

## TRABAJOS ESPECIALES DE INVESTIGACIÓN

### I Premio

**Título:** Caracterización de la proteína P75 de la hexokinasa glicosómica de *Trypanosoma cruzi*

**Autor:** Cáceres A.

**Tutor:** Dubourdieu M

#### Resumen:

En este trabajo se describe la caracterización de dos proteínas del glicosoma de *Trypanosoma cruzi*. La enzima hexokinasa presente en la matriz y la proteína P75 asociada a la membrana de la organela. El gen que codifica la hexokinasa fue clonado y se encontró que la secuencia de aminoácidos comparte un 33% de identidad con las secuencias de la familia hexokinasa provenientes de diferentes organismos, la mayor identidad (67%) la comparte con la HK de *T. brucei*, protozoario que también es miembro de la familia trypanosomatidae. El peso molecular de 52 kDa predicho para la HK de *T. cruzi* es muy similar al de las glucocinasas y las hexocinasas de levadura y *T. Brucei* además estas enzimas glicolíticas están compartimentalizadas en los glicosomas de *Trypanosoma* y *Leishmanias*.

El análisis de la secuencia primaria, reveló una secuencia de importación al peroxisoma de tipo 2 en el extremo N-terminal responsable de importar la hexokinasa al glicosoma, lo cual está de acuerdo con la localización subcelular de la enzima determinada previamente. La enzima recombinante HK-(His)<sub>6</sub> se sobreexpresó en *E. coli* y fue purificada parcialmente a través de una cromatografía de afinidad a metales. La HKr y se encontró que esta enzima tiene un comportamiento cinético no Michaeliano, la curva de progreso presentó un retardo considerable; este comportamiento se debe a que es una enzima histerética. Se demostró que la sigmicidad observada en las curvas de velocidad versus la concentración de sustrato se debe a diferentes estados

de oligomerización de la enzima, ya que el (coeficiente de Hill) depende de la concentración de enzima.

En este trabajo se caracterizó la proteína p75. Y se determinó que esta se expresa diferencialmente a lo largo del ciclo de vida del parásito, en las formas epimastigote de fase exponencial y "amastigote-like". Se encuentra abundantemente y prácticamente desaparece en la forma epimastigote de fase estacionaria. Esta proteína tiene una sola localización dentro del parásito, exclusivamente en el glicosoma, lo cual se determinó a través del fraccionamiento del parásito sobre un gradiente lineal de sacarosa, donde la p75 comigra con las fracciones que tienen el máximo de actividad hexokinasa enzima marcadora del glicosoma.

La proteína p75 se encuentra específicamente asociada a la membrana de la organela siendo marcada con esteres hidrofílicos de biotina. Sin embargo, no es una proteína integral ya que es extraída con sales (NaCl y KCl) y que da en la fracción soluble del tratamiento con el detergente triton x-114 en la membrana esta proteína se encuentra mirando hacia el citosol como lo indicó el marcaje con biotina y su degradación por proteasas en ausencia y presencia de triton x-100.

La asociación de la p75 con la membrana es a través de interacciones iónicas debido a que es extraída por diferentes concentraciones de sal.

Título: Evaluación del crecimiento y de los lípidos plasmáticos en niños con hipotiroidismo subclínico.

Autores: Guzmán M, Paoli M, Arata G.

Resumen:

Con el objeto de evaluar el crecimiento y el perfil lipídico en niños con hipotiroidismo subclínico (HS), se estudiaron 46 niños de ambos sexos, en edades comprendidas entre 2 y 9 años, 17 con HS (pacientes TSH > 4,65 uU/ml y T4L normal) y 23 niños sanos (Controles). Se les realizó una historia clínica completa que incluyó anamnesis sobre síntomas de hipofunción tiroidea, antecedentes familiares de trastornos tiroideos y examen físico para descartar bocio, signos de hipofunción tiroidea, talla, peso e índice de masa corporal (IMC). Se tomó muestra de sangre para lipidograma (CT, CLDL, CHDL y Tg) anticuerpos antitiroglobulina (antiTG) y antiperoxidasa (antiTPO), medición basal de IGF-1 e IGF3 y hormona de crecimiento (GH) postestimulo con clonidina a los 60' y 90'. Además se realizó RX de mano izquierda para determinación de la edad ósea. Luego de 4 meses se tomó nueva muestra de sangre para confirmar el HS (TSH y T4L) y se realizó medición de la talla para el cálculo de la velocidad de crecimiento (VC). De los 17 niños que presentaron niveles séricos elevados de TSH al inicio, 7 (41,2%) normalizaron su TSH a los 4 meses, los cuales fueron excluidos y 10 (58,8%) permanecieron con HS. El 60% de los pacientes con HS presentaron síntomas de hipofunción tiroidea. No se apreciaron diferencias significativas en cuanto a la edad, peso, talla, IMC, potencial de talla, velocidad de crecimiento y en la relación EO/EC entre los controles y los pacientes con HS. Los niveles de anticuerpos antiTPO y Anti TG no fueron diferentes entre los grupos. Los niveles de IGF-1, IGF BP3 y de la hormona de crecimiento (GH) post-estímulo, además de su pico de secreción se encontraron normales en ambos grupos y no hubo diferencia significativa entre los mismos. La IGF1 se correlacionó negativamente con la TSH y positivamente con la edad, el peso y la talla. El nivel

Plasmático de CHDL fue significativamente más bajo en los niños con HS que en los controles y no hubo diferencia en Tg, Ct, C-LDL y en la relación Ct/C-HDL y C-LDL/C-HDL. El 80% de los niños con HS presentaron niveles de C-HDL por debajo del nivel óptimo (45mg/dl).

