUE RESPONDE A TONICIDAD, TONEBP, EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMACIÓN COLÓNICA EN RATAS. Quiroz M, Inostraza C, Suazo C, Carrasco G, Villanueva S, Correa I, Irarrazabal CE. Facultad de Medicina Universidad de los Andes.**

La inflamación es un proceso biológico de gran importancia. Las enfermedades inflamatorias crónicas del tubo digestivo han aumentado su incidencia. Estas se desarrollan en individuos genéticamente susceptibles en presencia de la flora. Recientemente se ha establecido la relación entre inflamación y tonicidad. TonEBP es el principal factor asociado a la respuesta a la tonicidad. En este trabajo, utilizando un modelo experimental en ratas de colitis inducida por ácido pícrico (AP), se estudió la relación entre la inflamación y TonEBP mediante histología y PCR en tiempo real en colon y mononucleares de sangre periférica (MSP). Se utilizaron como controles animales tratados con suero fisiológico (SF) y etanol (E). Los animales tratados con AP presentan un score histológico de inflamación mayor que los controles (AP: 14 v/s SF: 4, p <0.05) y una elevación significativa de los niveles de mRNA de IL-1β (AP:106 v/s SF:1, p <0.05) e IL-17 (AP:736.311 v/s SF:1, p <0.05) en tejido colónico. Los niveles de expresión de TonEBP están significativamente elevados en el colon (AP:162.045 v/s SF:1, p <0.05) y en los MSP (AP:36.969.140 v/s SF:1, p <0.05) con respecto a los controles. Los animales tratados con E no presentaron diferencias con SF. Estos resultados demuestran por primera vez que TonEBP es inducido por la inflamación producida por AP, lo que sugiere un papel del este factor en la colitis. (FONDECYT: 1100885).

#### P5. ROL ANTIFIBRÓTICO DE ANGIOTENSINA-(1-7) EN RATAS CON OBSTRUCCIÓN URETERAL UNILATERAL.

Rivera JC<sup>1</sup>, Céspedes C<sup>1</sup>, Erpel JM<sup>1</sup>, Santos RAS<sup>2</sup>, Vio CP<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration CARE, PUC. Santiago, Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología y Biofísica, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología en Nanobiofarmacéutica Nano-Biofar, Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)] es un péptido derivado de angiotensina II (Ang II) por ECA2. Se ha propuesto que Ang-(1-7) y Ang II tienen efectos opuestos. Con la hipótesis que el efecto profibrótico de Ang II es contrarrestado por Ang-(1-7), en este trabajo evaluó el efecto renoprotector de Ang-(1-7) en ratas con obstrucción ureteral unilateral (UUO) como modelo de daño renal dependiente de Ang II. Ratas Sprague Dawley (n=5 por grupo) recibieron: Ang-(1-7), Ang-(1-7) + A-779 (antagonista del receptor Mas), o A-779, con bombas osmóticas 14 horas previo a la UUO. Se incluyó un grupo sin tratamiento y uno Control normal. Se evaluó la función renal: presión arterial (PA), creatinemia; análisis histológico: infiltración de macrófagos (ED-1) y osteopontina (OPN) en corteza y médula renal. No hay diferencias de PA y creatinemia entre los grupos (p=NS). La presencia de macrófagos en corteza y médula aumentó en UUO respecto al Control normal  $31,73 \pm 10,07$  v/s  $8,92 \pm 2,41$  cél/mm<sup>2</sup>, (P<0,05), el tratamiento con Ang-(1-7) disminuyó significativamente los macrófagos comparado con UUO  $9,16 \pm 4,24$  v/s  $31,73 \pm 10,07$  cél/mm<sup>2</sup>, (P<0,05) efecto revertido por A-779,  $20,85 \pm 10,74$  cél/mm<sup>2</sup>, (P<0,05). Algo similar ocurrió con la expresión tubular de OPN; aumentó en la UUO comparado con controles normales, disminuyó con Ang-(1-7) comparado con UUO, y este efecto se revirtió por A-779. Los resultados muestran que en la UUO el pretratamiento con Ang-(1-7) disminuye la expresión de OPN e infiltración de macrófagos, efectos mediados por el receptor Mas, y apoyan la hipótesis del efecto antifibrótico de Ang-(1-7) en el riñón. Fondecyt 1080590, PFB 12-2007.

#### P6. ALTERACIONES EN EL BLOQUEO POR SODIO DE CANALES DE POTASIO DE MEMBRANA APICAL DE SINCICIOTROFOBLASTO DE PLACENTAS NORMALES Y PATOLÓGICAS: TASK-2, POSIBLE CANDIDATO RESPONSABLE DE ESTAS CORRIENTES.

De Gregorio, N. y Riquelme, G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El sinciciotrofoblasto placentario humano (hSTB) constituye la principal barrera para el intercambio materno-fetal. Todo soluto para ser transportado a través de este epitelio debe atravesar su membrana apical y su membrana basal (BM). La membrana apical está constituida por dos subdominios: membrana apical pesada (MVM) y liviana (LMVM). Los canales de potasio (K<sup>+</sup>) en el hSTB, son responsables de diversas funciones celulares. En particular, el canal de K<sup>+</sup>, TASK-2, mantiene el potencial de membrana en reposo y se caracteriza por mostrar sensibilidad a la acidificación del medio y al bloqueo por Na<sup>+</sup>. Recientemente, se ha demostrado la presencia de corrientes de K<sup>+</sup> sensibles a ambas condiciones en LMVM purificada de Placentas Normales (PN), sugiriendo la presencia de TASK-2 en esta membrana. El objetivo del presente trabajo fue estudiar estas corrientes en LMVM provenientes de dos patologías gestacionales: Preeclampsia (PE) y Restricción de Crecimiento Intrauterino (RCIU). Las corrientes se registraron mediante la técnica de Patch-Clamp en liposomas gigantes reconstituidos con LMVM purificadas. De manera general, se observa que la sensibilidad a bloqueadores clásicos de canales de K<sup>+</sup> está alterada en ambas condiciones patológicas, aumentando la probabilidad de encontrar corrientes de potasio insensibles a Bario y TEA. Particularmente, la curva dosis-respuesta para el bloqueo con Na<sup>+</sup> es similar para PN y PE (Kd<sub>50</sub>=0.3) en contraste con RCIU, donde el Kd es cuatro veces superior (Kd<sub>50</sub>=1.09). Esta evidencia sugiere que si el canal responsable de las corrientes bloqueables por Na<sup>+</sup> es TASK-2, éste tendría un comportamiento alterado en RCIU. Estudios posteriores debiesen conducir a identificar estructural y funcionalmente TASK-2 en membranas de placenta. FONDECYT 1070695.

#### P7. LA ACTIVIDAD CILIAR BASAL DEPENDE DE LA LIBERACIÓN CONSTITUTIVA DE ATP A TRAVÉS DE HEMICANALES EN EL EPITELIO RESPIRATORIO.

K. Droguett\*, K. Zhao<sup>+</sup>, NA. Cohen<sup>+</sup>, M. Villalón\*. \*Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>+</sup>Laboratorio de Rinología, Departamento de Otorrinolaringología, Universidad de Pensilvania, Filadelfia, EEUU.

Adenosin trifosfato (ATP) es un conocido activador de la frecuencia de batido ciliar (FBC). Además ATP es liberado constitutivamente al medio extracelular, sin embargo se desconoce su mecanismo de liberación y su posible participación en el control de la FBC basal en el epitelio respiratorio. **Objetivo:** Determinar la participación de hemicanales en la liberación constitutiva de ATP y su contribución al mecanismo de control de la FBC basal. **Métodos:** En cultivos primarios de interfase líquido/aire de epitelio senonasal humano (HSNE) y de epitelio septal, etmoideo y traqueal de ratones (MSE, MEE, MTE respectivamente), se registró y analizó la FBC mediante videomicroscopía. Además se midieron los niveles de ATP extracelular con el ensayo luciferina/luciferasa. **Resultados:** Una estimulación mecánica de aire comprimido (30 psi, 50 mseg), sobre cultivos en reposo, incrementaron significativamente la FBC basal, efecto que se correlacionó temporalmente con cambios en las concentraciones basales de ATP en los distintos tipos de cultivos utilizados. Carbenoxolona (200 μM), un bloqueador de hemicanales, redujo la FBC basal en un 51% en cultivos MSE. En cultivos HSNE, carbenoxolona no modificó la FBC, sin embargo, en conjunto con ATP oxidado (100 μM), un bloqueador de receptores P2X, redujo en un 29% la FBC basal. Además carbenoxolona (200 μM) redujo los niveles de ATP en un 88% en MSE (n=3) y en un 85% en HSNE (n=5), lo cual sugiere que ATP es liberado a través de hemicanales y que contribuye al mecanismo de control de la FBC basal en el epitelio respiratorio. Fondecyt 1080679 y Becas Chile.

#### P8. EXPRESSION OF EQUILIBRATIVE AND CONCENTRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTERS IN DIFFERENT HISTOLOGIC SUBTYPES OF PRIMARY EPITHELIAL OVARIAN TUMORS. Aylwin MP<sup>1</sup>, Brañes J<sup>1</sup>, Ziegler AM<sup>2</sup>, Pastor-Anglada M<sup>3</sup>, Sobrevia L<sup>1</sup>, Casanello P<sup>1</sup>. <sup>1</sup>PRL& CMPL Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Marcoleta 391, Santiago. <sup>2</sup>Center for Human Genetics, Faculty of Medicine, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Department of Biochemistry, Universitat de Barcelona, Spain.

Ovarian cancer is a gynecological disease and is the ninth cause of death by cancer in Chilean women. For its treatment, nucleoside-analog drugs such as gemcitabine have been extensively used, often when there is resistance to platinum-based chemotherapy. Nucleoside equilibrative (hENT) and concentrative (hCNT) transporters play a key role in the uptake and metabolism of these drugs. The expression of these transporters varies in ovarian tumor tissue compared to normal, as well as in the different histological types of ovarian cancer. We studied the differential expression of hENT1, hENT2 and hCNT1 in samples from patients diagnosed with ovarian cancer with different histotypes. **Methods:** Ovarian tumor samples from 10 paclitaxel/carboplatin-treated and non-treated patients, with pre-surgical diagnosis of ovarian tumor, were characterized by immunohistochemistry into the different ovarian cancer histotypes. The mRNA level of hENT1, hENT2 and hCNT1 was determined in the tumor samples as well as in human ovarian cancer cell lines (SKOV-3, OVCAR-3 and OVCAR-420) by semiquantitative RT-PCR. **Results:** Malignant ovarian tumor tissues, as well as the cancer cell lines tested, showed higher expression of hENT1 compared with benign cyst sample (~1.4-fold) and to normal fallopian oviductal tissue (~2.7-fold). This result correlates with the resistance to treatment with paclitaxel. hCNT1 expression was downregulated in ~20% of the malignant serous histological subtypes studied. **Conclusions:** These results agree with previous evidences in human ovarian cancer, showing a decrease in hCNT1, and increase at hENT1 expression, mainly in the serous subtypes in comparison to non-malignant tissues. Since lower expression of NT correlates with poor prognosis ovarian cancer histotypes, the latter must be considered at the moment of defining the most appropriate treatment for each patient. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA), FONDECYT 1080534 & 1070865 (Chile), and AECID A/024549/09 (Spain).

**P9. LA ACTIVIDAD DE CD73 MEDIA LA SOBREPRESIÓN DE MRP1 EN GLIOBLASTOMA MULTIFORME.** Garrido, W., Salinas, J., Quezada, C., San Martín, R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El Glioblastoma Multiforme (GBM) es un tumor cerebral con una alta tasa de proliferación siendo la supervivencia de los pacientes dramáticamente baja. En GBM se ha identificado al transportador multiple-drug resistance protein 1 (Mrp1) como una proteína fundamental que otorga resistencia a la quimioterapia, sin embargo se desconoce cuáles mecanismos contribuyen a regular su expresión o actividad. Se sabe que el nucleósido adenosina aumenta su biodisponibilidad en respuesta al ambiente de hipoxia favoreciendo la neovascularización y crecimiento tumoral. La actividad de la ecto-5'-nucleotidasa (CD73) es esencial para la producción de adenosina mediante la hidrólisis de AMP. El objetivo de este estudio fue determinar el papel de CD73 sobre la mantención del fenotipo de resistencia a drogas en GBM. Resultados. En cortes histológicos de GBM humano se detectó una marcada expresión de CD73 que colocaliza con Mrp1 y marcadores de proliferación celular. El inhibidor de la actividad de CD73, AOPCP (50µM), disminuyó en un 50% la tasa de proliferación de la línea celular T98G y el cultivo primario de GBM. La viabilidad celular no fue afectada por este tratamiento. La exposición de las células tumorales a AOPCP redujo los niveles de transcritos del gen *ABCC1* y la proteína Mrp1. Además, el inhibidor AOPCP disminuyó la actividad de expulsión de un sustrato fluorescente de Mrp1 en estas células. Conclusiones. La inhibición de CD73 podría ser útil para disminuir el crecimiento tumoral y revertir la resistencia a la quimioterapia del GBM.

Financiamiento Fondecyt 1100484 y 11080226.

**P10. CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA VARIANTE DEL TRANSPORTADOR FACILITATIVO DE HEXOSAS GLUT11.** Morales C. 1, Villagrán V.3, Ibáñez S.1, Faúndez V.2, Vera JC3, Rivas C13 y Mardones L1. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas y Morfología, Facultad de Medicina. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Biotecnología en Acuicultura. Facultad de Ingeniería; Universidad Católica de la Santísima Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Antioxidantes. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción

La incorporación de glucosa a la célula es mediada por los cotransportadores sodio-glucosa (SGLT1 y 2) y por los transportadores facilitativos de hexosas (GLUT1-14). Se han descrito tres variantes funcionales de GLUT11 (A, B y C). Se clonó una nueva variante desde células endoteliales de barrera hematoencefálica HBMEC, que denominamos GLUT11Ce9d, ya que carece del exón nueve. Este exón codifica para 34 aminoácidos, localizados en el cuarto lazo intracelular y en el dominio transmembrana IX.

Se analizó la expresión de GLUT11Ce9d en distintas líneas celulares mediante RT-PCR y se estudió su localización subcelular y sus características funcionales mediante su sobre-expresión en células HEK-293, en fusión con GFP.

La variante GLUT11Ce9d se encontró expresada en células de endotelio umbilical humano (HUVEC), células de cáncer de mama (ZR-75 y MCF-7), de próstata (LnCap) y de colon (CaCo-2). Los estudios de sobre-expresión revelan que este transportador se localiza principalmente a nivel intracelular, colocalizando PARCIALMENTE CON RETÍCULO. MIENTRAS QUE LOS ESTUDIOS CINÉTICOS REVELAN QUE GLUT11CE9D TAMBIÉN SE EXPRESA EN LA MEMBRANA PLASMÁTICA, YA QUE ES CAPAZ DE incrementar la incorporación de 2-desoxiglucosa de las células HEK293.

Concluimos que la nueva variante de GLUT11 se expresa en distintas líneas celulares y que la carencia de los 34 aminoácidos codificados por el exón nueve determina que el transportador sea mayoritariamente retenido a nivel intracelular. Debido a que el transportador mantiene su funcionalidad, podría participar en la compartimentalización subcelular de glucosa.

Proyecto DIN 04/2010 Universidad Católica de la Sma. Concepción y beca CONICYT de M.V.

**P11. ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO AUMENTAN LA EXPRESIÓN DE TRPM7 EN CÉLULAS PC12 DIFERENCIADAS EXPUESTAS A LIPOPOLISACÁRIDO.** Núñez-Villena F, Briceño N, Montorfano I, Becerra A, Echeverría C, Sarmiento D, Simon F. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas & Facultad de Medicina Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

Endotoxinas como el lipopolisacárido (LPS) producen especies reactivas del oxígeno (ROS) las cuales, a su vez, pueden modular la expresión de numerosas proteínas. En los últimos años se ha reportado el papel neurotóxico del LPS, sin embargo su mecanismo de acción esta poco estudiado. Recientes hallazgos de nuestro laboratorio relacionan la muerte neuronal inducida por LPS con el canal permeable a Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>, TRPM7. Así, nosotros investigamos el efecto del LPS sobre la expresión de TRPM7 como parte de un posible mecanismo neurotóxico. Resultados: Células PC12 diferenciadas (PC12) expuestas a LPS mostraron muerte neuronal además de un incremento de ROS intracelular. PC12 expuestas a LPS aumentaron la expresión del mRNA y la proteína de TRPM7. Similares resultados se obtuvieron al exponer PC12 a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en ausencia de LPS, sugiriendo que el aumento de expresión es mediado por los ROS generados por el LPS. Concordantemente, el agente reductor DTT inhibió el aumento de la expresión del mRNA y la proteína de TRPM7. El inhibidor de NAD(P)H oxidasa, DPI y el inhibidor genérico de PKC, chelerritrina, inhibieron el incremento en la expresión de TRPM7 causado por LPS. El aumento de la expresión de TRPM7 se correlacionó con un aumento de los niveles de Ca<sup>2+</sup> intracelular. Conclusión: Estos resultados muestran que LPS induce un aumento en la expresión de TRPM7 a través de un mecanismo mediado por la generación de ROS, NAD(P)H oxidasa y PKC. Además, existe correlación entre la neurotoxicidad inducida por LPS y el aumento de expresión de TRPM7. Así, podemos hipotetizar que el aumento de la expresión de TRPM7 podría ser parte del mecanismo neurotóxico del LPS.

Financiamiento: Fondecyt 11080119 (FS), UNAB-DI-40-09/R (FS).

**P12. LOS CANALES FORMADOS POR CONEXINAS MEDIAN LA ACTIVACIÓN DE LA ENOS INDUCIDA POR FLUJO: UNA NUEVA HIPÓTESIS SOBRE EL DETECTOR DE FLUJO.**

Francisco R. Pérez, Mauricio Lillo, Pablo S. Gaete y Xavier F. Figueroa. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las células endoteliales juegan un rol importante en el control del tono vasomotor y hemostasis. La producción de NO por el endotelio en respuesta al flujo (tensión de roce) es esencial en el control tónico del tono vasomotor. Estudios recientes destacan la importancia de los canales formados por conexinas en el control y coordinación de la función vascular, pero una posible participación de estas proteínas en la respuesta al flujo no ha sido estudiada. La arteria mesentérica superior de ratas Sprague-Dawley fue canulada y perfundida con solución buffer Tyrode y se evaluó el efecto del flujo sobre la producción de NO (quimioluminiscencia) y el estado de fosforilación de la NO sintasa endotelial (eNOS). El aumento del flujo de perfusión desde 2 mL/min a 10 mL/min produjo un incremento en la producción de NO y en el nivel de fosforilación de la eNOS en la serina 1177 (p-eNOS<sup>ser1177</sup>). El tratamiento con los bloqueadores de conexinas ácido 18-alfa- o beta-glicirretínico abolió tanto el aumento de la producción de NO como la p-eNOS<sup>ser1177</sup> observado con el estímulo del flujo. Estos resultados sugieren que las conexinas endoteliales juegan un papel central en la respuesta al flujo y, probablemente, participan en el proceso detección de este estímulo mecánico por las células endoteliales. La posible función de las conexinas como sensor de flujo realza la importancia de estas proteínas en el control vasomotor y es una hipótesis que debe ser estudiada en detalle. FONDECYT 1100850, FONDECYT 1090757, Límite 15/2009, Anillos ACT-71.

