

Montevideo, 9 de mayo de 2016

Modificaciones realizadas PAIE 48 2014 – Cloramina T

Resumen - se llevó a 250 palabras y menos de 2000 caracteres (no se especifica si es con o sin espacios, tampoco es claro si es menos de 250 palabras o menor a 2000 caracteres lo solicitado dado en el formulario dice 2000 caracteres, pero en la hoja de informe dice 250 palabras.

- Existía una versión del resumen realizada por estudiantes donde no se definía ROS ni aminoácidos. Se agradece a GAIE al respecto y se corrige en esta versión. En el resto siempre está definido como debe ser (caso del poster).

Poster – No encontramos en el que tenemos ningún problema con norma de definiciones. No sabemos si no habrá existido un error en el poster elevado por parte de los estudiantes, dado que el que está en poder del docente supervisor y se eleva ahora, no tiene el problema de definición de ROS.

Informe financiero – Se adjunta copia del material adquirido que pudo dar cuenta muy parcial de los gastos efectuados por devaluación, etc. Se adquirieron reactivos y material desechable para registros que se usó para la ejecución del proyecto.

PROFESOR AGREGADO BIOFISICA GONZALO FERREIRA DE MATTOS (MD, MSc, PhD)

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

PROFESOR ADJUNTO HONORARIO

CINV. CHILE

BIOTECNOLOGIA. UNAM. MEX

WASHINGTON UNIV. St LOUIS. MO. USA

INSTITUTES OF MOLECULAR MEDICINE. Huntigton. CA. USA



Universidad de la República - CSIC

Formulario de Informe final del Programa de Apoyo
a la Investigación Estudiantil
Edición 2014



DATOS DEL PROYECTO

- Título del Proyecto: ***Stress oxidativo provocado por agentes químicos: Repercusión funcional de Cloramina-T.***
- Número ID del proyecto: 48
- Área de conocimiento: Salud
- Facultad o Servicio: Laboratorio de Canales Iónicos - Biofísica - Medicina
- Nombre completo de los-as Integrantes del equipo: Juan Impagliazzo, Hugo Torres, Carlos Costa, Javier Dutra, Romina Pereira
- Correo electrónico del/de la estudiante referente: juanrafael2452@hotmail.com
- Nombre completo del/de la docente orientador-a: Gonzalo Rafael Ferreira de Mattos
- Correo electrónico del/de la docente orientador-a: ferreira@fmed.edu.uy, ferreiragon@gmail.com

INFORME FINAL

(desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

1) Transcriba los objetivos del proyecto

Objetivo e Hipótesis General:

- El *objetivo general* de este proyecto es *estudiar los efectos de la exposición aguda a agentes oxidantes sobre la función cardíaca en modelos animales (cobayo y rata)*.

- La *hipótesis general* que esperamos es *observar una repercusión funcional negativa sobre la función cardíaca ante exposición aguda a agentes químicos oxidantes*.

-Fundamentación de la hipótesis: En variadas situaciones fisiopatológicas de stress cardíaco como isquemia o injuria por reperfusión se producen agentes oxidantes y se reporta una alteración de la capacidad cardíaca funcional . De allí entonces que ante la exposición aguda del músculo cardíaco a dichos agentes químicos, se esperará ver una disminución de la actividad contráctil y eléctrica del corazón.

2) **Objetivos e Hipótesis Específicos:**

- 1- Estudiar el efecto de la Cloramina-T sobre la contractilidad y función eléctrica cardíacas, en corazón aislado de cobayo en situación basal.

-Hipótesis: Se esperará ver una disminución tanto de la contractilidad como de la actividad eléctrica.

-2- Estudiar el efecto de la Cloramina-T sobre la contractilidad y función eléctrica cardíacas, en corazón aislado de cobayo en situaciones de stress fisico-químico fisiopatológico (isquemia e injuria por reperfusión).

-Hipótesis: Esperamos observar una sinergia del efecto funcional de la ChT, con la repercusión funcional generada en situaciones de stress fisico-químico fisiopatológico (isquemia e injuria por reperfusión).

- 3- Estudiar el efecto de Cloramina-T en dinámica de Calcio intracelular, en corazón aislado con marcapaso externo.

