

## Área biomédica

Jueves, 6 de junio

104

### ESTUDIO DEL PATRÓN EVOLUTIVO DE NKA Y SP EN DIFERENTES ÓRGANOS CORPORALES DURANTE EL ENVEJECIMIENTO. INFLUENCIA DE LA MELATONINA

Díaz, B.; Fernández, C.; Díaz, E.; Vázquez, N.; Debeljuk, L.\*

Departamento de Biología Funcional. Área Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo. Oviedo. \* Department of Physiology and Health Care Professions. South. Illinois University at Carbondale. USA.

#### Objetivos:

Investigar la influencia del envejecimiento sobre las concentraciones de los neuropeptidos neuroquinina A (NKA) y sustancia P (SP) en ovario, páncreas, hígado y bazo, y estudiar la posible influencia de la melatonina sobre dichos parámetros.

#### Método:

Se utilizaron ratas hembra, cepa Wistar, jóvenes (3 meses), edad media (13 meses) y edad avanzada (23 meses), que se dividieron en dos grupos, control y tratadas con melatonina. El tratamiento con melatonina se prolongó por dos meses, la dosis fue 150 ig/100 g p.c. Los grupos control recibieron placebo. Al final del tratamiento se obtuvieron los órganos mencionados y se congelaron a B80 1C hasta el posterior procesamiento de tejidos y determinación de los neuropeptidos mediante RIA. El estudio estadístico de los resultados se realizó mediante ANOVA.

#### Resultados:

Ovario: NKA se observó un valor significativamente menor ( $p < 0,01$ ) en hembras de 25 meses tratadas con melatonina  $0,28 \pm 0,04$  respecto a las hembras control  $0,41 \pm 0,04$  pg/ml. SP mostró concentraciones significativamente elevadas ( $p < 0,01$ ) en hembras de 25 meses respecto a las de 5 y 15 meses de edad.

Páncreas: NKA, las concentraciones fueron aumentando significativamente desde la edad de tres meses, hasta los 25 meses. El tratamiento con melatonina descendió significativamente los valores en las hembras de 25 meses con relación a los del grupo control. SP mostró concentraciones significativamente elevadas ( $p < 0,01$ ) en hembras de 25 meses,  $0,59 \pm 0,10$ , respecto a las halladas en hembras jóvenes  $0,29 \pm 0,03$  pg/ml.

Hígado: No se encontraron diferencias debidas a la edad o el tratamiento con melatonina.

Bazo: NKA, sus concentraciones fueron aumentando significativamente ( $p < 0,01$ ) con la edad en ambos grupos. SP, mostró concentraciones significativamente elevadas ( $p < 0,01$ ) en las hembras de 25 meses tratadas con melatonina respecto a las otras dos edades.

#### Conclusiones:

En general se observó una tendencia a valores más elevados de neuropeptidos durante el envejecimiento en los órganos estudiados, excepto en hígado. El tratamiento con melatonina fue efectivo en hembras de edad avanzada, al descender sus valores en ovario y páncreas hasta los niveles hallados en hembras jóvenes.

148

### EFFECTOS SOBRE LA MASA ÓSEA DE LOS ANTICOAGULANTES ORALES ANTAGONISTAS DE LA VITAMINA K: VALORACIÓN MEDIANTE ULTRASONIDO ÓSEO CUANTITATIVO

Pedreira, J. D.; Bote, J. L.\*; Canal, M. L.; Lavado, J. M.; Borrella, S.; Rodríguez, T.

Departamento de Enfermería. Universidad de Extremadura. \* Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres.

**Objetivos:** Existe controversia sobre los efectos de los anticoagulantes orales antagonistas de la vitamina K (ACO-K) y la pérdida ósea relacionada con la edad. El objetivo de este trabajo es determinar los efectos que sobre la masa ósea valorada mediante ultrasonido óseo cuantitativos (QUS) produce el tratamiento crónico con ACO-K.