**P13: ENDOCANABINOIDES Y ACETILCOLINA REGULAN LA EFICACIA SINÁPTICA DURANTE EL DESARROLLO.**

Juan Ahumada, Christian Bonansco, Manuel Roncagliolo y Marco Fuenzalida. Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

En el sistema nervioso central la excitabilidad de los circuitos neuronales es dependiente del nivel de inhibición establecido por la actividad de las interneuronas GABAérgicas. Se ha determinado que en etapas tempranas del desarrollo neuronal la transmisión GABAérgica es excitatoria. Este hecho sugiere que la regulación de la liberación de GABA y Glutamato durante estas etapas neonatales puede ser de vital importancia para la plasticidad sináptica cerebral. Recientemente hemos descrito en rebanadas de hipocampo de ratas de 6 a 40 días postnatal, que la co-activación de receptores para endocannabinoides (eCB-R) y muscarínicos de acetilcolina (mACh-R) induce LTD en sinapsis GABAérgicas. Dado que en muchas estructuras cerebrales la activación de eCBs-R pueden deprimir la transmisión excitatoria, en el presente trabajo comparamos el efecto de la co-activación de eCBs-R y ACh-R sobre la eficacia de transmisión excitatoria e inhibitoria en rebanadas de hipocampo durante el desarrollo postnatal temprano. La co-activación de eCBs-R y mACh-R en hipocampos neonatales (6-12 días postnatal), induce LTD en sinapsis GABAérgicas y Glutamatergicas. En ambos tipos de sinapsis esta LTD es acompañada por una disminución de la probabilidad de liberación del neurotransmisor y fue bloqueada con antagonistas de eCBs-R (AM251) y mACh-R (atropina). En hipocampos de 25-40 días postnatal, la co-activación de eCBs-R y mACh-R induce potenciación de la transmisión Glutamatergicas, la cual fue bloqueada por atropina. Nuestros resultados sugieren que la señalización de eCBs y ACh juegan un papel relevante en la regulación de la plasticidad de circuitos cerebrales durante el desarrollo. Financiamiento: FONDECYT 11090059 DIPUV 46/2007 MF; FONDECYT 110038 DIPUV 03/2008 CB; DIPUV 47/2007MR, CID 1/2006.

**P14: DOPAMINE RELEASE IS INCREASED IN THE NUCLEUS ACCUMBENS OF SENSITIZED RATS AFTER REPEATED ADMINISTRATION OF AMPHETAMINE; AN EFFECT REVERTED BY THE KAPPA OPIOID AGONIST U69593.**

Escobar A.P.<sup>1,2</sup>, , Andrés M.E.<sup>1,3</sup> Fuentealba J.A.<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Millenium Science Nucleus in Stress and Addiction; <sup>2</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Chemistry. <sup>3</sup>Department of Cellular and Molecular Biology. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Locomotor sensitization to psychostimulants is defined as an augmented locomotor behavioral response upon repeated administration of the drug and is utilized as an animal model of drug addiction. It is well established that repeated psychostimulant administration leads to changes in the mesolimbic dopaminergic pathway that underlay locomotor sensitization. However, the repeated administration of amphetamine is not enough to develop locomotor sensitization. There is a wide between-subjects variation in the behavioral response to this treatment. We hypothesize that a differential modification of the mesolimbic dopaminergic pathway underlie this complex locomotor behaviour observed in rats after repeated amphetamine administration. To test this hypothesis, rats were injected once daily with amphetamine (1.5 mg/kg ip) or saline for five consecutive days. From day 6 to 9, rats received once daily injection of U69593 or vehicle, since it has been proposed to treat addiction. On day 10, all rats were injected with a challenging dose of amphetamine and locomotor activity was measured to assess the expression of sensitization. One day after, microdialysis studies assessing dopamine extracellular levels in nucleus accumbens (NAc) were carried out. After repeated amphetamine administration, 60% of rats develop locomotor sensitization. Only sensitized rats show augmented K<sup>+</sup>-stimulated dopamine release. Repeated treatment with U69593 during abstinence had no effect on the expression of sensitization, but reverses the augmented K<sup>+</sup> stimulated dopamine release seen in amphetamine-sensitized rats. These results suggest that enhanced releaseability of dopamine in NAc parallels amphetamine -sensitization, but it isn't enough to explain expression of sensitization. Suported by FONDECYT Grant N° 11075068 and MSI grant N° P06/008-F

**P15: ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN MOLECULAR ENTRE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS DA-D1 Y DE LA HORMONA LIBERADORA DE CORTICOTROFINA CRH-R2.**

Fuenzalida J, Araya K, Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA). Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Clásicamente se pensaba que los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) funcionan como monómeros, sin embargo esta idea cada vez queda más relegada frente al emergente concepto de dimerización de GPCRs (Terrillon S. y cols 2004). Durante los últimos años diversos estudios han demostrado que muchos GPCRs existen como homodímeros, heterodímeros e incluso oligómeros de orden superior. La interacción funcional y/o molecular de receptores metabotrópicos ha aportado interesantes hallazgos sobre la regulación de la liberación de glutamato en núcleos del cerebro como el Cuerpo Estriado (Rodrigues y cols 2005). Datos preliminares de nuestro laboratorio muestran que existe una interacción funcional y molecular entre los receptores de la hormona liberadora de corticotrofina tipo-2 (CRH-R<sub>2</sub>) y dopaminérgicos D<sub>1</sub> en el área tegmental ventral de ratas que han sido previamente expuestas a cocaína. El propósito de esta investigación es caracterizar la interacción molecular entre los receptores de CRH-R<sub>2</sub> y dopaminérgicos D<sub>1</sub>, mediante experimentos de inmunoprecipitación e inmunofluorescencia. Para estudiar la formación de estructuras heteroméricas, se realizó expresión heteróloga en células HEK293 de ambos receptores GPCRs fusionados a proteínas fluorescentes (CRH-R<sub>2</sub>-CFP y D<sub>1</sub>-GFP) incorporando en el receptor dopaminérgico D<sub>1</sub> una señal de localización nuclear (D<sub>1</sub>-NLS-GFP). También realizamos experimentos de sobre-expresión de los receptores *wild type*. Nuestros resultados de inmunoprecipitación en células HEK293 muestran que si existe interacción molecular entre estos receptores CRH-R<sub>2</sub> y dopaminérgicos D<sub>1</sub>. La caracterización de este heterómero será a futuro de gran utilidad para el diseño racional de drogas para patologías como la drogadicción. Financiado por ICM N°006M/008-F, CONICYT N°24091037 (tesista K.A) y FONDECYT N°1070340.

**P16: EFECTO DE LA MODALIDAD SENSORIAL DE APRENDIZAJE SOBRE EL RENDIMIENTO ACADÉMICO.**

López S, Ramirez BU. Facultad de Ciencias Médicas, USACH.

Se puede clasificar el aprendizaje según la modalidad sensorial usada preferentemente para adquirir y procesar información. Estas modalidades son visual (V), auditiva (A), lectoescritura (R) y kinestésica (K). Algunas personas usan una sola modalidad sensorial (unimodales) y otras usan dos o más (multimodales). En este trabajo se estudió si hay una relación entre la modalidad sensorial usada para el aprendizaje y el rendimiento académico.

Se estudiaron 315 alumnos que cursaron su segundo año entre 2008 y 2010. Sólo ingresaron al estudio los que cursaban la asignatura por primera vez y aceptaron por escrito participar en éste. La modalidad sensorial usada para el aprendizaje se estableció a través de la aplicación de una encuesta. El rendimiento académico se midió a través de la aplicación de tres tipos de preguntas: opción múltiple, solución de problemas que requerían cálculos numéricos e interpretación o completación de figuras. En todas las cohortes la mayoría de los estudiantes eran multimodales (99 unimodales y 216 multimodales). Al usar preguntas de opción múltiple no se observó una diferencia en el rendimiento entre estudiantes unimodales y multimodales, ni entre estudiantes unimodales que usaban preferentemente alguna de las cuatro modalidades (VARK). Tampoco se observaron diferencias en la interpretación de figuras. Sin embargo, los estudiantes unimodales de tipo R tuvieron un rendimiento superior (6,2±1,1) a los A (3,5±1,9) y los K (4,1±1,8) en preguntas que requerían cálculos (P<0,01).

El rendimiento académico de los estudiantes parece depender del tipo de preguntas que se usen para su calificación. Financiado por DICYT-030801RU.

**P17. LA PROYECCIÓN DESDE EL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL AL SEPTUM LATERAL PROVIENE DE UN SUBNÚCLEO DE FENOTIPO UROCORTINÉRGICO.**

Quiroz G, Ehret S, Pozo S, Abarca S, Ibáñez MR, Sotomayor-Zárate R y Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

El área tegmental ventral (VTA), estructura del sistema mesolímbico proyecta a varias regiones límbicas del cerebro como núcleo accumbens, septum lateral (SL) y corteza prefrontal (Oades y Halliday, 1987). En el SL de ratas se ha observado que la regulación de la neurotransmisión glutamatérgica mediada por la activación de los receptores del factor liberador de corticotropina tipo 2 (CRF-R2) cambia desde una depresión a una facilitación luego de la retirada de cocaína en ratas crónicamente expuestas (Liu y cols., 2005). Urocortina I (UCN I), agonista endógeno de CRF-R2 se expresa en el VTA y el núcleo de Edinger-Westphal (EW). Se ha descrito una proyección urocortinérgica desde el EW al SL, vía que se ha relacionado con el consumo de alcohol (Bittencourt y cols., 1999; Bachtell y cols., 2003). Para evaluar una posible proyección urocortinérgica desde el VTA al SL nosotros inyectamos el trazador retrogrado peroxidasa en el SL. También determinamos la expresión de UCN I en el VTA en ratas tratadas con colchicina. Los resultados muestran que el trazador retrogrado migra desde el SL a VTA marcando el mismo subnúcleo del VTA que expresa UCN I. Para nuestra sorpresa no se observó marca en el EW. Sin embargo, esta información es consistente con la evidencia que los terminales urocortinérgicos en el SL no contienen CART, neuropéptido que se co-expresa con UCN I en el EW. Nuestros resultados sugieren que los terminales urocortinérgicos en SL provienen mayoritariamente desde el VTA y no del EW.

Financiamiento: Proyecto ICM N° P06/008-F y Proyecto FONDECYT N° 1070340 (KG).

**P18. ESTUDIO DE LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN DE UROCORTINA POR EL FACTOR SILENCIADOR RESTRICTIVO NEURONAL REST.**

Yarur H, Munita R, Andrés, ME y Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA). Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los neuropéptidos juegan un importante rol en la transmisión sináptica. Uno de ellos es Urocortina (UCN), un péptido de 40 aminoácidos, altamente conservado entre especies. UCN se encuentra expresado diferencialmente en el cerebro, encontrándose en regiones, como el núcleo Edinger-Westphal, hipotálamo, entre otras. Con respecto a las funciones de UCN, en el sistema nervioso se ha documentado un efecto supresor del apetito, y también se ha asociado a la ingesta de etanol y a la homeostasis del agua en ratas. Estudios recientes sugieren que UCN tiene un papel neuroprotector. A nivel periférico, UCN tiene funciones cardioprotectoras e inmunomoduladoras, entre otras. Sin embargo, el mecanismo que regula la transcripción de UCN es pobremente conocido. Se han identificado varios sitios putativos de unión a factores de transcripción en el promotor de UCN, entre ellos, se encuentra el sitio para el **factor silenciador restrictivo neuronal (REST)**. Se ha descrito que REST es un represor de genes neuronales en tejidos no neuronales y también en progenitores neuronales. Considerando estos antecedentes, en esta investigación nos proponemos evaluar la regulación del gen UCN mediada por REST. Para ello utilizamos ensayos de gen reportero y RT-PCR. Se generaron construcciones reporteras para luciferasa bajo el control del promotor de UCN y se expresaron en líneas celulares que expresan REST (PC12) y en líneas que no lo expresan (HEK293). También realizamos experimentos de sobre-expresión de REST en las líneas celulares descritas anteriormente. Nuestros resultados sugieren que REST regula la actividad del promotor de UCN.

Financiado por ICM N°P06/008-F, FONDECYT N° 1070340

**P19. ACUTE NICOTINE ADMINISTRATION INCREASES EXTRACELLULAR DOPAMINE LEVELS IN THE VENTRAL TEGMENTAL AREA OF THE ADULT RAT**

Alcaíno CA, Sotomayor-Zárate R, Gysling K, Varas R.

Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago-Chile.

Nicotine increases the activity of the dopaminergic neurons in the ventral tegmental area (VTA), which is thought to be an important mechanism underlying nicotine reward. However, it is unclear whether the nicotine-evoked response is due to direct activation of heteromeric nicotinic receptors (nAChRs) in the dopaminergic neurons and/or indirectly through activation of homomeric  $\alpha 7$  nAChRs expressed in the glutamatergic terminals present within the VTA. Since the identity of such nAChRs is currently unknown we studied functionally the nAChR subtypes present in this system.

Microdialysis probes were implanted in the VTA of deeply anaesthetized adult rats (VTA: angle  $12^\circ$ , 5.2 mm posterior to bregma, 2.1 lateral and 8.0 mm ventral) and perfused with Krebs-Ringer's phosphate buffer at a rate of 2  $\mu$ L/min. After a stabilization period of 60 min, three perfusion samples of 10 min each were collected. DA and GLU-GABA extracellular levels were determined by HPLC coupled to electrochemical and fluorometric detection. Local intra-VTA administration of nicotine (10 $\mu$ M, according to the reported levels of plasmatic nicotine in smokers) transiently increases extracellular levels of dopamine (227 $\pm$ 39% of the basal levels) and glutamate (125 $\pm$ 8%). Cytisine, an agonist with higher affinity for heteromeric nAChRs similarly increases dopamine and glutamate levels when compared with equimolar nicotine doses (242 $\pm$ 45% and 110 $\pm$ 10%, respectively). Our results support the hypothesis that acute nicotine administration increased extracellular dopamine levels in the VTA by activating nAChRs expressed in both, dopaminergic neurons and glutamatergic terminals.

Funded by "Proyecto Limite VRAID-PUC 11/2009 and ICM N° 06/008-F".

**P20. CARACTERIZACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE COREST Y LSD1 EN CEREBRO DE RATA.**

Gómez AV, Torres R, Sáez J, Barrios A y Andrés ME. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La función y desarrollo del Sistema Nervioso Central requieren de un control preciso de la expresión génica. La modificación de la estructura de la cromatina, con la participación de complejos remodeladores de cromatina, constituye un mecanismo activo de regulación de la expresión génica. El complejo remodelador de cromatina LHC, constituido por la desmetilasa de histonas, LSD1, la desacetilasa de histonas tipo I, HDAC1/2 y el co-represor transcripcional CoREST, reprime la expresión de genes neuronales en etapas tempranas de la diferenciación neuronal, pero se desconoce la expresión y distribución de sus componentes en cerebro adulto. En este trabajo evaluamos la distribución de CoREST y LSD1 en los distintos núcleos cerebrales de rata adulta. Los resultados muestran que tanto CoREST como LSD1 se distribuyen ampliamente en diferentes regiones cerebrales, con localización nuclear. Ensayos de co-inmunofluorescencia con el marcador neuronal SCG10, señalan que CoREST y LSD1 se expresan mayoritariamente en neuronas. Mediante RT-PCR analizamos la expresión de los 3 genes de CoREST y de las cuatro variantes de *splicing* de LSD1 en tejido neural embrionario y adulto con el fin de caracterizar sus patrones de expresión a lo largo del desarrollo. Los resultados muestran que todas las variantes de CoREST y LSD1 se expresan, pero la abundancia relativa de cada una es distinta en el desarrollo. En resumen, CoREST y LSD1 tienen una amplia expresión en el cerebro de la rata. La distinta abundancia de las variantes de LSD1 y CoREST durante el desarrollo sugiere que éstas tendrían funciones diferentes.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT N° 1070349 y Nucleo-Milenio N° P06/008-F.

**P21 DESARROLLO DE UNA VARIANTE DE KINDLING RAPIDO PARA EL ESTUDIO DE EPILEPTOGENESIS HIPOCAMPAL EN RATAS**

Morales, J., Álvarez Ferradas, A., Zárate, A., Fuenzalida, M., Ahumada, J., Bonansco, C. y Roncagliolo, M. Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, CHILE.

*Kindling*, uno de los modelos experimentales de epilepsia más utilizados, se basa en protocolos de estimulación repetida de estructuras cerebrales. A diferencia del protocolo clásico o lento (KL; >16 días), las variantes de *kindling* rápido (KR; ≤4 días) descritos hasta ahora requieren estimulación continua, a intensidades convulsivantes aplicadas directamente a estructuras hipocámpales, condición que podría interferir con las bases celulares de epileptogénesis. A fin de optimizar la obtención del modelo de epilepsia hipocámpal, desarrollamos un protocolo abreviado de KR, estimulando el núcleo basolateral del complejo amigdalario. El protocolo consistió en 10 trenes diarios de pulsos de 10 seg de duración, a 50 Hz, a intervalos de 20 min, durante 3 días, a intensidad subconvulsivante, 20% bajo el umbral de generación de post-descargas (PD). El desarrollo del cuadro epileptoide fue evaluado a través de registros electroencefalográficos en corteza y amígdala, y de videograbación sincronizada del compromiso conductual según escala de Racine. La duración y número de PDs amigdalares, brotes de actividad eléctrica hiper-sincrónica bilateral, mostraron una correlación directa con el número de estímulos y con la progresión de signos epileptoideos de Racine. El estado convulsivo (etapa 5) se alcanzó a partir de ~20 estimulaciones, con varias PDs de larga duración (≥1.0 min), a menudo seguidas por un número variable de PDs espontáneas. En rebanadas de hipocampo obtenidas de estos animales, la neurotransmisión glutamatérgica en sinapsis CA3-CA1 se encuentra aumentada. Estos resultados indican que, a nivel conductual, poblacional y celular, esta variante de KR reproduce de manera similar la progresión de epilepsia hipocámpal inducida por protocolos de KL. FONDECYT 1100385-DIPUV 03/2008 CB; FONDECYT 11090059-DIPUV46/2007 MF; DIPUV 40/2007 MR; CID01/2006.