- Hipótesis: El efecto que tendrá sobre los canales de Ca^{2+} L será de alterar su inactivación, esperándose observar un aumento en la actividad de dicho canal, que se traducirá en trastornos de la contractilidad y actividad eléctrica del corazón (arritmias, trastornos de conducción). Al oxidar las estructuras terciarias y cuaternarias del canal de Ca^{2+} L, la ChT alterará de forma negativa la dinámica del Calcio intracelular. Se espera una disminución de la frecuencia máxima de estimulación en corazones aislados tratados con Cloramina-T

3) Enumere y describa las principales actividades desarrolladas en el marco de su proyecto.

-Entrenamiento en preparación de corazones y cardiomiocitos aislados

-Registros simultáneos de tensión y electrogramas de superficie.

- 4) Indique si se han efectuado todas las etapas planteadas en el cronograma de ejecución del proyecto. En caso de que su cronograma haya sufrido alteraciones o no se haya podido cumplir con todas las etapas definidas en el cronograma, aclare los motivos de tal situación.

Se realizaron experimentos varios en células aisladas, que se reportarán en trabajos futuros, luego de aumentar el número de experimentos existentes.

- 5) Indique los principales resultados obtenidos. Aclare hasta qué punto coinciden - o no - con los resultados esperados por parte del equipo.

INOTROPISMO

1- La exposición aguda a CT produce un efecto inotropico negativo con una fase inicial caracterizada por disminución brusca del inotropismo que llega a un minimo alrededor del minuto, seguida de otra de fase de aumento que estabiliza en valor menor a la situación control.

2- El efecto inotrópico se debe a aumento de la tensión diastólica (TD) y disminución de la sistólica. El aumento de TD en el primer minuto muestra dependencia con la dosis de CT, presentando IC50 alrededor de 20 uM. Ambos efectos revirtieron tras el lavado de CT.

REFRACTARIEDAD

1 - Los datos obtenidos hasta el momento muestran que la exposición aguda a CT determina un cambio en la refractariedad cardíaca. Este hecho sugiere alteración en mecanismos que afectan la cinética intracelular de Ca.

ISQUEMIA

1- Los datos obtenidos hasta el momento muestran que la exposición aguda a CT aumenta la latencia para el cese de la actividad tanto mecánica como eléctrica durante la isquemia.

2- CT 100uM aumenta la injuria por reperfusión tras la detención del flujo coronario 10 in.

- 6) Indique si los resultados parciales o finales del proyecto fueron difundidos a través de alguna actividad (charlas, seminarios, talleres, prensa, edición de materiales impresos, etc.).

Si, Sociedad Uruguaya de Biociencias, Seminarios internacionales y pensamos hacerlo en Jornadas CSIC.

- 7) En caso de haber enfrentado dificultades en el desarrollo del proyecto de investigación, realice una breve descripción de las mismas.

Dos compañeros dejaron de venir porque les cambió la realidad de cursos y exámenes entre ago-set 2014 y marzo-abril 2015 (Dutra, Pereira).

- 8) En base a su experiencia de trabajo en equipo en el marco de este Programa, le solicitamos que realice sugerencias o comentarios para ser tomados en cuenta en futuras ediciones del mismo.

Demasiada demora entre que se escribe y se ejecuta el proyecto.

- 8) **Resumen publicable de no más de 250 palabras** que sea accesible para un público amplio, y en un lenguaje dirigido a no especialistas en la temática de la investigación. En este resumen se debe dar cuenta de los objetivos del proyecto, los pasos seguidos para cumplirlos y los principales resultados alcanzados.

Cloramina-T (CT) es un desinfectante que actúa como oxidante de diversos compuestos, como diversos aminoácidos. Durante la isquemia e injuria por reperfusión cardíacas se producen numerosas especies reactivas de oxígeno (ROS) que alteran el estado de oxidación-reducción celular. Estudiamos la respuesta cardíaca general al estrés oxidativo generado por exposición aguda a CT y su repercusión en la respuesta a isquemia en modelo de corazón aislado de cobayo. CT tiene un efecto inotrópico negativo bifásico con un componente que dura aproximadamente un minuto para estabilizarse luego de cuatro minutos. El efecto inotrópico negativo resulta de aumento de la tensión diastólica (TD) y disminución de la sistólica (TS), existiendo en el caso de TD una dependencia con la dosis con IC50 entre 10-20 μ M. La refractariedad a estímulos periódicos aumentó en presencia de 100 μ M de CT indicando dificultad para remover calcio intracelular (C_{ai}). En corazones sometidos a isquemias globales se observa mayor latencia para la pérdida de contractilidad y actividad eléctrica en presencia de CT 100 μ M. Se observa también mayor injuria por reperfusión tras 10 min de detención del flujo coronario en presencia de CT respecto de la situación control sugiriendo que CT es capaz de potenciar el estrés oxidativo producido por la isquemia e injuria por reperfusión. Dado la exposición al agente oxidante es desde el medio extracelular, sugerimos sensibilidad temprana de canales iónicos y transportadores de membrana al oxidativo, en comparación con respuestas intracelulares, por difusión del agente oxidante desde el exterior al interior celular.

