

## **INFORME PERIODO 2016-2017**

### **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:                                      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. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA (Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras)**

### **8. 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.

### **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. . . .
- d) Incluir en la presentación del informe (en sobre cerrado) la opinión del Director.

## **INDICE**

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

## **7. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA:**

En los organismos multicelulares el preciso control del ciclo celular durante el desarrollo y el crecimiento, es decisivo para determinar el tamaño y la forma de cada tejido. En este contexto, sabemos que la actividad proliferativa de las células tumorales puede ser afectada por distintos factores de crecimiento. Por otro lado, el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es el principal inductor de la angiogénesis en distintos tejidos normales. El objetivo de la presente línea de investigación es el de estudiar la proliferación celular (medida como síntesis de ADN y actividad mitótica) y la angiogénesis en poblaciones celulares normales y tumorales. (medida por técnicas inmunohistoquímicas)

En la actualidad me encuentro desarrollando distintas técnicas: Estandarización para análisis de periodicidad. Técnica quirúrgica de hepatectomía parcial

Técnicas inmunohistoquímicas: como la de bromodeoxiuridina para medir síntesis de ADN y para el estudio de la angiogénesis utilizamos los anticuerpos VEGF y CD34.

## **8. 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 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.

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 enfrian en buffer citrato durante 20 minutos, luego son lavados en TBS.

Se los incuba con el anticuerpo primario VEGF (C-1), anticuerpo IgG<sub>2</sub>a (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

Garizoain, G; Petrone, S; Garcia Mancuso, R; Plischuk, M; Desantolo, B; Inda, A. M; Salceda, S. Análisis de preservación ósea y dentaria en dos grupos etarios: su importancia en el estudio de conjuntos esqueléticos. *Intersecciones en Antropología*.: Facultad de Ciencias Sociales - UNCPBA - Argentina. 2016 vol.17 n°3. p353 - 362. issn 1666-2105.

Desantolo, B; Inda, A. M. Estimación microscópica de edad a partir de la zona cortical del fémur en individuos adultos: revisión metodológica. *Revista Argentina de Antropología Biológica*.La Plata: Asociación de Antropología Biológica Argentina. 2016 vol.18 n°2. p1 - 12. issn 1514-7991.

##### Articulos en prensa

Garizoain, G., Plischuk, M., Petrone, S., García Mancuso, R., Desántolo, B., Inda, A.M. "Asociación entre enfermedad periodontal y periostitis. Análisis esquelético en una población contemporánea (La Plata, Argentina) volumen 38 (2017) de la Revista Española de Antropología Física

##### Trabajos en eventos científico-tecnológicos publicados

Garizoain, G; Petrone, S; Plischuk, M; Garcia Mancuso, R; Desantolo, B; Inda, A. M.; Salceda, S; Errecalde A. Estimación de edad a partir de radiografías periapicales: evaluación y aplicación a una colección osteológica documentada.. Argentina. La Plata. 2016. Revista. Resumen. Taller. III Taller Nacional de Bioarqueología y Paleopatología.

Plischuk, M; Barquet S; Caceres V; Gauna E; Desantolo, B; Garcia Mancuso, R; Garizoain, G; Petrone, S; Errecalde A; Inda, A.M. Robustez humeral: lateralidad y dimorfismo sexual. Argentina. La Plata. 2016. Libro. Resumen. Congreso. XVIII Congreso y 15avas Jornadas de Educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas.

Petrone, S; Garizoain, G; Garcia M; Andrini L; Garcia A; Inda, A. M. Análisis microscópico del esmalte deciduo humano en distintos momentos del desarrollo. Argentina. La Plata. 2016. Revista. Resumen. Congreso. III Taller Nacional de Bioarqueología y Paleopatología.

### 8-3.Trabajos comunicados

Fernandez Blanco A; Corrons F; Andrini L; Inda A; Garcia M. Estudio morfológico e inmunohistoquímico del tumor ES2 en un modelo experimental murino.. Argentina. Buenos Aires. 2017. Jornada. Jornada Invernal S.A.P 2017. Sociedad Argentina de Patología

Palma MB; Martinez M; Luzzani C; Inda AM; Errecalde AL; Miriuka S; García MN. ¿Cómo generar un modelo tridimensional in vitro a partir de un adenocarcinoma mamario murino? Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A". XVII Congreso y 15<sup>avas</sup> Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas de la Plata, 29 y 30 de Septiembre de 2016.