**Método:** Se han estudiado 99 pacientes ( $71,48 \pm 4,6$  años de edad media) en tratamiento crónico con ACO-K ( $56,96 \pm 34,30$  meses de tratamiento). Se ha realizado bioquímica básica, osteocalcina, fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP), estudio de coagulación, razón normalizada internacional (INR) y tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT). La masa ósea se ha valorado mediante velocidad de transmisión ósea del ultrasonido de falanges (Ad-SoS) y la atenuación del ultrasonido óseo en calcáneo (BUA).

**Resultados:** El análisis de regresión stepwise entre la Ad-SoS en relación a las variables bioquímicas, antropométricas y BUA fue significativa y positiva con el INR, BUA, urea y fosfatasa alcalina ( $\beta = 74,151; 1,468; 0,635$  y  $0,103$  respectivamente;  $F = 12440,897$ ;  $p = 0,0067$ ).

**Conclusiones:** De acuerdo con los resultados, la masa ósea en pacientes en tratamiento crónico con ACO-K no está afectada si el INR se encuentra entre los valores 1,42 y 4,30. Es necesario realizar estudios longitudinales más amplios con objeto de conocer más correctamente el efecto de los ACO-K sobre la masa ósea.

149

### EFFECTO DE LA CAFEÍNA Y VITAMINA D SOBRE LA MASA ÓSEA EN MUJERES ANCIANAS.

Téllez, G.; Lavado, J. M.; Canal, M. L.; Retortillo, C.; Morales, M. L.; Pedreira, J. D.

Departamento de Enfermería. Universidad de Extremadura. Cáceres.

**Objetivos:** Del efecto del café y otros nutrientes sobre la masa ósea existe confusión y controversia en la literatura. Pretendemos estudiar los efectos de la cafeína y de los nutrientes que intervienen en el metabolismo cálcico sobre la masa ósea valorada mediante ultrasonidos.

**Método:** 128 mujeres postmenopáusicas sanas (edad media  $70,0 \pm 4,14$  años y años de menopausia  $21,7 \pm 7,8$ ) fueron estudiadas en consideración a las premisas de no haber realizado cambios en sus hábitos alimenticios desde su premenopausia, no fumar, no hacer ejercicio, no haber realizado terapia hormonal sustitutiva, y tener un peso ideal entre el 70 y 130%. Se determinó, mediante ultrasonografía ósea la velocidad

del ultrasonido amplitud dependiente (Ad-SoS), y se hizo una encuesta dietética prospectiva de 7 días, para valorar la cantidad ingerida de cafeína y de nutrientes implicados en el metabolismo cálcico. Las mujeres fueron agrupadas según su consumo de cafeína, calcio, ratio calcio/fósforo y calcio/proteínas, e ingesta de vitamina D.

**Resultados:** La Ad-SoS sólo difiere en relación a la ingesta de vitamina D (menor o mayor de 400 UI/día), siendo mayor en el grupo de ingesta mayor de 400 UI/día ( $p < 0,0001$ ). En relación con la ingesta de nutrientes, por estudios de regresión simple y múltiple, la única significación es de Ad-SoS con vitamina D ( $p < 0,0001$ ).

**Conclusiones:** La Ad-SoS de falanges se comporta como es habitual en relación a la edad y años de menopausia, y no es influenciado por la ingesta de cafeína ni de otros nutrientes, exceptuando la de vitamina D en este grupo de edad.

185

## ALTERACIÓN DE LA SÍNTESIS DE SURFACTANTE PULMONAR POR LA EDAD

Salazar, V.; Castillo, C.; González, S.; Ariznavarreta, C.; Tresguerres, J. F.; Vara, E.\*

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. \* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid

**Objetivo:** Se ha sugerido que la inhibición de la síntesis de surfactante podría participar en el desarrollo de alteraciones pulmonares con la edad. Estas alteraciones podrían estar mediadas, en parte, por aumento en la producción de radicales libres (RL). El objetivo de este trabajo es investigar una posible alteración de la producción de surfactante con la edad.