El resumen debe contener la siguiente información:

título del
proyecto
servicio
nombre de los integrantes del
equipo nombre del docente
orientador

**Resumen
publicable:**

Stress oxidativo provocado por agentes químicos: Repercusión funcional de Cloramina-T.

Carlos Costa¹, Juan Impagliazzo¹, Hugo Torres¹ y Gonzalo Ferreira^{1&}

¹ Laboratorio de Canales Iónicos. Departamento de Biofísica. Facultad de Medicina. Udelar. Montevideo. Uruguay.
& autor correspondiente.

Stress oxidativo es el desbalance que ocurre entre las manifestaciones celulares perjudiciales de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad celular para eliminar/reparar daño producido por ROS. Durante la isquemia e injuria de isquemia por reperfusión, se produce stress oxidativo con producción de numerosas ROS. En variadas situaciones fisiopatológicas de stress cardíaco como isquemia o injuria por reperfusión se producen agentes oxidantes y se reporta una alteración de la capacidad cardíaca funcional. El efecto de estas ROS puede simularse por algunos agentes químicos. Cloramina-T (CT) es un poderoso agente oxidante de diversos compuestos a nivel de varios aminoácidos. CT/derivados se usan como agentes biocidas desinfectantes locales. La CT y sus derivados son compuestos que han sido escasamente estudiados respecto a daño cardíaco, siendo antisépticos de uso muy común. Este proyecto tiene importancia básica y aplicada: i) En lo básico, la correlación entre estos tipos de agentes químicos y efectos funcionales observados, permite tener una idea general del estado red-ox de las principales moléculas afectadas al oxidar el corazón por un agente químico. ii) En lo aplicado, permite comparar estos daños con aquellos producidos por stress oxidativo como durante la isquemia o la injuria por reperfusión. El objetivo de este proyecto es estudiar los efectos de la exposición aguda a agentes oxidantes sobre la función cardíaca en modelos animales. La hipótesis es que observaremos una repercusión funcional negativa sobre la función cardíaca ante exposición aguda a agentes químicos oxidantes. En órgano aislado, la exposición aguda del músculo cardíaco a CT \square M, disminuyó la actividad contráctil y eléctrica del corazón en situación basal, en isquemia y en reperfusión de isquemia. CT en miocardiocitos aislados disminuyó las corrientes de Na y Ca y calcio intracelular. En conclusión, CT puede afectar la función cardíaca en concentraciones en el rango micromolar.

- 9) En la siguiente tabla ingrese la información solicitada en relación a los **equipos y la bibliografía adquiridos con fondos del PAIE**. Recuerde que debe entregar todos los ítems adquiridos en los dos rubros antes mencionados, para que éstos formen parte del acervo de su institución y puedan ser utilizados por equipos financiados en posteriores ediciones de este programa.

Se gastó el dinero en la compra de Colagenasa y dispositivos de registro desechables que pudieron ser usados en el otro PAIE del mismo llamado. Solo esos reactivos dieron cuenta MUY PARCIALMENTE de los gastos que demandó este proyecto. Reactivos como Chloramine-T, proteasas y otros dispositivos se costearon con otros fondos. Al final se adjunta la hoja de cálculo con ejecución financiera.