**P22 EXPOSICIÓN CONJUNTA DE COMPONENTES BACTERIANOS PRODUCE UN EFECTO SINÉRGICO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE IL-8 EN EL EPITELIO RESPIRATORIO HUMANO.**

Carreño DV<sup>1</sup>, León MC<sup>1</sup>, González C<sup>2</sup>, Lladós C<sup>1</sup>, Fonseca X<sup>2</sup>, Callejas C<sup>2</sup>, Villalón M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Departamento de Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

En las vías respiratorias un componente fundamental del mecanismo de defensa del organismo ante la entrada de patógenos, lo constituye el epitelio mucociliado. En el epitelio están presentes los Toll-like receptors (TLR), receptores responsables de reclutar a los componentes celulares del sistema inmune, mediante la secreción de citocinas. Dentro de los ligandos de los receptores TLR, se encuentra el Lipopolisacárido (LPS), activador de TLR4 y DNA bacteriano (DNA-CpG), activador del TLR9, ambos ligandos producen activación de las respectivas cascadas de señalización. Sin embargo poco se sabe sobre los efectos conjuntos de estos ligandos en los niveles de expresión de los receptores o productos finales de la vía de señalización en el epitelio respiratorio humano. **Objetivo:** Determinar el efecto de la incubación conjunta de bajas concentraciones de LPS y DNA-CPG sobre la expresión de TLR9 y la producción de citocinas. **Material y métodos:** Cultivos primarios de epitelio adenoideo humano obtenidos de adenoidectomías, previa firma de un consentimiento informado del paciente y aprobación del estudio por el Comité de Ética de la Facultad. Se utilizaron técnicas bioquímicas como PCR, western blot y kit de ELISA para medir citocina IL-8. **Resultados y Conclusiones:** Observamos que la incubación conjunta del epitelio adenoideo humano con bajas dosis de LPS (1 ng/ml) y DNA-CpG (0,1 uM), incrementan sinérgicamente la expresión proteica del ARNm de TLR9 y la producción de IL-8. Estos resultados podrían explicar la exacerbación de la inflamación que ocurre frente a la exposición simultánea a componentes bacterianos y/o alérgenos. Fondecyt 1080679

**P23 COUNTERACTION OF NO-DEPENDENT VASODILATION BY ARGINASES IS INCREASED IN A RAT MODEL OF CHRONIC INTERMITTENT HYPOXIA.**

<sup>1</sup>Krause BJ, <sup>2</sup>Moya E, <sup>2</sup>Del Río R, <sup>2</sup>Arias P, <sup>1</sup>Casanello P, <sup>2</sup>Iturriaga R. <sup>1</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory and Perinatology Research Laboratory, Division of Obstetrics and Gynecology, Fac. Medicine, and <sup>2</sup>Laboratory of Neurobiology, Fac. Biological Sciences, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Chronic intermittent hypoxia (CIH) resulting from obstructive sleep apnea is associated with hypertension. Arginases have been implicated in vascular dysfunction, but its participation in the CIH-induced vascular dysfunction is largely unknown. We determined the effects of arginase activity on the NO-dependent vasodilation in external carotid arteries. Adult rats were exposed to CIH (5% O<sub>2</sub>, 12 times/h for 8 h, over 21 days) or sham condition (air: air cycles). Vessel rings, obtained from sham and CIH animals, were mounted in a wire-myograph. Internal diameter and maximal isometric tension were determined with KCl (62.5 mM). Relaxation to cumulative concentrations of SNP (10<sup>-9</sup> to 10<sup>-5</sup> M) in the presence or absence of 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (10<sup>-5</sup> M), and acetylcholine (10<sup>-8</sup> to 10<sup>-5</sup> M), with and without L-nitroarginine (L-NA, 10<sup>-4</sup> M) and S-2-boronoethyl-L-Cysteine-HCl (10<sup>-5</sup> M) were determined in vessels pre-contracted with KCl. Responses from 6 arteries in each group expressed as percentage of relaxation relative to KCl-induced contraction (%Kmax) were adjusted to concentration-response curves. Maximal KCl-induced tension was higher in CIH than in sham arteries (3.5 ± 0.4 vs. 2.3 ± 0.2 N/m<sup>2</sup>, P < 0.05), while SNP-induced relaxation was similar in CIH and sham arteries (89.0 ± 3.6 % vs. 81.0 ± 3.8 %Kmax). However, CIH arteries showed higher sensitivity to SNP (-log(ED<sub>50</sub>) 7.3 ± 0.1 vs. 6.7 ± 0.1, P < 0.05). Acetylcholine-induced relaxation was reduced in CIH arteries (12.8 ± 1.5 %Kmax) compared with sham control (30.5 ± 4.6 % Kmax). Noteworthy, arginase inhibition increases in a NO-dependent manner the maximal response to acetylcholine in sham (58.7 ± 9.4 %Kmax) and CIH arteries (49.5 ± 7.4 %Kmax). Present results suggest that reduced NOS-dependent vasodilatation in CIH arteries is due to higher arginase activity. Supported by Fondecyt 1070865, 1080534, 1100405, CONICYT AT-24100107, Proyecto Interdisciplinario VRAID-PUC. BJK, RDR and EM hold CONICYT fellowships.

**P24 CHRONIC INTERMITTENT HYPOXIA INCREASES THE INHIBITION OF TASK-LIKE CURRENT AND THE DEPolarIZATION EVOKED BY ACUTE HYPOXIA IN RAT CB TYPE-I CELLS.**

Ortiz FC, Varas R, Iturriaga R. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

The carotid body (CB) is the main oxygen peripheral arterial chemoreceptor. The first step in the chemosensory process is the hypoxic-induced depolarization of type-I (chemoreceptor) cells, which is produced by the inhibition of a TASK-like K<sup>+</sup> background current (I<sub>TASK</sub>). It is known that chronic intermittent hypoxia (CIH) enhances the CB chemosensory response to acute hypoxia, but the electrical properties of type-I cells have not been studied in CBs exposed to CIH. Using patch-clamp techniques (whole-cell and cell attached configurations), we measured the membrane potential (V<sub>m</sub>) and I<sub>TASK</sub> in type-I cells acutely dissociated from CB of rats exposed to CIH (F<sub>0</sub>O<sub>2</sub> 5-6%, 12 times/h, 8 h/day) for 7 days. We did not find any difference in the electrical membrane properties between control and CIH type-I cells (Resting V<sub>m</sub>: -54.5 vs. -50.1 mV; input resistance: 226 vs. 291 MΩ and membrane capacity: 0.98 v/s 1.1 pF; control vs. CIH, respectively). However, the amplitude of the depolarization evoked by acute hypoxia (1-2% O<sub>2</sub>, 30 s) was significantly greater in CIH type-I cells compared with the control group (+28.1 v/s +15.7 mV; p<0.05). CIH did not modify the I<sub>TASK</sub> unitary conductance, its voltage-dependency or the discharge hallmarks, but the inhibition of I<sub>TASK</sub> by acute hypoxia was higher in CIH type-I cells (99.6% of inhibition vs. 66.4%; p<0.05). Thus, our results show that CIH increases the depolarization evoked by acute hypoxia in dissociated type-I cells and suggest that an enhanced I<sub>TASK</sub> inhibition might explain the augmented depolarization.

Supported by FONDECYT 1100405.

**P25. ACTIVATION OF  $\alpha 7$  AND  $\alpha 4\beta 2^*$  NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS REGULATE CATECHOLAMINE RELEASE IN THE RAT CAROTID BODY.** <sup>1</sup>Meza RC, <sup>1</sup>Ortiz FC, <sup>2</sup>Iturriaga-Vásquez P, <sup>1</sup>Varas R. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago Chile, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

The carotid bodies (CBs) are key chemosensory organs that respond to hypoxemia with transmitters neurosecretion which ultimately leads to a respiratory reflex response. Acetylcholine is a key regulator of transmitter release through activation of presynaptic nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs). Since the identity of such nAChRs is currently unknown we studied functionally the nAChR subtypes present in this system. CBs were obtained from anaesthetized neonatal rats and placed in a recording chamber for electrochemical recordings (using Nafion-coated carbon electrodes) or enzymatically dissociated for patch-clamp studies on isolated cells. Fast nicotine (1mM) superfusion increase catecholamine release ( $CA_{eff}$ ) from intact CBs (91% of basal  $CA_{eff}$ , n=5): The nicotine-evoked  $CA_{eff}$  was reversible diminished by the non-selective nAChR blocker hexamethonium (10 $\mu$ M, 76% inhibition, n=5), by the selective  $\alpha 7$  blocker  $\alpha$ -bungarotoxin (100nM, 78% inhibition, n=5) and by the  $\alpha 4\beta 2^*$  nAChR blocker erysodine (1 $\mu$ M, 68% inhibition, n=7). Additionally, in isolated CB cells nicotine evokes dose-dependent inward currents ( $EC_{50}$  = 44 $\mu$ M). Similar responses were observed using the nAChR agonists acetylcholine and cytosine. Full reversible block of the nicotine-evoked current was achieved in the presence of mecamilamine (1 $\mu$ M). Partial inhibition of the nicotine-evoked current was achieved with  $\alpha$ -bungarotoxin (10nM) or with erysodine (100nM). However, the combination of both compounds failed to fully suppress this response. Our results show that activation of  $\alpha 7$  and  $\alpha 4\beta 2^*$  nAChR subtypes regulate catecholamine release from intact carotid body due to activation of fast inward currents expressed in chemoreceptor cells. Therefore, our results support the role of acetylcholine as a presynaptic regulator of the carotid body system.

Funded by Proyecto Limite VRAID-PUC 11/2009 and FONDECYT 1100542.

**P26. EXPRESIÓN DE CITOQUERATINA 7 (K7) EN SINCICIOTROFOBlasto PLACENTARIO HUMANO NORMAL Y PATOLÓGICO.** Bastías N, De Gregorio, N y Riquelme G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La placenta es fundamental para el intercambio materno-fetal de nutrientes y solutos esenciales para el desarrollo fetal siendo, el sinciciotrofoblasto placentario humano (hSTB), el principal responsable de ello. Alteraciones en la morfología de la placenta, y más aún del hSTB, han sido relacionadas con algunas de las patologías del embarazo, como en Preeclampsia (PE) y Restricción del Crecimiento Intrauterino (RCIU). Considerando que la integridad estructural y la resistencia mecánica de los epitelios está dada principalmente por las citoqueratinas (K), en particular por K7, es de interés el estudio comparativo de su expresión, en ambas patologías. La expresión de K7 se estudió en cortes de vellosidad corial mediante inmunofluorescencia confocal. Además, mediante *Western blot*, se identificó su presencia en membranas purificadas de hSTB: membrana basal (BM) y en los dos subdominios de membrana apical: apical pesada (MVM) y liviana (LMVM). En los cortes de tejido placentario la intensidad de la inmunotinción para K7 fue notablemente menor en ambas patologías comparada con la normalidad. En tanto, la densidad relativa medida por *Western blot* demuestra una mayor expresión en BM comparado con las membranas apicales, siendo similar la distribución en las tres condiciones. Sin embargo, la expresión de K7 en cada fracción purificada disminuye cerca de un 50% en ambas patologías, respecto a la normal. El rol fisiológico de estas alteraciones aún no es concreto, sin embargo en PE podría ser que la disminución de esta proteína debilite el citoesqueleto del sincicio, facilitando la deportación de micropartículas de trofoblasto hacia la circulación materna, contribuyendo con la reacción inflamatoria exacerbada típica de esta condición. FONDECYT 1070695.

**P27. INSULIN REVERSES GESTATIONAL DIABETES-REDUCED EXPRESSION AND ACTIVITY OF EQUILIBRATIVE NUCLEOSIDE TRANSPORTERS 2 IN HUMAN PLACENTAL MICROVASCULAR ENDOTHELIUM.** Salomón C, Westermeier F, Guzmán-Gutiérrez E, Sobrevía L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory & Perinatology Research Laboratory, Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre, School of Medicine, Faculty of Medicine, PUC, Santiago, Chile.

Equilibrative nucleoside transporters 2 (hENT2) expression and activity is modulated by insulin in macrovascular fetal endothelium from normal pregnancies; however, nothing is reported regarding the potential action of insulin on hENT2 expression and/or activity in human placenta microvascular endothelial cells (hPMEC) from gestational diabetes (GD). We studied insulin effect on activity and expression of hENT2 and the potential involvement of insulin receptor isoforms A (IR-A) and B (IR-B) in hPMEC from GD. **Methods.** Monolayers of hPMEC (passage 2) from normal [oral glucose tolerance test (OGTT) = 88-114 mg/dl D-glucose, 2 hours] or GD pregnancies (OGTT = 142-239 mg/dl D-glucose, 2 hours) were used for experiments. hENT2-mediated adenosine transport (0-500  $\mu$ M adenosine, 4  $\mu$ Ci/ml [<sup>3</sup>H]adenosine, 22°C, 20 seconds), hENT2 protein abundance (western blot) and mRNA expression (q-PCR), as well as protein and mRNA stability were determined. Total (p42/44<sup>mapk</sup>, Akt) and phosphorylated (P~p42/44<sup>mapk</sup>, P~Akt) p42/44<sup>mapk</sup> and Akt in response to insulin were assayed. hENT2-mediated adenosine maximal transport capacity was reduced ( $P < 0.05$ , ANOVA two ways, n=5) in hPMEC from GD ( $V_{max}/K_m = 0.016 \pm 0.002$  pmol/ $\mu$ g protein/second/ $\mu$ M) compared with normal ( $V_{max}/K_m = 0.025 \pm 0.002$  pmol/ $\mu$ g protein/second/ $\mu$ M) pregnancies. Insulin blocked GD-inhibition of hENT2-mediated uptake; however, did not alter hENT2-mediated transport in cells from normal pregnancies. GD also reduced hENT2 protein abundance (40  $\pm$  8%) and mRNA number of copies (54  $\pm$  10%), effect blocked by insulin. hENT2 protein and mRNA stability was unaltered by GD or insulin. GD also resulted in reduced (62  $\pm$  10%) IR-A, but increased (1.9  $\pm$  0.3 fold) IR-B mRNA expression, and reduced (P~p42/44<sup>mapk</sup>/p42/44<sup>mapk</sup>)/(P~Akt/Akt) ratio. Insulin blocked these effects of GD. **Conclusion.** Insulin modulates hENT2-mediated adenosine transport via a mechanism that could involve differential expression of IR-A and IR-B in hPMEC from GD. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24100210, FONDECYT 1070865 & 1080534 (Chile). E Guzmán-Gutiérrez and F Westermeier hold CONICYT-PhD (Chile) fellowships. C Salomón holds a Faculty of Medicine, PUC Chile-PhD fellowship.

**P28. EL TRATAMIENTO CON BLOQUEADORES DE CANALES SOC ATENÚA LA HIPERTENSIÓN PULMONAR EN CORDEROS DE TIERRAS ALTAS.**

Parrau D<sup>a,f</sup>, Ebensperger G<sup>a</sup>, Díaz M<sup>b</sup>, Rojas R<sup>a</sup>, Maass, R<sup>a</sup>, Santos D<sup>a</sup>, Moraga F<sup>b</sup>, Herrera E<sup>b,d</sup>, Riquelme R<sup>c</sup>, Llanos AJ<sup>a,d,e</sup>, Reyes VR<sup>a</sup>, ICBM<sup>a</sup>, Facultades de Medicina<sup>b</sup> Ciencias Químicas-Farmacéuticas<sup>c</sup>, INCAS<sup>d</sup>, Universidad de Chile; <sup>e</sup>Universidad de Tarapacá; Facultad de Medicina<sup>f</sup>, Universidad Diego Portales Facultad de Medicina, <sup>g</sup> Universidad Católica del Norte.

La circulación pulmonar responde a hipoxia crónica con vasoconstricción y remodelamiento vascular, lo que resulta en hipertensión pulmonar. Estudios *ex vivo* en modelos adultos sugieren que la entrada de calcio vía SOC (Store operated channels) contribuiría a este proceso. Sin embargo, no existen estudios *in vivo* en modelos perinatales. Estudiamos el efecto del tratamiento *in vivo* con bloqueadores de SOC sobre la presión de la arteria pulmonar (PAP) en corderos recién nacidos de tierras altas (3600 m.s.m.) entre los 5 y los 16 días de edad, instrumentados con un catéter Swan Ganz y catéteres de polivinilo en arteria pulmonar, aorta y vena cava inferior respectivamente. Durante los 10 días de tratamiento se registraron las variables cardiopulmonares en animales con vehículo (DMSO:salina, 1:10) y en animales tratados con una dosis diaria de 2-aminoetoxidifenilborinato (2-APB, 10 mg/Kg i.v). El tratamiento con 2-APB produjo una reducción significativa de la PAP respecto al vehículo. Los resultados sugieren que el bloqueo de SOC constituye una interesante estrategia farmacológica para el tratamiento de la hipertensión pulmonar.

FONDECYT 1080663 y 1090355.

### P29. PARTICIPACIÓN DE ARGINASES EN IUGR PLACENTAL VASCULAR TONE: ROLE OF HYPOXIA.

Muñoz E, Krause B, Prieto C, Lavín C, Sobrevia L, Casanello P. Perinatology Research Laboratory (PRL) and Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta 391, Santiago, Chile.

Vascular dysfunction in intrauterine growth restriction (IUGR) placenta is associated with increased vascular tone and altered nitric oxide (NO) synthesis by the endothelium. Arginase II (ARGII) has been proposed to compete with eNOS for L-arginine and promote vascular dysfunction. We studied the role of ARGII in the NOS-mediated vascular effects in normal/IUGR umbilical veins (HUV) and in HUV endothelium (HUVEC) under normoxia/hypoxia. **Methods.** HUVEC were isolated by collagenase digestion and cultured to confluence at 37°C (air/CO<sub>2</sub>, 95/5). Cell cultures were exposed to normoxia/hypoxia (5-2% O<sub>2</sub>, respectively) for 24 hours. ARGII protein level and activity was determined by western blot and urea formation respectively. HUV rings were isolated from normal/IUGR placentae and mounted in a wire myograph to determine the isometric force in response to insulin (10<sup>-12</sup>-10<sup>-8</sup> M), in the presence or absence of the arginase inhibitor S-(2-boronoethyl)-L-cysteine (BEC, 10<sup>-5</sup> M) and the NOS inhibitor L-nitroarginine (L-NA, 10<sup>-4</sup> M). Responses were expressed as a percentage of KCl-induced contraction (%K<sub>max</sub>). **Results.** In normal HUVEC, 24 hours of hypoxia increased ARGII protein level and activity. In IUGR cells under normoxia ARGII level and activity were higher compared to normal HUVEC, an effect unaltered in hypoxia. In IUGR HUV, NOS-dependent relaxation was decreased (0.1 ± 2.5 %K<sub>max</sub>) compared with normal veins (37.6 ± 3.8 %K<sub>max</sub>). BEC increased NOS-dependent relaxation in IUGR (18.1 ± 2.5 %K<sub>max</sub>) and normal vessels (57.5 ± 3.1 %K<sub>max</sub>). **Conclusions.** IUGR HUVEC show a blunted response to hypoxia. Furthermore, ARGII has a role as vascular modulator in normal vessels participating in both normal and reduced NOS-dependent relaxation in umbilical veins from IUGR placentae. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA), AT-24100107, AT-24090200, and FONDECYT 1070865 & 1080534. E Muñoz, B Krause and C Prieto hold CONICYT-PhD (Chile) fellowships.

### P30. CANALES DE CLORURO DE LA MEMBRANA BASAL DEL SINCICIOTROFBLASTO HUMANO CON PATOLOGÍA: PREECLAMPSIA (PE) Y RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO (RCIU).

Morales B.; Vallejos C.; Riquelme G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM). Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El sinciciotrofoblasto placentario humano (hSTB), principal barrera de intercambio materno-fetal, es un epitelio altamente polarizado constituido por una membrana apical (MVM) y una membrana basal (MB). La preeclampsia (PE) es una patología que ocurre durante el embarazo producto de un síndrome hipertensivo, donde se han reportado alteraciones en el transporte de cloruro que es el principal ión extracelular. La RCIU es la incapacidad del feto para alcanzar su potencial de crecimiento y podría haber alteraciones en el transporte a través del hSTB. El objetivo de este estudio fue caracterizar las corrientes de cloruro de MB provenientes de placentas con PE y RCIU, mediante registros de corrientes de canal único en liposomas gigantes y de corrientes totales en ovocitos de *Xenopus laevis* trasplantados con estas membranas. Los experimentos de canal único en PE y RCIU mostraron 3 tipos de corrientes de cloruro similares a las reportadas para placentas normales (PN) pero siendo ~40% menores, estas son: de alta (130pS), intermedia (60pS) y baja conductancia (40 pS), con un potencial de inversión muy cercano al teórico esperado para cloruro (-25mV) y sensibles a DIDS. Los resultados en corrientes totales muestran que se incorporaron canales funcionales de cloruro en los ovocitos. La conductancia de cuerda promedio para PE fue 12,6µS y para RCIU 11,5µS. El bloqueo por DIDS fue dependiente de potencial, a +40 y -100mV fue 36% y 62% respectivamente para PE, y 14% y 64% para RCIU. Los datos muestran la presencia de canales de cloruro en MB de placentas patológicas al igual que en placenta normal, pero con características biofísicas diferentes. Develar las alteraciones en los mecanismos de transporte de cloruro es fundamental para entender el transporte en estas patologías. FONDECYT 1070695.

