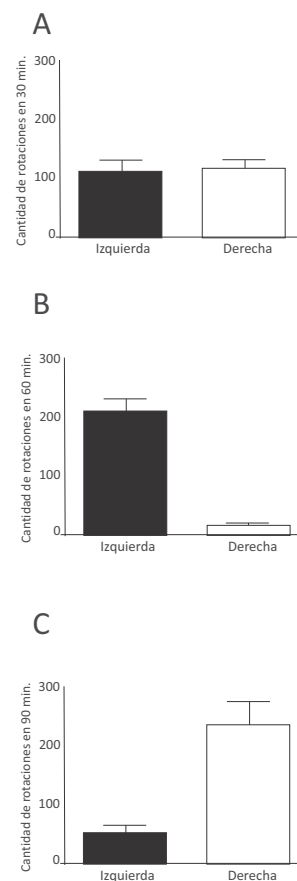


farmacológicamente, evaluados durante 90 minutos. A- Animales controles (sanos). B y C- Animales hemiparkinsonianos por degeneración de la vía dopaminérgica izquierda. Comportamiento rotatorio ipsilateral (izquierda) inducido por anfetamina y comportamiento rotatorio contralateral (derecho) inducido por apomorfina respectivamente.



Nuestros resultados, reportados en numerosas publicaciones y congresos internacionales, revelan que la administración de progesterona (PROG) 4 mg/kg s.c., 3 dosis, 7 días posteriores a la inyección del neurotóxico, retrasa la aparición de los signos motores (contralateralidad) y no motores (déficit de memoria y trastorno de la afectividad) de neurodegeneración; como así también presenta un efecto modulador positivo a largo plazo sobre las terminales dopaminérgicas nigroestriales (3).

Importancia de este modelo de hemiparkinsonismo

Concluimos que algunas de las ventajas de trabajar con un modelo de hemiparkinsonismo inducido por 6-OHDA son: 1) permite demostrar, a través de la prueba rotacional inducida farmacológicamente, que los animales con los que se experimenta se encuentran verdaderamente lesionados, 2) observar los cambios neuronales plásticos compensatorios, en la vía DA nigroestriatal contralateral al lado lesionado y 3) utilizar al mismo animal como sujeto enfermo (vía DA lesionada) y como sujeto control (vía DA indemne) siendo más representativos los potenciales efectos neuroprotectores de las nuevas drogas.

De esta manera, utilizando este modelo experimental, muchos investigadores se proponen los siguientes objetivos: 1) caracterizar ciertos signos no motores al inicio de la enfermedad, 2) estudiar eventos celulares y moleculares que gatillan la patología, 3) evaluar nuevas moléculas biológicas con potenciales acciones neuroprotectoras.

Agradecimientos

Agradecemos al Sr. Roitman, dueño de la Farmacia Sevilla, por su colaboración en la donación de desipramina. Este trabajo ha sido en parte financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONICET, PIP 5942), de RC y RY, por la Universidad Nacional de Cuyo (SECTYP, 06/J288) de RY y por la Universidad de Mendoza (113/07) de RC y RY.

Bibliografía

1. Blandini, F; et al. The 6-hydroxydopamine model: News from the past. *Parkinsonism and Related disorders*.2008.14:124-129
2. Cabrera, R; et al. Turnover rate and stimulus evoke release of dopamine by progesterone and N-methyl-D-aspartic acid in rat striatum during pregnancy. *European Journal of Pharmacology*.1996.317:55-59.
3. Casas, S; et al. Progesterone prevents

depression-like behavior in a model of Parkinson's disease induced by 6-OHDA in male rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. ENVIADO para revisión 26-07 del 2010. Manuscript number assigned Ms. Nº PBB-D-10-00285.

4. Dauer, W; et al. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003.39:889-909.

5. Deumens, R; et al. Modeling Parkinson's Disease in Rats: An Evaluation of 6-OHDA: Lesions of the Nigrostriatal Pathway. *Experimental Neurology*.2002.175:303-317.

6. Estrella, C; et al. Differential responses in central dopaminergic activity induced by apomorphine in IPL nude rat. *Behavioral Brain Research*. 2002.133:143-148.

7. Hayes, M; et al. Current concepts in the management of Parkinson's disease. *Med J*.2010.192:144-149.

8. Langston, J; et al. Etiology of Parkinson's disease. In: Olanow CW, Lieberman AN, eds. *The scientific basis for the treatment of Parkinson's disease*. Park Ridge, NJ:Parthenon.1992.33-58.