EQUIPOS	
cantidad	ítem - descripción

BIBLIOGRAFÍA	
cantidad	autor(es), título, editorial, año

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I+D de los Servicios lo siguiente:

- Un CD con el **informe final** en formato .odt o .pdf. Y con el **póster** en su versión digital en formato .jpg o .pdf
- Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)

J. Juan Impagliazzo
 LC±4.515.775-5

.....
 FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al **docente orientador** que brinde una **opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes** durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los **resultados** expuestos a través de este informe y el contenido de su **resumen publicable**. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

Desempeño estudiantes

Trabajaron muy bien todos los estudiantes que figuran como autores en el resumen. El resto de los estudiantes, anotados para el proyecto y que contribuyeron a escribirlo, tuvieron una participación escasa en la realización del mismo. El problema central es que toman gran ímpetu al escribir el proyecto llegando los fondos varios meses después, cuando los estudiantes se ven enfrentados a otra realidad.

Resultados y resumen

Los procesos oxidativos son muy relevantes cuando ocurre isquemia o falta de irrigación sanguínea a nivel cardíaco como ser insuficiencia coronaria. Con este reactivo se evalúa especialmente la capacidad reactiva en algunos aminoácidos expuestos a stress oxidativo. La oxidación cardíaca en dichos aminoácidos por Cloramina-T empeora la performance cardíaca significativamente en situación control y cuando hay stress oxidativo agregado, sugiriendo que los aminoácidos que se afectan por Cloramina-T, también se afectan por procesos fisiopatológicos isquémicos.

Evaluación del Programa

Es algo que desalienta a este orientador acerca de la continuidad futura de estos proyectos con los estudiantes que concurren al laboratorio entusiasmados por acercarse a la ciencia, sobre todo los informes y trámites minuciosos que hay que hacer por \$25000, comparable a lo que se realiza en proyectos de mayor monto a nivel nacional, regional o internacional. Eso, unido al desfasaje entre el armado del proyecto y la ejecución del mismo meses después, son factores que a éste docente le hacen dudar sobre posibles emprendimientos futuros en otros llamados. En mi opinión se ha ido de más a menos en estos llamados con la complejidad agregada respecto a informes y reportes múltiples.


.....
FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR

PAIE – Gonzalo Ferreira “Stress oxidativo provocado por agentes químicos”
 PAIE – Gonzalo Ferreira “Caracterización de los efectos funcionales morfológicoshumanos maduros”

Asignación Inicial Gastos 2015 52,500

Ejecución	Empresa	Factura	
06/01/15 Colaginas P:2015191b	Worthington		9,108
07/22/15 Gastos terminales colaginas Worthington – FEDEX	Fundación Manuel Pérez	85578	1,100
07/22/15 Gastos terminales colaginas Worthington – TCU	Fundación Manuel Pérez	26569	1,515
06/18/2015 Tarjeta de adquisición P:2015194a	Optical Science Shop	150521-01	30,246
06/18/15 Tarjeta de adquisición GASTOS TERMINALES	Fundación Manuel Pérez		5,430
06/18/15 Tarjeta de adquisición BAJA GASTOS TERMINALES	Fundación Manuel Pérez		-5,430
11/20/15 Gastos terminales Optical Science – T Vazquez	Fundación Manuel Pérez	172465	420
11/20/15 Gastos terminales Optical Science – TCU	Fundación Manuel Pérez	50714	515
11/20/15 Gastos terminales Optical Science – Sibel	Fundación Manuel Pérez	85488	750

Total Gastado 43,655

Saldo del Proyecto al 31/12/15 8,845

PAIE – Gonzalo Ferreira “Stress oxidativo provocado por agentes químicos”
 PAIE – Gonzalo Ferreira “Caracterización de los efectos funcionales morfológicoshumanos maduros”
 PAIE – Gonzalo Ferreira “Electromiografía uterina como método paraclínico....”

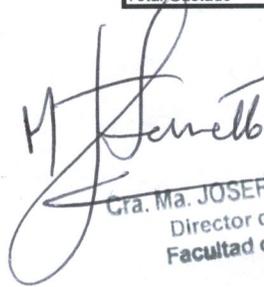
Saldo 2015 8,845
 Asignación Inicial Gastos 2016 27,500

Ejecución	Empresa	Factura	
04/28/16 Reintegro gastos varios	Gonzalo Ferreira		8,845

Total Gastado 8,845

Saldo del Proyecto al 06/05/16 27,500

AVAL CONTABLE INSTITUCION – FIRMA



Gra. Ma. JOSEFINA SERVETTO
 Director de División
 Facultad de Medicina