### P31. PARTICIPACIÓN DE ALDEHÍDO DESHIDROGENASA 2 (ALDH2) EN EL PRE-CONDICIONAMIENTO CARDÍACO.

Callejas, M<sup>1</sup>, Vielma, A<sup>1</sup>, Tampier, L<sup>2</sup>, Boric, MP<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, F. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte a nivel mundial, destacando entre ellas la enfermedad isquémica del corazón. El pre-condicionamiento cardíaco consiste en someter al corazón a períodos breves de isquemia y reperfusión (I-R). Este procedimiento establece un mecanismo protector del daño causado por una isquemia prolongada. Reportes recientes indican que la enzima Aldehído Deshidrogenasa 2 (ALDH2) participaría en los mecanismos responsables del pre-condicionamiento. Por esto estudiamos la respuesta de pre-condicionamiento en dos líneas de ratas caracterizadas genéticamente por expresar diferentes formas de ALDH2: UChA (alelo Aldh2(2) que codifica una enzima con baja afinidad por NAD<sup>+</sup>) y UChB (alelos Aldh2(1) y Aldh2(3) que codifican ALDH2 con 4 a 5 veces más afinidad). Los corazones aislados y perfundidos en el sistema Langhendorf, fueron sometidos a 30-min isquemia con o sin pre-condicionamiento (3 ciclos de 5-min I-R). En condición control, la isquemia disminuyó el Índice de Trabajo (WI, presión ventricular desarrollada x frecuencia) en 57±9% en UChA y 28±13% en UChB. En corazones pre-condicionados, la isquemia disminuyó WI en 28±5% en UChA y 4±1% en UChB, ambos cambios significativamente menores que su respectivo control. Nuestros resultados indican que una mayor actividad de ALDH2 otorga cardioprotección, porque, con o sin pre-condicionamiento, los corazones UChA tuvieron menor WI post-isquemia que los UChB; sin embargo ambos grupos respondieron positivamente al estímulo pre-condicionante clásico. Es necesario realizar más análisis, incluyendo distintas intensidades de daño, para determinar si existe una correlación entre el nivel de actividad de la enzima y el grado de pre-condicionamiento obtenido. Proyecto Fondecyt 1090757.

### P32. LA ADMINISTRACIÓN DE CORM-2, UN DADOR DE MONÓXIDO DE CARBONO, EN CORDEROS RECIÉN NACIDOS DEL ALTIPLANO ANDINO PRODUCE PARADOJALMENTE HIPERTENSIÓN PULMONAR.

Ebensperger G, <sup>1</sup>Ulloa C, <sup>1</sup>Parrau D, <sup>1</sup>Rojas R, <sup>1</sup>Reyes RV, <sup>1,2,3</sup> Llanos AJ. <sup>1</sup>Programa Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, <sup>2</sup>INCAS, Universidad de Chile, <sup>3</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica, 4Universidad Católica del Norte, Coquimbo.

El monóxido de carbono (CO) es producido por las hemoxigenasas (HO), con funciones vasodilatadoras y antiproliferativas. Se ha desarrollado dadores de CO, entre ellos el CORM-2, para reducir, entre otros usos, la presión arterial sistémica. Proponemos como hipótesis que administración *in vivo* de CORM-2 a recién nacidos de oveja (RN) del altiplano andino, reduce la presión arterial pulmonar (PAP). Metodología: En 10 corderos RN gestados y nacidos en Putre (3600m), se ubicó un catéter Swan Ganz en la arteria pulmonar. El Grupo Tratado, recibió CORM-2 (8mg.Kg.día) por 10 días (n=5) vs. un Grupo Control que recibió vehículo (n=5). En ambos grupos se midió diariamente la presión arterial pulmonar (PAP), el gasto cardíaco y se realizaron cortes histológicos de pulmón. Resultados: En los corderos tratados con CORM-2 se observó un notable aumento transitorio de la PAP de aproximadamente 300%, con una caída del gasto cardíaco de aproximadamente un 40%. Un aumento similar fue observado al administrar el fármaco inactivo sin CO (24h a 37°C y expuesto a la luz), pero no fue observado al administrar el vehículo (DMSO 0.025%). Al administrar previamente indometacina y luego CORM-2, se observó una marcada atenuación del aumento de la PAP. En la histología se observaron microhemorragias pericapilares. Después de 10 días de tratamiento, la PAP no disminuyó. Conclusión: La administración de CORM-2 produce paradójicamente un aumento dramático y transitorio en la presión de la arteria pulmonar con microhemorragias pericapilares. Resultados preliminares sugieren un rol de productos originados por las ciclooxigenasas en la marcada respuesta hipertensiva pulmonar. Financiado por: FONDECYT 1090355 y 1080663.

**P33. LOS CANALES  $IK_{Ca}$  Y  $SK_{Ca}$  CONTROLAN LA SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTE DE NO A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DE LA NADPH OXIDASA.**

Gaete PS, Lillo M, Poblete I, Figueroa XF. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Estudios recientes en nuestro laboratorio sugieren que los canales de  $K^+$  activados por  $Ca^{2+}$  de intermedia ( $IK_{Ca}$ ) y pequeña ( $SK_{Ca}$ ) conductancia juegan un papel clave en el control de la señalización mediada por óxido nítrico (NO). En este trabajo estudiamos si la inhibición de los canales  $IK_{Ca}$  y  $SK_{Ca}$  afecta la vasodilatación dependiente de NO a través de la producción de anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). En la red arterial mesentérica de rata aislada, se evaluó la presión de perfusión y la producción de NO por quimioluminiscencia. Además, en arteriolas mesentéricas aisladas, se detectó la producción de  $O_2^{\cdot-}$  usando el indicador fluorescente dihidroetidina. En mesenterios pre-contraídos con 70 mM KCl, tanto el bloqueo de la NO sintasa con 100  $\mu$ M N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina como la inhibición de los  $IK_{Ca}$  con 10  $\mu$ M TRAM-34 y  $SK_{Ca}$  con 0,5  $\mu$ M apamina abolieron la vasodilatación y la producción de NO inducida por 100 nM acetilcolina (ACh). El bloqueo de la NADPH oxidasa con 100  $\mu$ M apocinina no afectó la vasodilatación inducida por ACh en condiciones control, pero previno la inhibición de la vasodilatación y la producción de NO observada en presencia de TRAM-34 y apamina. Consistente con esto, el tratamiento con TRAM-34 y apamina produjo un aumento en la producción de  $O_2^{\cdot-}$ , que fue sensible a apocinina. Estos resultados sugieren que  $IK_{Ca}$  y  $SK_{Ca}$  juegan un rol central en la vasodilatación dependiente de NO inducida por ACh a través del control de la actividad de la NADPH oxidasa.

FONDECYT 1100850, FONDECYT 1090757, Límite 15/2009, Anillos ACT-71

**P34. FACTOR ACTIVANTE DE PLAQUETAS INCREMENTA LA PERMEABILIDAD MICROVASCULAR MODIFICANDO PROTEÍNAS DE LA UNIÓN INTERCELULAR Y ADHESIONES FOCALES.**

Marín N<sup>1</sup>, Cárcamo R<sup>1</sup>; Zamorano P<sup>1</sup>; Durán, WN<sup>2</sup>; Sánchez, FA<sup>1</sup>. <sup>1</sup> Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, UACH, Valdivia. <sup>2</sup> Physiology and Pharmacology Institute, New Jersey Medical School, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, Newark, USA.

El óxido nítrico (NO) producido por la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) es un factor clave en la regulación de la permeabilidad microvascular. PAF es un agonista pro-inflamatorio que incrementa la permeabilidad microvascular a través de la activación de una cascada de señalización asociada a eNOS. El dogma clásico en la señalización por NO establece que sus acciones son mediadas a través de la activación de proteína quinasa G (PKG), sin embargo se han descrito modelos de permeabilidad microvascular incrementada en ausencia de activación de PKG. Recientemente, se ha descrito la S-nitrosilación de proteínas como otro mecanismo efector del NO independiente de la actividad PKG. Dado que este mecanismo afecta procesos de tráfico intracelular, investigamos la hipótesis de que PAF causa S-nitrosilación de proteínas implicadas en la estabilización de la barrera endotelial modificando su tráfico para promover hiperpermeabilidad. Como modelo usamos células ECV304 establemente transfectadas con eNOS-GFP. Estas células respondieron a PAF (5X 10<sup>-7</sup>M) aumentando la permeabilidad, al igual que células endoteliales de venulas coronarias postcapilares (PNAS 106: 6849, 2009). Mediante el ensayo de switch de biotina pudimos detectar S-nitrosilación de fosfoproteína estimulada por vasodilatador (VASP) y beta-catenina, con un peak al minuto de aplicación. Sugerimos que la S-nitrosilación contribuye a cambios conformacionales en proteínas que estabilizan la función de barrera contribuyendo de esta manera al aumento de permeabilidad microvascular. (Financiado por Proyecto Fondecyt 1100569 y Proyecto NIH 5R01 HL070634).

**P35. ROL DE PKC $\delta$ , eNOS y cGMP EN LA PREVENCIÓN DE LA AGREGACIÓN DE PLAQUETAS INDUCIDA POR DHEA.**

Muñoz Y, Gómez G, Valladares L, Velarde V. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La diabetes mellitus 2(DM2) y la edad avanzada contribuyen al aumento de eventos protrombóticos que aumentan el riesgo cardiovascular, siendo la función plaquetaria fundamental en estos procesos. En la post-menopausa el riesgo cardiovascular se relaciona inversamente con las concentraciones plasmáticas de Dehidroepiandrosterona (DHEA). Hemos observado que DHEA puede prevenir la agregación plaquetaria en mujeres post-menopáusicas (MPM) con DM2. Se ha descrito que tanto PKC $\delta$  como óxido nítrico (NO) de forma dependiente de cGMP inhiben la agregación plaquetaria. Proponemos que DHEA previene la agregación plaquetaria en MPM con DM2 a través de la activación de eNOS por PKC $\delta$  con aumento de cGMP intraplaquetario. Se obtuvieron plasmas rico en plaquetas (PRP) de muestras de sangre de MPM con DM2; estas se pre-incubaron con DHEA por 20 minutos a 37°C. Luego, se midió la agregación plaquetaria inducida por ADP en presencia y ausencia del inhibidor de PKC $\delta$ , Rotlerina. La activación de eNOS fue determinada por Westernblot con el anticuerpo anti p-ser1177eNOS. La concentración de cGMP intraplaquetario se cuantificó por ELISA. DHEA inhibió en un 60% la agregación plaquetaria en MPM con DM2 con respecto al control, este efecto no se observó en presencia del inhibidor de PKC $\delta$ . Además observamos un aumento en la activación de eNOS inducida por DHEA, que fue bloqueada en presencia del inhibidor de PKC $\delta$ . Finalmente, la concentración de cGMP plaquetario aumentó en presencia de DHEA, efecto que fue abolido por el inhibidor de NOS, LNNA. Nuestros resultados sugieren que DHEA previene la agregación plaquetaria en MPM con DM2 a través de la activación de eNOS dependiente de PKC $\delta$  y consecuente producción de cGMP.

Financiamiento: Beca de Apoyo a la realización de tesis de doctorado 2008 CONICYT 24080101. Agradecimientos: Asociación de Diabéticos de Chile.

**P36. REVERSION OF A GESTATIONAL DIABETIC- TO A NORMAL-PHENOTYPE BY ENDOTHELIUM FROM NORMAL PREGNANCIES AND INSULIN IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS.**

Sepúlveda C, Puebla C, Guzmán-Gutiérrez E, Sobrevia L.

Cellular and Molecular Physiology Laboratory & Perinatology Research Laboratory, Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

Total adenosine uptake is reduced in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) from normal pregnancies exposed to insulin or from gestational diabetes (GD) pregnancies. Although it is known that GD and insulin are factors increasing synthesis and secretion of vasoactive molecules from endothelium, it is unknown whether HUVEC from GD modulate endothelial function of HUVEC from normal pregnancies. We studied whether GD-derived HUVEC phenotype regarding adenosine uptake, is modulated by HUVEC from normal pregnancies, and the potential role of insulin in this phenomenon. **Methods:** HUVEC from normal pregnancies (N) or gestational diabetes (D) were cultured (passage 2) on wells or inserts (0.4  $\mu$ m pore, 0.5 cm<sup>2</sup>). Cocultures were disposed as N over N (N/N), N over D (N/D), D over N (D/N) or D over D (D/D). Cells grown on inserts were exposed to insulin (1 nM, 2 minutes) and adenosine uptake (10  $\mu$ M adenosine, 4  $\mu$ Ci/ml [<sup>3</sup>H]adenosine, 22°C, 20 seconds) was measured in cells grown in the wells. **Results.** In absence of insulin, adenosine uptake was lower ( $P < 0.05$ , ANOVA two ways,  $n=3$ ) in cells from GD compared with normal pregnancies (60  $\pm$  6%). Coculturing N/N, D/N or D/D did not alter ( $P > 0.05$ ) adenosine uptake; however, in N/D cocultures adenosine uptake increased in cells from GD to values detected in cells from normal pregnancies (N/D  $\sim$ 1.3). In presence of insulin, adenosine uptake was increased in cells from normal pregnancies in N/N cocultures and from GD pregnancies in N/D cocultures ( $\sim$ 1.5); however adenosine uptake did not change in D/N cocultures ( $\sim$ 1.0). **Conclusion.** Cells from normal pregnancies reverse the GD phenotype to one in normal pregnancies, an effect potentiated by insulin in human fetal endothelium. Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24090190, and FONDECYT 1070865 & 1080534 (Chile). C Puebla and E Guzmán-Gutiérrez hold CONICYT-PhD (Chile) fellowships.

**P37. EXPRESIÓN DE LOX-1 Y EFECTO DE LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD OXIDADA SOBRE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES HUMANAS.**

Veas Barboa C, Fernández P, Aguilera V, Díaz F, Lamperti L, Aguayo C. Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Las células progenitoras endoteliales humanas (hEPC) son definidas como células monopotentes, que puede autorenovarse y tienen la capacidad de diferenciarse a células endoteliales maduras. Lox-1, es un receptor activado por lipoproteínas de baja densidad oxidada (oxLDL). No existen estudios que demuestran la expresión de Lox-1 y su funcionalidad en hEPC. Por lo tanto el objetivo de este trabajo es demostrar la expresión de Lox-1 en hEPC. Las hEPC, fueron aisladas desde sangre periférica a partir de la capa de células mononucleares en gradiente de Histopaque y cultivadas por 3 días (hEPC-3d) y/o 14 días (hEPC-14d). El recuento celular fue realizado mediante el método de exclusión por azul de tripán y la expresión de Lox-1 fue determinada por PCR en tiempo real. Las hEPC-3d y hEPC-14d expresan Lox-1, sin embargo la expresión de Lox-1 es significativamente menor en hEPC en comparación con células endoteliales de vena umbilical humana. Los niveles de expresión de Lox-1 son significativamente mayor en hEPC-3d en comparación con hEPC-14d. La incubación de hEPC-3d con oxLDL no induce cambios significativos en la viabilidad de hEPC-3d, sin embargo, aumenta la expresión de Lox-1. Estos resultados demuestran que Lox-1 se expresa en hEPC y puede estar involucrado en fenómenos de disfunción endotelial.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT de Iniciación 11070035, DIUC-UDEC 205.072.032-1.0, 205.072.031-1.0

**P38. LA INHIBICIÓN DE CICLOOXIGENASA-2 CONTRIBUYE A LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD RENAL EN UN MODELO DE INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.**

Erpel JM, Rivera JC, Céspedes C, Vio CP. Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration CARE, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La insuficiencia renal crónica (IRC) corresponde a una situación patológica con pérdida progresiva de la función y presencia de fibrosis renal. Los sistemas renina y caliceína con sus mediadores, entre ellos Ciclooxygenasa-2 (COX-2) son importantes para la mantención de la morfología renal. Se ha postulado que COX-2 contribuye a la lesión renal y que su inhibición tendría efectos benéficos en la IRC. Sin embargo, COX-2 participa en importantes procesos fisiológicos, por lo que postulamos como hipótesis que la inhibición de COX-2 favorece la progresión del daño renal. Ratas Sprague Dawley, con IRC (nefrectomía 5/6) fueron divididas en 3 grupos (n=5 c/grupo) y fueron tratadas con: inhibidor de la actividad de COX-2 (Celecoxib 20 mg/kg/d), y un inhibidor de la síntesis de COX-2 (Dexametasona 50 ug/kg/d) durante 4 semanas. Se midió presión arterial, función renal, análisis morfológico e inmunohistoquímica. Los resultados muestran que la inhibición de COX-2 aumenta el daño y fibrosis renal con aumento de Osteopontina y macrófagos (ED-1) tubulointersticiales. El aumento del daño morfológico se acompaña con un aumento en la creatinemia  $1,6 \pm 0,65$  mg/dl (Celecoxib), y  $1,5 \pm 0,5$  mg/dl (Dexametasona), en comparación con los animales no tratados ( $1,28 \pm 0,05$  mg/dl).  $P < 0,05$ . En relación a la presión arterial no se observan diferencias significativas en los animales tratados con Celecoxib ( $171 \pm 24$  mmHg), o Dexametasona ( $195 \pm 13$  mmHg), en comparación con los no tratados ( $177 \pm 10$  mmHg). Estos resultados muestran que la inhibición de COX-2 contribuye a la progresión de la IRC y produce agravamiento de esta patología.

Financiado por Fondecyt 1080590, PFB 12-2007

**P39. EFECTO DE BOLDINA EN RATAS DIABÉTICAS.**

Hernández R, Cea LA, Vielma A, Cigarra L, Calquin F, Sáez JC, Boric MI, Velarde MV. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La diabetes es una enfermedad sistémica en la que destacan alteraciones en la función cardíaca y renal. Los tratamientos utilizados actualmente sólo retardan la progresión del daño, por esto se ha planteado un tratamiento complementario con extractos de plantas medicinales. La Boldina, un alcaloide del Boldo, posee gran poder antioxidante, antiinflamatorio, hipoglicémico y bloquea los hemicanales formados por conexinas (HCs-Cxs). Por lo cual, planteamos que el tratamiento con Boldina podría prevenir alteraciones que se manifiestan en condiciones diabéticas. Ratas macho Sprague-Dawley se hicieron diabéticas con streptozotocina. Transcurridas 5 semanas se subdividieron en 2 subgrupos; uno recibió diariamente agua y el otro recibió Boldina mediante "gavage" durante 10 semanas. En ratas diabéticas y controles se evaluó la presión sanguínea, el daño renal, la captación de etidio (Etd) en fibras musculares esqueléticas y el trabajo cardíaco en corazón aislado. En las ratas diabéticas, aumentó la presión sanguínea y la captación de Etd a través de HCs-Cxs y disminuyó el trabajo cardíaco. En riñones de ratas diabéticas aumentaron los niveles de colágeno III y  $\alpha$ -SMA, proteínas marcadoras de daño tisular. En cambio, las ratas diabéticas tratadas con Boldina presentaron valores comparables a los controles. Éstos resultados sugieren que Boldina previene algunas degeneraciones tisulares observadas en diabetes.