9. Larramendy, C; et al. Cabergoline and pramipexole fail to modify already established dyskinesias in an animal model of parkinsonism. *Behavioral Brain Research*. 2008.194:44-51.

10. Ottoni, E. 2000. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*. 2000.32:446-449.

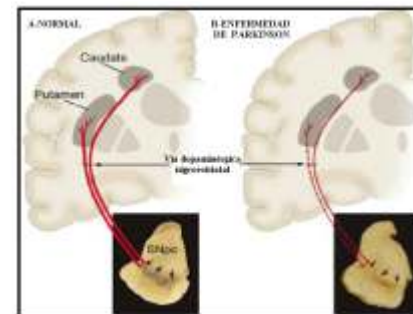
11. Tanner, C; et al. Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurol Clin*. 1992. 10:317-329.



y hemiparkinsonismo en roedores, gatos y monos (4).



Figura 1: Degeneración de la vía dopaminérgica nigroestriatal por muerte neuronal de la sustancia negra para compacta (SNpc).



Neuron, Vol.39, 889-909, September 11,2003, Parkinson's Disease: Mechanisms and Models.

Como se mencionó al comienzo del

artículo, la EP se caracteriza fisiopatológicamente por una degeneración lenta, progresiva e irreversible de la vía dopaminérgica nigroestriatal. Ésta, en cerebro de rata, tiene su origen en el grupo celular A9, localizado en la SN pars compacta (SNpc). Los axones de estas neuronas corren a lo largo del mesencéfalo y terminan en el cuerpo estriado (CE) dorsal. Este núcleo, a su vez, se encuentra constituido por el núcleo caudado y putámen.

Ungerstedt en 1968 describió por primera vez que la inyección del neurotóxico 6-OHDA en cerebro de ratas, mediante cirugía estereotáxica, inducía una lesión selectiva de las neuronas dopaminérgicas (DA) de SN (Figura 2). Por el contrario, cuando se administraba por vía sistémica destruía sólo las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos careciendo de acción tóxica sobre el sistema nervioso central. Existen tres sitios anatómicos posibles de

inyección del neurotóxico. Estos son: a) SN; b) mesencéfalo o c) CE. Las principales diferencias en la elección de alguno de estos sitios son: a) complejidad de la cirugía; b) cantidad de neuronas DA degeneradas y; c) tiempo de evolución de la enfermedad. Tal es así, que la inyección de 6-OHDA en SN involucra una cirugía compleja e induce una degeneración estática, rápida y completa de las neuronas DA (5), mientras que si se la administra en mesencéfalo o CE, la complejidad de la cirugía es menor y produce una neurodegeneración lenta y progresiva.

Se habla de hemiparkinsonismo cuando se lesiona sólo una de las vías dopaminérgicas nigroestriales, usualmente la del hemisferio cerebral izquierdo, dejando la vía nigroestriatal contralateral indemne. Caso contrario, se denomina parkinsonismo, cuando se lesionan ambas vías. La mayor cantidad de publicaciones científicas, de los últimos años, utilizan el

Soluciones rápidas y sencillas para problemas críticos: Ahora es posible

Sistema portátil de alta tecnología, método inmunofluorométrico

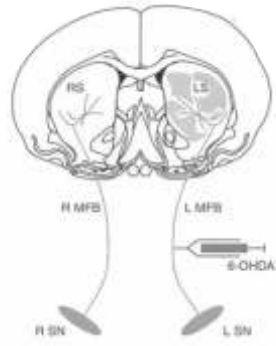


- Triage BNP: Para detección de Péptido natriurético tipo B.
- Triage D Dimer: Para la detección de Dímero D.
- Triage Cardiac Panel: Troponina I, CK-MB y Mioglobina.
- Triage Cardio Profiler: Troponina I, CK-MB, Mioglobina y BNP.
- Triage SOB: Troponina I, CK-MB, Mioglobina, BNP y Dímero D.

modelo de hemiparkinsonismo, inducido por 6-OHDA e inyectado en CE (4g/2l) (1,9).



Figura 2: Diagrama de la vía dopaminérgica (DA) nigroestriatal. Áreas grises en cuerpo estriado izquierdo indican pérdida de terminales DA por inyección de 6-OHDA sobre eferencias nigroestriatales.



