

El Dr. Rodolfo R. Brenner y una de sus principales obras: El Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP)

Dr. Horacio Alberto Garda

El Profesor Dr. Rodolfo R. Brenner es quien inició y consolidó la investigación científica en el campo de la bioquímica de los lípidos en la Argentina. A él y su grupo pionero de investigación se debe la existencia del INIBIOLP, uno de los principales institutos de investigación del país en este campo, y uno de los principales centros de formación de investigadores en bioquímica del ámbito de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

I. Resumen de la trayectoria científica y académica del Dr. Rodolfo R. Brenner

Nació el 17 de julio de 1922 en Banfield (Pcia. de Buenos Aires). Sobresaliente ya como estudiante, egresó en 1940 del Colegio Nacional de Buenos Aires ganando tres medallas de oro por su desempeño. En 1946 se graduó de Doctor en Química en la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (FCEFYN) de la Universidad de Buenos Aires (UBA), obteniendo otra medalla de oro como mejor egresado. Su primer contacto con los lípidos fue en su tesis doctoral "Composición Química de Aceites de Oliva Argentinos", en la que fue dirigido por el Prof. Dr. Pedro Cattáneo.

Entre 1946 y 1954 se desempeñó en la Cátedra de Bromatología y Análisis Industriales de la FCEFYN, ini-

cialmente como Ayudante Diplomado y luego como Profesor Docente Autorizado. Paralelamente, estuvo a cargo de Sección de Toxicología Industrial en el Instituto de Investigaciones Médico-Tecnológicas y el Instituto de Higiene Pública. En esta primera etapa estudió la composición de lípidos de varios peces de río, tema en el que dirigió 5 tesis doctorales y publicó una docena de trabajos originales, principalmente en los *Anales de la Asociación Química Argentina* y en *Industria & Química*.

En 1954 obtuvo una Beca postdoctoral del British Council para trabajar sobre "Química y Bioquímica de Lípidos" con el Profesor John A. Lovern en el *Torry Research Institute* de Aberdeen en Escocia. A su regreso, obtuvo por concurso el cargo de Profesor Titular de la Cátedra de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP. Prácticamente de la nada, forma en



El Dr. Brenner trabajando con uno de los primeros equipos de cromatografía gaseosa

esta cátedra un grupo de investigación que ya a mediados de la década del 60 llega a tener un amplio reconocimiento internacional, en especial por sus trabajos sobre la biosíntesis de ácidos grasos poli-insaturados. Al crearse en 1961 la Carrera del Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), ingresa como Investigador Independiente y tras sucesivas promociones llega a ser Investigador Superior en 1973. Fecundo formador de investigadores, hasta el momento ha dirigido 45 tesis doctorales. Es autor de más de 300 trabajos científicos publicados en revistas nacionales e internacionales, y de otros tantos trabajos comunicados en diferentes congresos y reuniones científicas. Dictó más de 150 conferencias en diferentes países de América, Europa y Asia.

En reconocimiento a su labor y trayectoria, ha recibido más de 30 premios entre los que merecen destacarse: Premio de la Fundación Campomar en 1972; Premio Herrero Ducloux de la Academia Nacional de Cs.Exactas, Físicas y Naturales en 1974; Premio Konex otorgado a los 5 mejores bioquímicos de Argentina en 1983; Medalla de Oro "G. Burns and Von Euler" otorgada en Londres en 1985; Premios "Alfredo Sordelli" en 1985 y "JJ Kyle" en 1990 de la Asociación Química Argentina; Supelco AOCS Research Award de la American Oil Chemists' Society en Baltimore en 1990; TWAS 2001 Award in Basic Medical Sciences de la Academia de Ciencias del Tercer Mundo en Nueva Delhi, India, 2002; Premio "Houssay" Trayectoria 2009 en el área Química, Bioquímica y Biología Molecular en Buenos Aires, 2010; y la "Distinción Investigador de la Nación Argentina" también en 2010. Es Socio Honorario de la Sociedad de Biología de Tucumán desde 1987, de la Sociedad Argentina de Investigaciones Bioquímicas (SAIB) desde 1990, y de la Sociedad Argentina de Biofísica (SAB) también desde 1990.

Actualmente es Investigador Superior Emérito del CONICET, y Profesor Titular Emérito de la UNLP. Es académico titular de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; de la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires; y de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica. Es además Académico Correspondiente de la Academia de Medicina de Córdoba.

Es también destacable su fructífera actuación en la gestión y promoción tanto de la ciencia como de la enseñanza universitaria. En 1965, junto con los Dres. Luis F. Leloir, Andrés Stoppani y Federico Cumar, crea la Sociedad Argentina de Investigaciones Bioquímicas (SAIB), de la que fue su Presidente en el período 1971-72. Fue Director Consejero del CONICET, Consejero y Decano sustituto de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP, y miembros de diversas comisiones científicas y académicas de CONICET, UNLP, UBA y la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Pcia. de Bs. As. Fue el representante sudamericano en el *Steering Committee* de las *International Conferences on the*

Bioscience of Lipids (ICBL). Entre sus logros y obras, una de las más importantes es la creación y consolidación del INIBIOLP, cuya historia y evolución se describen a continuación.

II. Historia y evolución del INIBIOLP

El INIBIOLP fue formalmente creado el 12 de marzo de 1982, pero la historia del grupo de investigación que lo generó se remonta a 1956, cuando el Dr. Rodolfo R. Brenner se hace cargo como Profesor Titular de la Cátedra de Química Biológica (hoy denominada Bioquímica y Biología Molecular) de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP.

II.1. FORMACIÓN Y CRECIMIENTO DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE LA CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA UNLP (de 1956 a 1981)

Al regreso de su postdoctorado en Escocia, el Dr. Brenner se entrevista con el Dr. Bernardo Houssay quien le propone presentarse a concurso para Profesor Titular de Bioquímica en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP, e impulsar allí la investigación en bioquímica. El Dr. Brenner gana dicho concurso, y se hace cargo de la cátedra el 2 de mayo de 1956 de manera interina, hasta su designación ordinaria el 14 de agosto del mismo año. Junto al Dr. Ricardo R. Rodríguez, Director del Instituto de Fisiología que incluía a la Cátedra de Bioquímica y la de Fisiología con Biofísica, fueron los primeros Profesores con dedicación exclusiva y lograron dar un gran impulso al desarrollo de la investigación en ciencias básicas en dicha unidad académica. Como Houssay le había recomendado, Brenner no incorporó a su grupo inicial a investigadores traídos de Buenos Aires, sino que el desarrollo de su equipo se basó en la formación de nuevos investigadores surgidos de la UNLP. Sus primeros tesis y colaboradores pioneros en la Cátedra de Bioquímica fueron los Dres. Néstor Bottino, Raúl Omar Peluffo, Osvaldo Mercuri y María Elena De Tomás que más tarde serían Profesores Adjuntos. El Dr. Mercuri fue sucesor del Dr. Rodolfo Brenner como Profesor Titular de la Cátedra de Bioquímica en el año 1988.

Los comienzos fueron duros, en especial por la falta de equipamiento, que era una constante preocupación del Dr. Brenner. En 1957, recién casado con Marta L. Grosso y durante su luna de miel en Londres, visita al Dr. Anthony James (inventor de la cromatografía gaseosa) solicitándole los planos de diseño del equipo y para así poder construirlo en Argentina. No hizo falta la construcción ya que poco tiempo después pudo compararlo con un subsidio de CONICET y contar así con el primer cromatógrafo de gases del país. En esos años

se produjeron grandes cambios, tanto en la enseñanza como en la investigación. Se construyeron el bioterio y nuevos laboratorios, se implantó la dedicación exclusiva para el personal docente. Asimismo se estableció un esquema de capacitación científica que contemplaba la iniciación y perfeccionamiento en el Instituto, completada con una estadía de un año o dos en laboratorios de primera línea del extranjero. La formación se completaba con visitas y conferencias de investigadores nacionales y extranjeros de primer nivel, varios de los cuales eran Premios Nobel o luego lo serían (como los Profesores Konrad Bloch y Feodor Lynen). Se produjo así una rápida evolución gracias al apoyo de los sucesivos Decanos de la Facultad y Presidentes de la UNLP.

