



## INFORME PERIODO 2012-2013

### 1. APELLIDO: INDA

Nombre(s): ANA MARIA

Título(s): Doctora en Ciencias Naturales Dirección Electrónica: aminda@med.unlp.edu.ar

### 2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría Profesional Asistente

Mes Noviembre

Año 1991

ACTUAL: Categoría Profesional Principal

Mes Diciembre

Año 2005

### 3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

a) Estudio de la relación entre la proliferación y la angiogénesis en distintas poblaciones celulares normales y tumorales

b) Análisis macro y microscópico de restos óseos humanos.

### 4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s) Dra. Ana Lía Errecalde

Cargo Institución: Profesor Titular Cátedra de Hist. Embriol. Citolog. "A", Fac. Cs.Médicas. UNLP.

Dirección: Calle Ciudad La Plata

C. P 1900 Prov. Bs. As. Dirección Electrónica: aerrecal@med.unlp.edu.ar

### 5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A"

Dependencia: Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

Dirección: Calle: 60 s/n

Ciudad: La Plata

C. P: 1900

Prov: Bs. As.

Tel: 483-5524

## 6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre: Cátedra de Citología Histología y Embriología "A".

Dependencia: Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

Dirección: Calle 60 y 120 s/n

Ciudad: La Plata C.P: 1900 Prov: Bs. As. Tel:221 483-5524

Cargo que ocupa: Profesor Adjunto (Dedicación exclusiva).

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO (Debe exponerse la actividad desarrollada, técnicas empleadas, métodos, etc. en dos carillas como máximo, en letra arial 12, a simple espacio)

## 8. OTRAS ACTIVIDADES

8.1 PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC. Debe hacerse referencia, exclusivamente, a aquellas publicaciones en las cuales se ha hecho explícita mención de la calidad de personal de apoyo de la CIC. Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo en el mismo orden en que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, año y, si corresponde, volumen y página, asignándole a cada uno un número.

8.2 CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. Indicar la denominación del curso, carga horaria, institución que lo dictó y fecha, o motivos del viaje, fecha, duración, instituciones visitadas y actividades realizadas.

8.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS o EVENTOS SIMILARES. Indicar la denominación del evento, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo y título(s) del(los) trabajo(s) o comunicación(es) presentada(s).

## 9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES. (En este punto se indicará todo lo que se considere de interés para una mejor evaluación de la tarea cumplida en el período).

## PAUTAS A SEGUIR EN LA ELABORACIÓN DEL INFORME

### Pautas generales

- El informe debe contener los títulos y subtítulos completos que se detallan en hojas adjuntas y un índice
- Se deben anexar al final del informe las copias de las publicaciones, resúmenes de trabajos, informes y memorias técnicas a los que se hace referencia en el desarrollo del mismo, así como cualquier otra documentación que se considere de interés.
- El informe se deberá presentar impreso en hojas perforadas A-4 y en disquete, formato RTF, protegido contra escritura, configurado para papel A4 y libre de virus. En la etiqueta de mismo se consignará el apellido y nombre del Personal de Apoyo y la leyenda «Informe Científico-tecnológico período».
- Incluir en la presentación del informe (en sobre cerrado) la opinión del Director.

## **INDICE**

<b>7- EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO</b>	<b>pg.1</b>
<b>8- OTRAS ACTIVIDADES</b>	
<b>8.1 Publicaciones</b>	<b>pg.3</b>
<b>8.3 Comunicaciones en reuniones científicas</b>	<b>pg.3</b>
<b>9- TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO</b>	<b>pg.3</b>
<b>10-OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN TITULOS ANTERIORES</b>	<b>pg.4</b>

## **7. Exposición sintética de la labor desarrollada en el período**

### **Estandarización para análisis de periodicidad.**

Los ratones de la cepa C3HS que se utilizaron en los experimentos fueron estandarizados para análisis de periodicidad, en nuestro bioterio, los animales se colocaron en cuartos "ad hoc" (cuarto de ritmos) a una temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

En cada cuarto se puede aislar hasta un máximo de 300 ratones del mismo sexo, en cajas individuales, iluminadas con luz artificial fluorescente (40w), de 06:00 a 18:00 horas, alternando con 12 horas de oscuridad (de 18:00 a 06:00 horas). En estas condiciones los animales permanecen un máximo de 21 días, después de los cuales son utilizados en los experimentos.