La selectividad y especificidad del neurotóxico es debida a su alta afinidad por el sistema de transporte de catecolaminas. Es decir, ésta molécula es transportada dentro de las terminales presinápticas y posteriormente hacia el soma celular de las neuronas dopaminérgicas y noradrenérgicas. La neurotoxicidad de 6-OHDA está basada en la formación de especies reactivas de oxígeno (SRO) como anión superóxido (O₂⁻), radical hidroxilo (OH) y quinonas producto de su metabolización (5). Finalmente comprometen e inhiben los complejos I y IV de la cadena respiratoria mitocondrial, ocasionando déficit de ATP y muerte neuronal. Así, sustancias antioxidantes como vitamina E o N-acetil-cisteína, inhibidores de la MAO y quelantes de hierro como desferoxamina ejercen un efecto neuroprotector frente a la acción neurotóxica de la 6-OHDA.

Para prevenir la recaptación del neurotóxico por las neuronas noradrenérgicas, los animales son pretratados con desipramina 25 mg/kg intraperitoneal, 45 minutos previos a la cirugía.

Desde el punto de vista conductual, este modelo, presenta inmediatamente después de la cirugía y de forma

espontánea una conducta rotatoria ipsilateral a la lesión que se mantiene durante las 24 horas siguientes. Este comportamiento es debido al desequilibrio que existe en el contenido de dopamina entre el estriado homolateral y contralateral inyectado con el neurotóxico (4). Esta actividad asimétrica, la cual representa una de las grandes ventajas del modelo de hemiparkinsonismo, es interpretada como un signo motor que manifiesta la enfermedad. Esto es de gran relevancia, debido a que sólo el 40% de los animales mimetizan la enfermedad (5) mientras que el 60% restante deben ser descartados. Este comportamiento es evaluado a través de una prueba denominada test rotacional inducido farmacológicamente. A partir de las 2 semanas pos inyección del neurotóxico, los animales que desarrollan degeneración de la vía dopaminérgica nigroestriatal presentan una rotación ipsilateral a la lesión cuando se les administran sustancias que aumentan la liberación de dopamina, como amfetamina (9). Mientras que a partir de la 4ª semana pos lesión, estos mismos animales muestran una rotación contralateral al lado de la lesión cuando reciben agonistas dopaminérgicos como apomorfina (Figura 3) (2,6) Esto es debido al incremento del número de receptores dopaminérgicos que existe en el estriado homolateral a la lesión como consecuencia de la denervación. Por el contrario, la amfetamina, al incrementar la liberación de dopamina en las terminales presinápticas incrementa la concentración de este neurotransmisor únicamente en el estriado contralateral a la lesión, produciéndose un desequilibrio funcional a favor del estriado no lesionado. En la evaluación de este comportamiento rotatorio se utiliza un aparato denominado "return". El mismo consiste en un recipiente plástico, apoyado sobre una base giratoria y conectado a un programa informático específico mediante un brazo mecánico (10). De esta manera, el animal es colocado dentro del bowls plástico, previamente inyectado con la droga correspondiente al tiempo de evolución de su enfermedad (2 semanas, amfetamina o 4 semanas, apomorfina) y se lo evalúa durante 90 minutos (Figura 4). Un animal sano (control) tiende a rotar de

manera similar hacia ambos lados. Diferente es lo que ocurre en un animal hemiparkinsoniano, por lesión de la vía dopaminérgica nigroestriatal izquierda, que rota ipsilateralmente (izquierda), a las 2 semanas pos lesión, y contralateralmente (derecha), a partir de las 4 semanas pos lesión (Figura 5) (9). Esta actividad rotatoria asimétrica es utilizada como parámetro de evaluación de los potenciales efectos neuroprotectores de nuevas moléculas experimentales. Es decir, muchos investigadores buscan el retraso de la aparición de esta contralateralidad tras el tratamiento, con estas nuevas drogas, de los animales lesionados.



Figura 3: Inducción farmacológica del comportamiento rotatorio ipsilateral y contralateral a la vía dopaminérgica nigroestriatal lesionada.

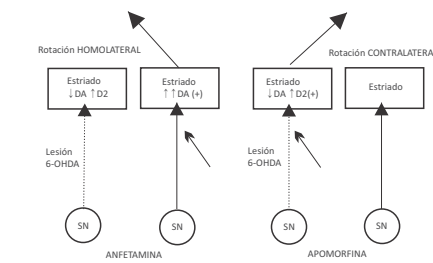


Figura 4: Return, instrumento para evaluar comportamiento rotatorio asimétrico inducido farmacológicamente.