La creación en el ámbito nacional en 1958 del CONICET, que orientó su labor a apoyar la investigación en las diversas universidades y núcleos dispersos, permitió mejorar sustancialmente el equipamiento del grupo. Los programas de becas de doctorado, y posteriormente la creación de la Carrera del Investigador Científico en 1961, sustentada sobre el análisis de capacidad y rendimiento de sus miembros, atrajo a jóvenes tesis que se fueron formando como investigadores, incorporándose médicos como María J. Tacconi e Irma Nelva Tacconi, bioquímicos como Mario Nervi, Gladys Chiappe,

Ángel Catalá, Ricardo Pollero, Sixta Ayala, Juan Carlos Castuma, Sara Actis Dato, y Ethel Romero, por mencionar solamente los de los primeros años. Al final de la década del 60 ya se había afianzado un importante grupo pionero en la investigación bioquímica en el ámbito de la UNLP, y de competencia a nivel internacional. El tema de investigación se centró desde el principio en la Bioquímica y Metabolismo de Lípidos. Los primeros estudios se refirieron a la composición en ácidos grasos de los diversos tejidos animales vertebrados e invertebrados, terrestres y acuáticos y en otros organismos incluyendo algunos vegetales. Luego se realizaron destacadas contribuciones en el conocimiento de la importancia de los ácidos grasos poliinsaturados esenciales en la nutrición animal y la biosíntesis de ácidos grasos insaturados. Se pudo demostrar la existencia de familias de ácidos grasos y comprender los mecanismos regulatorios claves de su síntesis. Se estudió la importancia de los ácidos grasos esenciales en la maduración testicular y en la constitución de las glándulas adrenales. Se comenzó a estudiar posteriormente el metabolismo de células cancerosas y en 1969 se abrieron dos nuevas líneas de trabajo referidas una a la inclusión del cultivo celular en el laboratorio y la otra al estudio de protistas. Merecen una mención especial los trabajos pioneros



Conferencia pronunciada en la Cátedra de Bioquímica por el Profesor Feodor Lynen, poco antes de que recibiera su Premio Nobel de Medicina en 1964 por sus descubrimientos sobre la síntesis del colesterol. Entre el auditorio pueden verse a los Dres. Brenner, Raúl Peluffo y Ricardo Rodríguez en primera fila. En la segunda fila los Dres. Osvaldo Mercuri, María E. De Tomas, María J. Tacconi y Anibal M. Nervi.

que demostraron la función de la insulina y otras hormonas en la biosíntesis de ácidos grasos insaturados y composición celular. Los estudios enzimológicos en el campo lipídico comenzaron a publicarse en 1965 como resultado de la disponibilidad de centrifugas refrigeradas, ultracentrifugas y otros equipos necesarios, gracias a que organismos nacionales y extranjeros contribuyeron a su adquisición. Es de destacar en primer lugar al CONICET, al *Nacional Institute of Health*, y a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. Estos aportes fueron y son fundamentales para la investigación científica y sin ellos hubiera sido imposible no sólo alcanzar el nivel actual, sino la realización de las más elementales investigaciones.

En 1971 los grupos de investigación de la Facultad de Ciencias Médicas se trasladaron a los nuevos laboratorios construidos en el edificio principal de la Facultad, lo que constituyó en su momento un gran progreso. Continuaron ingresando nuevos tesis y se fueron ampliando los enfoques, como los trabajos pioneros sobre composición y metabolismo lipídico en peces, moluscos marinos y de agua dulce, y en diatomeas. Se abrió también una nueva línea sobre los lípidos en insectos, particularmente el *Triatoma infestans* con el fin de contribuir al conocimiento del vector de la tripanosomiasis ameri-

cana o Enfermedad de Chagas, lográndose identificar cuatro proteínas en la hemolinfa del insecto así como la composición, metabolismo y función de la cutícula, investigaciones que siguen progresando en la actualidad. Ya sobre el final de la década del 70 se comenzó también una línea de trabajo sobre la interacción lípido-proteína en membranas biológicas y su efecto en la función celular.

11.2. CREACIÓN Y EVOLUCIÓN DEL INIBIOLP (desde 1982 hasta hoy)

Dentro del Instituto de Fisiología (que englobaba a la cátedra de Fisiología con Biofísica además de la de Bioquímica), también se incrementó el número de investigadores y la diversidad temática. El grupo perteneciente a la Cátedra de Bioquímica, siempre con la temática del estudio de la Bioquímica en el campo de los lípidos, que había crecido considerablemente en volumen y actividad científica, fue atraído por las ventajas de establecer un convenio entre la UNLP y el CONICET que ofrecía un marco institucional diferenciado dentro del sistema científico-técnico argentino y propuso la creación de su propio Instituto. Esta propuesta fue inmediatamente acogida con beneplácito y el 12 de



El personal del INIBIOLP, poco tiempo después de su creación en 1982.



El Dr. Brenner recibiendo su premio de la Academia de Ciencias del Tercer Mundo (TWAS) en Nueva Delhi, India, 2002.

marzo de 1982 se creó el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP) a instancias del Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner quien fue su primer director, y de sus principales colaboradores entre quienes cabe mencionar a los que conformaron el primer Consejo Asesor: Dres. Osvaldo F. Mercuri (Vicedirector desde 1988), Raúl O. Peluffo, María E. de Tomás, Irma N. Tacconi de Gómez Dumm, Aníbal M. Nervi y María J. Tacconi de Alaníz. Los fines específicos del INIBIOLP fueron: A) Realizar investigaciones en el campo de la bioquímica y disciplinas relacionadas incluyendo especialmente estudios en el área de los lípidos; B) Contribuir a la formación y perfeccionamiento de investigadores y técnicos, y a la enseñanza de post grado en el campo referido en el apartado A; y C) Promover el desarrollo de estudios en su especialidad. En ese momento el Instituto contaba con nueve investigadores, ocho de los cuales pertenecían a la Carrera del Investigador del CONICET y uno a la de CIC-Pcia de Bs As, ocho becarios internos y un becario externo. Se publicaron durante ese año 1982, 11 trabajos en revistas internacionales y 3 en revistas nacionales.

Desde su creación el INIBIOLP fue creciendo paulatinamente. Nuevos investigadores formados en el instituto (Horacio Garda, Carlos Marra, Margarita García, Marcelo Tavella, Patricia Juárez, Omar Rimoldi, Horacio Heras, Betina Córscico, María del Rosario González-Baró, Ana Ves Losada, Alejandra Tricerri, Mónica Cunningham, Fernando García, entre otros), o que se incorporaron al INIBIOLP como investigadores ya formados (Rodolfo Goya y Laura Bakás), fueron dando im-

pulso a diferentes líneas de trabajo y contribuyeron por consiguiente al reconocimiento que tiene este Instituto en el país y en el extranjero. Al afianzarse los nuevos grupos y líneas de trabajo, se realizaron importantes contribuciones en las siguientes temáticas: el impacto del envejecimiento sobre el eje timo hipofisario en animales de experimentación; la construcción de vectores adenovirales portadores de genes específicos con aplicación en terapia génica; la regulación del metabolismo lipídico en cultivos celulares y animales de laboratorio por efecto de factores nutricionales, hormonales y ambientales; las aplicaciones clínicas de marcadores lipídicos a enfermedades inflamatorio-degenerativas en humanos; el impacto del estrés oxidativo y nitrativo; la importancia de los lípidos y ácidos grasos en la nutrición humana; el mecanismo del transporte reverso del colesterol mediado por las lipoproteínas HDL; la relación de la apolipoproteína A-I humana con la amiloidogénesis; la estructura y función de lipoproteínas de crustáceos, arácnidos y gasterópodos; el sistema de defensa de embriones de moluscos; el estudio de biomarcadores de contaminación ambiental; la bioquímica y metabolismo de insectos y hongos entomopatógenos; la relación estructura-función en proteínas que unen ácidos grasos y otros ligandos lipídicos; la interacción de toxinas bacterianas con membranas; la acción de estatinas y monoterpenos sobre el metabolismo lipídico y la proliferación celular; el metabolismo lipídico del núcleo de células animales; y la regulación de la síntesis de glicerolípidos celulares; entre otras. Las nuevas líneas fueron surgiendo por la natural diversificación y



Nuevo edificio anexo compartido entre el INIBIOLP y el Centro de Investigaciones Cardiovasculares (CIC).

ramificación de las originales, o por la implementación de las mismas por investigadores jóvenes al regreso de postdoctorados en el exterior. La aplicación de técnicas de biología molecular desde 1998, así como de diversos métodos biofísicos y de biología celular, fueron haciendo a los estudios cada vez más multidisciplinarios y profundos en sus diversos aspectos.

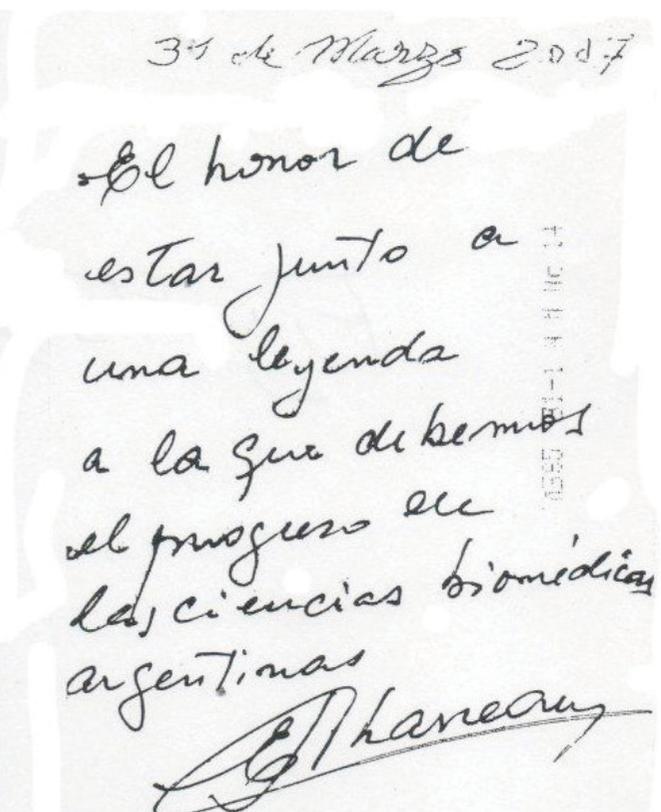
Otros investigadores que se formaron o trabajaron en la Cátedra de Bioquímica o el INIBIOLP contribuyendo en gran modo a su desarrollo, luego continuaron su carrera científica o actividad profesional en otras instituciones del país o del exterior: Dres. Gladys Chiappe, Juan C. Castuma, Sara Actis Dato, Ethel Romero, Ángel Catalá, Alicia Leikin, Miguel Tierno, Angel Stoka, Laura Fichera, Roberto De Antueno, Elizabeth Mandom, Jorge y Mónica Florin-Christensen, Fernando Noriega, Celina Castuma, José L. Soulages, Emilio Rivas, Laura Gaspar y Ariel Igal, entre otros. Varios continuaron contribuyendo con el desarrollo del INIBIOLP desde sus nuevos lugares de trabajo, ya sea a través de la gestión de fuentes de financiamiento (como el Dr. Roberto De Antueno), o mediante la colaboración científica con grupos del INIBIOLP (como los Dres. Emilio Rivas o José Luis Soulges, entre otros).