**Título:** Fijación externa versus osteodesis con alambres en el tratamiento de fracturas supracondíleas desplazadas de húmeros en niños.

**Autor:** Dr. Roberto A. Vargas M.

**Tutor** : Dr. José G Campagnaro

**Resumen:**

**Antecedentes:** el tratamiento comúnmente aceptado en las fracturas supracondíleas de húmero desplazadas (Gartland III) es la osteodesis percutánea con alambres cruzados o laterales, sin embargo la fijación externa surge como una alternativa en el manejo de estos pacientes, planteando un modo seguro, rápido y con pocas complicaciones post-operatorias.

**Objetivos:** evaluar la eficacia del tratamiento con fijador externo versus la osteodesis con alambres, comparando y estimando la asociación estadística entre ambos procedimientos.

**Métodos:** 32 pacientes con fracturas supracondíleas de húmero desplazadas (Gartland III), entre 3 y 12 años fueron tratados con dos métodos diferentes de estabilización: 16 con fijación externa y 16 con alambres cruzados percutáneos. Se compararon los resultados clínicos y radiológicos de ambos grupos con el uso de métodos estadísticos univariados y bivariados.

**Resultados:** No se encontró significancia estadística en el resultado de ambos tipos de tratamiento ( $p=1,000$ ) observamos un mejor rango de movilidad al momento de retiro del implante en los casos tratados con fijación externa ( $p=0,000$ ).

**Conclusiones:** el tratamiento con fijación externa es una alternativa para el manejo de esta fractura, por la rápida rehabilitación del paciente y el mínimo riesgo de lesión neurológica.

**Palabras claves:** Fractura supracondílea desplazada, fijación externa, osteodesis con alambres.

**Título:** Determinación de niveles de Colinesterasa en la población pediátrica de los municipios Libertador, Rivas Dávila y Pueblo Llano del Estado Mérida

**Autores:** Monsalve Mora

Maria Virginia

Zambrano Díaz

Lucy Yhajaira.

**Resumen:**

Se propone realizar un estudio epidemiológico observacional transversal de prevalencia, en una población pediátrica ubicada en edad escolar de 7 a 12 años, con el propósito de realizar determinación de niveles de actividad de enzimas colinesterasas que nos sirvan de patrón de referencia para el estado Mérida. La intoxicación por insecticidas organofosforados y carbamatos involucra la inhibición de la enzimas colinesterasas. Este trabajo se plantea debido a la gran morbilidad existente en el estado debido a intoxicaciones por este tipo de insecticidas. Que afecta a la población pediátrica, cuyo inconveniente es no disponer de valores basales de referencia de colinesterasas para este grupo de edad, en la literatura; contando solo con valores referenciados para la población adulta (AChE:  $2,50 \pm 0,30$  UC/50ml de sangre y ChE  $1,90 \pm 1,10$  UC/50ml de sangre)

Una de las grandes debilidades en nuestros análisis es que contamos con valores referenciales que no corresponden a nuestra población, así que los resultados de esta investigación permitirán establecer un rango de normalidad de valores basales de referencia de actividad de colinesterasas para la población escolar del estado Mérida, así mismo establecer las diferencias entre los rangos utilizados en pacientes adultos y los pediátricos.

La presente investigación se llevó a cabo en la población pediátrica en edad escolar (7-12 años) residenciados en los municipios Libertador constituyendo el grupo no expuestos, y en Rivas Dávila y Pueblo Llano el grupo de expuestos. Se entre

vistó y tomaron muestras de sangre heparinizada a los escolares, para la determinación de niveles de actividad de las enzimas colinesterasas de hematológica ( hemoglobina, y hematocrito), y funcionalismo hepático (transaminasas).

Para el cálculo de la muestra se tomó el diseño de muestreo aleatorio simple; para la organización y análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 9.0 para Windows.

Los resultados mostraron que los escolares de los tres municipios estudiados presentaron similitud en cuanto a peso según edad y sexo. El rango de niveles de actividad de colinesterasas encontrados en los tres municipios se comporta en forma similar, siendo en promedio: acetilcolinesterasas "AC.hE" 2,53 +/- 0.29 UC/50ml de sangre y Butirilcolinesterasa "C.hE" 2.90 + 0.34 UC/50 ml de sangre.

Se concluye que los escolares no expuestos tienen niveles de actividad de colinesterasas similares a los expuestos. Los niveles de actividad de colinesterasas encontrados en los escolares son diferentes a los valores en adultos. No existe correlación clínica estadística entre los niveles de actividad de colinesterasas hemoglobina y transaminasas.