Figura 5: Prueba totacional inducida

30



MINDRAY

Más que analizadores...

la solución a sus necesidades.

BC-2800

Analizador Hematológico Automático.

Diferencial de 3 poblaciones, 19 parámetros + 3 histogramas (RBC, WBC, PLT). Velocidad: 30 muestras por hora. Bajo costo de insumos.



BC-3000Plus

Analizador Hematológico Automático.

Diferencial de 3 poblaciones, 19 parámetros, + 3 histogramas (RBC, WBC, PLT). Velocidad: 60 muestras por hora. Bajo costo de insumos.



BC-5500

Analizador Hematológico Automático.

Diferencial de 5 poblaciones, 27 parámetros, 2 histogramas + 2 diagramas de dispersión. Tecnología láser combinado con método de tinción química, Citometría de Flujo. Velocidad: 80 muestras por hora. 2 modos de medición: manual con tubo abierto o cerrado y automático con Auto Sampler. Capacidad de identificación de células anormales. Lector de códigos de barras incorporado. Gran pantalla de LCD sensible al tacto.



BS-200

Autoanalizador de Química Clínica.

200 Test por hora (sin ISE). 40 posiciones para reactivos en compartimiento refrigerado. 40 posiciones para muestras. Interface bi-direccional a software de laboratorio. Ideal para pequeños y medianos laboratorios.



BS-300

Autoanalizador de Química Clínica.

300 Test por hora (sin ISE). 50 posiciones para reactivos en compartimiento refrigerado. 60 posiciones para muestras. Interface bi-direccional a software de laboratorio. Lector interno de código de barras para muestras.



Representante exclusivo en Argentina

GEMATEC S.R.L.

Ricardo Gutiérrez 1357 PB A, (1636) Olivos, Buenos Aires, Argentina.

Tel/Fax: (011) 4794-7575/7676/3184/1289 - 4799-3551

E-mail: info@gematec.com.ar

GEMATEC

equipamiento para medicina

www.gematec.com.ar

2005). La digestibilidad de la materia seca y de la fibra observada en ciertas razas caprinas adaptadas a zonas áridas y alimentadas con dietas altamente lignificadas, supera la digestibilidad observada en razas europeas y en otros rumiantes domésticos (Silanikove and Brosh, 1989). Esto les permite lograr un mejor aprovechamiento de las especies forrajeras que predominan en estos ambientes áridos, indicando una buena adaptación a estas condiciones de producción. Esta adaptación puede deberse, entre otros factores, a una gran eficiencia en la utilización de la fibra (Silanikove, 2000), por lo que el estudio de las bacterias y enzimas fibrolíticas ruminales (celulolíticas y hemicelulíticas) adquiere importancia en los sistemas de producción caprina en nuestro país.

Las bacterias celulolíticas se caracterizan por degradar la celulosa y hemicelulosa de la célula vegetal, los cuales se encuentran principalmente formando parte de la pared celular vegetal (Stewart et al., 1997). *Fibrobacter succinogenes* (*F. succinogenes*) es una de las bacterias celulolíticas más importante del rumen cuando los animales se alimentan con dietas de baja calidad nutricional (Bryant y Burkey, 1953). Los cultivos puros de las cepas de *F. succinogenes* S85 y A3c digieren in vitro a la celulosa contenida en los forrajes en mayor medida que varias de las otras especies bacterianas celulolíticas (Varel, 1991).

A partir de una cepa de *F. succinogenes* aislada del rumen de caprinos

biotipo Criollo, se pretende determinar la digestibilidad in vitro de la celulosa contenida en las principales especies forrajeras autóctonas, seleccionadas naturalmente por estos caprinos. Este conocimiento permitirá en un futuro comprender los mecanismos de la degradación de la celulosa por dicha cepa. Esto es esencial para ampliar los conocimientos relacionados con el proceso de fermentación ruminal desarrollado por estos animales y en un futuro formular estrategias de manipulación de dicha fermentación, orientadas a mejorar la eficiencia en la producción de carne y leche de los caprinos en los sistemas áridos.

