

Resúmenes de las sesiones mensuales

JUEVES 2 DE FEBRERO

Influencia de las hormonas sexuales en la expresión de claudina 2 y occludina en el riñón de conejo

El riñón es un órgano blanco para las hormonas sexuales. Se ha demostrado que el mecanismo de secreción de aniones orgánicos es mayor en el riñón de rata macho que en la rata hembra; así mismo, se ha reportado la retención de líquidos y de sodio en la hembra en la fase estrogénica. La reabsorción de líquidos y de sodio se lleva a cabo por dos vías de transporte: la transcelular y la paracelular, este transporte es variable a lo largo de la nefrona y depende en parte de la unión estrecha, es por ello que en el presente trabajo se decidió estudiar la influencia de hormonas sexuales sobre la expresión de claudina 2 y de occludina que son proteínas transmembranales que conforman la unión estrecha.

Para ello se utilizaron conejos Nueva Zelanda machos y hembras intactos, machos castrados y hembras ovariectomizadas de 2.5 kg de peso. Se les determinaron 17β -estradiol, testosterona y dihidrotestosterona por técnica de radioinmunoensayo (RIA). Se realizaron técnicas de inmunohistoquímica en los túbulos proximales y colectores aislados por microdissección, utilizando anticuerpos primarios para Cl-2, occludina y citoqueratina 8. Las muestras fueron analizadas por microscopía confocal. Además, se aislaron túbulos distales y proximales por gradientes de percoll, a los que se les cuantificó Cl-2 y occludina en la fracción soluble e insoluble por técnica de Western blot utilizando los anticuerpos antes mencionados.

Los resultados muestran un patrón de "malla de galinero" en la expresión de Cl-2 en túbulos proximales de conejo macho y hembra intactos, mientras que en el castrado y ovariectomizada esta marca disminuye y no se presenta en los bordes celulares. La expresión de occludina en los túbulos colectores de hembra y macho castrado presentan la misma tinción en bordes celulares y en citoplasma, en cambio en el macho intacto y hembra ovariectomizada sólo se presentan en los bordes celulares y no en el citoplasma. Esto último concuerda con las cuantificaciones de Western blot en las fracciones solubles e insoluble.

Con lo anterior se puede concluir que las hormonas sexuales modulan la expresión de la Cl-2 y occludina en los túbulos proximales y colectores respectivamente.

Estudio financiado por CONACYT G3451 1M

M en C Carmen Melchor Díaz
Departamento de Fisiología Biofísica
y Neurociencias del CINVESTAV, IPN.

JUEVES 4 DE MAYO

Trazabilidad. Concepto e implementación

La confiabilidad de un laboratorio clínico radica, entre otras cosas, en la veracidad de sus mediciones expresadas en su informe de resultados. De aquí que nos planteamos la pregunta ¿cuál es el sustento técnico de sus resultados? En una forma simple diremos que es la comparación de sus mediciones contra otras que representen una referencia aceptada internacionalmente por consenso de expertos. De acuerdo a la ISO, esta propiedad del resultado de una medición o del valor de un estándar, que se puede relacionar a referencias establecidas, nacional e internacionalmente, a través de una cadena de comparaciones con incertidumbres estimadas, es el concepto metrológico de trazabilidad.

Tener trazabilidad en las mediciones de un laboratorio implica que se trabaja con métodos analíticos adecuados para una matriz de ensayo en particular, los cuales son aceptablemente comparables a métodos analíticos primarios llevados a cabo en laboratorios de alto nivel de competencia tecnológica usando calibraciones con materiales de referencia certificados y trazables. En nuestro país apenas empezamos a establecer las condiciones para cumplir este requisito de acreditación y certificación, a través de instituciones como el Centro Nacional de Metrología y la Entidad Mexicana de Acreditación, con la colaboración de grupos de profesionales como la AMBC.

Dr. Rafael Eduardo Paredes García
Director Científico, Hemodiagnostika, S.A.

JUEVES 6 DE JULIO

Respuesta inflamatoria a productos bacterianos en cirrosis

Antecedentes: En pacientes cirróticos, la endotoxina induce inflamación, promoviendo el daño. Los receptores tipo toll (TLRs) participan en el reconocimiento de patógenos. El TLR2 reconoce al ácido lipoteicoico (LTA) de bacterias gram-positivas (G (+)), y el TLR4 reconoce a la endotoxina (LPS) de bacterias gram-negativas (G (-)).

Objetivos: Evaluar la respuesta inflamatoria de células mononucleares periféricas (PBMC) de pacientes cirróticos y no-cirróticos a productos de bacterias G (+) y G (-), mediante la secreción de citocinas: factor de necrosis tumoral α (FNT α) e interleucinas 1 β , 6, 10 y 12 (IL-1 β , IL-6, IL-10 e IL-12), y la expresión de TLR2 y TLR4 antes y después de la exposición a LPS o LTA, y correlacionar estos mediadores con concentraciones plasmáticas de LPS y la proteína unidora de LPS (LBP).

Métodos: PBMC de pacientes cirróticos y no-cirróticos se expusieron a LPS o LTA. La secreción de citocinas pre- y post-exposición fue determinada por ELISA, la expresión de receptores se determinó por citometría de flujo. Las concentraciones plasmáticas de LPS y LBP se determinaron por Limulus y ELISA. Los datos se analizaron por la prueba de Wilcoxon y correlación de Spearman.

Resultados: Las concentraciones plasmáticas de LPS, LBP, FNT α , IL-6 e IL-12 fueron mayores en pacientes cirróticos, excepto IL-10, la cual fue menor, IL-1 β no presentó concentraciones detectables. La expresión *ex-vivo* de TL2 y TLR4 en PBMC fue mayor en pacientes cirróticos. *In-vitro*, el LPS dispara una secreción más vigorosa de citocinas que el LTA. La expresión de TLR2 y TLR4 fue menor con LPS. Las concentraciones de LPS y LBP sólo correlacionaron en pacientes no-cirróticos.

Conclusiones: La secreción de citocinas inflamatorias por las PBMC aumenta después de la exposición a LPS o LTA, mientras que la expresión de TLR2 y TLR4 disminuye, sugiriendo que productos de bacterias G (-) activan ambas vías de TLRs, y pueden presentar un efecto aditivo.

V Barbero Becerra,* C Maldonado Bernal,** MC Gutiérrez Ruiz,*** F Téllez Ávila,* F Vargas Vorackova.*

* Departamento de Gastroenterología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

** UIEMIP, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

*** Departamento de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, ciudad de México.