**Métodos:** Células alveolares tipo II fueron aisladas de pulmones de ratas por digestión enzimática. Purificadas en gradiente de percoll, tras 24 h de precultivo, las células se cultivaron 24 h más en presencia o ausencia de S-Adenosil-metionina (SAMT) y D-U-C<sup>14</sup> glucosa, como precursor radiactivo para la síntesis de surfactante que se determinó como incorporación de glucosa marcada a fosfatidil colina (PC), principal componente lipídico del surfactante pulmonar.

**Resultados:** La edad inhibió la síntesis de PC a partir de glucosa (síntesis «de novo») por neumocitos aislados tanto en ratas macho ( $71,48 \pm 3,03$  vs  $236,78 \pm 55,34$  fmol/ $\mu$ g proteína/24 h) como en hembras ( $86,4 \pm 5,0$  vs  $251,9 \pm 3,1$  fmol/ $\mu$ g proteína/24 h). Este efecto fue revertido por la presencia de SAMT en ambos casos ( $215,25 \pm 3,65$  vs  $71,48 \pm 3,03$ , machos, y  $242,0 \pm 4,1$  vs  $86,4 \pm 5,0$ , hembras). Este efecto inhibitorio de la edad sobre la síntesis de PC, fue acompañado por un aumento de la liberación de NO y CO al medio de cultivo.

**Conclusiones:** Estos resultados muestran un efecto inhibitorio de la edad sobre la síntesis de surfactante pulmonar. Además sugieren que los RL podrían mediar, al menos en parte, este efecto.

187

## EFFECTO PROTECTOR DEL SAMET FRENTE AL DAÑO INDUCIDO POR LA EDAD EN HEPATOCITOS

Castillo, C.; Salazar, V.; González, S.; Ariznavarreta, C.; Tresguerres, J. A. F.; Vara, E.

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. \* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid

**Objetivo:** Posiblemente la alteración de la síntesis de lípidos de las membranas celulares está implicada en la patogénesis del daño hepático y se sugiere que los radicales libres (RL) juegan un papel importante, probablemente por disminución de niveles de GSH y aumento de peroxidación lipídica. En este trabajo estudiamos el posible papel pro-

ductor del S-Adenosil-metionina (SAMT) en las alteraciones de la síntesis de lípidos por hepatocitos aislados inducidas por la edad.

**Métodos:** Tras aislamiento con colagenasa, los hepatocitos fueron precultivados 24 h en RPMI 1640. A continuación el medio fue reemplazado por medio fresco y las células se cultivaron otras 24 h en presencia o ausencia de SAMT con D-U-C<sup>14</sup> glucosa. Tras el cultivo, se recogieron las células determinándose la síntesis de lípidos como incorporación de glucosa marcada a distintas fracciones lipídicas.

**Resultados:** La edad disminuyó la síntesis de lípidos por los hepatocitos y este efecto fue más aparente en la fracción de fosfatidil colina (PC) ( $8,86 \pm 1,13$  vs  $337,78 \pm 11,02$  pmol/ $\mu$ g proteínas/24 h, machos, y  $25,9 \pm 4,9$ ;  $9,42 \pm 1,6$  vs  $350,00 \pm 2,9$  pmol/ $\mu$ g proteína/24 h, hembras de 14 y 18 meses respectivamente). El SAMT atenuó este efecto tanto en machos ( $101,54 \pm 20,9$  vs  $8,66 \pm 1,13$  pmol/ $\mu$ g proteína/24 h) como hembras ( $289,0 \pm 8,66$  vs  $25,9 \pm 4,9$ , 14 meses; y  $108,70 \pm 5,6$  vs  $9,42 \pm 1,6$ , 18 meses).

**Conclusiones:** Nuestros resultados demuestran un efecto dañino de la edad sobre los hepatocitos. La posible acción protectora del SAMT sugiere que estos efectos podrían estar mediados por RL.