Materiales y métodos

En el presente estudio se utilizaron cabras biotipo Criollo, adultas, hembras, de 3 años de edad, que fueron sometidas a un proceso de fistulización quirúrgica según lo recomendado por Grilli et al. (2009). Durante dos estaciones climáticas (invierno y verano), se trasladaron los animales fistulizados al puesto "La Majada", ubicado en Lavalle, Mendoza. Los animales fueron pastoreados en el campo natural durante 15 días. La composición nutricional de los forrajes seleccionados por el ganado se realizó según las técnicas AOAC (1984) para materia seca, hemicelulosa, celulosa y lignina. Al finalizar los 15 días de pastoreo, se tomaron muestras de contenido ruminal a través de la fístula ruminal para el aislamiento de las bacterias anaerobias. Los cultivos con actividad celulolítica fueron acondicionados para la extracción de ADN (Koike y Kobayashi, 2001). La identificación

genética de las cepas aisladas se realizó por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), descrita por Tajima et al (1999), utilizando el kit QIA amp DNA Stool (Byodynamics®). Se utilizaron primers para amplificar el fragmento que codifica para el ARNr de la subunidad 16S de las siguientes bacterias celulolíticas: *F. succinogenes* (445 pares de base -bp-), *Ruminococcus flavefaciens* (835 bp) y *Ruminococcus albus* (176 bp). La identificación bioquímica de la cepa aislada se realizó por la determinación del patrón de fermentación de los siguientes carbohidratos: glucosa, fructosa, xilosa, arabinosa, manosa, galactosa, ramnosa, maltosa, celobiosa, sacarosa, trehalosa, manitol, glicerol, dulcitol, adonitol, inositol, dextrina, rafinosa, almidón, xilano y carboximetilcelulosa (CMC); siguiendo las especificaciones de Moore y Holdeman (1972). Se determinó el porcentaje de digestibilidad de la celulosa contenida en la alfalfa (*Medicago sativa*) y en 6 especies forrajeras nativas (*Prosopis flexuosa*, *Capparis atamisquea*, *Geoffroea decorticans*, *Mimosa ephedroides*, *Tricomaria usillo* y *Atriplex lampa*). Para ello, estos forrajes y las partes de las plantas consumidas por el ganado caprino fueron secados en una estufa a 60°C y luego molidos. Se preparó un medio de fermentación añadiendo 0,5% del forraje procesado como única fuente de energía. Los tubos fueron inoculados con 0,2 mL de un cultivo de 24 hs. de la cepa aislada. Los tubos fueron incubados a 39°C durante 14 días, en condiciones de anaerobiosis. El análisis de la celulosa contenida en los forrajes se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento de Dehority y Scott (1967)



La línea más completa en microbiología



Automatización total del laboratorio de microbiología

Siembra automatizada de muestras clínicas
Coloración automatizada Gram | **MUY PRONTO** Ziehl-Nielsen

Medios de cultivo listos para usar

Placas preparadas. Botellas y tubos.
chromID Placas cromogénicas

Métodos manuales de identificación y pruebas de sensibilidad antibiótica

api | **Etest** | **SLIDEX** | *mycoplasma*

Soluciones informáticas a medida para gestión y análisis epidemiológicos

copernico | **OBSERVA** | **myla** **MUY PRONTO**

bioMérieux Argentina S.A. • tel. (54 11) 5555 6800 • info.ar@eu.biomerieux.com

BacT/ALERT 3D

Sistema automatizado para hemocultivos y otros líquidos de punción

VITEK 2 compact

Identificación y sensibilidad automatizada
Un experto a su lado

VIDAS

Calidad y flexibilidad en inmunoanálisis

Innovación en diagnóstico molecular

NucliSENS EasyQ Screening de MRSA - muy pronto: KPC

diversilab Genotipificación microbiana

HAIN DNA•STRIP Diagnóstico de tuberculosis

www.biomerieux.com.ar



LABORATORIO DE MEDICINA
BIOQUÍMICA CLÍNICA DIAGNÓSTICA

Fundado por el Dr. Gutman



ACREDITADOS BAJO LA NORMA
NM ISO 15189:2008
*Consulte alcance acreditación en: www.oaa.org.ar

DESDE 1979
REFERENTES NACIONALES
EN CALIDAD Y SERVICIO

Artículo premiado en las Jornadas de la Sociedad Bioquímica de Cuyo



Determinación In Vitro de la Digestibilidad de la Celulosa contenida en pasturas autóctonas por una Cepa de Fibrobacter succinogenes aislada de Cabras Biotipo Criollo

🕒 12 min.



