



INFORME PERIODO agosto 2012/agosto 2013

1. APELLIDO: GARCÍA

Nombre(s): MARÍA ELISA

Título(s): Profesor en Ciencias Biológicas, Doctor en Ciencias de la Salud

Dirección Electrónica: marielisa_ar@yahoo.com.ar

2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría: Asistente

Mes: Noviembre

Año: 1980

ACTUAL: Categoría: Principal

Mes: Agosto

Año: 1991

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

- a) Detección de marcadores alostáticos tisulares precoces durante el desarrollo del síndrome metabólico.
- b) Dieta y estrés oxidativo: cambios precoces en el metabolismo y la expresión de genes en la patogenia de la diabetes tipo 2.
- c) Bases moleculares de los cambios en la masa y función de las células B en la diabetes tipo 2.

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): GAGLIARDINO JUAN JOSÉ

Cargo Institución: Director

Dirección: Calle: 60 y 120

Nº s/n

Ciudad: La Plata

C. P. 1900 Prov.: Bs. As. Tel.: 423-6712 Dirección Electrónica: dirección@cenexa.org

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: CENEXA (Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada).

Dependencia: Facultad de Ciencias Médicas. UNLP.

Dirección: Calle 60 y 120 4° piso N °s/n

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov. Bs. As. Tel: 423-6712

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre:

Dependencia:

Dirección: N°

Ciudad: C. P. Prov. Tel:

Cargo que ocupa:

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

- a) El informe debe contener los títulos y subtítulos completos que se detallan en hojas adjuntas y un índice
- b) **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.**
- c) El informe se deberá presentar impreso en hojas perforadas A-4. En la etiqueta de mismo se consignará el apellido y nombre del Personal de Apoyo y la leyenda «Informe Científico-tecnológico período 2011/2012.
- d) La presentación deberá realizarse en papel y enviar copia del mismo en soporte electrónico al e- mail personalapoyo@cic.gba.gov.ar
- e) Incluir en la presentación del informe (en sobre cerrado) la opinión del Director.
- f) En caso de solicitar recategorización deberán hacerlo mediante nota aparte firmada por el Director fundamentando la solicitud encuadrada en el artículo 10 de la Ley 13.487

- INDICE

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO-----	5
8. OTRAS ACTIVIDADES	
8.1 PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES-----	8
8.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS-----	8
10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULO ANTERIORES.-----	9

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

7-1 AISLAMIENTO DE ADIPOCITOS

A partir de tejido adiposo abdominal proveniente de ratas de distintos grupos se obtienen los adipocitos aislados. La digestión del tejido se realiza con Krebs Ringer Mops, pH 7.4 con albúmina sérica bovina (4%), y colagenasa (1mg/g de tejido/ml), a 37°C, con agitación suave. Finalizada la digestión, las células se lavan y finalmente se evalúa el rendimiento por conteo de las mismas en cámara de Neubauer.

RODBELL M.: Metabolism of isolated fat cells. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. The Journal of Biological Chemistry, 230 (2): 375-380, 1964.

7-2 INCUBACIÓN DE ADIPOCITOS

Adipocitos aislados se incuban en buffer Krebs Ringer Bicarbonato, pH 7.4 con 1% de albúmina bovina, en presencia de distintos estímulos, a 37°C en un baño con agitación constante durante 1 hora. Al cabo de la misma se separa el medio de incubación para la posterior determinación de leptina, adiponectina, glicerol y ácidos grasos libres.

ZAMMIT V.: Changes in the sensitivity to glucagón of lipolysis in adipocytes from pregnant and lactating rats. Biochem. J. 254: 661-665, 1988.

7-3 DETERMINACIÓN DE GLICEROL

La medición de glicerol libre se realiza empleando un kit comercial de SIGMA Aldrich Co.

7-4 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES

La determinación de los ácidos grasos libres se realiza por método colorimétrico.

DUNCOMBE W G.: The colorimetric micro-determination of long-chain fatty acids. Biochem. J. 88 (1): 7-10, 1963.

ITAYA K, UI M.: Colorimetric determination of free fatty acids in biological fluids. J Lipid Res. 6:16 -20, 1965.

7-5 DETERMINACIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO (TBARS)

Una de las formas de medir el poder antioxidante presente en el plasma y en el tejido adiposo es por medio de la formación de malondialdehído (MDA) como producto de la peroxidación lipídica en presencia de ácido tiobarbitúrico. Esta determinación se realiza según la técnica descripta.

HIROSHI OHKAWA, NOBUKO OHISHI, KUNIO YAGI.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95: 351-358, 1979.

7-6 AISLAMIENTO DE ARN

Se homogeneizan adipocitos aislados en una solución de TRIZOL[®] y se procede a la extracción de ARN total según protocolo estándar. Posteriormente se evalúa la pureza del ARN determinando la relación de absorbancia a 280/260 nm y el posterior análisis en gel de agarosa (MOPS).

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N.: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162:156-159, 1987.