190

## CONTROL DE LOS MECANISMOS IMPLICADOS EN LA HIPERTROFIA BENIGNA DE PRÓSTATA POR LOS ANTAGONISTAS DE LOS CANALES DE CALCIO

Ruiz Torres, A.; Lozano, R.; López, M. G.; Carraro, R.; Rabadán, M.

Instituto Universitario de Investigación Gerontológica y Metabólica. Servicio de Urología. Hospital de la Princesa (UAM) Madrid.

**Introducción:** La hipertrofia benigna de próstata (HBP) se caracteriza por un aumento de tamaño de dicha glándula con la consiguiente afección de la micción. Algunos estudios epidemiológicos indican que a los 50 años de edad, la HBP puede llegar a afectar a más de la mitad de los varones y superados los 80, hasta al 90% de ellos (1). El aumento de tamaño de la próstata se debe principalmente a la desdiferenciación de las células musculares lisas (cml) que son así capaces de proliferar, migrar y secretar colágeno (2). Las cml prostáticas, al igual que las cml de la pared arterial, poseen canales de calcio tipo L que podrían ser bloqueados por antagonistas de dichos canales afectando así a procesos dependientes de la concentración intracelular de calcio como son la migración y la proliferación (3).

**Objetivo:** Evaluar, tanto el efecto mitogénico de la insulina –hormona de especial interés gerontológico– comparado con el del factor de crecimiento 1 (IGF-1), así como el antiproliferativo de los antagonistas del calcio.

**Métodos:** A partir de cultivos de cml procedentes de biopsias de próstatas adenomatosas, se determinó la actividad mitótica mediante la incorporación de bromodeoxiuridina en el DNA.

**Resultados:** La insulina estimula la proliferación de cml de próstata, siendo este efecto concentración-dependiente como en el caso de IGF-1. Tampoco hay diferencias respecto a la intensidad desarrollada por ambos estímulos. Por otra parte, los calcio antagonistas inhiben la proliferación en dependencia de la concentración utilizada. No obstante, entre ellos hay diferencias respecto al grado de inhibición proliferativa. Mientras que el verapamilo reduce la proliferación de dichas células en un 60%, diltiazem lo hace en un 40% y nifedipino en un 20% con respecto a los valores basales.

**Conclusiones:** Estos resultados sugieren que los calcio-antagonistas actúan como inhibidores de la proliferación y posiblemente de otras actividades celulares de cml de próstata, planteando la posibilidad de ser utilizados para el tratamiento de la HBP. Además, se ofrece la conclusión que la secreción elevada de insulina, con o sin hiperinsulinemia, una manifestación frecuentemente relacionada con el envejecimiento, actúe como un factor de crecimiento sobre la glándula prostática.

### Bibliografía

1. McConnell. Campbell's urology 1998;1429-1452.

2. Lin VK, et al. Prostate 2000;44:193-203.
3. Triggie DJ, et al. Am J Hypertens 1998;11:80-7S.

## 1048

### DIFERENCIAS ENTRE RATONES ADULTOS, VIEJOS Y LONGEVOS EN LA REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD «NATURAL KILLER» (NK) POR LA NORADRENALINA Y EL NEUROPEPTIDO Y

Miquel, J.\*; Puerto, M.; Guayerbas, N.; Medina, S.; Sánchez, A. I.; De la Fuente, M.

Departamento de Fisiología Animal. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense. Madrid. \*. Departamento de Biotecnología. Universidad de Alicante.

**Objetivo:** Una de las teorías del envejecimiento se sustenta en los cambios que tienen lugar con la edad en la comunicación entre el sistema nervioso y el inmunitario. También, se sabe que la inmunodepresión que tiene lugar al envejecer no aparece en sujetos centenarios, siendo aceptado que los individuos longevos son aquellos que mantienen un sistema inmunitario adecuado. Una de las funciones de nuestro sistema defensivo más relevante frente a la aparición de infecciones y tumores es la actividad natural killer (NK), la cual se deteriora al envejecer.