La Dra. María Josefa Tacconi de Alaniz asumió en 2003 la dirección del INIBIOLP siendo el Dr. Ricardo Pollero el Vicedirector. A partir de 2010, los actuales Director y Vicedirector son los Dres. Horacio A. Garda y Margarita García, respectivamente. Se mantuvieron los objetivos fundacionales centrándose las investigaciones fundamentalmente en el campo de los lípidos, y el INIBIOLP continuó creciendo en recursos humanos, así como en la implementación de nuevas líneas de trabajo. En especial, la política implementada por el CONICET en los últimos años permitió la incorporación de un gran número de becarios e investigadores jóvenes. Hoy el INIBIOLP cuenta con 35 investigadores (29 del CONICET, 3 de la CIC-Pcia de Bs As, y 3 de la UNLP), 7 becarios posdoctorales,

24 tesistas doctorales, 8 tesinistas de grado, y 24 personas con funciones de apoyo a la investigación. Estas personas ejecutan simultáneamente más de 30 proyectos subsidiados por organismos nacionales (CONICET, ANPCyT, CIC-Pcia Bs. As., UNLP y otros) e internacionales (NIH, Wellcom Trust, International Foundation for Science y otros), y ha generando más de 40 publicaciones anuales en revistas de nivel internacional y referato riguroso.

En diciembre de 2006 se firmó un nuevo convenio entre la UNLP y CONICET que pasó a regir la organización y administración de las Unidades Ejecutoras de doble dependencia como el INIBIOLP. Desde entonces el INIBIOLP está integrado junto con las otras 22 Unidades Ejecutoras de CONICET del área de la ciudad de La Plata en el Centro Científico Tecnológico (CCT) - CONICET-La Plata. También a partir de dicho convenio, la Dirección del INIBIOLP es secundada por un Consejo Directivo formado por seis investigadores elegidos por todo el personal, un representante de los becarios y un representante del personal de apoyo (estos últimos con voz pero sin voto). Los miembros del actual Consejo Directivo son los Dres. Margarita García, Patricia Juarez, Betina Córscico, Laura S. Bakás, Horacio Heras y Omar Rimoldi; la Sra. Ana Bernasconi representando al personal de apoyo; y el Lic. Juan Pablo Layerenza como representante de los becarios.

Cabe también señalar que esta Unidad Ejecutora ha tenido siempre una estrecha relación con la enseñanza universitaria a nivel de grado y postgrado. La gran mayoría de sus investigadores y becarios se desempeñan también como docentes en la enseñanza universitaria de grado. En su plantel, el INIBIOLP cuenta con 6 Profesores Titulares, 9 Profesores Adjuntos y un gran número de auxiliares docentes en las Facultades de Ciencias Médicas, Ciencias Exactas, y Ciencias Naturales de la UNLP. Los investigadores y técnicos del INIBIOLP realizan una amplia difusión de sus productos hacia la



Los Dres. Brenner y Eduardo Charreau (entonces Presidente de CONICET) durante los festejos del 25 aniversario de la creación del INIBIOLP.

comunidad general y específica (Médicos asistenciales, Investigadores de otras áreas, etc.) mediante conferencias, talleres, cursos y seminarios. En cuanto a la formación de postgrado, 21 tesis doctorales fueron realizadas en la Cátedra de Bioquímica con anterioridad a la creación del INIBIOLP, y otras 62 se realizaron a partir de 1982 en el INIBIOLP. De estas últimas, 28 fueron realizadas en los últimos años (desde 2005) y otras 24 se encuentran en este momento en realización, lo que es un fehaciente indicador del gran crecimiento acaecido durante el último período y de su futura proyección.

Este crecimiento del INIBIOLP, sin embargo, ha agravado uno de sus mayores problemas que es el déficit en infraestructura edilicia. Por gestiones que se realizan desde 2006 cuando era Directora la Dra. Tacconi de Alaniz, se concretó en el corriente año con fondos del Plan Federal de Infraestructura del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva; la construcción de un edificio anexo en las inmediaciones de la Facultad de Ciencias Médicas, que es compartido con el Centro de Investigaciones Cardiovasculares (CIC). Allí el INIBIOLP dispone de unos 200 m² de laboratorio y oficinas destinados al sector de Biología Molecular. En el mismo edificio, la UNLP construyó para uno de los grupos del INIBIOLP (Dra. Betina Córscico), otro laboratorio de unos 100 m² con fondos de los Proyectos de Adecuación y/o Mejora de Infraestructura (PRAMIN) de la Agencia Nacional de

Promoción Científica y Tecnológica. Estos nuevos laboratorios descomprimirán en parte el acuciante déficit edilicio, pero están aún lejos de ser una solución definitiva. El contar con un edificio propio es un viejo anhelo de los integrantes del INIBIOLP desde el momento de su creación. Ya en 1984, CONICET financió la elaboración de un proyecto edilicio que lamentablemente no pudo concretarse por las sucesivas crisis económicas devenidas posteriormente en el país. Hoy se cuenta con un nuevo proyecto para un edificio lindante con el anexo recientemente inaugurado, que contempla las necesidades de ambos institutos (INIBIOLP y CIC). El mismo fue elaborado con la asistencia del Departamento de Infraestructura del CCT-CONICET-La Plata, y esperamos que esta vez pueda ser concretado a través de las próximas etapas del Plan Federal de Infraestructura.

II. 3. Sobre las líneas de investigación actuales del INIBIOLP

En la actualidad, las investigaciones del INIBIOLP se desarrollan en el marco de las 16 líneas de trabajo cuyos integrantes y objetivos se indican a continuación. Mayor información sobre publicaciones de los resultados de esas líneas, así como direcciones de contacto puede obtenerse en www.inibiolp.org.ar.

1) *REGULACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN CULTIVOS CELULARES Y ANIMALES DE LABORATORIO POR EFECTO DE FACTORES NUTRICIONALES, HORMONALES Y AMBIENTALES.*

Director: Dr. Carlos Alberto Marra. Codirectora: Dra. María Josefa Tacconi de Alaniz. Investigadores: Dra. Graciela Elisa Hurtado, Dra. María Cristian Marín. Becarios postdoctorales: Dra. Mariana Astiz, Dra. Nathalie Arnal. Tesista: Med. Vet. Juan Manuel Lofeudo. Técnicos: Sra. Norma Susana Cristalli, Sra. Mónica Farquete, Sra. María Eva Illara, Sra. María Cristina Pallanza. Colaboradores externos: Dra. Diana Olga Cristalli (Cátedra de Neurología, FCM de la UNLP), Dra. Natalia Lausada (Laboratorio de Transplante de Órganos, FCM de la UNLP), Med. Vet. Pablo Stringa (Laboratorio de Transplante de Organos); Méd. Fernando Ariel Marra (Cátedra de Medicina Interna), Dr. Darío Andrinolo (Cátedra de Toxicología, Ciencias Exactas, UNLP), Dra. Daniela Sedan (Cátedra de Toxicología, Ciencias Exactas, UNLP), Dra. Marcela García (Cátedra de Histopatología, FCM de la UNLP)

En esta línea de trabajo se investiga el efecto regulador de factores nutricionales y contaminantes ambientales sobre enzimas clave del metabolismo lipídico, y el mecanismo por el cual se producen estos cambios. En estos estudios se emplean sistemas experimentales mixtos en tanto que algunos experimentos se llevan a cabo con ratas de la cepa Wistar mientras que otros se hacen en líneas de cultivos establecidos como Hep-G2 (hepatoma humano), A-549 (adenocarcinoma pulmonar humano), HTC (un tipo de hepatoma de Morris), Raw (derivada de macrófagos) o bien cultivos primarios (hepatocitos de rata, células intersticiales de testículo de ratas Wistar, o neuronas corticales o hipotalámicas murinas de la cepa Swiss). Los animales son alimentados con dietas semisintéticas preparadas en nuestro laboratorio, o tratados por inyección intraperitoneal o suplementos en agua de bebida, conteniendo contaminantes ambientales como el cobre o agroquímicos de uso frecuente en nuestra actividad agropecuaria (glifosato, dimetoato, zineb). También se les modifican en forma deliberada componentes de esas dietas como la calidad/cantidad de lípidos (triacilglicéridos obtenidos de fuentes comerciales normalmente empeladas en la alimentación en nuestro medio: aceites de maíz, uva, girasol, canola u oliva), colesterol, etc. Estas manipulaciones usualmente combinan dos o más de estos factores. Por ejemplo, en uno de los subproyectos se estudia el efecto combinado de cantidades traza de cobre agregadas al agua de bebida con la sobrecarga de colesterol sobre el impacto que esto ocasiona en la amiloidogénesis en el sistema nervioso central, su vínculo con el equilibrio del sistema de defensa antioxidante y las señales de muerte celular redox-dependientes, la transformación del APP en beta-amiloide y la sobrevivencia neuronal. O bien, se obtienen células para cultivos primarios a partir de animales que previamente fueron ali-

mentados con dietas especiales con determinada composición lipídica, y en esos cultivos se estudia el mecanismo de daño ocasionado por la noxa en cuestión y su posible remediación (por ejemplo mediante la suplementación con sustancias antioxidantes de origen natural).