FONDEF D071086 y Anillo ACT71

**P40. BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL FETAL EN LA RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO EN UN MODELO EXPERIMENTAL EN CONEJAS.**

Suazo C, Figueroa H<sup>1,2</sup>, Carreño JE<sup>1</sup>, Quiroz M<sup>1</sup>, Vergara C<sup>1</sup>, Verdugo F<sup>1</sup>, Eixarch E<sup>3,4</sup>, Hernández E<sup>3,4</sup>, Gratacos E<sup>2</sup>, Villanueva S<sup>1</sup>, Irrazábal CE<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Santiago-Chile; <sup>2</sup>Clínica Dávila; <sup>3</sup>Departamento de Medicina Materno-Fetal (ICGON), Hospital Clinic-IDIBAPS, Universidad de Barcelona y Centro de Investigación de Enfermedades Raras (CIBER-ER), España; <sup>4</sup>Instituto Nacional de Perinología (INPER), México.

El retardo de Crecimiento Intrauterino (RCIU) está asociado con un alto riesgo de desórdenes en el desarrollo fetal normal. Estudios epidemiológicos y modelos animales sugieren una estrecha correlación entre el RCIU y una predisposición para el desarrollo de enfermedades en el adulto. En la presente investigación proponemos estudiar el efecto del RCIU en la abundancia proteica de genes relacionados con daño genómico, hipoxia, estrés osmótico e inflamación en el riñón de fetos sometidos a un modelo experimental de RCIU en conejas. Conejas New Zealand, preñadas de 25 días, fueron sometidas a la ligadura del 20-30% o 40-50% de los vasos uteroplacentales de cada feto para producir RCIU mediana y severa, respectivamente. En cada coneja madre se consideraron fetos sin la oclusión uteroplacentar como controles. Después de 5 días de la cirugía fetos vivos (controles y RCIU) fueron sacrificados y los riñones fueron homogeneizados para analizar la expresión de proteínas por técnicas de Western blot. Los fetos sometidos a RCIU poseen un peso corporal inferior a controles ( $p < 0,05$ ). La abundancia proteica de HIF-1 $\alpha$ , ( $p < 0,05$ ), ATM ( $p < 0,05$ ), NGAL ( $p < 0,05$ ), IL-1 $\beta$  ( $p < 0,05$ ) y TonEBP ( $p < 0,05$ ), pero no AR, fueron significativamente mayores en los riñones de fetos sometidos a RCIU que en los controles. Estos datos demuestran que el RCIU experimental induce la expresión génica en el riñón fetal de genes de respuesta a inflamación, hipoxia, estrés osmótico y daño genómico, sugiriendo que el RCIU aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades renales. (FONDECYT 1100885; FAIMED-003-09).

**P41. LA ADMINISTRACION DE CELULAS TRONCALES REDUCEN EL DAÑO EN ENFERMEDAD RENAL CRONICA.**

Vergara C<sup>1</sup>, Carrión A F<sup>2</sup>, Ewertz M E<sup>1</sup>, Céspedes C<sup>3</sup>, Irrarázabal C<sup>1</sup>, Carreño JE<sup>1</sup>, Figueroa F<sup>2</sup>, Vio CP<sup>3</sup> y Villanueva SM<sup>1</sup>. 1. Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes. 2. Laboratorio de Inmunología, Universidad de los Andes. 3. Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration (CARE), Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública mundial. Se define como la pérdida irreversible de la función renal que cursa con una alta incidencia y prevalencia. Actualmente, las terapias usadas disminuyen la proteinuria pero no detienen la evolución del daño fibrótico renal ni la pérdida de función. Postulamos como hipótesis que el tratamiento con células troncales mesenquimales (CTM) reduce la progresión de la ERC.

Ratas macho adultas Sprague-Dawley fueron sometidas a nefrectomía 5/6 (Nx) e inyectadas con CTM (0.5x10<sup>6</sup>). Un grupo fue inyectado con el medio de cultivo (X-Vivo) y fue usado como control. Los animales se sacrificaron a la quinta semana. La función renal fue analizada por creatinemia; el daño morfológico mediante morfología convencional (Hematoxilina-Eosina) e inmunohistoquímica de macrófagos (ED-1) y miofibroblastos ( $\alpha$ -SMA). La regeneración se evaluó por morfología y la expresión de nefrogenes analizados por inmunohistoquímica y Western blot.

Los animales Nx tratados con CTM mostraron una disminución de la creatinemia y los marcadores de daño (ED-1 y  $\alpha$ -SMA) comparados con su grupo control ( $p < 0.05$ ). En el mismo grupo se observó un aumento significativo de proteínas nefrogénicas (Pax-2, Vimentin, bFGF, BMP-7) y angiogénicas (VEGF, Tie-2). Estos resultados sugieren la participación de CTM en la reparación del daño en la ERC mediante la inducción de nefrogenes. Estos resultados abren nuevas perspectivas de estudio y tratamiento de la ERC. Financiado por Fondecyt 11075029; 1080590 y PFB 12-2007.

**P42. PAPEL DE ADENOSINA EN LA INDUCCIÓN DE UN FENOTIPO PROFIBRÓTICO EN CÉLULAS MESANGIALES DE RATA.**

Fuentealba, V., Guaiquil, O., Roa, H., Peiñan, L., Quezada, C., San Martín, R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La progresión de la nefropatía diabética (ND) se caracteriza por fibrosis renal especialmente marcada en los glomérulos. La transdiferenciación miofibroblástica de las células mesangiales es uno de los eventos claves que conllevan a un fenotipo profibrótico. Previamente hemos cuantificado un aumento de la biodisponibilidad de adenosina en glomérulos de ratas diabéticas. Además, en glomérulos expuestos a altas concentraciones de glucosa (25mM) un agonista general de los receptores de adenosina incrementó la liberación del factor transformante beta 1 (TGF $\beta$ ) el cual es un mediador de la glomeruloesclerosis. Nuestro objetivo fue estudiar el papel de adenosina y sus receptores sobre la función de las células mesangiales y su probable papel profibrótico. Resultados. Identificamos la expresión de los transportadores de nucleósidos equilibrativos ENT1 y ENT2 en células mesangiales de rata. Cuantificamos una menor actividad de transporte en las células mesangiales de rata expuestas a altas concentraciones de glucosa (25mM), asimismo una menor expresión del transportador ENT1, lo cual podría contribuir al incremento de la biodisponibilidad de adenosina en los glomérulos de animales diabéticos. La inducción de la transformación miofibroblástica de las células mesangiales, utilizando TGF $\beta$ , fue bloqueada por un antagonista del receptor de adenosina A<sub>2B</sub>. Conclusiones. La glomeruloesclerosis que caracteriza a la ND podría ser mediada por el aumento de adenosina extracelular y la transformación miofibroblástica de las células mesangiales mediado por el receptor de adenosina A<sub>2B</sub>.

Financiamiento. Proyecto FONDECYT 1100484.

**P43. RESIDUOS DE CISTEÍNA INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN POR ÓXIDO NÍTRICO DE HEMICANALES DE CX46 EXPRESADOS EN OOCITOS DE XENOPUS LAEVIS.**

Alcaíno CA, Retamal MA.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo. Santiago, Chile.

Las conexinas corresponden a proteínas transmembrana ampliamente estudiadas por su relevancia en la comunicación célula-célula. Se estructuran formando uniones de hendidura y hemicanales. Estos últimos son relevantes en términos de regulación celular, permitiendo censar el medio extracelular y así ser permeables a distintas moléculas en relación a las condiciones de este. Existen distintas conexinas, las cuales pueden ser moduladas por diversos factores, como: calcio extracelular, pH, cationes divalentes, el estado redox de la célula, etc. Este último factor es determinante al revisar estudios previos en que mediante el uso de donadores de óxido nítrico (agente oxidante altamente reactivo) se observaron cambios en la amplitud y la conductancia de corrientes de hemicanales de Cx46, donde el blanco más probable son los grupos thiol de los residuos de cisteína intracelulares.

**Resultados:** La incubación con 1 mM de GSNO durante 40 minutos en oocitos de *Xenopus laevis* expresando Cx46WT y mutantes C283A, C321A y DCT, mostró cambios en la amplitud y cinética de las corrientes de entrada y de cola en el caso del WT y el mutante C321A, mientras el tratamiento con 10 mM de nitroprusiato de sodio generó cambios en el WT y el mutante C283A. Los efectos de oxidación fueron revertidos al utilizar 10 mM de DTT durante 60 minutos, en oocitos expresando Cx46 WT.

**Conclusiones:** Existe una modulación por NO de las corrientes de la Cx46, por un proceso de S-nitrosilación de los residuos de cisteína intracelulares, el cual ocurre de manera diferencial en distintos mutantes y donores utilizados.

Financiado por FONDECYT 11080061.

**P44. TRIÓXIDO DE ARSÉNICO AUMENTA LA ACTIVIDAD NHE1 Y AUMENTA LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÉLULAS MDCK.**

<sup>1</sup>Aravena,C., <sup>1,2</sup>Beltrán,A., <sup>1</sup>Cornejo,M., <sup>3</sup>Sobrevía,L., <sup>1</sup>Ramírez,M.A.

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, <sup>2</sup>Departamento de Educación, Facultad de Educación y Ciencias Humanas, Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Pontificia Universidad Católica de Chile.

Estudios han descrito que un aumento en la actividad de NHE1, lleva a un incremento del pH intracelular (pHi), favoreciendo la proliferación celular. Por otra parte, arsénico es un conocido agente carcinogénico que promueve aumento de la proliferación celular en diversos tejidos. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sobre el pHi, la actividad de NHE1 y la proliferación en células MDCK. Se determinaron el pHi utilizando la sonda sensible a pH BCECF-AM y la proliferación celular vía LDH. Células MDCK controles mostraron un pHi de 7,16±0,04 (n=17) aumentando a 7,59± 0,03 (n=13) después de 48 horas de incubación con As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,05µM). En las mismas condiciones, se determinó la actividad de NHE1 observándose una mayor velocidad de recuperación en células tratadas con arsénico (0,29±0,02 unidades de pH/min; n=10) con respecto a sus controles (0,15±0,01 unidades de pH/min; n=14). El flujo de protones (J<sub>H+</sub>) fue significativamente mayor en el grupo tratado (0,67±0,10 mM/seg; n=10) v/s control (0,25±0,04 mM/seg; n=14), sin observarse modificaciones en la capacidad tamponante intrínseca. La cinética del flujo de H<sup>+</sup> dependiente de Na<sup>+</sup>, mostró aumento del Vmax en células incubadas con arsénico, sin observarse modificación entre el Km control y experimental. A través del análisis de los parámetros cinéticos, se determinó que NHE1 extruye H<sup>+</sup> con una eficiencia de aproximadamente un 96% respecto al transportador en su condición control. La alteración de la actividad de NHE1 fue coherente con un aumento en la expresión del intercambiador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> al analizar crudo de membrana plasmática total a través de Western blot. Estos resultados en conjunto muestran que arsénico aumenta la proliferación celular a través de un incremento en el eflujo de protones vía NHE1, con el consecuente aumento en el pHi, lo que se asoció con un aumento en la expresión del transportador en la membrana plasmática de células MDCK.

Financiamiento: VRA-2009 Universidad de Antofagasta

**P45. EFECTO DEL INMUNOSUPRESOR TACROLIMUS SOBRE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DE LA PROTEINA DE RESISTENCIA MÚLTIPLE A DROGAS MRP1 EN GLIOMAS DE ALTO GRADO.**

Muñoz M., Peigñan L., Garrido W., Salinas J., Quezada C. Laboratorio Patología molecular y Bioquímica Farmacología, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

**INTRODUCCION.** Glioblastoma multiforme (GBM) es la forma más agresiva de los tumores cerebrales. Estudios en este cáncer señalan al transportador Mrp1 (*multiple-drug resistance protein 1*) como el encargado de producir la resistencia a la quimioterapia y falla en el tratamiento de esta enfermedad. Existen evidencias que sugieren que tacrolimus (FK506) modula el transporte de drogas en líneas que sobreexpresan estos transportadores, sugiriendo que la modulación a través de este inmunosupresor puede mejorar los resultados terapéuticos de medicamentos sustratos de estas proteínas. **OBJETIVOS.** Determinar el efecto de FK506 sobre la expresión y actividad del transportador Mrp1 y estudiar la viabilidad celular en conjunto con drogas antitumorales, sustratos de este transportador, en células T98G y cultivo primario de GBM. **RESULTADOS.** FK506 a concentraciones terapéuticas (15ng/ml) disminuyó en un 25% la expresión de Mrp1 por ensayos de *western blot* y un 49% la actividad de este transportador medido por acumulación del sustrato fluorescente CFDA. También observamos una disminución significativa de un 52%, 33% y 26% respectivamente, de la viabilidad celular por ensayos de MTT, al someter las células de GBM al tratamiento en conjunto de FK506 y las drogas antitumorales taxol, vincristina y etoposido. **CONCLUSIONES.** La identificación de quimiosensibilizadores, tales como tacrolimus, que inhiben la actividad del transportador de resistencia a drogas Mrp1, permitiría aumentar la biodisponibilidad intracelular de fármacos en las células tumorales cerebrales, lo cual permitiría mejorar el deficiente estado actual de la terapia de gliomas humanos de alto grado.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt N°11080226 y DID-UACH: SB-2007-68.

**P46. EL EXTREMO AMINO TERMINAL DEL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT11 ES IMPORTANTE PARA SU LOCALIZACIÓN SUBCELULAR.**

Ibáñez S<sup>1</sup>, Villagrán M<sup>3</sup>, Morales C<sup>1</sup>, Faúndez V<sup>2</sup>, Vera JC<sup>3</sup>, Rivas C<sup>3</sup> y Mardones L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas y Morfología, Facultad de Medicina. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Biotecnología en Acuicultura. Facultad de Ingeniería. Universidad Católica de la Santísima Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Antioxidantes. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

Los 14 transportadores facilitativos de hexosas (GLUTs) existentes poseen una estructura secundaria común, con una topología de 12 dominios transmembrana. Se estudió la importancia del extremo amino terminal del transportador GLUT11 en su localización y función, para lo cual se clonó una de sus tres variantes desde células endoteliales de barrera hematoencefálica HBMEC (GLUT11C) y se generó una mutante con delección de los primeros 68 aminoácidos, correspondiente al extremo amino terminal intracelular, el primer dominio transmembrana y el primer lazo extracelular, denominada GLUT11CΔ1-68. Se realizaron análisis funcionales y de localización subcelular de ambos transportadores expresados en fusión con GFP en células HEK-293. Mediante microscopía confocal se observó que GLUT11C se localiza a nivel de la membrana plasmática, mientras que GLUT11CΔ1-68 se localiza intracelularmente, colocalizando parcialmente con retículo. Por otro lado, los estudios funcionales revelaron que una proporción de la mutante GLUT11CΔ1-68 también se expresa a nivel de la membrana plasmática, porque presentó el mismo comportamiento cinético de GLUT11C silvestre, pero en menor proporción. El transporte de 2-desoxiglucosa de GLUT11C y de su mutante, fue disminuido en forma proporcional por concentraciones crecientes de citocalasina B y fructosa. Concluimos que los primeros 68 aminoácidos de GLUT11C son determinantes en su localización subcelular, pero no en su funcionalidad. Los resultados obtenidos pueden ser extrapolados a las otras variantes de GLUT11, ya que sólo difieren en los primeros 14 aminoácidos de su extremo amino terminal. Proyecto DIN 04/2010 Universidad Católica de la Sma. Concepción y beca CONICYT de M.V.

**P47. TRPM4 PRODUCE NECROSIS ENDOTELIAL INDUCIDA POR LIPOLISACÁRIDO: NUEVO BLANCO FARMACOLÓGICO CONTRA LA SEPSIS.**

Becerra A<sup>1</sup>, Echeverría C<sup>1</sup>, Sarmiento D<sup>1</sup>, Varela D<sup>3</sup>, Armisen R<sup>3</sup>, Núñez-Villena F<sup>1</sup>, Montecinos M<sup>2</sup>, Simon F<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas & Facultad de Medicina y <sup>2</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. <sup>3</sup>CEMC & ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Sepsis es una de las primeras causas de mortalidad en pacientes críticamente enfermos, la que puede ser provocada, entre otras causas, por la exposición a lipopolisacárido (LPS). Células endoteliales (CE) expuestas a LPS mueren principalmente por necrosis dependiente de especies reactivas del oxígeno (ROS), proceso que podría estar mediado por la entrada desregulada de Na<sup>+</sup> a través de algún canal catiónico no-selectivo (CCNS). A pesar de numerosos estudios, la identidad de este canal no se ha identificada. TRPM4 (*Transient Receptor Protein Melastatine-4*) es un CCNS que conduce cationes monovalentes como el Na<sup>+</sup>, cuya actividad aumenta cuando se expone a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, además que la disminución de la expresión del canal decrece la necrosis inducida por ROS. Así, nosotros estudiamos la participación TRPM4 en la muerte endotelial inducida por LPS. **Resultados:** La muerte de HUVEC (*human umbilical vein endotelial cells*) expuestas a LPS disminuyó mediante el uso de los inhibidores de TRPM4, *9-Phenanthrol* y Glibenclámda o reemplazando el Na<sup>+</sup> extracelular por el catión monovalente impermeante NMDG<sup>+</sup>. CE expuestas a LPS incrementaron la corriente de TRPM4, la despolarización de la membrana celular, el aumento [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> y el aumento del volumen celular. La inhibición de la expresión de TRPM4 mediante siRNA y shRNA o la disminución de la actividad de TRPM4 usando un dominante negativo, disminuyó la muerte de CE expuestas a LPS. **Conclusión:** Estos resultados demuestran que TRPM4 cumple un papel clave en la progresión de la muerte endotelial inducida por LPS, presentando un nuevo blanco farmacológico para el desarrollo de terapias contra la sepsis. Financiamiento: Fondecyt 11080119 (FS), UNAB-DI-40-09/R (FS), Fondecyt 11080019 (DV).

**P48. CICLOOXIGENASA-2 ES REGULADA POR RETROALIMENTACIÓN NEGATIVA VÍA RECEPTOR rEP3 DE PGE<sub>2</sub>**

Vio CP<sup>1</sup>, Pedraza P<sup>2</sup>, Cespedes C<sup>1</sup>, Ferreri NR<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Center for Aging and Regeneration CARE, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. <sup>2</sup>Department of Pharmacology, New York Medical College, New York, USA.