Durante el período de estandarización los ratones reciben agua y comida "ad libitum" y son controlados una vez por día, al comienzo del período de oscuridad (18:00 hs), para la reposición de agua y comida en caso necesario.

En estas condiciones hemos demostrado que se establece un ritmo regular de alternancia de oscuridad-actividad-alimentación e iluminación-reposo-ayuno en períodos de 12 horas.

La estandarización disminuye la dispersión de los datos de las variables medidas y facilita el análisis experimental.

Luego de 21 días de estandarización, los animales fueron sometidos a una hepatectomía parcial (70%).

### **Técnica quirúrgica:**

La hepatectomía se realizó bajo anestesia con éter. La primera etapa de la anestesia se hace en un recipiente de vidrio de boca ancha en el cual hay un algodón embebido en éter. Cuando el animal está anestesiado se saca del recipiente, se coloca en una mesa de operaciones y se le pone una mascarilla de gasa manteniendo la anestesia con gotitas de éter. Se coloca en posición decúbito dorsal, con los miembros anteriores y posteriores en extensión no forzada pero firme. Se afeita la zona de operación, y se le hace una incisión sobre la línea blanca de más o menos 1.5-2 cm. de largo comenzando desde la apófisis xifoide hacia abajo. Se coloca un separador chato. Se pone una gasa doblada en forma de cinta sobre el tórax del ratón a nivel de la incisión. Con mucha suavidad se saca el lóbulo mediano con una pinza de aro y se vuelca sobre la gasa, luego se saca el lóbulo izquierdo y se apoya encima del mediano, se corta entonces con una tijera de punta roma el ligamento gastro-hepático con el objeto de liberar el pedículo y facilitar su ligadura. Se envuelven ambos lóbulos con la gasa cruzando los extremos y dejando libre el lugar de las ramas de la arteria hepática, el conducto biliar y la vena porta de estos lóbulos. Se pasa una aguja curva y de punta roma con hilo de lino y se ata el pedículo en su posición más distal con el objeto de evitar la necrosis del lóbulo paragástrico. Con una tijera de punta roma que se introduce en el mismo lugar que la aguja se corta el pedículo por encima de la ligadura. Luego de esperar unos segundos, para permitir el pasaje de la sangre contenida en los lóbulos a extirpar a través de la rama de la vena hepática, se realiza una ligadura de lino cerca de la base de implantación de los lóbulos y se corta por encima. Se saca el separador y se sutura con hilo de algodón.

### **Técnicas inmunohistoquímicas**

#### **Estudio de la síntesis de ADN mediante la técnica de inmunohistoquímica de bromodeoxiuridina.**

A cada animal 1 hora antes del sacrificio se le inyecta intraperitonealmente una solución de -5- bromodeoxiuridina (Sigma) en dosis equivalente a 50 mg/kg de peso corporal. Durante la necropsia se extraen los órganos que se fijan en formol buffer durante 24 hs., luego se deshidratan mediante un tren de alcoholes de concentración creciente, se aclaran en xilol y se incluyen en parafina. Se cortan con micrótopo de deslizamiento, obteniéndose cortes de un espesor aproximado de 5  $\mu\text{m}$ , y se montan sobre portaobjetos silanizados.

Se les realiza el desparafinado mediante la inmersión de los portaobjetos en xilol y luego se hidratan utilizando nuevamente un tren de alcoholes, pero esta vez de concentración decreciente. Los cortes hidratados se someten al tratamiento en microondas (2x5', 750W) en buffer citrato pH 6 para la recuperación antigénica.

Una vez enfriado se lavan en Tris buffer y se sumergen en una solución de agua oxigenada (20 vol.) al 3% para bloquear la peroxidasa endógena y así evitar la marcación inespecífica. Se incuban con el anticuerpo primario (Bu 20a, 1/100, DAKO) durante 1 hora en cámara húmeda a temperatura ambiente. Terminada la incubación se vuelven a lavar en Tris buffer y se utiliza como sistema de detección el Sistema Envision (DAKO) durante 30 minutos también a temperatura ambiente y en cámara húmeda. Se vuelven a lavar en Tris buffer y se realiza el revelado con diaminobencidina (DAB).

Por último se les realiza una coloración suave de contraste con Hematoxilina para facilitar la observación de los núcleos no marcados y se monta a los preparados con un cubreobjeto.