2) *APOLIPOPROTEÍNA A-I HUMANA (APOAI): ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.*

Director: Dr. Horacio Garda. Investigadores: Dra. Marina Cecilia González, Dr. Juan Domingo Toledo. Tesistas: Lic. Luz Ángela Cuellar Rodríguez, Lic. Laura Virginia Cabaleiro. Técnicos: Sra. Laura Edith Hernández. Tesinistas: Sr. Jorge Puppo, Sr. Lucio Chirillano, Sra. Carla Almeyra. Colaboradores externos: Dr. Eduardo Prieto (INIFTA), Dr. José Luis Soulages (Oklahoma State University, USA), Dra. Aminta Mendoza (Dpto de Física, Univ de Bogotá, Colombia), Dres. Ana María Gennaro y Pablo Rodi (Dpto de Física, Universidad del Litoral), Dr. Andrés McCarthy (IFLYSIB)

ApoAI es la proteína mayoritaria de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), cuyos niveles séricos están inversamente relacionados con el riesgo aterogénico. La antiaterogenicidad de apoAI y HDL son principalmente atribuidas a su participación en el transporte del exceso de colesterol de los tejidos periféricos hacia el hígado para su excreción. Para conocer con detalle los mecanismos moleculares involucrados, se estudia la relación estructura-función de apoAI en el marco de las siguientes sublíneas:

a) *Flexibilidad conformacional de apoAI:* ApoAI requiere de grandes cambios conformacionales para alternar durante su ciclo funcional entre su estado libre y unida a superficies lipídicas como membranas o diferentes complejos HDL. Su estado libre se supone un ramillete de hélices anfipáticas laxo y flexible que debe abrirse para interactuar con superficies lipídicas. El objetivo es comprender las bases estructurales de la interacción de apoAI con lípidos y de su flexibilidad conformacional. En particular, estamos interesados en una región del centro de la proteína que conformaría un dominio con independencia estructural y funcional, y sería responsable de la interacción de apoAI y HDL discoidales con membranas, como también de algunas respuestas celulares como la movilización de depósitos endógenos de colesterol. Usamos con este fin diferentes técnicas biofísicas, ya sea con la proteína salvaje o con mutantes conteniendo un grupo reportero en posiciones estratégicas (triptófanos, o cisteínas a las que se le unen covalentemente grupos fluorescentes o paramagnéticos). Estas proteínas modificadas nos brindan información sobre el entorno del grupo reportero, además de permitir la estimación de distancias inter- o intra-moleculares que revelan la conformación espacial. También proyectamos la utilización de métodos computacionales de modelado y dinámica molecular con el mismo objetivo.

b) *Respuestas celulares inducidas por apoAI*: Dependiendo del tipo celular, apoAI desencadena múltiples respuestas, aunque los mecanismos y vías de señalización involucradas son poco conocidos. Una de estas respuestas es la movilización de depósitos endógenos de colesterol esterificado. Tanto la identificación de las vías de señalización como de los dominios funcionales involucrados en estas respuestas celulares son fundamentales para entender estos procesos a nivel molecular. Se usan distintos tipos de células en cultivo en las que se investigan las respuestas celulares comparativas a apoAI, diferentes tipos de complejos HDL, y mutantes artificiales o naturales de apoAI. De este modo, se trata de obtener información sobre la conformación de apoAI requerida y sobre los dominios de la proteína involucrados. Actualmente se presta particular atención a una mutante natural con una deleción en la región central (DK107) cuyos portadores tienen riesgo aterogénico incrementado. Con esta variante se observan algunas respuestas celulares alteradas como la elevación del nivel celular de ACAT (enzima que esterifica el colesterol celular).

3) CÉLULAS AISLADAS Y/O MODIFICADAS: METABOLISMO LIPÍDICO

Director: Dr. Carlos Alberto Marra. Codirectora: Dr. María Josefá Tacconi de Alaníz. Investigadores: Dra. Graciela Elisa Hurtado, Dra. María Cristina Marín. Becarios postdoctorales: Dra. Natalie Arnal, Dra. Mariana Astiz. Tesinista: Sra. Lina Dominici. Técnicos: Sra. Norma Susana Cristalli, Sra. Mónica Farquete, Sra. María Eva Illara, Sra. María Cristina Pallanza.

Se emplean células aisladas y/o cultivadas con el fin de estudiar su metabolismo lipídico y el efecto que sobre el mismo ejercen diferentes componentes del medio de cultivo (drogas, nutrientes, hormonas, polucionantes ambientales). Este tipo de sistemas complementa los trabajos realizados *in vivo* en modelos de ratas Wistar y en muestras de sangre humana. Aquí lo que se busca es contar con un sistema *in vitro* cuyas variables experimentales sean mucho más controlables que las que se presentan al trabajar con animales o con muestras de humanos. Se tratan de reproducir las condiciones de la noxa y definir con mayor claridad el mecanismo de daño para diseñar la forma de interferirlo. Un ejemplo característico es el estudio dosis-respuesta de los efectos deletéreos del ión cúprico según sea la célula sometida a la sobrecarga con el metal (su procedencia y sus funciones específicas dentro del organismo). En cultivos celulares se puede investigar con mayor precisión y reproducibilidad el impacto perjudicial que el cobre causa sobre enzimas clave del metabolismo de lípidos (fosfolipasas, desaturasas, ácido graso sintetasa, etc.), usar complejantes diferenciales para discernir si el mecanismo de daño depende del ión cúprico o de su transformación a cuproso (neocuproína, carnosina),

estudiar a nivel de subfracciones celulares la injerencia de organoides en el mecanismo de daño (núcleo, mitocondrias, etc.), incubar con agentes neutralizadores (curcumina, polifenoles, ácido lipoico, etc.) y así obtener un panorama mucho más preciso que el logrado en los experimentos realizados en animales enteros a partir de los cuales estos otros se originan.

4) ESTUDIOS ESTRUCTURA - FUNCIÓN Y COMPARADOS DE PROTEÍNAS DE HUEVO DE MOLUSCO. SU ROL EN LAS DEFENSAS DEL EMBRIÓN.

Director: Dr. Horacio Heras. Investigadores: Dr. Marcos Sebastián Dreon, Dr. Santiago Ituarte. Becaria postdoctoral: Dra. María Yanina Pasquevich, Tesistas: Lic. María Pilar Cadierno, Lic. Matías Giglio. Colaboradores externos: Jian Wen Qiu (Universidad de Hong Kong, China), Marcelo Ceolín (INIFTA), Patricia Fernández (Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP), Beatriz Winik (Universidad Nacional de Tucumán)

El objetivo de esta línea es ampliar el conocimiento acerca de la biología reproductiva de los moluscos gasterópodos, estudiando las proteínas del huevo de especies de caracoles de la familia Ampullariidae pertenecientes al género Pomacea.

Modelo: un caracol invasor, vector de parasitosis y plaga de arrozales.

El modelo más empleado en el laboratorio es el caracol manzana Pomacea canaliculata (Lamarck, 1822), también llamado ampularia (o *Apple Snail* en inglés, *Apfelschnecke* en alemán). Es uno de los moluscos de agua dulce argentinos más representados en lagunas, bañados, esteros, arroyos y canales con abundante vegetación. Su distribución natural abarca las cuencas del Amazonas y Del Plata. En nuestro país se lo encuentra principalmente desde el sur de Buenos Aires, la Mesopotamia y las Provincias del Centro y NOA. En las últimas 3 décadas *P. canaliculata* ha invadido Asia, Norteamérica, España y algunas islas del Pacífico y es el único caracol listado entre las 100 especies más invasoras del mundo. Causa graves pérdidas económicas a los cultivos como arroz y taro. Es además un importante vector de parásito *Angiostrongylus cantonensis* que causa meningoencefalitis en humanos, a veces letal. Su establecimiento en las áreas invadidas estaría relacionado con su alta fecundidad (cada hembra deposita fuera del agua unos 10.000 huevos de llamativo color rosado) y con las características inusuales de las proteínas de sus huevos, motivo de nuestras investigaciones. Los huevos, a pesar de estar cargados de grandes cantidades de carbohidratos y proteínas, no poseen depredadores en su rango natural sudamericano, y solo uno o dos en sus recientes sitios de colonización asiáticos.

Enfoque experimental

En los estudios de estructura y función de los complejos empleamos habitualmente una combinación de técnicas bioquímicas, biología molecular, biofísicas, histopatológicas y bioensayos con animales de laboratorio.