**Metodología:** Se han utilizado leucocitos peritoneales de ratones BALB/c de tres edades: adultos ( $24 \pm 2$  semanas), viejos ( $72 \pm 2$  semanas) y longevos ( $130 \pm 2$  semanas). Los mediadores nerviosos analizados in vitro han sido dos neurotransmisores que se coliberan de las terminaciones nerviosas del sistema nervioso simpático (SNS): la noradrenalina (NA) y el neuropéptido Y (NPY), los cuales se han utilizado por separado (NPY a  $10^{-10}$  M, y NA a  $10^{-12}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$  y  $10^{-6}$  M) y conjuntamente. La actividad NK se valoró por la capacidad de lisis (%) de los leucocitos frente a células de la línea tumoral YAC-1 de ratón.

**Resultados:** La actividad NK respecto a los adultos ( $30 \pm 6$ ) disminuyó en los animales viejos ( $23 \pm 5$ ), pero no en los longevos ( $29 \pm 6$ ). El NPY estimula la actividad NK en adultos ( $39 \pm 3$ ) y en longevos ( $34 \pm 7$ ), pero no la modifica en viejos ( $23 \pm 6$ ). Efectos similares se observaron con la NA que, por ejemplo a la concentración de  $10^{-8}$  M activa en adultos ( $37 \pm 6$ ) y en longevos ( $34 \pm 8$ ) y no en viejos ( $21 \pm 3$ ). La presencia de ambos neurotransmisores manifiesta una activación en adultos ( $40 \pm 6$ ) y en longevos ( $35 \pm 6$ ), pero no en las células de animales viejos ( $20 \pm 5$ ).

**Conclusiones:** La actividad NK y la capacidad de regulación que sobre la misma ejercen los neurotransmisores del SNS se pierde en las células de animales viejos, lo que podría en parte explicar el aumento de infecciones y tumores y la peor respuesta fisiológica al estrés típica de esta edad. Por su parte, los animales longevos tienen una actividad NK y una modulación por la NA y el NPY de esta función muy semejante a la de los adultos, lo que podría ser importante para entender su gran longevidad.

Trabajo financiado por el FIS (nº 99/0815).

## 1051

### CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS MONOAMINÉRGICOS EN DISTINTAS REGIONES CEREBRALES DE RATONES PREMATURAMENTE ENVEJECIDOS

De la Fuente, M.; Medina, S.\*; Viveros, M. P.; Fernández, B.; Guayerbas, N.; Hernanz, A.\*

Departamento de Fisiología Animal. Ciencias Biológicas. Universidad Complutense. \* Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

**Objetivo:** Hemos comprobado en estudios previos diferencias en ratones de la misma edad y sexo en la realización de una prueba exploratoria en un laberinto en T. Los animales que llevan a cabo peor esta prueba son hiperemotivos y ansiosos, manifiestan inmunosenescencia y menor longevidad que los que la realizan bien (controles, C). Por ello, los

hemos considerado como ratones prematuramente envejecidos (PE). En el presente trabajo se quiere comprobar si esas diferencias observadas en el PE se relacionan con una diferente neuroquímica cerebral.

**Metodología:** En ratones hembras y machos Swiss adultos PE y C se aislaron las siguientes localizaciones cerebrales: hipocampo, corteza frontal, hipotálamo, cuerpo estriado y mesencéfalo. En cada una de ellas se valoraron, mediante HPLC con detección electroquímica, los niveles de noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) y dopamina (DA), así como sus metabolitos: 3-metoxi-4-hidroxifenil glicol (MHPG), 5-hidroxiindol-3-acético (5-HIAA) y 3,4 dihidroxifenilacético (DOPAC) y homovalínico (HVA), respectivamente.