#### Para el estudio de la angiogénesis se utilizó la técnica del VEGF y CD34

Durante la necropsia se extraen los órganos que se fijan en formol buffer durante 24 hs., luego se deshidratan mediante un tren de alcoholes de concentración creciente, se aclaran en xilol y se incluyen en parafina. Se cortan con micrótopo de deslizamiento, obteniéndose cortes de un espesor aproximado de 5 µm, y se montan sobre portaobjetos silanizados.

Se les realiza el desparafinado mediante la inmersión de los portaobjetos en xilol y luego se hidratan utilizando nuevamente un tren de alcoholes, pero esta vez de concentración decreciente. Los cortes hidratados se someten al tratamiento en microondas (2x5', 750W) en buffer citrato pH 6 para la recuperación antigénica.

Después del tratamiento en microondas los preparados se enfrían en buffer citrato durante 20 minutos, luego son lavados en TBS.

Se los incuban con el anticuerpo primario VEGF (C-1), anticuerpo IgG<sub>2a</sub> (Santa Cruz Biotechnology, California USA) en una dilución 1/40 en cámara húmeda durante 1 hora a temperatura ambiente. Se utiliza Envision (DAKO, Carpinteria, California, USA) como sistema de detección. La reacción se revela con 3'3 diaminobencidina (Sigma) en TBS con 0.03% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los cortes se contrastan con Hematoxilina de Meyer y se montan.

Para el estudio de los vasos sanguíneos los cortes se incubaron con el anticuerpo CD34 (BI-3C5) monoclonal de ratón IgG1, Santa Cruz Biotechnology, previa recuperación antigénica en horno microondas (2 x 5 min., 750W) con buffer citrato pH 6. Para la detección y amplificación, las muestras se incubaron con un polímero: el sistema Envision (DAKO). La diaminobenzidina se utilizó como revelador y la hematoxilina como colorante de contraste.

#### Estudio de la actividad mitótica mediante el método estatmocinético.

Para detener las mitosis en metafase se administraron 2 µg de colchicina (en 0.01 ml. de agua destilada) por gramo de peso corporal del ratón por vía intraperitoneal en la fosa ilíaca izquierda del animal 4 horas antes de su muerte. Con la aplicación del método estatmocinético, se puede determinar la cantidad de células que entran en la fase mitótica del ciclo celular durante las 4 horas que transcurren desde la inyección de colchicina al momento del sacrificio, ya que la colchicina actúa provocando la disrupción del huso mitótico, con la consiguiente producción de figuras mitóticas características, debido a que no se forma la placa ecuatorial. Estas metafases han sido llamadas metafases colchicínicas y son fácilmente distinguibles al MO.

## **8- Otras actividades**

### **8-1 Publicaciones**

#### Trabajos publicados en el período

1. Salceda, S.; Desántolo, B.; García Mancuso, R.; Plischuk, M.; Inda, A. The 'Prof. Dr. Rómulo Lambre' Collection: An Argentinian sample of modern skeletons. Journal of Comparative Human Biology – HOMO- J. Comp. Hum. Biol. 63 (4). 275-281. 2012.
2. Colaci P, García M, Errecalde, Inda AM. Correlation between MVD and two prognostic factors: Fuhrman grade and tumoral size, in clear renal cell carcinoma. J.Cancer Sci. Ther. 4 (10): 313-316. 2012.

### **8-3 Asistencia a reuniones científicas/tecnológicas o eventos similares.**

1. Gorizoain G; Plischuk M; García AL; Errecalde AL; Inda A: Determinación del sexo a partir del índice canino mandibular. XIV Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 19 y 20 de Septiembre de 2012.
2. Sbatella A, García Mancuso R, Andrini L, Perez M, Inda AM: Estimación de la Edad en período fetal y perinatal por estadios de desarrollo de la dentición. XIV Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 19 y 20 de Septiembre de 2012.
3. Cariaga A, Desántolo B, Paggi R, García M, Inda AM: Longitud de la apófisis mastoides como indicador del dimorfismo sexual. XIV Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 19 y 20 de Septiembre de 2012.
4. Andrini L, García M, Inda A, Errecalde A: Estudio de la expresión del VEGF y su relación con la actividad mitótica y la síntesis de ADN durante la regeneración hepática. XIV Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 19 y 20 de Septiembre de 2012.
5. Fernandez Blanco A, Inda A, Errecalde A.: Síntesis de ADN en los hepatocitos de ratones machos jóvenes intactos hepatectomizados y portadores del tumor ES2. XIV Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 19 y 20 de Septiembre de 2012.

## **9. Tareas docentes desarrolladas en el periodo.**

Año 2004 hasta la actualidad. Profesor Adjunto con dedicación exclusiva .Cátedra de Histología "A". Facultad de Ciencias Médicas. UNLP.