*Principales resultados**Características estructurales de la perivitelinas*

Los principales complejos glico lipoproteicos del huevo son oligómeros de alto peso molecular: Ovorubina y PV2 en *P. canaliculata* y escalarina en *Pomacea scalaris*. Ovorubina y escalarina están compuestas por tres subunidades, altamente glicosiladas y transportan pigmentos carotenoides, esto es, son caroteno-proteínas. PV2 es un octámero, compuesto por 4 heterodímeros unidos por puentes disulfuro. Hemos demostrado que estas perivitelinas son estructuralmente estables frente a la temperatura: ovorubina es estable hasta 95 °C, PV2 hasta 60 °C y escalarina hasta 80 °C. También hemos observado que ovorubina y escalarina son estables en un amplio rango de valores de pH, ovorubina entre pH 4.0 y 12.0 y escalarina entre pH 2.0 y 10.0. Asimismo, las tres perivitelinas resultaron resistentes a la degradación proteolítica por parte de la pepsina (enzima estomacal de mamíferos) y tripsina (enzima digestiva muy conservada en vertebrados e invertebrados).

*Función de los complejos proteicos en la defensa de los embriones frente a depredadores**Ovorubina (PcOvo)*

Teniendo en cuenta que ovorubina es un inhibidor de proteasas, que es estable en un amplio rango de pH y que resiste la acción de las dos principales proteasas digestivas, se estudió su efecto *in vivo* en un modelo mamífero. Se observó que ovorubina administrada por vía oral disminuye la tasa de crecimiento en ratas. Todos estos resultados indicarían que la ovorubina participa de las defensas del embrión como inhibidor de las proteasas del tracto gastrointestinal del depredador, limitando la digestión de los nutrientes del huevo (defensa antidigestiva). Este rol para un inhibidor de proteasas no había sido observado en otros animales, pero es similar a las defensas de las plantas contra herbívoros. Asimismo, el carotenoide astaxantina que es transportado por ovorubina dota al huevo de una llamativa coloración rojiza, probablemente una forma de advertir las defensas del huevo (señal de advertencia o aposemática).

PcPV2

Mediante estudios *in vivo* demostramos que PV2 es neurotóxica, con un efecto letal sobre el sistema nervioso central de roedores. Se trata de la primera neurotoxina descubierta en moluscos de agua dulce. Más aún, PV2 también resiste el pasaje por el tracto digestivo en una forma biológicamente activa (defensa antinutritiva). Su estructu-

ra, un heterodímero compuesto por una perforina y una tachylectina, es semejante a la neurotoxina botulínica y a las lectinas tóxicas RIP tipo2 de plantas y representaría el único ejemplo en animales de una lectina tóxica.

Escararina (PsSC)

Dado que la escalarina es resistente a la digestión proteolítica, podría estar implicada en defensas antinutritivas del huevo, aunque aún no se han realizado estudios *in vivo*. Al igual que ovorubina, escalarina dota a los huevos de un llamativo color rosa-salmón, que podría funcionar como una señal de advertencia, y posee una fuerte actividad lectina, que podría ser una defensa ante depredadores.

Implicancias ecológicas y evolutivas

Este sistema sería el único modelo de defensa animal sin un *trade-off* entre aposematismo y toxicidad ya que ambos componentes están codificados en la misma macromolécula. Demostramos que estas perivitelinas multifuncionales, no solo proveen de nutrientes al embrión como moléculas de reserva, sino que forman parte de una compleja defensa que incluye proteínas antinutritivas, antidigestivas, neurotóxicas y presumiblemente aposemáticas, que contribuirían significativamente al notable éxito reproductivo de esta especie en constante expansión. Estas defensas bioquímicas, probablemente combinadas con factores no palatables explicarían la virtual ausencia de depredadores y también el comportamiento del gavián caracolero (*Rostrhamus sociabilis*) y otras aves que invariablemente descartan la glándula que sintetiza las envolturas del huevo cuando depreda sobre hembras. Así, las perivitelinas antes de ser el alimento del embrión, impedirían la adquisición de nutrientes e intoxicarían al depredador, dotando a los embriones de *P. canaliculata* de una de las mejores defensas en la naturaleza, abriendo nuevas perspectivas para estudios evolutivos y ecológicos de las estrategias reproductivas.

5) BIOQUÍMICA DE INSECTOS Y HONGOS PATÓGENOS. APLICACIÓN AL CONTROL DE PLAGAS.

Directora: Dra. Marta Patricia Juárez. Investigadores: Dr. Gustavo Mario Calderón Fernández, Dr. Nicolás Pedrini. Becarios postdoctorales: Dr. Juan Roberto Girotti. Tesistas: Lic. Luciana Cocchiararo Bastías, Lic. Lucas Forlani. Personal de apoyo: Facundo Oscar Bozzolo, Cecilia Fusé, Sergio Mijailovsky. Colaboradores externos: Nemat Keyhani (Universidad de Florida, USA), Francois Noireau (Instituto de Investigación para el desarrollo, sede Bolivia), Janine Ramsey (Morelos, Mexico), Christopher J. Schofield (Londres, Reino Unido), Lázaro Cafferata (CINDECA), Rubén Cardozo, (Universidad Nacional de Salta), Gustavo Dal Bello (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP), Mario

De Giusto (CIDEPINT), Alberto Gentile (Ministerio de Salud Pública, Salta), Gladys Lori (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP), Susana Padín (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP), Jorge Rabinovich (CEPAVE), Rubén Stariolo (Coordinación Nacional de Control de Vectores, Córdoba)

En el Laboratorio de Bioquímica de Insectos y Hongos Patógenos se desarrollan estudios relacionados con la bioquímica y biología molecular de insectos y de hongos patógenos de interés sanitario y agronómico. El objetivo de nuestro grupo es avanzar en el conocimiento de procesos bioquímicos característicos de estos organismos, con el fin de su ulterior aplicación al desarrollo de nuevas metodologías para el control de plagas.

Insectos

Nuestro interés se centra en la composición, estructura, metabolismo y función de los lípidos y feromonas cuticulares de estos insectos, la utilidad de los hidrocarburos cuticulares de triatomíneos como herramienta de taxonomía química y su rol en la resistencia a piretroides. La finalidad última es la aplicación de este conocimiento al desarrollo de nuevas herramientas de bajo impacto ambiental para el control de plagas. Los insectos modelo de importancia epidemiológica que estudiamos son los triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), vectores de la enfermedad de Chagas (en particular, especies de los complejos *Triatoma infestans*, *T. dimidiata*, *T. sordida* y *Rhodnius prolixus*). Dentro de los insectos que afectan a productos derivados del agro, se estudian los coleópteros plaga de granos almacenados (*Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae*, *Rizopertha dominica*, *Ulomoides dermestoides*, *Acanthoscelides obtectus*).

Hongos entomopatógenos

Considerando la cutícula de insectos como nuevo blanco para su control, estudiamos las interacciones bioquímicas y biológicas de hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*) y su insecto huésped. Estos estudios se han enfocado en la comprensión de la ruta metabólica de degradación de lípidos de insecto por hongos entomopatógenos. En base al conocimiento de las interacciones insecto-hongo y al comportamiento del insecto, desarrollamos una trampa de atracción-infección para el control de vinchucas, basada en hongos entomopatógenos y feromonas de contacto, que demostró excelentes resultados en ensayos de laboratorio y a campo. Se continúa estudiando el efecto del bioinsecticida en la dinámica poblacional del insecto y en la reducción del riesgo de infección con el parásito.

Hongos fitopatógenos

La presencia de hongos toxigénicos en trigo y otros cereales ocasiona importantes problemas sanitarios y económicos. El hongo patógeno *Fusarium graminearum*

produce la enfermedad de la espiga de trigo, contaminando cultivos y sus derivados con toxinas del grupo de los tricotecenos, principalmente deoxinivalenol (DON) y derivados. En esta línea de trabajo se caracterizaron los metabolitos volátiles de *Fusarium* sp., demostrando su utilidad como marcadores taxonómicos. Asimismo, se desarrollaron enfoques novedosos para la detección temprana de contaminación de hongos productores de micotoxinas en cultivos.

6) APLICACIONES CLÍNICAS DE MARCADORES LIPÍDICOS A ENFERMEDADES INFLAMATORIO DEGENERATIVAS EN HUMANOS.

Director: Dr. Carlos Alberto Marra. Codirectora: Dr. María Josefa Tacconi de Alaníz. Investigadores: Dra. Graciela Elisa Hurtado, Dra. María Cristina Marín. Becarios postdoctorales: Dra. Nathalie Arnal, Dra. Mariana Astiz. Técnicos: Sra. Norna Susana Cristalli, Sra. Mónica Farquete, Sra. María Eva Illara, Sra. María Cristina Pallanza. Colaboradores externos: Dra. Diana Olga Cristalli (Cátedra de Neurología, UNLP). Med. Fernando Ariel Marra (Cátedra de Medicina Interna, UNLP). Tesista Bioqca. Fernanda Santandreu (IDIP_Hospital de Niños Sor María Ludovica). Tesista Med. Carina Jomnuck (Cátedra de Neurología). Dr. Pedro González (Cátedra de Histopatología, FCM de la UNLP). Dr. Juan José Gagliardino (CENEXA, FCM de la UNLP).

