



**Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza**

ANEXO I:

FICHA DE PRESENTACION DE PROPUESTA DE TRABAJO FIN DE MASTER

**MASTER UNIVERSITARIO EN DE CONDICIONANTES GENÉTICOS, NUTRICIONALES
Y AMBIENTALES DEL CRECIMIENTO Y EL DESARROLLO.** CURSO: 2013-2014

ALUMNO:

- **Nombre y Apellidos:** Eduardo Esteban Zubero
- **DNI:** 72998124B
- **Domicilio:** Avenida Juan Carlos I Nº 25 7º Dcha
- **Teléfono:** 654123994/976561987
- **Correo electrónico:** eezubero@gmail.com
- **Firma:**

FECHA DE PRESENTACIÓN: Junio 2014

TÍTULO DEL TRABAJO FIN DE MASTER:

Modelo hepático de siquemia-reperfusión *in vivo* aplicado al estudio de la fluidez de las membranas biológicas

DIRECTOR:

Nombre y Apellidos: José Joaquín García García / Feliciano Ramos Fuentes

Departamento: Farmacología y Fisiología / Pediatría

Firma:

José Joaquín García García

Feliciano Ramos Fuentes

RESUMEN DEL TRABAJO A DESARROLLAR: Objetivos, Metodología (Añadir las páginas que se considere)

Se entrega en hoja adjunta

Introducción: Las lesiones de isquemia-reperfusión (IR) son una de las complicaciones más frecuentes en Cirugía y uno de los motivos más frecuentes de rechazo de trasplante de órganos. Entre los mecanismos fisiopatológicos del daño por IR, destaca la generación de grandes cantidades de radicales libres durante la reperfusión. De ahí que, en la actualidad, se proponga el uso de antioxidantes para reducir esta lesión. Estos radicales libres pueden producir alteraciones estructurales y funcionales en las membranas celulares. En el actual trabajo se presentan resultados preliminares en relación a las alteraciones del daño de IR a nivel de la fluidez de membrana celular y mitocondrial.

El objetivo de este trabajo es analizar los efectos del daño por isquemia-reperfusión sobre la fluidez de membranas celulares y mitocondriales aisladas a partir de tejido hepático de la rata en un modelo de isquemia-reperfusión *in vivo*.

Material y métodos: Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley con un peso medio de 200 ± 15 g. y de 3 meses de edad distribuidas en tres grupos: control, isquemia e isquemia-reperfusión ($n=4$). El modelo de IR consistió en el clampaje de la vena porta con una pinza tipo bulldog durante 15 minutos seguido de reperfusión durante 30 minutos. Los controles se sometieron a una operación simulada de las mismas características salvo en el clampaje. Se obtuvieron muestras del lóbulo izquierdo hepático donde se analizaron membranas celulares y mitocondriales por centrifugación y se realizó la medición de su fluidez por espectrografía de fluorescencia, utilizando el 1-(4-trimetilamoniofenil)-6-fenil-1,3,5-hexatrieno-*p*-tolueno sulfonato (TMA-DPH) como marcador. Los resultados se trataron estadísticamente aplicando el test de la *t* de Student para datos no pareados.

Resultados y discusión: La fluidez de las membranas celulares descendió significativamente en los animales del grupo de isquemia-reperfusión, sin embargo, no hubo cambios significativos entre los controles y el grupo de isquemia (Membranas: Control: $3'01 \pm 0'05$; Isquemia: $3'12 \pm 0'14$; Isquemia-reperfusión: $2'92 \pm 0'04$). En la membrana mitocondrial los valores más bajos de fluidez también se detectaron en el grupo de isquemia-reperfusión aunque el descenso no fue significativo (Mitocondria: Control: $2'98 \pm 0'06$; Isquemia: $3'05 \pm 0'07$; Isquemia-reperfusión: $2'92 \pm 0'03$). Estos datos concuerdan con los resultados ya vistos en la literatura, por lo que se puede inferir que el daño debido a la reperfusión vascular en los injertos se caracteriza por una reducción en la fluidez de membrana. Los descensos de la fluidez pueden explicarse por los efectos de la sobreproducción de radicales libres durante la reperfusión, ya que éstos provocan cambios en la composición química de la bicapa celular, con un descenso de la relación de ácidos grasos poliinsaturados/saturados, y la formación de uniones cruzadas entre lípidos y proteínas.

Podemos concluir que el modelo de isquemia-reperfusión hepática en rata utilizado en esta investigación es muy útil para el estudio del papel terapéutico potencial de la melatonina, sobre el que cursaré mis estudios de Doctorado. Los resultados que se obtengan contribuirán a reducir en lo posible los efectos nocivos derivados de la

isquemia-reperfusión al preservar las funciones de las membranas celulares y mitocondriales en situaciones clínicas como el trasplante de órganos.



**Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza**

ANEXO II:

INFORME / EVALUACIÓN DEL DIRECTOR

ALUMNO Eduardo Esteban Zubero

TÍTULO DEL TRABAJO:

Modelo hepático de isquemia-reperfusión *in vivo* aplicado al estudio de la fluidez de las membranas biológicas

Fecha de Presentación / Depósito (Sello): Junio 2014

DIRECTOR (-ES) (Departamento):

José Joaquín García García (Departamento de Farmacología y Fisiología)
Feliciano Ramos Fuentes (Departamento de Pediatría)

INFORME

La investigación realizada por D. Eduardo Esteban Zubero para optar al trabajo fin de Máster en Condicionantes genéticos, nutricionales y ambientales del crecimiento y desarrollo que lleva por título "Modelo hepático de isquemia-reperfusión *in vivo* aplicado al estudio de la fluidez de las membranas biológicas" constituye la base sobre la que posteriormente el alumno podrá realizar su tesis doctoral evaluando el potencial uso terapéutico de la melatonina en situaciones de isquemia-reperfusión. Como principal conclusión destacada cabe reseñarse un descenso en los niveles de la fluidez en la membrana celular hepática durante la reperfusión.

El trabajo realizado por el alumno es meritorio. La metodología utilizada y el diseño experimental son óptimos para responder a los objetivos planteados en la memoria. La adecuada interpretación de los resultados obtenidos hace que las conclusiones sean científicamente correctas. Por tanto, la memoria debe ser evaluada con la máxima calificación posible para optar al título de este Máster.

Fecha: 26 de mayo de 2014

Fdo.:

José Joaquín García García Feliciano Ramos Fuentes