La Ciclooxigenasa-2 (COX-2), una enzima clave en la producción de prostaglandinas (PGs), se expresa constitutivamente en el asa ascendente gruesa de Henle (TAL) del riñón, contribuye de manera importante a la función renal y su expresión es altamente regulada. En estudios previos hemos observado que la administración de inhibidores selectivos de COX-2 aumentan la expresión de COX-2, lo que nos permite postular, como hipótesis, que los niveles de la enzima son regulados por su producto (PGE<sub>2</sub>) con una retroalimentación negativa sobre su receptor rEP3. Ratas Sprague-Dawley (200g, n=5 c/grupo) fueron tratadas con inhibidores selectivos de COX-2 (Celecoxib 20 mg/kg/día o Rofecoxib 10 mg/kg/día), y un análogo sintético estable de PGE<sub>2</sub>, Sulprostone (que actúa en rEP3). Sulprostone se administró por bomba osmótica en dos modalidades: Prevención y Regresión del efecto (administrado antes y después de la inhibición selectiva de COX-2). COX-2 fue cuantificada por análisis morfológico de la tinción tisular y por Western blot. Los resultados muestran que ambos inhibidores selectivos aumentan significativamente COX-2 medida por número de células inmunoteñidas o Western blot, (P<0.05). El pretratamiento con el agonista de PGE<sub>2</sub>, Sulprostone, previene el aumento de COX-2 la que se mantiene en valores basales. Asimismo la administración de Sulprostone al día 5 de inhibición de COX-2, disminuye significativamente los niveles de COX-2 (P<0.05), llegando a niveles controles. Estos resultados confirman que COX-2 se expresa normalmente en células TAL de riñones normales y demuestran que tiene una regulación por retroalimentación negativa vía PGE<sub>2</sub> y rEP3.

Financiado por Fondecyt 1080590 y PFB 12-2007.

**P49. LA GLIOTRASMISIÓN ESPONTÁNEA DE GLUTAMATO REGULA EL UMBRAL DE INDUCCIÓN DE PLASTICIDAD SINÁPTICA** (Spontaneous Glutamate Gliotransmission regulates the induction threshold for synaptic plasticity)

Álvarez Ferradas, C., Fuenzalida, M., Roncagliolo, M., Bonansco, C. Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, CHILE

En sinápsis centrales la probabilidad de liberación (Pr) de glutamato representa un blanco para un gran número de señales modulatorias, incluidas el glutamato liberado desde los astrocitos. Aunque Pr es un parámetro determinante de la eficacia sináptica, poco se sabe de la contribución de la actividad espontánea astrogliar en la inducción de plasticidad sináptica. Utilizando registros electrofisiológicos e imágenes de  $Ca^{2+}$  de neuronas piramidales de CA1 en rebanadas, estudiamos los efectos de la inhibición farmacológica de la señalización astrogliar sobre la plasticidad sináptica del hipocampo. En condiciones control, la aplicación del protocolo STDP (*spike time dependent plasticity*) indujo un aumento de la amplitud de las corrientes postsinápticas excitatorias evocadas (EPSCs). La inducción de potenciación fue bloqueada tanto por la gliotoxina fluorocitrato (FC) como por antagonistas para los receptores metabotrópicos de glutamato del grupo I (mGluRs I), efecto que fue revertido aumentando la duración del protocolo de STDP. Conjuntamente, la frecuencia de las corrientes excitatorias en miniatura (mEPSC), de las corrientes de lentas dependientes de glutamato astrogliar (SOC) y de las oscilaciones de  $Ca^{2+}$  astrogliar disminuyeron en presencia de FC. En presencia de los antagonistas de mGluRs, tanto la frecuencia de oscilaciones de  $Ca^{2+}$  astrogliar como de la SOC no mostraron cambios significativos, mientras que la frecuencia de las mEPSC disminuyó. Estos resultados sugieren que la liberación espontánea de glutamato desde los astrocitos contribuye a fijar la Pr basal a través activación de mGluRs, operando como un mecanismo de control de ganancia que regula el umbral para la inducción de plasticidad sináptica. FONDECYT 1100385 y DIPUV 03/2008 CB; FONDECYT 11090059 y DIPUV46/2007 MF; DIPUV40/2007 MR; CID01/2006.

**P50. RELACIÓN ENTRE UNA CORRIENTE ACTIVADA POR HIPERPOLARIZACIÓN ( $I_h$ ) Y LAS PROPIEDADES ELÉCTRICAS EN NEURONAS PETROSAS DE CONEJO.** Boncompagni, G., Ortiz F.C., Alcayaga J. Laboratorio de Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se ha demostrado que la presencia de una corriente catiónica inespecífica activada por hiperpolarización ( $I_h$ ) se relaciona con la generación de patrones de descarga repetitiva en neuronas. Ya que neuronas del ganglio petroso presentan actividad espontánea con intervalos inter-espiga irregulares y existe evidencia, en otros sistemas, de su relación con la presencia de rectificación anómala por la activación de una corriente  $I_h$ , estudiamos la relación entre la rectificación anómala y las propiedades eléctricas de las neuronas petrosas. 8 ganglios petrosos de conejos machos New Zealand White ( $1.78 \pm 0.52$  Kg) fueron extraídos, superfundidos con solución Hank's (pH= 7.43,  $34^\circ\text{C}$ ) en una cámara y registrados intracelularmente con microelectrodos llenos con KCl 3M ( $R \approx 40\text{M}\Omega$ ). En respuesta a pulsos hiperpolarizantes de 90ms, el 23% de las neuronas presentaron rectificación anómala ( $N_{RA}$ ;  $n=7$ ). Las neuronas  $N_{RA}$  presentaron un menor potencial de membrana en reposo ( $-55.9 \pm 2.5$  vs  $-48.3 \pm 1.2$  mV), menor capacidad de membrana ( $34.5 \pm 6.3$  vs  $70.4 \pm 8.6$  pF), menor constante de tiempo ( $1.0 \pm 0.1$  vs  $1.7 \pm 0.2$  ms) y mayor amplitud del potencial de acción ( $65.4 \pm 3.2$  vs  $44.8 \pm 2.0$  mV) que el resto de las neuronas del ganglio. Nuestros resultados muestran que existe una población  $N_{RA}$  en el ganglio petroso, además que estas poseen propiedades eléctricas particulares y por último sugieren que la actividad espontánea observada en neuronas petrosas podría explicarse por la presencia de una corriente  $I_h$ .

Financiado por proyecto FONDECYT 1090157.

**P51. EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS NEUROQUÍMICOS EN EL NÚCLEO ACCUMBENS DE LA RATA INDUCIDOS POR EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON QUINPIROLE, UN MODELO ANIMAL DEL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO.**

Cornejo E., Gysling K, Fuentealba JA y Andrés MA. Núcleo Milenio en Estrés y Adicción; Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Ratas tratadas repetidamente con quinpirole, un agonista dopaminérgico D2/D3, produce sensibilización locomotora y un comportamiento de chequeo compulsivo, por lo que se ha propuesto como un modelo animal del trastorno obsesivo-compulsivo (TOC). Nuestro objetivo es caracterizar los cambios neuroquímicos en el Núcleo Accumbens (NAc) de ratas tratadas repetidamente con quinpirole. Ratas macho Sprague-Dawley fueron inyectadas con 8 dosis de quinpirole (0,5 mg/kg s.c.) y la actividad locomotora fue monitoreada durante una hora inmediatamente después de cada inyección. Cuarenta y ocho horas después de la última inyección de quinpirole se realizó una microdialisis *in vivo* en el NAc de ratas anestesiadas. Las ratas control fueron inyectadas con solución salina siguiendo el mismo procedimiento. Como se ha reportado previamente, el tratamiento repetido con quinpirole produjo un aumento progresivo de la actividad locomotora, estabilizándose alrededor de la 6ª inyección. En el NAc de ratas tratadas crónicamente con quinpirole se observa una leve disminución en los niveles extracelulares basales de dopamina y una disminución significativa en los niveles extracelulares de dopamina inducidos por  $K^+$  70 mM. Al perfundir quinpirole a través de la sonda de microdialisis se indujo una disminución de los niveles extracelulares de dopamina similar entre ratas control y ratas tratadas repetidamente con el agonista, lo cual indica que el tratamiento crónico con quinpirole no produce desensibilización de los auto-receptores D2. En conclusión, el tratamiento repetido con quinpirole produce sensibilización locomotora y disminución de los niveles extracelulares de dopamina en el NAc. Financiado por Fondecyt Proyecto1070349 y Núcleo-Milenio Proyecto N° P06/008-F

**P52. CLOZAPINE PRE-TREATMENT ATTENUATES THE EXPRESSION OF LOCOMOTOR SENSITIZATION AFTER REPEATED TREATMENT WITH AMPHETAMINE**

Fuentealba J.A.<sup>1,2</sup>, Herrera A.<sup>1,2</sup>, Casanova J.P.<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Millennium Science Nucleus in Stress and Addiction; <sup>2</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Chemistry.

Amphetamine locomotor sensitization has been associated to the development of drug addiction and psychotic symptoms of schizophrenia. Clozapine is an atypical antipsychotic currently used in the treatment of schizophrenia and related schizo-affective disorders. Clozapine blocks the hyperlocomotion induced by an acute injection of amphetamine, but its effect on locomotor sensitization after repeated administration of amphetamine remains uncertain. The aim of the present study was to investigate the effect of repeated clozapine administration on the both, initiation and expression of locomotor sensitization, after repeated amphetamine administration. Male Sprague-Dawley rats were injected once daily with amphetamine (1.5 mg/kg i.p.) for 5 consecutive days. Horizontal locomotor activity was measured during 40 min post amphetamine. Four days after the last injection (washout period) an acute amphetamine dose was administered to assess expression of sensitization. To study the effect of clozapine on the initiation of amphetamine sensitization, clozapine (5 mg/kg i.p.) was injected once daily for 4 consecutive days before starting the sensitization schedule (clozapine pre-treatment). To study the effect of clozapine on the expression of amphetamine sensitization, clozapine (5 mg/kg i.p.) was injected once daily for 4 consecutive days during the washout period (clozapine treatment). Pre-treatment with clozapine significantly attenuated acute amphetamine-induced hyperlocomotion and the expression of locomotor sensitization induced by repeated amphetamine administration. Treatment with clozapine had no effect on the expression of locomotor sensitization. These data suggest that clozapine at this dose prevents but does not reverse the neuroplastic changes that underlie to locomotor sensitization

Supported by FONDECYT Grant N° 11075068 and MSI grant N° P06/008-F

**P53.  $\alpha$ -BUNGAROTOXIN-SENSITIVE NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS REGULATE BIOGENIC AMINES RELEASE FROM THE *DROSOPHILA MELANOGASTER* BRAIN.**

Fuenzalida-Urbe N, <sup>1</sup>Hoffmann HA, <sup>1</sup>Meza RC, <sup>1</sup>Varas R, <sup>1</sup>Campusano JM. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y <sup>2</sup>Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Dopamine and octopamine are relevant invertebrate biogenic amines (BAs) engaged in several physiological functions including motor control, learning and memory and motivated behaviours. In *Drosophila* brain, nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) mediate fast excitatory synaptic involved in generation of complex behaviours, including responses to drugs of abuse. Therefore we studied if, as it happens in the vertebrate brain, activation of nAChRs can regulate the release of BAs. Freshly dissected brains were obtained from adult *Drosophila melanogaster* flies and placed in a recording chamber under constant superfusion (3ml/min). Electrochemical detection of BAs outflow was done using a Nafion-coated carbon electrode connected to a computer-controlled chronoamperometric system (IVEC-10, Medical System Corp). Fast nicotine application induces transient, dose-dependent increases in BAs release. The nicotine-evoked response has an apparent threshold at 100 $\mu$ M of nicotine (19 $\pm$ 4% of maximal BAs release, achieved at 5mM of nicotine). The non-selective nAChR blocker hexamethonium (10 $\mu$ M) failed to consistently blocks the response, however partial reversible block of the nicotine-evoked response was observed under constant superfusion with the homomeric nAChR blocker  $\alpha$ -bungarotoxin (10nM, 78 $\pm$ 12% inhibition of basal BAs) Our results show that activation of  $\alpha$ -bungarotoxin-sensitive nAChRs increases the release of BAs such as dopamine and octopamine from intact isolated fly brains. Thus, our results support the hypothesis that in the fly brain, nAChRs are not only involved in fast cholinergic signaling but also in the regulation of other neurotransmitters.

Funded by Proyecto Limite VRAID-PUC 11/2009, ICM N° 06/008-F and FONDECYT 1100965.

**P54. LA ADMINISTRACIÓN REPETIDA DE COCAÍNA PREVIENE LA LIBERACIÓN DE DA INDUCIDA POR ESTRÉSINA-I EN EL SEPTUM LATERAL DE RATAS.**

Sotomayor-Zárate R, Renard G. M., Araya K. A., Ibañez M. R., Carreño P., Gysling K. Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA). Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La abstinencia a drogas de abuso es considerada un potente estresor. El septum lateral (SL) es una estructura relevante tanto en la respuesta de estrés como en los efectos de drogas de abuso. El objetivo de este trabajo fue investigar los efectos de la abstinencia a cocaína sobre los niveles extracelulares de dopamina (DA) en el SL inducida por un agonista del receptor CRH-1 y por un estímulo despolarizante de K<sup>+</sup>. Ratas macho Sprague-Dawley se sometieron a un tratamiento crónico con cocaína (15 mg/kg i.p., dos veces al día) durante 14 días. Los niveles extracelulares de DA se estudiaron 24 horas y 21 días después de la última administración de cocaína por microdiálisis. Durante el tratamiento los animales mostraron un incremento diario en la actividad locomotora y se observó preferencia al compartimento apareado a la droga (preferencia de lugar condicionada). El estímulo con 110 mM de K<sup>+</sup> aumentó significativamente los niveles extracelulares de DA en el SL de ratas tratadas con cocaína, 24 horas después de la última dosis comparado con las ratas controles. En contraste, la infusión intra LS de estresina-I aumentó significativamente los niveles extracelulares de DA en el SL de ratas controles, pero no de las ratas tratadas con cocaína, tanto 24 hs como 21 días después de la última inyección. Por lo tanto, la administración crónica de cocaína aumenta la liberación de DA inducida por despolarización y previene la liberación de DA inducida por la activación del receptor CRH-1 en el SL.

Financiado por ICM N° P06/008-F, FONDECYT N° 3095007 (R.S-Z) y N° 1070340 (K.G.).

**P55. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NEURONAS OREXINÉRGICAS EN EL SEPTUM MEDIAL DEL CEREBRO DE RATA.**

M. Vergara, V. Noches, E. Blanco, K. Gysling. Núcleo Científico Milenio "Estrés y Adicción". Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Orexina o hipocretina es el nombre que se le ha dado a dos neuropéptidos de 33 (orexina A) y 28 (orexina B) aminoácidos con las mismas funciones y que se expresan principalmente en el área del Hipotálamo Lateral (LH). Además, se ha mostrado expresión en algunas neuronas de la Amígdala central y Lecho de la Estría Terminal. Las neuronas orexinérgicas se han asociado con diversas funciones, como la regulación del sueño y la alimentación. Animales "knockout" para orexina presentan narcolepsia y también se ha descrito que pacientes humanos con narcolepsia poseen una disminución del péptido y de las neuronas que lo expresan. Orexina también se ha asociado a la ingesta de comida. Como orexina y el septum medial (SM) se encuentran relacionados con funciones similares y los datos preliminares del laboratorio sugerían que orexina podía sintetizarse en neuronas del área septal de la rata nos propusimos identificar y caracterizar las posibles neuronas orexinérgicas del SM. Para ello, se realizó inmunohistoquímica contra orexina en el SM, en ratas tratadas con colchicina, para detectar la presencia de la proteína y RT-PCR, para detectar la presencia del mensajero de orexina en dicha región del cerebro. Los resultados obtenidos muestran que tanto el RNAm de orexina como la proteína se expresan en neuronas del SM de la rata. Además se determinó que las neuronas orexinérgicas en SM presentan un fenotipo colinérgico con doble inmunohistoquímica contra la enzima colina acetiltransferasa (CHAT), implicada en la síntesis de acetilcolina y contra orexina.

Financiado por los proyectos: ICM P06/008-F y FONDECYT N° 1070340.

**P56. CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR DE SINAPTOGIRINA-3: EFECTO INDUCTOR DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NURR1 EN LA EXPRESIÓN DE SINAPTOGIRINA-3**

Cortez, S., Galleguillos, D. y Andrés, M.E. Núcleo Milenio Estrés y Adicción; Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

Sinaptogirina-3 es una proteína integral de membrana de las vesículas sinápticas de las neuronas dopaminérgicas. Se desconoce el papel funcional de Sinaptogirina-3, pero se ha descrito que interacciona con el transportador de dopamina y esta interacción potencia el transporte de dopamina hacia la vesícula sináptica. Nurr1 es un factor de transcripción expresado en neuronas dopaminérgicas e involucrado en la diferenciación y supervivencia de dichas neuronas. El promotor de Sinaptogirina-3 presenta un elemento de respuesta a Nurr1 conservado en humano, rata y ratón. En este trabajo se evaluó el efecto de Nurr1 sobre el promotor de Sinaptogirina-3 de rata. El fragmento de DNA que contiene la secuencia del promotor de Sinaptogirina-3 fue obtenido mediante la extracción de DNA de rata y luego amplificado por PCR. Este producto de PCR fue ligado al vector reportero pGL3 y el constructo obtenido fue transfectado en las líneas celulares HEK293 y PC12. La co-transfección de cantidades crecientes de un vector de expresión para Nurr1 en las células transfectadas con el promotor de Sinaptogirina-3 indujo un aumento en la expresión del reportero luciferasa en ambas líneas celulares. Este efecto fue mayor en las células PC12. El efecto inductor de Nurr1 sobre el promotor de Sinaptogirina-3 es específico, ya que la co-transfección de Nurr1 con el vector control no aumentó la actividad de luciferasa. En conclusión, el factor de transcripción Nurr1 activa el promotor de Sinaptogirina-3 en distintas líneas celulares.

FONDECYT 1070349 y Núcleo Milenio Estrés y Adicción MSI N° P06/008-F

**P57. ACLIMATIZACIÓN A LA HIPOXIA CRÓNICA NORMOBÁRICA: RESPUESTAS VENTILATORIAS EN EL CONEJO.**

<sup>1</sup>Alcavaga, J., <sup>1</sup>Freire, M., <sup>2</sup>Del Río, R., <sup>2</sup>Moya, E.A., <sup>2</sup>Iturriaga, R. <sup>1</sup>Lab. Fisiología Celular, Fac. Ciencias, Univ. de Chile y <sup>2</sup>Lab. de Neurobiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Univ. Católica de Chile.

La hipoxia crónica hipobárica modifica la regulación ventilatoria en mamíferos. Debido a que la importancia relativa de la hipoxia y la hipobaría no ha sido estudiada en este modelo experimental, medimos las respuestas reflejas quimiosensoriales en conejos sometidos a hipoxia crónica normobárica (HC<sub>N</sub>). Conejos machos New Zealand White, mantenidos previamente en una cámara hipóxica (F<sub>O</sub><sub>2</sub> ≈ 9,2%) por 7-15 días, fueron anestesiados con ketamina/xilazina (75/7,5 mg/kg, i.m.), mantenidos con pentobarbital sódico (8 mg/30 min, i.v.), e intubados para medir el flujo aéreo (J) con un neumotacógrafo. Se cateterizó la vena safena y la arteria lingual derecha para aplicar anestesia y NaCN (0.1-100 µg/kg), respectivamente. Se registró digitalmente J, derivando de esta señal los volúmenes corriente (V<sub>T</sub>) y ventilatorio minuto (V<sub>E</sub>) y la frecuencia ventilatoria (f<sub>V</sub>). La HC<sub>N</sub> redujo significativamente (P<0,05) V<sub>T</sub>, f<sub>V</sub> y V<sub>E</sub> a los 7 y 15 días, sin diferencias entre estos dos periodos. Las hiperventilaciones inducidas por NaCN presentaron un aumento de la sensibilidad, sin cambios en la magnitud porcentual de la respuesta máxima. La vagotomía supranodosa aumentó V<sub>T</sub> y disminuyó f<sub>V</sub>, y reduciendo y aumentando V<sub>E</sub> a los 7 y 15 días, respectivamente, aumentando las respuestas inducidas por NaCN. La glosfaringectomía bilateral eliminó las respuestas al NaCN.