Se estudia el metabolismo lipídico en diversas patologías prevalentes, tales como diabetes insulino dependiente y tipo II, y enfermedades inflamatorias crónicas y neurodegenerativas de alta prevalencia e incidencia. Se investigan con especial énfasis aquellos biomarcadores derivados del metabolismo de lípidos y/o del sistema de defensa antioxidante y su rol en la insuficiencia subclínica, que tengan ingerencia demostrada en rutas de muerte celular redox-dependientes, en la inflamación crónica, y en la degeneración celular en cualquiera de sus niveles (hiperplasia, displasia, neoplasia). Por lo tanto, se trata de descubrir como algunos de esos biomarcadores puedan funcionar como indicadores de daño temprano (sub-clínico o sub-signológico), de daño establecido, de pronosis o evolución, de prevención, o de evaluación de las estrategias terapéuticas, con el fin de aplicarlos a la práctica clínica dentro del campo de la Medicina que resulte involucrado (neurología, medicina laboral, ginecología, endocrinología o medicina general).

7) BIOQUÍMICA DEL ENVEJECIMIENTO CEREBRAL.

Director: Dr. Rodolfo Gustavo Goya. Investigadores: Dra. Claudia Beatriz Hereñú, Dr. Gustavo Ramón Morel, Dra. Paula Cecilia Reggiani. Becarios postdoctorales: Dra. María José Bellini. Tesistas: Lic. Silvia Susana Rodríguez, Lic. José Ignacio Schwerdt. Personal de apoyo: Lic. Yolanda Elena Sosa, Ing. Oscar Daniel Vercellini. Cola-

boradores externos: Osvaldo Delbono (Universidad de Wake Forest, NC, USA), Gerardo F Goya (Universidad de Zaragoza, España), Olga Mykhaylyk (Universidad Técnica de Munich, Alemania), Vanina Cambiaggi (Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP), Enrique Portinasky (Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP), Francisco Sánchez (IFLYSIB), Gustavo Zuccolilli (Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP)

Terapia génica en el cerebro senil utilizando adenovectores regulables de alta capacidad.

En estudios previos demostramos que la terapia génica de corto plazo para el *insulin-like growth factor I* (IGF-I), una molécula neuroprotectora de creciente interés clínico, resulta altamente efectiva para restaurar la función dopaminérgica (DA) en el hipotálamo de ratas hembras seniles y su *performance* motora. El objetivo del presente proyecto es el de implementar terapia génica de largo plazo en el cerebro de la rata senil usando el gen para el IGF-I. La evaluación de los resultados de los estudios propuestos se hará en base a análisis morfométricos de poblaciones neuronales relevantes de las regiones cerebrales estudiadas, por dosaje de prolactina sérica y por medio de test mnemónicos.

Terapia génica mínimamente invasiva en el cerebro senil utilizando vectores virales y nanopartículas magnéticas.

La terapia génica en el cerebro se perfila como una estrategia terapéutica promisoriosa para el tratamiento de la neurodegeneración. Desafortunadamente, la alta invasividad de este procedimiento limita significativamente su eventual implementación en pacientes humanos. Una posible vía para superar este problema surge de asociación de la transferencia génica con la nanotecnología, combinación que ofrece ahora la posibilidad de desarrollar estrategias de terapia génica intracerebroventricular de invasividad mínima. Este abordaje combina la magnetofección, una tecnología emergente que se basa en la asociación de nanopartículas magnéticas (MNP) con vectores virales o no virales con el objeto de optimizar la transferencia génica en presencia de un campo magnético. Apoyándonos en las capacidades de esta novedosa tecnología nos proponemos encarar, en colaboración con nanotecnólogos alemanes y españoles, el desarrollo de protocolos de transferencia génica mínimamente invasiva en el cerebro de la rata. Dicho abordaje se basa en la inyección intracerebroventricular de complejos MNP-vector adenoviral en sitios distales del sistema ventricular (la cisterna magna) concentrándolos en regiones de interés terapéutico del cerebro por medio de campos magnéticos externos adecuadamente enfocados.

Rol de los canales de calcio en el músculo esquelético senil.

La presente línea constituye un proyecto en colaboración entre la Dra. Claudia Hereñú (INIBIOLP) y el Dr.

Osvaldo Delbono (Wake Forest University North Carolina-USA), la cual se focaliza en el envejecimiento del músculo esquelético. El objetivo a largo plazo de la colaboración manifiesta es elucidar los mecanismos celulares y moleculares responsables de la disminución funcional del músculo esquelético con el envejecimiento. En el sistema de señalización intracelular, reviste crítica importancia el receptor de dihidropiridina (DHPR), cuyas subunidades $\alpha 1$ y $\beta 1a$ son cruciales para el correcto desempeño del canal de Ca^{2+} en estudio, pues su ablación suprime la contracción muscular. El proyecto explora, mediante la utilización de vectores adenovirales apropiados, (1) vías alternativas para la interacción de las subunidades $\alpha 1$ y $\beta 1a$ del receptor de DHPR, (2) si el aumento de la subunidad $\beta 1a$ causa una disminución de $\alpha 1$ en el envejecimiento y (3) si la sobre-expresión de *insulin-like growth factor-I* (IGF-1) en músculo previene la sobre-expresión edad-dependiente de la subunidad DHPR $\beta 1a$, y consecuentemente, la disminución de la subunidad $\alpha 1$ dependiente de $\beta 1a$.

Terapia génica de largo plazo en modelos de envejecimiento neuroendocrino.

La terapia génica constituye una estrategia interventiva promisoriosa para el abordaje de disfunciones del sistema neuroendocrino, razón por la cual en la última década nuestro grupo ha desarrollado una sólida experiencia en la aplicación de la terapia génica en el sistema neuroendocrino senil. En esta sublínea se aborda la implementación de terapia génica protectora de largo plazo en dos modelos animales de envejecimiento neuroendocrino. Uno es el ratón congénitamente atímico (*nude*) hembra que constituye un modelo de envejecimiento reproductivo acelerado, en especial a nivel ovárico y metabólico (lípidos y glucosa), en el que se aplicará terapia génica neonatal con un gen sintético clonado en un adenovector bidireccional regulable que codifica para el péptido tímico timulina y la *green fluorescent protein* (GFP). El segundo modelo es el sistema neuroendocrino de la rata hembra premenopáusica en el que se implementará terapia génica de largo plazo con el gen de la timulina y el del *insulin-like growth factor-I* (IGF-I). Estos estudios constituyen una continuación y ampliación de trabajos previos en los cuales se demostró la utilidad terapéutica de la transferencia de los genes para timulina o IGF-I en el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal de ratones *nude* y en el eje hipotálamo-lactotrofo y gonadal de la rata hembra senil, respectivamente.

El hipocampo de la rata senil: caracterización de sus alteraciones morfológicas y funcionales e implementación de terapia génica neuroprotectora.

La función cognitiva es una variable altamente vulnerable al envejecimiento tanto en el hombre como en roedores de laboratorio. El ejemplo más relevante en el hombre está dado por la enfermedad de Alzheimer. En

nuestro grupo, estudios recientes en ratas hembras viejas (24 meses) y seniles (29 meses) demostraron que los animales sufren una significativa declinación en la *performance* cognitiva en relación a sus contrapartes jóvenes. La presente línea de investigación ha abordado la caracterización de los cambios morfométricos e inmuno-histoquímicos en el hipocampo de la rata hembra senil, correlacionándolos con los cambios a nivel cognitivo, especialmente los nemónicos. En una segunda etapa se planea utilizar vectores HD-RAD de alta capacidad que se están construyendo para implementar terapia génica intracerebroventricular de largo plazo para IGF-I en animales jóvenes (3-4 meses) y viejos (24 meses), entrenados en tareas comportamentales dependientes del hipocampo. Al final del estudio (6 meses post inyección vectorial) los animales serán testeados comportamentalmente.

8) ANÁLISIS ESTRUCTURA-FUNCIÓN DE PROTEÍNAS SOLUBLES QUE UNEN LÍPIDOS.

Directora: Dra. Betina Córscico. Investigadores: Dra. Gisela Raquel Franchini. Tesistas: Lic. Marina Ibañez, Lic. Jorge Luis Pórfido, Lic. María Florencia Rey, Lic. Luciana Rodríguez Sawicki, Lic. María Valeria Silva Álvarez. Colaboradores externos: Judith Storch (Universidad de Rutgers, USA), Malcom W Kennedy (Universidad de Glasgow, Escocia), Adriana Estévez (Universidad de la República. Uruguay), Ana María Ferreira (Universidad de la República. Uruguay), José M Delfino (Universidad de Buenos Aires), Mario R Ermácora (Universidad de Quilmes), Mara Rosenzvit (Universidad de Buenos Aires)

Nuestro laboratorio se dedica al estudio estructura-función de proteínas solubles que unen lípidos (LBPs), empleando una variedad de métodos bioquímicos, biofísicos, de biología celular y molecular. Empleamos sistemas *in vitro*, utilizando proteínas purificadas, membranas modelo y cultivo celular. Un aspecto de nuestro trabajo está dedicado al "Análisis estructura-función de proteínas de mamífero que unen ácidos grasos (FABPs)". Hemos demostrado que, a pesar de la similitud de estas proteínas en su estructura terciaria y características de unión a ligandos, distintos miembros de la amplia familia de FABPs, emplean mecanismos de transporte de ligandos hacia membranas muy distintos. Asimismo, hemos identificado los dominios estructurales de las proteínas responsables de estas diferencias y las propiedades de las membranas que promueven la interacción proteína-membrana. Actualmente, nuestro interés está también enfocado en la caracterización de las propiedades específicas de estas proteínas empleando sistemas en cultivo celular. Específicamente, utilizando un sistema modelo de células en cultivo, en las que se ha disminuido la expresión de las FABPs, analizamos el impacto de dicha disminución sobre el desarrollo y

la diferenciación celular, el metabolismo lipídico y los procesos inflamatorios.