## **10. Otros elementos de juicio no contemplados en los títulos anteriores.**

Investigador categoría 2 dentro del Plan de Incentivos para Docentes -Investigadores del Ministerio de Educación de la Nación.

Docente Universitario Autorizado. Título otorgado por la Facultad de Ciencias Médicas. Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A" Universidad Nacional de La Plata.

### **Directora y Codirectora de proyectos acreditados**

Directora de proyecto: Análisis macro y microscópico de restos óseos humanos. Aportes a la investigación forense y antropológica. (Segunda parte). Acreditado en el Marco del Programa de Incentivos para docentes-investigadores del Ministerio de Educación de La Nación, Secretaría de Políticas Universitarias. 2011-2014.11 M157

Co-Directora del Proyecto: Estudio de la relación entre la proliferación y la angiogénesis en distintas poblaciones celulares normales y tumorales. Parte II. Acreditado para el Programa de Incentivos para Docentes – Investigadores dependiente de la Secretaría de Políticas Universitarias del Ministerio de Educación de la Nación, Código: 11 / M160. 01/2012 – 12/2015

### **Directora y Codirectora de trabajo de Tesis doctoral**

Co directora del trabajo de tesis doctoral realizado por la Licenciada en Antropología Bárbara Desántolo titulado “Validación metodológica para estimación de edad en restos óseos humanos adultos: Análisis Histomorfométricos”, para optar al Título de Doctora en Ciencias de la Salud Aprobado: Marzo de 2013. Calificación 10 (diez)

Directora del trabajo de tesis doctoral realizado por el médico Pablo Colaci

Título: Determinación de la microdensidad vascular y su correlación con el estadio tumoral en carcinomas renales de células claras humanas, para optar al Título de Doctor en Ciencias Médicas.

Co directora del trabajo de tesis doctoral realizado por la Licenciada Ayelen Fernández Blanco. “Estudio de la expresión del VEGF y su relación con la proliferación celular durante la regeneración hepática en ratones jóvenes”, para optar al Título de Doctora en Ciencias de la Salud.

### **Dirección de Becarios**

Co-directora: Beca de Formación Superior de la UNLP de la Lic. Ayelén Fernández Blanco. Año 2010-2012.

Tema de trabajo: Estudio de la expresión del VEGF y su relación con la proliferación celular durante la regeneración hepática de ratones jóvenes.

### **Dirección de pasantes**

Santamaría Martín Carlos Análisis macro y microscópico de restos óseos humanos. Aportes a la investigación forense y antropológica. Cátedra de Citología, Histología y Embriología “A” Facultad de Cs. Médicas. UNLP.

Gonzalo Garizoain Análisis macro y microscópico de restos óseos humanos. Aportes a la investigación forense y antropológica. Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A" Facultad de Cs. Médicas. UNLP

### Subsidios recibidos

Institución otorgante: Ministerio de Educación de la Nación. Dentro del Programa de Incentivos a docentes investigadores. Año 2012

Monto: \$10853

Duración: Anual

### Miembro de Jurado en Comisiones Asesoras

Miembro de la Comisión Evaluadora de trabajos científicos. XIII Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 13 – 14 Septiembre de 2012.

Miembro de la Comisión Evaluadora de trabajos científicos. XIII Congreso y 11 Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. La Plata 13 – 14 Septiembre de 2013.

Integrante de las Comisiones Asesoras Técnicas (CAT) de las Areas Sociales, Naturales y Exactas por el periodo 2013. UNLP. 19 de Febrero de 2013.

Miembro de la Comisión Asesora que actuará en el concurso para proveer 1 cargo de Ayudante diplomado rentado dedicación exclusiva en la Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A" Claustro docente. (Titular) Resolución N° 1 Fecha 10/02/12

Miembro de la Comisión Asesora que actuará en el concurso para proveer 1 cargo de Profesor Adjunto rentado dedicación exclusiva en la Cátedra de Fisiología y Física Biológica Claustro docente. (Suplente) Resolución N° 212 Fecha 2/07/12

Miembro de la Comisión Asesora que actuará en el concurso para proveer 2 cargos de Ayudante diplomado rentado simple en la Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A" Claustro docente. (Titular) Resolución N° 214 Fecha 2/07/12

### Gestión Universitaria

-Miembro representante por el Claustro de Graduados para la Comisión de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Facultad de Ciencias Médicas. UNLP.