Nuestros resultados muestran que la HC<sub>N</sub>, por 7-15 días, reduce la ventilación basal y aumenta la sensibilidad de las respuestas al NaCN, indicando un aumento de la sensibilidad del quimiorreflejo carotídeo.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1090157.

**P58. LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA HEMOXIGENASA-CO MEDIANTE TRATAMIENTO CON HEMINA, REDUCE PARCIALMENTE LA HIPERTENSIÓN PULMONAR HIPÓXICA EN CORDEROS RECIÉN NACIDOS DEL ALTIPLANO ANDINO.**

<sup>1</sup>Ebensperger G, <sup>1</sup>Ulloa C, <sup>4</sup>Moraga FA, <sup>1</sup>Parrau D, <sup>1</sup>Rojas R, <sup>1</sup>Díaz M, <sup>1</sup>Hernández I, <sup>1</sup>Reyes RV, <sup>1,2,3</sup>Llanos AJ. <sup>1</sup>Programa Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, <sup>2</sup>INCAS, Universidad de Chile, <sup>3</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica, <sup>4</sup>Universidad Católica del Norte, Coquimbo. El aumento de la resistencia vascular pulmonar (RVP) depende fundamentalmente de la vasoconstricción y remodelamiento de las arteriolas pequeñas y de resistencia pulmonares, condición presente en la hipertensión pulmonar de corderos recién nacido (RN) del altiplano Andino. Proponemos como hipótesis que la hemina, mediante la inducción de las hemoxigenasas (HO), aumenta la producción de monóxido de carbono (CO) disminuyendo la presión arterial pulmonar (PAP) por vasodilatación y disminución del remodelamiento vascular. Metodología: En 10 corderos RN, gestados y nacidos en Putre (3600m), se ubicó un catéter Swan Ganz en AP y catéteres en vena cava y aorta descendente. El Grupo Tratado, recibió hemina (15mg.Kg.día) por 10 días (n=5) vs. un Grupo Control que no recibió tratamiento (n=5). En ambos grupos se midió la PAP y la producción de CO. Asimismo, se analizó la reactividad vascular de arteriolas pequeñas y la expresión proteica de la vía HO-sGC-PKG-1-BKCa. Además se estudió la morfología de estas arterias. Resultados: En los corderos tratados con hemina la PAP disminuyó, aumentó la expresión de HO y la producción de CO pulmonar y al mismo tiempo hubo una disminución de la capa muscular de las arteriolas pulmonares. Asimismo, aumentó la expresión de sGC, PKG-1 y BKCa, además de su funcionalidad. La vasorelajación mediada por sildenafil fue mayor en los corderos tratados. Conclusión: El tratamiento con hemina reduce la PAP mediante cambios en la reactividad como en la arquitectura arterial, por lo que podría considerarse como un eventual tratamiento de la hipertensión pulmonar persistente del recién nacido.

Financiado por: FONDECYT 1090355 y 1080663.

**P59. PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO Y CAMBIOS DE EXPRESIÓN DE eNOS e iNOS EN EL CUERPO CAROTÍDEO DE RATAS SOMETIDAS A HIPOXIA INTERMITENTE.**

Moya EA, Del Río R, Iturriaga R. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La hipoxia intermitente crónica (CIH) caracterizada por episodios cortos de hipoxia seguidos por normoxia produce hipertensión arterial. Estudios de nuestro laboratorio muestran que CIH potencia las respuestas quimiosensoriales del cuerpo carotideo (CC) a la hipoxia, fenómeno que precede a los cambios cardiovasculares. Sin embargo, los mecanismos que contribuyen a la potenciación quimiosensorial no se conocen completamente. El óxido nítrico (NO) es un modulador de la quimiorrecepción carotidea y podría contribuir a la potenciación quimiosensorial. En ratas Sprague-Dawley machos de 200g expuestas a CIH (F<sub>O</sub><sub>2</sub> 5-6%, 12 veces/h, 8h/día) por 7, 14 y 21 días estudiamos los cambios en la expresión inmunoreactiva en el CC de las isoformas de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) e inducible (iNOS) y además la producción de NO en CCs in vitro. La exposición a CIH por 7 días disminuyó los niveles de expresión de eNOS, que tienden a recuperarse a los 21 días de CIH. Por el contrario, la inmunorreactividad de iNOS no se modificó, y sólo aumentó a los 21 días de CIH. Las mediciones de NO en CCs de ratas sometidas a 7, 14 y 21 días de CIH mostraron una disminución de la producción de NO en la primera semana de exposición a CIH, con recuperación al día 21 de CIH. Nuestros resultados muestran que la CIH modifica la expresión de eNOS e iNOS, y produce cambios en los niveles de NO, que podría contribuir a la potenciación quimiosensorial.

Financiado por FONDECYT 1100405

**P60. CONTRIBUCIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN EL AUMENTO DE CITOQUINAS INFLAMATORIAS EN EL CUERPO CAROTÍDEO DE RATAS EXPUESTAS A HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA.**

Parga MJ, Del Río R, Iturriaga R Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La hipoxia intermitente crónica (CIH), caracterizada por numerosos episodios de hipoxia seguidos de normoxia, es una característica de la apnea obstructiva del sueño. La exposición a CIH produce estrés oxidativo, aumenta la expresión de citoquinas inflamatorias en el cuerpo carotideo (CC) y potencia las respuestas quimiosensoriales a la hipoxia aguda. El tratamiento con antioxidantes previene la potenciación quimiosensorial en ratas sometidas a 21 días de CIH. Sin embargo, no se conoce la relación entre el estrés oxidativo asociado a la exposición a CIH y el aumento en los niveles de expresión de citoquinas en el CC. En ratas Sprague-Dawley machos de 200g sometidas a CIH (F<sub>O</sub><sub>2</sub> 5-6%, 12 veces/h, 8h/día) por 21 días estudiamos los efectos de la suplementación con ácido ascórbico (1.25g/L) en el agua de bebida sobre los niveles de expresión inmunoreactiva en el CC del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), la interleuquina 1 beta (IL-1β) y la interleuquina 6 (IL-6). La exposición a CIH por 21 días aumentó los niveles de expresión relativa de TNF-α y de IL-1β, pero los niveles de IL-6 se mantuvieron similares a los controles. El tratamiento con ácido ascórbico previno el aumento de los niveles de TNF-α y IL-1β, y aumento la expresión de IL-6 en el CC de ratas expuestas a CIH. Los resultados sugieren que el estrés oxidativo inducido por la exposición a CIH contribuiría al aumento en los niveles de expresión de TNF-α e IL-1β en el CC de la rata.

Financiado por FONDECYT 1100405

**P61. ARGINASE-2 KNOCKDOWN PARTIALLY RECOVERED THE PHOSPHORYLATION OF eNOS AT SER<sup>1177</sup> IN HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS EXPOSED TO HYPOXIA.**

Prieto C, Sobrevia L, Casanello P. Perinatology Research Laboratory & Cellular and Molecular Physiology Laboratory, Division of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, P.O. Box 114-D, Marcoleta 391, Santiago, Chile.

Nitric oxide (NO) synthesis is reduced in hypoxia, a phenomenon that could result from arginases (ARG) competing with endothelial NO synthase (eNOS) for L-arginine. We have previously shown that in endothelium from the human umbilical vein (HUVEC) exposed to experimental hypoxia, NOS activity is down-regulated, with lower phosphorylation at Serine<sup>1177</sup> (Ser<sup>1177</sup>). This result was associated with higher ARG-2 expression and activity under hypoxia. To further study the possible competition of these two pathways we determined the co-localization of ARG-2 and eNOS, as well as the role of ARG-2 knockdown on total and phosphorylated eNOS (p-eNOS) expression in hypoxia. **Methods.** Primary cultures of HUVEC were exposed to normoxia (5% O<sub>2</sub>) or hypoxia (2% O<sub>2</sub>) for 0-24 hours. ARG-2 and eNOS protein as well as a mitochondrial probe (Mitotracker CMXros) were detected by confocal microscopy. The images obtained were processed using Huygens deconvolution software and analyzed by confined displacement algorithm (CDA). Relative abundance of ARG-2, eNOS and p-eNOS protein (p<sup>Ser1177</sup>-eNOS, active; p<sup>Thr495</sup>-eNOS, inactive) were determined by Western blot and ARG-2 mRNA levels were detected by RT-PCR. HUVEC were transfected with a fluorescein conjugated control siRNA (0-100 nM) and ARG-2 siRNA (100 nM). **Results.** In hypoxia, eNOS was preferentially, although not exclusively, located at the cell membrane, and ARG-2 was located in the mitochondria, as well as in the cytosol, where it strongly co-localized with eNOS under hypoxia. Hypoxia caused increased p<sup>Thr495</sup>-eNOS/eNOS ratio. ARG-2 knockdown was associated with decreased mRNA levels and ARG-2 protein at 24 hours post-transfection. ARG-2 knockdown partially recovered the p<sup>Ser1177</sup>-eNOS/eNOS ratio in hypoxia without significant changes in total eNOS protein abundance. **Conclusion.** The overexpression of ARG-2 and colocalization with eNOS could be a phenomenon that partially explains the reduced eNOS activity detected in HUVEC in hypoxia.

Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-24090200, and FONDECYT 1080534 & 1070865. Prieto C holds a CONICYT-PhD (Chile) fellowship.

**P62. EFECTOS DEL POSTCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO SOBRE LA CREATINA QUINASA MITOCONDRIAL.** Sánchez G, Henríquez P, Montecinos L, Donoso P. Instituto de Ciencias Biomédicas y Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La isquemia/reperfusión (I/R) constituye la principal causa de muerte celular en el miocardio. El aumento brusco de la permeabilidad mitocondrial, debido al ensamblaje del poro de transición (mPTP), es determinante en la producción del daño causado por I/R. Aunque la identidad molecular del mPTP no se conoce completamente, se propone que el aumento de actividad de la creatina quinasa mitocondrial (CKm) retarda su ensamblaje. El postcondicionamiento isquémico (6 ciclos de 15 segundos de isquemia y 15 segundos de reperfusión realizados al inicio de la reperfusión) es una maniobra cardioprotectora que reduce el tamaño del infarto. Para investigar el efecto de este postcondicionamiento sobre la CKm, estudiamos su contenido y actividad en mitocondrias de corazones aislados de rata sometidos a I/R. Además determinamos dos modificaciones redox de la enzima, S-glutacionilación y S-nitrosilación, en inmunoprecipitados obtenidos de mitocondrias aisladas. Resultados: Las mitocondrias obtenidas de corazones postcondicionados presentan un mayor contenido de CKm (63% de aumento, N=4, p<0,03) y una mayor actividad (30%, N=4, p<0,02) que las sometidas a I/R. Además el postcondicionamiento aumentó la S-glutacionilación de CKm en 30% (N=4, p<0,02) y disminuyó la S-nitrosilación en 70% (N=4, p<0,02). Conclusiones: Estos resultados sugieren que el postcondicionamiento protege a la CKm, probablemente por modificaciones redox, evitando su degradación lo que retarda el ensamblaje de mPTP, mantiene la integridad de las mitocondrias, mejora la condición energética y disminuye la muerte celular.

Grants: Fondecyt 1080497, 1080481 and Fondap 5010006.

**P63. SEGREGACIÓN DEL CANAL DE POTASIO K<sub>IR</sub> 2.1 EN LIPID RAFTS DE MEMBRANA APICAL DEL SINCICIOTROFOBlasto PLACENTARIO HUMANO (HSTB) EN PLACENTAS NORMALES (PN), CON PREECLAMPSIA (PE) Y RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO (RCIU).**

Berríos, M.; De Gregorio, N.; Vallejos, C. y Riquelme, G. Laboratorio de electrofisiología de membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El hSTB es un epitelio responsable del intercambio de sustancias entre la madre y el feto. Por su carácter sincicial, los solutos deben atravesar necesariamente sus dominios Basal y Apical, donde éste último se divide en dos sub-dominios; uno pesado (MVM) y uno liviano (LMVM). En el tejido placentario, los Canales Iónicos están asociados a diferentes funciones. Particularmente, está demostrada la presencia del Canal de Potasio K<sub>IR</sub>2.1 en citotrofoblasto (células precursoras del Sinciotrofoblasto). Además, se han identificado *Lipid Rafts* en LMVM y MVM, estructuras ricas en colesterol y Esfingolípidos que podrían regular el funcionamiento de los Canales Iónicos. Nuestro objetivo fue identificar la expresión de K<sub>IR</sub>2.1 en membrana apical y en *Rafts* de ambos sub-dominios (MVM y LMVM). Las membranas apicales se aislaron desde placentas Normales, con PE e IUGR. Los *Rafts* se obtuvieron de una gradiente discontinua de sacarosa, donde previamente, MVM y LMVM se solubilizaron con detergente Tritón-X-100. Mediante *Immunoblotting*, la expresión de K<sub>IR</sub>2.1, en las fracciones de membrana enteras fue; MVM 42%, LMVM 40% y BM 18%. A diferencia de lo obtenido en PE y RCIU, donde los valores fueron 30 y 14% en BM y LMVM respectivamente. Además, el K<sub>IR</sub>2.1 se segregó en *Rafts* de MVM y LMVM, siendo sensible a la remoción de colesterol con metil-β-ciclodextrina. En conclusión, el cambio de distribución de K<sub>IR</sub>2.1 en membranas enteras provenientes de placentas con patologías asociadas y la subsecuente alteración en *Rafts* provenientes de ellas, podría tener implicancias en la función de éste Canal en la transferencia de solutos entre la madre y el feto. FONDECYT 1070695

**P64. EXPRESIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO SINTASA EN SINCICIOTROFOBlasto PLACENTARIO HUMANO NORMAL Y PATOLÓGICO.**

Rodríguez, C.; Berríos, M.; Vallejos, C. y Riquelme, G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El óxido nítrico es un potente vasodilatador generado por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS). Se han descubierto tres isoformas de esta enzima, siendo la isoforma eNOS la que ha sido encontrada en el sinciotrofoblasto de placenta humana (hSTB), que es un órgano fundamental durante el desarrollo de la gestación. En placentas con patologías del embarazo como Preeclampsia (PE) y Restricción del Crecimiento Intrauterino (RCIU) se ha sugerido que los niveles de eNOS estarían alterados. El objetivo de este estudio fue caracterizar la expresión de eNOS en el hSTB normal, PE y RCIU. Se aplicaron técnicas de Inmunofluorescencia en cortes de tejido incluidos en parafina y *Western blot* para identificar la enzima en fracciones de membranas purificadas de hSTB. En cortes de tejido, la marca para eNOS muestra una intensidad de inmunotinción fuerte en el hSTB normal, moderada en placentas con PE y débil en placenta con RCIU. Análisis densitométrico de *Western blot* encontró diferencias significativas en la expresión de eNOS entre las fracciones purificadas de membranas apicales (78%) y basales (22%) de hSTB normal. Tal distribución se mantiene en hSTB con PE y RCIU. Adicionalmente, la comparación de una misma fracción de membrana aislada en las tres condiciones de estudio indicó que no varía la cantidad de eNOS entre ellas. Los resultados en cortes de tejido muestran diferencias entre la normalidad y las patologías, concordante con la literatura. Sin embargo, estas diferencias no fueron observadas en las membranas purificadas. Trabajos en progreso buscan estudiar esta enzima más en detalle y poder dilucidar las diferencias encontradas.

FONDECYT 1070695.

**P65. CANAL EPITELIAL DE SODIO (ENAC) EN PATOLOGÍAS DEL EMBARAZO: FUNCIONALIDAD Y EXPRESIÓN EN MEMBRANAS DEL SINCITIOTROFBLASTO PLACENTARIO HUMANO (HSTB).**

Vallejos, C. y Riquelme, G. Laboratorio de Electrofisiología de Membranas, Fisiología y Biofísica, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La preeclampsia (PE) es un síndrome hipertensivo donde la morfología de las microvellosidades del hSTB está alterada. La restricción de crecimiento intrauterino (RCIU) es una patología donde existe una incapacidad del feto para alcanzar su potencial genético, ambas son patologías del embarazo y se relacionan con alteraciones del transporte a nivel del hSTB. El hSTB es un epitelio polarizado y la principal barrera para el intercambio materno-fetal; está constituido por una membrana basal y una apical con 2 subdominios, el pesado (MVM) y el liviano (LMVM). ENaC transporta sodio hacia la célula y esto podría disminuir en ambas patologías. Nuestro objetivo fue estudiar este canal mediante *patch-clamp* en membranas purificadas de MVM reconstituidas en liposomas gigantes y la expresión de las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  ENaC mediante *Immunoblotting*. Funcionalmente los resultados muestran que la conductancia de ENaC es 33 y 42 pS en PE y RCIU respectivamente, siendo sensible a Amilorida y Benzamilol de manera dosis dependiente e independiente de potencial. El bloqueo a 2  $\mu$ M Amilorida fue ~60% en ambas patologías y con 1 nM Benzamilol fue 49% en PE y 41% en RCIU. Adicionalmente se observaron cambios en la cinética del canal asociados a su probabilidad de apertura. Estructuralmente la expresión en PE de la subunidad  $\alpha$  y  $\gamma$  es similar a placentas normales (PN). La subunidad  $\beta$  disminuye su expresión a 54% en MVM (70% PN) y aumenta a 37% en LMVM (27% PN). En RCIU, la subunidad  $\gamma$  disminuye su expresión a 61% en MVM (74% PN) y aumenta a 34% en LMVM (24% PN), las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  mantienen su patrón.

Los cambios de ENaC en PE y RCIU se asocian a alteraciones en el transporte, lo que a su vez se condice con la evidencia de la pérdida de organización de la membrana apical en placentas con estas patologías. FONDECYT 1070695.