Rossi NM; Fernández Blanco A; Inda AM; Errecalde AL. Actividad mitótica durante la regeneración hepática poshepatectomía en ratones jóvenes portadores de un hepatocarcinoma murino. XVII Congreso y 15<sup>avas</sup> Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas de la Plata, 29 y 30 de Septiembre de 2016.

Plischuk M; Barquet S; Cáceres V; Gauna E; Desántolo B; García Mancuso R; Garizoain G; Petrone S; Errecalde Al; Inda AM. Robustez humeral: lateralidad y dimorfismo sexual. . XVII Congreso y 15<sup>avas</sup> Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas de la Plata, 29 y 30 de Septiembre de 2016

Martínez MM; Palma MB; Fernández A; Miriuka S; Luzzani C; Andrini LB; Inda AM; Errecalde AL; García MN. Efecto de células madre mesenquimales derivadas de cordón umbilical sobre el crecimiento y desarrollo tumoral. . XVII Congreso y 15<sup>avas</sup> Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas de la Plata, 29 y 30 de Septiembre de 2016

### **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 acreditado**

Directora de proyecto: Análisis de la variación histomorfológica del esqueleto durante la ontogenia. Implicancias en el estudio de la osteobiología humana. Acreditado por el Ministerio de Educación de la Nación, dentro del marco del plan de Incentivos para docentes e investigadores de la UNLP. 1/03/2015 al 31/12/2018. Código:11/ M189

Codirectora del proyecto:

Título: Estudio de la Proliferación normal y tumoral. Efectos de células madre mesenquimales, angiogénesis y expresión del HLAG

Acreditado por el Ministerio de Educación de la Nación, dentro del marco del plan de Incentivos para docentes e investigadores de la UNLP. . 01/2016 – 12/2018 Código: 11 / M193

### Directora y Codirectora de trabajos de Tesis doctoral

#### Directora

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. UNLP. Aprobada. Diciembre 2016

#### Co-directora

Tesis doctoral Petrone Selene:

Título: "Variación morfométrica de la dentición decidua en el período fetal e infantil y evaluación de los tejidos dentarios. Influencia del sexo y la edad en una colección osteológica documentada". (En curso.)

#### Codirectora de Becarios

Co-directora: Beca tipo "A" de la UNLP. Lic. Selene Petrone. A partir de Abril de 2014 hasta la actualidad.

Tema de trabajo: Variación morfológica de la dentición decidua en el período fetal y neonatal: influencia del sexo y la edad en una colección osteológica documentada.

#### Subsidios recibidos

Institución otorgante: Ministerio de Educación de la Nación. Dentro del Programa de Incentivos a docentes investigadores Monto: 27000\$

Duración: anual Año: Dic. 2016.

Subsidio para la Investigación en y para la salud .Proyecto PITBA. Otorgado por el Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. 818.000\$. Julio 2017.

#### Gestión Universitaria

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

Miembro integrante del Comité Académico de la Carrera de Doctorado de la Facultad de Ciencias Médicas.UNLP. A partir del 22/5/2012 hasta la actualidad

#### Actividades de evaluación

Miembro de Jurado encargado de Evaluar el Trabajo de Tesis realizado por el Med. Julio Cesar Hijano titulado: Anatomía funcional de los músculos de la pared antero lateral del abdomen. Aspecto médico y quirúrgico. Dirigido por la Prof. Dr. Marcelo Cerezo. La Plata, 5 de Julio de 2017



Miembro Suplente, integrante de la Comisión Asesora encargada del Concurso para cubrir un cargo de Profesor Adjunto Rentado Semidedicacion en la Cátedra de Patología "A". Facultad de Ciencias Médicas. U.N.L.P. La Plata, 15 de septiembre de 2016

Miembro Suplente, integrante de la Comisión Asesora encargada del Concurso para cubrir un cargo de Profesor Adjunto Rentado Exclusiva en la Cátedra de Patología "B". Facultad de Ciencias Médicas. U.N.L.P. La Plata, 14 de octubre de 2016

Miembro titular, integrante de la Comisión Asesora encargada del Concurso para cubrir un cargo de Profesor Adjunto Rentado Semidedicacion en la Catedra de Citologia, Histologia y Embriología "A". Facultad de Ciencias Médicas. U.N.L.P. La Plata Diciembre 2016