Recientemente en nuestro laboratorio se ha comenzado a desarrollar una nueva línea de investigación: "Análisis estructural y biofísico de nuevas proteínas que unen lípidos de parásitos helmintos. Este trabajo está dedicado a dilucidar las estructuras tridimensionales a nivel atómico de proteínas de reciente descubrimiento producidas por parásitos, que son distintas de las de sus hospedadores, y determinar de qué manera interactúan con células y tejidos del hospedador para la adquisición de nutrientes y la modificación del sistema inmune del hospedador. Para este trabajo se han seleccionado parásitos de importancia epidemiológica en nuestra región.

9) METABOLISMO LIPÍDICO NUCLEAR.

Directora: Dra. Ana Ves Losada. Investigadores: Dra. Margarita María García de Bravo, Dra. Mónica Patricia Polo. Tesistas: Lic. Juan Pablo Layerenza, Lic. Lucia Carolina Lagrutta. Tesistas: Sr. Martín Sebastián Sisti, Li Chiao Huang. Técnico: Cristina Pallanza.

Se estudia la función biológica de los lípidos nucleares. Se identificarán los dominios lipídicos nucleares, y determinará su lipidómica, proteómica, y propiedades fisicoquímicas; su movilización (L-FABP) metabolismo y regulación.

10) EFECTO DE LA EXPRESIÓN DE ENZIMAS DESATURANTES DE ÁCIDOS GRASOS SOBRE LA HETEROGENEIDAD LATERAL DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA Y LA CAPACIDAD DE APOLIPOPROTEÍNAS DE REMOVER COLESTEROL.

Director: Dr. Omar Jorge Rimoldi, Investigadores: Dr. Horacio Alberto Garda, Dra. María Alejandra Tricerri. Becarios postdoctorales: Dra. María Soledad Jaureguiberry. Personal de apoyo: Gabriela Sandra Finarelli. Colaborador externo: Susana Sanchez (Laboratory for Fluorescence Dynamics, USA)

La integridad de la Membrana Plasmática (MP) es fundamental a fin de regular numerosos procesos de señalización. En esta línea de trabajo se investigan distintas propiedades de la MP, en especial su composición y organización lateral, y la influencia de estos factores en la remoción de colesterol y en la viabilidad celular. Para ellos se construyen como modelo líneas celulares estables que sobre expresan enzimas desaturantes de ácidos grasos, (por ej $\Delta 9$ y la sobre expresión conjunta de las $\Delta 5$ y $\Delta 6$ desaturasas) induciendo un cambio significativo en la composición de lípidos de la MP. Usando este modelo en relación a células control sin tal modificación, se estudia la influencia de la composición y fluidez de la MP sobre distintos procesos celulares asociados al transporte, almacenamiento, localización de colesterol y la relación con el mantenimiento de las funciones celulares.

11) ESTUDIO DE MECANISMOS DE ACCIÓN EN LA INTERACCIÓN ENTRE MONOTERPENOS, ACEITES ESENCIALES Y ESTATINAS SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO Y LA PROLIFERACIÓN CELULAR.

Directora: Dra. Margarita María García de Bravo. Investigadores: Dra. Rosana Crespo, Dra. Mónica Patricia Polo. Tesistas: Lic. Marianela Galle, Lic. Sandra Montero Villegas, Lic. Boris Emilio Rodenak Kladniew. Colaboradores externos Martín Abba, (Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas, UNLP), Lic Jose Ciccio Alberti (CIPRONA, Universidad de Costa Rica). Técnico: Sra. María Prinzo.

Estudio del mecanismo de acción de los isoprenoides y su interacción con estatinas sobre el metabolismo lipídico y la proliferación celular. Los monoterpénos son componentes no nutritivos de la dieta presentes en aceites esenciales de varias plantas que han demostrado tener múltiples efectos en la vía del mevalonato. Los estatinas son inhibidores competitivos de la HMG-CoA reductasa ampliamente usados en los tratamientos contra las hipercolesterolemias. Se estudia el mecanismo por el cual los monoterpénos y la combinación de estos con estatinas afectan la síntesis de colesterol, el metabolismo lipídico y la proliferación celular *in vitro* en líneas celulares establecidas e *in vivo* en ratones nude huéspedes y no huéspedes de tumores

12) REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE GLICEROLÍPIDOS CELULARES.

Directora: Dra. María del Rosario González Baró. Investigadores: Dr. Mauro Aldo Montanaro, Dra. Elizabeth Renee Cattaneo, Dra. Magali Pellon Maison. Tesistas: María Belén García Fabiani, I. Yoselí Quiroga. Becaria de grado: Mercedes Soler. Colaboradores externos: Rosalind Coleman (Univ. de Carolina del Norte, USA); Rosa Erra Ballsels (UBA); Franco Cabrerizo (Instituto Tecnológico de Chascompus); Martín Abba, Martín Rabassa y Ezequiel Lacunza (Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas, UNLP).

Rol de la glicerol-3-fosfato aciltransferasa 2 en la síntesis de glicerolípidos celulares.

El primer paso de la síntesis de glicerolípidos en células de mamífero está catalizado por la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT). Se han clonado hasta el momento cuatro genes que codifican para isoformas de esta enzima, los que se expresan en distintos tejidos y en diferentes localizaciones subcelulares. En particular, estamos interesados en la función de la GPAT2, isoforma que se expresa principalmente en testículo de rata, ratón y humano. Previamente hemos demostrado que Gpat2 se expresa en células de la línea espermática y que cuando este gen se sobre expresa en células CHO-K1 aumenta la síntesis y almacenamiento de triacilglicéridos, así como

también la proliferación celular. Nuestro objetivo es establecer la especificidad de sustrato de GPAT2 con el propósito de identificar cuáles son los metabolitos derivados de su actividad que promueven la proliferación celular. Otro de nuestros objetivos es establecer en qué tipo de células de la línea espermática se expresa este gen y analizar la expresión en distintos tipos de células tumorales. Para llevar a cabo nuestros objetivos utilizamos técnicas bioquímicas clásicas como ser la medición de actividades enzimáticas mediante sustratos radiactivos y técnicas de separación y análisis de lípidos y ácidos grasos. Detectamos la proteína GPAT2 mediante Western blot e inmunohistoquímica y el mRNA por PCR cuantitativa en tiempo real e hibridación *in situ*. Realizamos estudios de sobreexpresión de GPAT2 heteróloga en células en cultivo. Determinamos hasta el momento que Gpat2 es un gen cuyo mRNA se expresa sólo en espermatoцитos primarios en condiciones normales y aparece sobre expresado en células tumorales indiferenciadas. Alguno de los metabolitos derivados de su actividad enzimática, ricos en araquidonato podría funcionar como señales para la proliferación y/o supervivencia celular.

Metabolismo de ácidos grasos en la membrana mitocondrial externa.

La desregulación de la síntesis y degradación de triacilglicéridos (TAG) ocasiona problemas muy serios de salud, como son la obesidad y la diabetes de tipo 2. El primer paso y limitante de la síntesis de TAG es catalizado por glicerol-3-fosfato aciltransferasas (GPAT). La isoforma mitocondrial GPAT1 está relacionada con la síntesis de TAG, y su localización celular coincide con la carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT1), que cataliza el paso limitante de la beta-oxidación de ácidos grasos, y con algunas isoformas de acil-CoA sintetasas de ácidos grasos de cadena larga (ACSL), cuyo producto de reacción es el sustrato de ambas GPAT1 y CPT1. Hipotetizamos que en la mitocondria, la canalización de sustratos acil-CoA hacia procesos biosintéticos u oxidativos involucra interacciones proteína-proteína. Nuestros objetivos específicos son: 1) Caracterizar la estructura oligomérica de GPAT1 y 2) Determinar el rol de las diferentes isoformas de ACSL y de CPT1 en la provisión y disponibilidad de sustratos acil-CoA para GPAT1. Para cumplir con el objetivo 1 utilizaremos técnicas de entrecruzamiento químico tanto en células en cultivo como en mitocondrias aisladas de hígado de rata. Aislaremos los complejos proteicos que contengan GPAT1 por inmunoprecipitación, con el objeto de identificar sus proteínas interactuantes por espectrometría de masa. Para cumplir con el objetivo 2 realizaremos estudios de regulación recíproca de GPAT1 y CPT1 sobre expresando mutantes inactivos de estas enzimas en células en cultivo, estudiaremos la canalización de sustratos desde diferentes isoformas de ACSL en modelos de sobreexpresión, subexpresión e inactivación de cada una de las isoformas que colocalizan



Personal actual del INIBIOLP. Fotografía del 12 de marzo de 2012, en ocasión de celebrarse el 30 aniversario de la creación del instituto. En el centro de la segunda fila, se encuentra la Dra. Norma Sterin de Speziale, conferencista invitada para la ocasión.

con GPAT1 y CPT1. Probaremos la interacción directa de GPAT1 y CPT1 con ACSL mediante transferencia de marca o la indirecta mediante *far-western blotting*. Estos estudios revelarán un aspecto hasta ahora muy poco estudiado de la regulación de la síntesis y degradación de lípidos: el modo en que las interacciones proteína-proteína coordinan el flujo de sustratos y productos en la mitocondria. La información obtenida a partir del presente proyecto permitirá realizar un aporte a la elucidación del rol que cumple la regulación del metabolismo de lípidos mitocondrial en el desarrollo de ciertas condiciones patológicas como son la obesidad y diabetes *mellitus* tipo 2, causantes en parte del síndrome metabólico.