**P66. AMILORIDE MEJORA LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN RATAS TRATADAS CON DOSIS SUBPRESORAS DE ANGIOTENSINA II (AII)**

Beltrán MP, Soto N, Sepúlveda-Kattan E, Figueroa XF, Boric MP Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El canal epitelial de sodio ENaC es regulado por el receptor de mineralocorticoides (MCR) y se expresa en endotelio y tejido vascular. Una mayor actividad de ENaC podría alterar la reactividad vascular en distintos tipos de hipertensión, puesto que se ha reportado un papel protector de inhibidores del MCR independientemente de efectos renales; y el bloqueo de ENaC aumenta la respuesta dilatadora a acetilcolina (ACh), clásico agonista endotelio-dependiente. Exploramos la hipótesis que un aumento moderado del sistema renina-angiotensina-aldosterona causaría una mayor expresión de ENaC en la vasculatura y pérdida de respuesta endotelial. Ratas SD de 100g se trataron con AII (80ng/min/Kg, bomba osmótica subcutánea) por 14 días (ratas-AII). Los controles se sometieron a operación ficticia. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos en la presión arterial (medición indirecta en animales despiertos), ni en la respuesta depresora inducida por bradisinina (1-20 nmol/Kg iv. ratas anestesiadas). En anillos de aorta torácica, la tensión desarrollada por fenilefrina fue mayor y la relajación inducida por ACh significativamente menor en ratas-AII comparado a los controles. El bloqueador de ENaC, amilorida 300nM, disminuyó la contracción máxima y aumentó significativamente la relajación máxima inducida por 10  $\mu$ M ACh, desde 64 $\pm$ 11% a 88 $\pm$ 5% en ratas-AII, pero no tuvo efecto en ratas control. Amiloride produjo una dilatación significativa (22 $\pm$ 5%) del tono miogénico en arteriolas de músculo esquelético (~150  $\mu$ m) presurizadas y perfundidas (20  $\mu$ L/min), solo en ratas-AII. Concluimos que el bloqueo agudo de ENaC mejora la capacidad de relajación endotelio-dependiente en ratas pre-hipertensas tratadas con AII. Fondecyt 1090757

**P67. ADENOSINA CAUSA RELAJACIÓN DEPENDIENTE DE ENDOTELIO EN VENA UMBILICAL HUMANA DE EMBARAZOS NORMALES Y CON DIABETES GESTACIONAL.**

Cifuentes F<sup>1,2</sup>, Palacios J<sup>2</sup>, Sepúlveda C<sup>1</sup>, Sobrevia L<sup>1</sup>. CMPL & PRL, Div. Obst y Ginecol, CIM, Fac. Medicina, PUC. <sup>2</sup>Laboratorio de Inv. en Fisiología, Depto Biomédico, Fac. Ciencias de la Salud, U. Antofagasta, Chile.

Adenosina es un nucleósido endógeno que causa vasorelajación en la mayoría de los lechos vasculares. Diabetes gestacional (DG) es un síndrome asociado con menor captación de adenosina en endotelio de vena umbilical humana y aumento de adenosina en el plasma fetal. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de adenosina sobre la reactividad vascular de anillos de vena umbilical. **Métodos.** Anillos de vena umbilical de embarazos normales (vasos-N) o con DG (vasos-D), con o sin endotelio, fueron montados en una cámara de órgano aislado (Krebs, 37°C, 95:5% O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) para determinar la tensión isométrica en respuesta a adenosina (10<sup>-7</sup>-10<sup>-3</sup> M, 1-3 minutos), en presencia o ausencia de ZM-241385 (0.8-10000 nM, en preparaciones preincubadas (15 minutos) con adenosina (1 minuto) y/o ZM-241385 (15 minutos) (resultados son como porcentaje de variación respecto %K<sub>max</sub>). **Resultados.** Adenosina 10<sup>-3</sup> M indujo relajación (9  $\pm$  2%) dependiente del tiempo (~1.5 minutos) en vasos-N, la cual fue menor (30  $\pm$  3%) en vasos-D. La relajación dependiente de endotelio por adenosina en vasos-N (26  $\pm$  3% de relajación total) no fue observada en vasos-D. ZM-241385 a 0.8 nM no alteró, pero a 100 nM bloqueó la vasodilatación dependiente de endotelio en vasos-N. 5HT causó contracción en vasos-N [efecto medio máximo (EC<sub>50</sub>) = 11  $\pm$  1 nM] y vasos-D (EC<sub>50</sub> = 33  $\pm$  4 nM). La contracción causada por 5HT en presencia de adenosina en vasos-N fue similar a vasos-D en ausencia de adenosina (EC<sub>50</sub> = 39  $\pm$  5 nM), un efecto bloqueado por ZM-241385. **Conclusión.** Adenosina induce vasodilatación vía activación de receptores de adenosina en el endotelio en vena umbilical humana de embarazos normales. Este fenómeno podría ser responsable de una menor vasoconstricción por 5HT observada en vena umbilical de diabetes gestacional. Financiado por CONICYT ACT-73 (PIA), FONDECYT 1070865 & 1080534 y Vicerrectoría Académica de la Universidad de Antofagasta (Chile).

**P68. LA ACTIVACIÓN DEL MODO REVERSO DEL INTERCAMBIADOR Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> MEDIA LAS RESPUESTAS VASODILATORAS DEPENDIENTES DEL ENDOTELIO EN LOS VASOS DE RESISTENCIA.**

Ardiles N, Figueroa XF. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El incremento de la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular en las células endoteliales es una de las principales señales que activa la formación de óxido nítrico (NO). La activación por Ca<sup>2+</sup> de la NO sintasa endotelial (eNOS) se produce preferentemente en los microdominios subcelulares de señalización conocidos como caveolas. El intercambiador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (NCX) también se localiza en caveolas en las células endoteliales, lo que sugiere que podría estar involucrado en el control de la actividad de la eNOS. En la red arterial mesentérica de rata precontracta con fenilefrina, la estimulación con 100nM acetilcolina (ACh) produjo una vasodilatación de ~50%. El bloqueo del modo reverso del NCX con 10  $\mu$ M KB-R7943 o 10  $\mu$ M SN-6 abolió la relajación inducida por ACh. Un resultado similar se observó con el reemplazo equimolar de Na<sup>+</sup> por colina. La vasodilatación inducida por el ionóforo de Ca<sup>2+</sup>, ionomicina, fue sensible al bloqueo de la producción de NO con N<sup>6</sup>-nitro-L-arginina (L-NA), pero no a la inhibición del modo reverso del NCX. El KB-R7943 tampoco afectó la respuesta vasodilatadora independiente del endotelio inducida por el donador de NO, SNAP. La activación directa del modo reverso del NCX mediante la perfusión con una solución con bajo Na<sup>+</sup> (50mM) produjo una relajación de ~50%, similar a la observada con ACh. L-NA y KB-R7943 bloquearon la vasodilatación activada por la solución 50mM Na<sup>+</sup>. Estos resultados sugieren que el NCX es fundamental en el mecanismo de señalización que activa las vasodilataciones dependientes de Ca<sup>2+</sup> en el endotelio.

FONDECYT 1100850, FONDECYT 1090757, Límite 15/2009, Anillos ACT-71.

**P69. LOS CANALES DE K<sup>+</sup> ACTIVADOS POR CA<sup>2+</sup> DE PEQUEÑA (SK<sub>Ca</sub>) E INTERMEDIA (IK<sub>Ca</sub>) CONDUCTANCIA PARTICIPAN EN EL CONTROL DEL ESTADO DE FOSFORILACIÓN DE LA eNOS.**

Lillo M, Gaete PS, Ardiles N, Figueroa XF. Departamento de Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El endotelio participa en la regulación del tono vasomotor liberando factores vasodilatadores como el óxido nítrico (NO) y el factor hiperporalante derivado del endotelio (EDHF). Se piensa que los canales de K<sup>+</sup> activados por Ca<sup>2+</sup> de conductancia pequeña (SK<sub>Ca</sub>) e intermedia (IK<sub>Ca</sub>) son fundamentales para la activación del EDHF. Sin embargo, se desconoce si el bloqueo de estos canales afecta la activación de la NO sintasa endotelial (eNOS). Usamos la red arterial mesentérica aislada y profundizada para estudiar la fosforilación de la eNOS en la serina 1177 (p-eNOS<sup>S1177</sup>) y la treonina 495 (p-eNOS<sup>T495</sup>) durante el bloqueo de los SK<sub>Ca</sub> con 0,5μM apamina y los IK<sub>Ca</sub> con 10μM TRAM-34. La perfusión por 1 minuto con 100nM acetilcolina (ACh) o el tratamiento con apamina (15 min) no alteraron la fosforilación de la eNOS (p-eNOS<sup>S1177</sup> o p-eNOS<sup>T495</sup>). Sin embargo, la estimulación con ACh en presencia de apamina produjo un aumento en p-eNOS<sup>T495</sup>. La administración de TRAM-34 (15 min) solo o en combinación con apamina también incrementó el nivel de p-eNOS<sup>T495</sup>, el cual no se modificó por la estimulación con ACh. Los niveles de p-eNOS<sup>S1177</sup> se mantuvieron constantes en todas estas condiciones. Consistente con la inhibición de la eNOS por p-eNOS<sup>T495</sup>, apamina y TRAM-34 atenuaron la vasodilatación y la producción de NO activadas por ACh. Estos resultados sugieren que los canales IK<sub>Ca</sub> y SK<sub>Ca</sub> participan en la regulación de la actividad de la eNOS, lo cual podría estar involucrado en las respuestas vasomotoras atribuidas al EDHF.

FONDECYT 1100850, FONDECYT 1090757, Límite 15/2009, Anillos ACT-71

**P70. BOLDINA AUMENTA LA SUPERVIVENCIA EN UN MODELO DE SHOCK SÉPTICO.**

Cigarra L, Eller G, Vielma, A, Boric, MP. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El shock séptico es una exacerbación de la respuesta inmune ante una infección generalizada, caracterizada por hipotensión, menor irrigación tisular y muerte celular, en un fenómeno inflamatorio que eventualmente produce fallo multiorgánico. En pacientes, este cuadro alcanza alrededor del 50% de mortalidad. Se ha postulado que el estrés oxidativo y la apertura de hemicanales presentes en la membrana celular contribuyen al proceso de deterioro en distintos tipos de inflamación. Boldina es un alcaloide extraído de *Peumus boldus*, con capacidad antioxidante y bloqueadora de hemicanales de conexinas. En el presente trabajo se probó la capacidad de boldina para evitar la muerte en un modelo de shock séptico *in vivo*, y considerando que la falla cardíaca es causa última de muerte, se probó también en corazones aislados sometidos a isquemia-reperusión. Ratas Sprague-Dawley adultas (200g aprox.), recibieron lipopolisacárido (LPS 5mg/kg, i.v.) lo que causó 89% de muerte a las 8 hrs (n=9). Boldina (100μmoles/kg, i.p., 30-min post LPS) disminuyó la mortalidad a un 22% y 44% a las 8 y 24 hrs respectivamente (n=9, p<0.025, log rank/χ<sup>2</sup>). Dos compuestos vegetales con capacidad antioxidante similar a boldina, N-Acetil-L-cisteína (1,0 y 0,3mmol/kg) y epicatequina (100μmoles/kg), no cambiaron el porcentaje de muerte inducido por LPS. A las dosis utilizadas, ninguno de los antioxidantes afectó la supervivencia por sí solo. Además boldina (100μM) mejoró la supervivencia e índice de trabajo en corazones de rata (modelo Langendorf) tras 30min de isquemia (85±7% vs 41±15%, p<0.05). Estos resultados indican que boldina confiere protección independientemente de su capacidad antioxidante.

Proyectos Fondef D071086, Anillos 2010.

**P71. INSULIN BLOCKS HYDROGEN PEROXIDE-INDUCED VASOCONSTRICTION IN HUMAN UMBILICAL VESSELS.**

Palma C<sup>1</sup>, Cabrera L<sup>1</sup>, Rojas S<sup>1</sup>, Gallardo V<sup>1</sup>, Sobrevia L<sup>2</sup>, González M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Vascular Physiology Laboratory, Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile. <sup>2</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory & Perinatology Research Laboratory, Division of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

The increase in the synthesis of reactive oxygen species (ROS) is the main cellular mechanism involved in the decreased bioavailability of nitric oxide (NO) and in endothelial dysfunction in early stages of cardiovascular diseases. Insulin increases NO synthesis and decreases intracellular ROS generated by high D-glucose in human umbilical endothelial cells (HUVEC); however, vascular effects of insulin and ROS have not been evaluated in human foetal vessels. **Methods.** Umbilical vein and arterial rings were isolated from normal pregnancies (ethics committee approval and informed patient consent were obtained). Rings were mounted on an isometric force transducer and highest contractile response to 90 mM KCl was registered. Vessels were washed and constricted with the thromboxane A2 mimetic U46619 (10<sup>-10</sup>-10<sup>-3</sup> M) or hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)(10<sup>-10</sup>-10<sup>-2</sup> M). Once stable maximum U46619 contraction was reached, rings were exposed to insulin (10<sup>-10</sup>-10<sup>-2</sup> M). To assay insulin effect on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced contraction, umbilical vessel rings were preincubated (1 minute) with 1 nM insulin and then exposed to 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Results.** U46619 induced contraction (P<0.05, ANOVA two ways, n=3-8) of umbilical artery (SC<sub>50</sub> = 200 ± 16 nM) and vein (SC<sub>50</sub> = 80 ± 8 nM) rings. Insulin induced relaxation of U46619-precontracted umbilical artery (61 ± 11%) and vein (46 ± 8%) rings. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced vasoconstriction in vein (21 ± 5% of maximal KCl response) and artery (15 ± 3.5 % of maximal KCl response) rings, effect blocked by preincubation with 1 nM insulin. **Conclusion.** Insulin could act as a protective factor against vasoconstriction induced by ROS in human umbilical vessels.

Supported by CONICYT ACT-73 (PIA) & AT-23070213, FONDECYT 1070865, and DIUC 210.033.103-1.0 (Chile).

**P72. PAF (FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS) PRODUCE S-NITROSILACIÓN DE PROTEÍNAS EN CÉLULAS ENDOTELIALES MICROVASCULARES DE MEJILLA DE HÁMSTER.**

Hirigoven D<sup>1</sup>, González, FG<sup>2</sup>, Eller G<sup>1</sup>, Boric MP<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiología, F. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. <sup>2</sup>Department of Physiology & Pharmacology, UMDNJ-New Jersey Medical School, Newark, NJ, USA.

El Factor Activador de Plaquetas (PAF) produce un aumento en la permeabilidad endotelial a macromoléculas, proceso que es mediado por eNOS y NO. El aumento de permeabilidad se produce por un cambio en los contactos celulares venulares, perdiéndose la integridad de la barrera endotelial. Se ha postulado que modificaciones de proteínas por especies reactivas de nitrógeno podrían mediar estos cambios. En apoyo a esta idea, se ha visto en líneas celulares de endotelio venular que PAF produce nitrosilación de diversas proteínas implicadas en la vía de señalización de eNOS. En este trabajo estudiamos el efecto de PAF sobre la nitrosilación de proteínas generales y de proteínas implicadas en la organización del citoesqueleto, en células endoteliales de mejilla de hámster, utilizando inmuno-fluorescencia, análisis de sustitución de biotina ("biotin-switch") e inmuno-blot. La estimulación con PAF 100nM aumentó la S-nitrosilación general de proteínas, con un máximo a 1 min post PAF (250±81%) y un segundo pico tras 15 minutos con este factor (156±36%). En respuesta a la estimulación con PAF se detectaron cambios en la distribución de los filamentos de actina, pero no hubo cambios en la S-nitrosilación de β-actina. Estos resultados son consistentes con que la S-nitrosilación de proteínas participe en el aumento de permeabilidad inducido por PAF; pero dicho aumento sería específico para ciertas proteínas. Es importante analizar posibles cambios en S-nitrosilación de las proteínas implicadas en los contactos celulares, que podrían señalar para producir el desarreglo del citoesqueleto. FONDECYT 1090757.

**P73. EFECTO VASODILADOR DE P-HIDROXIACETOFENONA PURIFICADA DESDE *SENECIO NUTANS* EN ANILLOS DE AORTA DE RATA. (VASODILATOR EFFECT OF P-HYDROXYACETOPHENONE ISOLATED FROM *SENECIO NUTANS* IN RAT AORTIC RINGS).**

<sup>1</sup>Subiabre M, <sup>1</sup>Pizarro N, <sup>1</sup>Moreno D <sup>1</sup>Hernandez R, <sup>1</sup>Peña M, <sup>2</sup>Paredes A, <sup>2</sup>Morales G, <sup>1</sup>Cifuentes F, <sup>1</sup>Vega JL. <sup>1</sup>Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Laboratorio de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

La especie *Senecio nutans* es endémica del altiplano chileno-boliviano-peruano y es ampliamente utilizada por las comunidades indígenas como planta medicinal (Loyola *et al.*, 1985). Extractos acuosos o hidroalcohólicos obtenidos desde *Senecio nutans* causan vasodilatación en anillos de aorta de rata (Kuzmicic J *et al.*, 2009). El objetivo de nuestro estudio es determinar el compuesto causante del efecto vasodilatador de *Senecio nutans*. **Metodología:** Extractos hidroalcohólicos fueron sometidos a diferentes columnas cromatográficas y eluidos con gradientes de n-hexano etilacetato (10-70%). Posteriormente los diferentes compuestos purificados fueron corridos en cromatografía de capa fina frente a diferentes compuestos conocidos (estándares). Los efectos vasodilatadores de los compuestos purificados fueron evaluados a través de la respuesta vascular en anillos de aorta de rata mantenidos con solución Krebs (95% O<sub>2</sub>; 5 % CO<sub>2</sub>, pH: 7.4, 37°C) en baños de órganos *in vitro* (Radnoti, USA). **Resultados:** El principal compuesto purificado presentó un factor de retención similar al compuesto estándar 4-hidroxi-3-(2'-isopentenil) acetofenona. Análisis por resonancia magnética nuclear y espectroscopia de infrarrojo determinó que el compuesto corresponde a un derivado de p-hidroxiacetofenona. Los ensayos de reactividad vascular mostraron que el compuesto purificado (p-hidroxiacetofenona) induce vasodilatación concentración dependiente con una EC<sub>50</sub> de 18 ± 0,2 μM. En anillos sin endotelio la EC<sub>50</sub> correspondió 20 ± 0,1 nM. **Conclusion:** Nuestros resultados preliminares sugieren que el compuesto mayoritario obtenido desde *Senecio nutans* posee una importante actividad vasodilatadora. Futuros experimentos deben ser conducidos a determinar el mecanismo molecular involucrado y los efectos sobre la presión arterial.

Financiamiento: FONDECYT 1040294, DI-1339-07. Paredes A, posee una beca de doctorado.

**P74. PARTICIPACIÓN DE CORRIENTES DE POTASIO ENDOTELIALES EN LA REGULACIÓN DEL TONO MIOGÉNICO POR ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS).**

Sepúlveda-Kattan E, Varas R, Boric MP. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El tono vasomotor arteriolar depende del tono miogénico, que es modulado por factores endoteliales y neurohumorales y ROS, como anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) y el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Las corrientes de potasio controlan parcialmente el tono miogénico. Hay evidencias que ROS afectan la actividad de canales de potasio, pero no se ha dilucidado el efecto específico sobre dichas corrientes en los distintos tipos celulares de la pared arteriolar. Registramos los cambios del diámetro en arteriolas de músculo esquelético de rata (~100μm), aisladas y canuladas, superfundidas (Tyrode-HEPES, 37°C), presurizadas (70mmHg) y perfundidas (20μL/min). Se usó un protocolo establecido, en que la generación exógena de ROS (hipoxantina/Xantina oxidasa) produce contracción inicial (-16±3%, ~4min) dependiente de O<sub>2</sub><sup>-</sup> y dilatación final (+10±2%, ~9min) dependiente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los bloqueadores de canales de potasio TEA (1mM) y 4-aminopiridina (300μM) redujeron la fase de contracción y abolieron la fase de dilatación. El bloqueador de canales de potasio de tipo BK, iberiotoxina (100μM) no modificó la contracción, pero abolió la dilatación; el bloqueador de canales de potasio tipo SK apamina (250nM) abolió la contracción y no modificó la dilatación. La inhibición de eNOS (L-NA 100μM) y la remoción del endotelio produjeron efectos similares a apamina. Estos resultados indican que el efecto dual de ROS en estas arteriolas depende de la activación de corrientes tipo BK por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el músculo liso, causando dilatación, y sugieren que la contracción depende de la inhibición de corrientes tipo K<sub>v</sub> endoteliales por acción de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, posiblemente modulando la producción de NO.

Fondecyt 109075