**Resultados:** Los animales PE mostraron niveles significativamente menores de NA en las regiones cerebrales analizadas, de 5-HT en hipocampo, estriado y mesencéfalo, y de DA en todas las regiones analizadas excepto en mesencéfalo, así como un aumento de los índices 5-HIAA/5-HT en hipocampo y de aumentos o no modificaciones de los índices DOPAC/DA y HVA/DA dependiendo de la región estudiada. Estas modificaciones se dan en machos y hembras, pero aparecen en machos únicamente a nivel de los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico del hipotálamo.

**Conclusiones:** Las modificaciones observadas en los sistemas monoaminérgicos de los ratones PE son claramente similares a algunas de las detectadas en animales viejos. Además, hay ciertas correlaciones entre esas variaciones neuroquímicas de los PE y sus alteraciones comportamentales y longevidad previamente observadas en dichos animales. Parece haber diferente vulnerabilidad en machos y hembras a los cambios neuroquímicos hipotalámicos asociados a la edad.

Financiado por el FIS (nº 99/0815) y por el MCYT (BIF2001-1218).

## 1081

### EFFECTO DE LA INSATURACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA SOBRE EL DAÑO OXIDATIVO A PROTEÍNAS Y ADN EN CEREBRO DE RATA

Barja, G.\*; Sanz, A.; Portero-Otín, M.\*\*; Pamplona, R.\*

\* Departamento de Biología Animal II. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. \*\* Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Facultad de Medicina. Universidad de Lleida.

En estudios previos de tipo comparado se ha observado que los animales longevos tienen un menor contenido en dobles enlaces en sus tejidos que los que envejecen con rapidez. Para aclarar si esta propiedad protege frente al daño oxidativo a las proteínas y el ADN, se manipuló experimentalmente el contenido en dobles enlaces en el cerebro alimentando a ratas Wistar durante siete semanas con dietas semipurificadas AIN-93G ricas en aceites saturados (SAT) o muy insaturados (INSAT). En el grupo SAT disminuyeron también los indicadores de daño oxidativo a proteínas malonaldehído-lisina, carboxietil-lisina y semialdehído aminoaldéico en relación al grupo INSAT y no se encontraron diferencias entre los dos grupos en los niveles de semialdehído glutámico. Tampoco se detectaron diferencias en la 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina en el ADN nuclear. Los resultados muestran que el descenso en el grado de insaturación de los ácidos grasos disminuye el daño oxidativo a las proteínas cerebrales, mientras que el ADN, posiblemente debido a su localización intranuclear, está protegido frente a las variaciones de estrés oxidativo en este modelo.

## 1082

### EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA A CORTO PLAZO SOBRE LA PRODUCCIÓN MITOCONDRIAL DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Y EL DAÑO OXIDATIVO AL ADN, Y LOCALIZACIÓN DEL SITIO DE PRODUCCIÓN, EN HÍGADO DE RATA

Barja, G.; Gredilla, R.; López-Torres, M.

Departamento de Biología Animal II. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.

Los radicales de oxígeno (ROS) de origen mitocondrial parecen ser causa del envejecimiento. Mientras que en mitocondrias cardiacas los complejos I y III contienen a los generadores de ROS, en este trabajo localizamos la generación de ROS de mitocondrias hepáticas de ratas de 15 semanas en los complejos I, II y III. La restricción calórica (40% de restricción durante seis semanas) redujo la producción mitocondrial de ROS, pero sólo en el complejo I, ya que se dio con piruvato/malato pero no con succinato como sustrato. El mecanismo implicado no fue

un descenso de consumo de oxígeno, sino un descenso del grado de reducción del complejo I que disminuyó la liberación de ROS por unidad de flujo electrónico. La restricción calórica también redujo el daño oxidativo al ADN mitocondrial y nuclear. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la restricción calórica retrasa el envejecimiento, al menos en parte, porque disminuye la intensidad de generación de ROS en las mitocondrias y el daño oxidativo al ADN.

Apoyado por FIS 99/1049.