Este artículo, otro de los premiados en las últimas Jornadas de la Sociedad de Biología de Cuyo, trata sobre la digestibilidad de la celulosa de especies forrajeras de la región norte de Mendoza, por una cepa de *Fibrobacter succinogenes*. Se observó que las especies de mayor importancia forrajera fueron *Prosopis flexuosa*, *Atriplex lampa*, *Larrea cuneifolia*, *Tricomaria usillo*, *Geoffroea decorticans* y *Capparis atamisquea* (Allegretti et al., 2005). La digestibilidad de la materia seca y de la fibra observada en ciertas razas caprinas adaptadas a zonas áridas y alimentadas con dietas altamente lignificadas, supera la digestibilidad observada en razas europeas y en otros rumiantes domésticos (Silanikove and Brosh, 1989).



Grilli D, Paez S, Egea V, Cerón M, Cobos E, Allegretti L, Arenas N.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, Universidad J. A. Maza.
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. CONICET.



E-mail: diego.grilli@yahoo.com.ar



Resumen

Se realizó la determinación in vitro de la digestibilidad de la celulosa presente en seis especies forrajeras autóctonas (*Atriplex lampa*, *Geoffroea decorticans*, *Tricomaria usillo*, *Prosopis flexuosa*, *Mimosa ephedroides*, *Capparis atamisquea*) y en el heno de alfalfa (*Medicago sativa*), por una cepa de *Fibrobacter succinogenes*. Esta cepa fue aislada del rumen de caprinos biotipo Criollo de la región de Lavalle, Mendoza. Se utilizaron las principales especies forrajeras y las partes de las plantas consumidas por el ganado caprino en pastoreo. La digestibilidad de la celulosa contenida en *Medicago sativa* fue inferior a la digestibilidad observada en *Atriplex lampa*, *Geoffroea decorticans* y *Tricomaria usillo*, mientras que no hubo diferencias con *Prosopis flexuosa*, *Mimosa ephedroides* y *Capparis atamisquea*. El contenido de lignina de los forrajes estudiados sugiere que los tejidos no lignificados son mucho más degradados que los tejidos lignificados de los forrajes evaluados.

Introducción

Los animales rumiantes se caracterizan por alimentarse de forrajes debido a la posibilidad de degradar los carbohidratos estructurales contenidos en los vegetales (fibra), como celulosa, hemicelulosa y

pectina; muy poco digestibles para las especies monogástricas. La degradación del alimento se realiza mayoritariamente por digestión fermentativa y no por la acción de las enzimas digestivas, y los procesos fermentativos los realizan diferentes tipos de microorganismos a los que el rumiante aloja en sus divertículos estomacales (Relling y Mattioli, 2002). El aparato digestivo de los rumiantes consta de tres divertículos estomacales (retículo, rumen y omaso) que sirven para digerir la fibra y parte de la proteína del alimento, y un estómago verdadero (abomaso) donde se produce la secreción gástrica. El 60-65% de la digestión de los nutrientes tiene lugar en el rumen, donde se produce la fermentación de aproximadamente las dos terceras partes del alimento ingerido, lo cual les permite a los microorganismos responsables de dicha fermentación, obtener la energía necesaria para su propio mantenimiento y crecimiento (Sydney y Lyford, 1988). Por este motivo, podemos decir que la nutrición del rumiante depende de la nutrición de los microorganismos ruminales (Relling y Mattioli, 2002).

En la región de Lavalle (Mendoza), las cabras componen su dieta con una alta proporción de especies arbustivas, las que constituyen una importante oferta de fibra. Se observó que las especies de mayor importancia forrajera fueron *Prosopis flexuosa*, *Atriplex lampa*, *Larrea cuneifolia*, *Tricomaria usillo*, *Geoffroea decorticans* y *Capparis atamisquea* (Allegretti et al.,



LIS®
LABORATORY
INFORMATION
SYSTEM®

www.nextlab.com.ar

Tecnología Integrada

Flexibilidad y poder de parametrización. Software abierto que puede integrarse con instrumentos de cualquier fabricante. Solución ideal para instituciones públicas y privadas al contemplar facturación e integración con sistemas hospitalarios. NextLAB® LIS se presenta en tres versiones: Lite, Professional y Enterprise.

NextLAB®
SOFTWARE INTELIGENTE

LITE

PRO

ENT

Nicolás de Vedia 1644 1er. Piso "1" C1429EIB
Nuñez, Buenos Aires, Argentina
T. (+5411) 60 91 30 94 Rot
F. (+5411) 60 91 21 00 Ext 3094