7-7 SÍNTESIS DE ADN COMPLEMENTARIO (cADN)

A partir de 1µg de ARN total, en presencia de transcriptasa reversa de virus de leucemia murina Moloney (SuperScript III, Gibco-BRL) 200U/µl, desoxi-nucleótidos trifosfatados (dNTPs mix) 10 mM, 5X buffer, ditioneitol (DTT) 0.1 M, RNAsa out, enzima inhibidora de ribonucleasas (Invitrogen) y oligo-dT (200-500ng) como cebadores. La RT se realizó con el siguiente protocolo: 60 minutos a 50° C y luego 15 minutos a 70° C.

MAGOCSI, M.; YAMAKI, M.; PENNISTON, J.T. and DOUSA, T.P.: Localization of mRNAs coding for isozymes of plasma membrane Ca²⁺- ATPase pump in rat kidney. *Am. J. Physiol.* 263 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 32): F7 – F14, 1992.

7-8 REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA (PCR)

La reacción en cadena de polimerasa (PCR) se realiza en un volumen final de 25µl empleando una taq polimerasa de GIBCO; después de 2 minutos a 94°C la PCR se lleva a cabo con el protocolo correspondiente para cada gen.

7-9 ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS DE PCR

La secuencia de los productos de PCR se determina mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa con buffer TAE y voltaje constante. El gel tiene incorporado un fluoróforo que permite identificar las bandas en presencia de luz UV.

Posteriormente, se captura la imagen del gel mediante una cámara digital Kodak.

Como referencia de los productos buscados se emplean estándares de diferente número de pares de bases.

Para la cuantificación de dichos productos se emplea un software que lo provee la misma empresa.

7-10 REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA EN TIEMPO REAL (qPCR)

Se emplearon 25 µl de volumen de reacción conteniendo: 5 ng de cADN como molde equivalente a 1 µg/µl de ARN, 10X PCR buffer (Tris-HCl 200 mmol/L pH 8.4; KCl 500 mmol/L), 50 pmol/µl de cada cebador, enzima Platinum Taq Polimerasa 2.5 U, iniciadores de oligonucleótidos dNTPs mix 10 mmol/L, MgCl₂ 1.5 mmol/L, sybergreen. El perfil de ciclos térmicos fue el siguiente: un único paso de 3 minutos a 94°C seguido de 39 ciclos de tres pasos: 30 segundos a 94°C, (desnaturalización), 30 segundos a 65°C y 45 segundos a 72°C, finalizando con un último paso de 10 minutos a 72°C. En cada ciclo se registró la fluorescencia emitida por cada uno de los tubos.

Al término de los ciclos de amplificación efectuamos una curva de fusión ("melting") en la que se aumentó la temperatura desde 55 a 90°C, tomando el registro de la fluorescencia cada medio grado de temperatura.

El método de cuantificación elegido fue descrito por Pfaffl (2001), en el que se evalúan los niveles de cada producto de amplificación en relación a los del estándar interno (β -actina) y entre los diferentes grupos experimentales.

8. OTRAS ACTIVIDADES

8.1 PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC.

- **EFFECT OF PIOGLITAZONE ON THE FRUCTOSE-INDUCED ABDOMINAL ADIPOSE TISSUE DYSFUNCTION.**

Alzamendi A, Giovambattista A, García ME, Rebolledo OR, Gagliardino JJ, Spinedi E.

PPAR Res. 2012;2012:259093. doi: 10.1155/2012/259093. Epub 2012 Oct 2.

- **ANTIOXIDANT TREATMENT PREVENTS THE DEVELOPMENT OF FRUCTOSE-INDUCED ABDOMINAL ADIPOSE TISSUE DYSFUNCTION.**

Fariña JP, García ME, Alzamendi A, Giovambattista A, Marra CA, Spinedi E, Gagliardino JJ.

Clin Sci (Lond). Jul 1;125(2):87-97. doi: 10.1042/CS20120470. 2013.

8.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS o EVENTOS SIMILARES.

XVIII Congreso Argentino de Diabetes, Buenos Aires, noviembre 9, 2012.

- *EFEECTO PREVENTIVO DE LA APOCININA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y EL DISMETABOLISMO DEL TEJIDO ADIPOSO ABDOMINAL INDUCIDO POR ADMINISTRACIÓN DE DIETA RICA EN FRUCTOSA.*

Fariña J., García M., Gagliardino J.

Revista de la SAD, 46 N°4: 236. ISSN: 0325-5247.

LVII Reunión Científica anual SAIC-SAFIS, Mar del Plata, noviembre 17, 2012.

- *DISFUNCIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO SECUNDARIA AL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO EN RATAS POR DIETA RICA EN FRUCTOSA: EFECTO PREVENTIVO DE LA APOCININA.*

Fariña J; García M; Alzamendi A; Giovambattista A; Marra C; Spinedi E; Gagliardino J.

Medicina, vol 72 (supl. II), 2012 – página 217.

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.

Defensa de Tesis Doctoral realizada en la Facultad de Ciencias Médicas el 12/06/2013

Tema: "Dieta y estrés oxidativo: cambios precoces en el metabolismo y expresión de genes en la patogenia de la diabetes tipo 2".

Calificación: Sobresaliente diez.

Título obtenido: Doctor en Ciencias de la Salud.