13) ESTUDIO DE VARIANTES DE LA APOLIPOPROTEÍNA A-I HUMANA INVOLUCRADAS EN AMILOIDOSIS.

Directora: Dra. María Alejandra Tricerri. Investigadores: Dr. Omar Jorge Rimoldi. Tesistas: Lic. Nahuel Ramella, Med. Silvana Rosú. Personal de apoyo: Lic. Gabriela Sandra Finarelli. Colaboradores externos: Guillermo Schinella (Cátedra Farmacología Fac Cs. Médicas, UNLP), Susana Sanchez (Laboratory for Fluorescence Dynamics, Irvine CA), Sergio Ferreira (Universidad Federal de Río de Janeiro)

El riesgo de estructuras proteicas laxas y “parcialmente desplegadas” como es el caso de la apolipoproteína A-I humana (apoA-I) es que pueden adoptar conforma-

ciones anómalas que generan agregados insolubles. De hecho, fragmentos de apoA-I son encontrados en depósitos amiloideos de placas ateroscleróticas aórticas y en otros órganos. El procesamiento proteolítico pro-amiloideogénico parece ser favorecido por algunas mutaciones, como es el caso de Gly26Arg, pero ni los factores estructurales ni los ambientales que lo desencadenan son bien conocidos. Con el objetivo de conocer los mecanismos moleculares que favorecen el plegamiento anómalo de la apoA-I se estudian, comparativamente con la proteína con la secuencia nativa, diferentes mutantes naturales que fueron identificadas en pacientes asociados a amiloidosis. Se investigan los factores ambientales, en especial los relacionados a microambientes pro-inflamatorios (como estrés oxidativo) que favorecen tanto el procesamiento proteolítico como el plegamiento anómalo. También es de nuestro interés conocer si formas mal plegadas de la proteína son a su vez capaces de activar la respuesta celular inflamatoria y de daño endotelial.

14) CARACTERIZACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS VITELÓGENICAS; ESTRUCTURA, ESTABILIDAD Y PROPIEDADES ENZIMÁTICAS DE LA HEMOCIANINA EN ARÁCNIDOS.

Directora: Dra. Mónica Liliana Cunningham. Investigador: Dr. Carlos Fernando García. Becario posdoctoral: Dra. Aldana Laino

Como objetivo general se pretende continuar con la línea de investigación que actualmente se desarrolla en nuestro grupo, ampliando el conocimiento sobre algunos aspectos biológicos y bioquímicos de la araña *Polybetes pythagoricus* y *Grammostola rosea*.

Identificación y caracterización de vitelogenina en la araña grammostola rosea.

El conocimiento y la comprensión de la funcionalidad de las vitelogeninas son aspectos de gran interés, ya que pueden determinar la supervivencia de los embriones y por ende la de la especie. Sin embargo, la carencia total de conocimiento de vitelogeninas en arácnidos no permite ninguna especulación en relación al tema. Uno de los objetivos del proyecto es identificar y caracterizar las lipoproteínas presentes en la tarántula *Grammostola rosea* en etapas no reproductivas y etapas reproductivas, con el fin de poder determinar el funcionamiento completo del sistema lipoproteico.

Los objetivos específicos son: 1) Aislamiento e identificación de las diferentes lipoproteínas: hemolinfáticas, vitelogeninas y de huevo de *Grammostola rosea*; 2) Caracterizar dichas partículas lipoproteicas en cuanto a su composición proteica en condiciones nativas y disociantes, empleando diferentes técnicas electroforéticas; 3) Caracterizar las composiciones lipídicas de las diferentes lipoproteínas, como así también la composición de ácidos grasos, empleando técnicas cromatográficas; 4) Correlacionar las composiciones lipídicas y proteicas de las lipoproteínas de *grammostola rosea* con sus diferentes funciones; 5) Generar anticuerpos policlonales contra la lipoproteína de vitelo; 6) Determinar las relaciones existentes entre las diferentes lipoproteínas presentes en hemolinfa (vitelogenina), en ovario y en huevo mediante sus identidades inmunológicas.

Determinar el efecto de defensa generado por la hemocianina de G. rosea.

Diferentes investigaciones revelan que las hemocianinas de artrópodos no solo son transportadoras de oxígeno, sino que también tienen otras propiedades o funciones como *buffers* y osmolitos, transportadoras de hormonas de la muda, actividad fenoloxidasa y transportadoras de lípidos. Durante los últimos años se descubrió que el transportador de oxígeno, hemocianina, también está involucrado en la defensa contra invasores.

Los objetivos específicos son: 1) Aislar, purificar y caracterizar la hemocianina, mediante ultracentrifugación y diferentes técnicas electroforéticas y cromatográficas; 2) Determinar si la hemocianina posee lípidos en su estructura (y caracterizar las composiciones lipídicas de la hemocianina si es que existiese, como así también la composición de ácidos grasos, empleando diversas técnicas cromatográficas); 3) Aislar y purificar las subunidades de hemocianina y determinar la secuencia proteica median-

te el uso de MALDI-TOF; 4) Determinar si alguna de las lipoproteínas posee identidad inmunológica similar a la IgG e IgA humana, mediante el uso de anticuerpos; 5) Determinar si la hemocianina y si sus subunidades componentes poseen efecto aglutinante (utilizando eritrocitos y diferentes bacterias) y/o efecto antimicrobiano

Estructura y estabilidad de la hemocianina y sus subunidades de la araña Polybetes pythagoricus.

La superfamilia hemocianina de artrópodos incluye a las fenoloxidasas, hexamerinas de insectos, pseudo-hemocianinas de crustáceos y los receptores de hexamerinas de dipteros; todas ellas con diferentes funciones. En particular, las hemocianinas son grandes proteínas multiméricas con cobre que poseen diferentes tipos de subunidades y se encuentran disueltas en la hemolinfa de artrópodos y moluscos. Las Hcs de artrópodos no solo son transportadoras de oxígeno, sino que también tienen otras propiedades o funciones como *bufferes* y osmolitos, transportadoras de hormonas de la muda, actividad fenoloxidasa y transportadoras de lípidos.

Los objetivos específicos son: 1) Aislar y purificar la hemocianina; 2) Aislar y purificar las subunidades de hemocianina; 3) Obtener la forma oxigenada y desoxigenada tanto de la hemocianina nativa como de sus subunidades; 4) Evaluar los posibles cambios en la estructura secundaria de las formas oxigenada y desoxigenada de la hemocianina nativa; 5) Estudiar los efectos de la fluorescencia al agregar acrilamida, yodo y cesio a la forma oxigenada y desoxigenada de la Hc; 6) Evaluar el grado de desnaturalización de la proteína oxi y desoxi, en presencia de clorhidrato de guanidinio y de urea; 7) Evaluar la estabilidad térmica de la proteína oxi y desoxi.

Propiedades enzimáticas de la hemocianina y sus subunidades de la araña Polybetes pythagoricus.

Mientras que las hemocianinas de artrópodos y moluscos transportan dioxígeno, las fenoloxidasas catalizan la o-hidroxilación de monofenoles a o-difenoles, oxidación de o-difenoles a quinonas o ambos sustratos. Las hemocianinas y las fenoloxidasas además de tener sitios de *binding* similares para el cobre-oxígeno, tienen otra característica en común: sus propiedades enzimáticas pueden ser activadas por clivaje proteolítico de fragmentos N- o C- terminal y perturbar su estructura proteica. Se demostró que la función de la Hc de unir oxígeno puede ser convertida a una actividad fenoloxidasa y además que esa actividad puede ser inducida en la Hc, tanto por una activación *in vivo* como *in vitro*.

Los objetivos específicos son: 1) Determinar la actividad o-difeniloxidasa de la hemocianina nativa y de sus subunidades; 2) Evaluar si los hemocitos lisados tienen componentes que puedan convertir a la hemocianina en una enzima semejante a la fenoloxidasa; 3) Determinar la secuencia de las subunidades de



Fotografía actual del Dr. Brenner en el INIBIOLP.

hemocianina; 4) Estudiar la influencia de la proteólisis limitada y del SDS sobre la actividad fenoloxidasas; 5) Evaluar el efecto de la liofilización de la proteína sobre la actividad fenoloxidasas; 6) Evaluar los posibles cambios conformacionales de la proteína asociados a la inducción de la actividad PO por SDS; 7) Estudiar los efectos de diferentes concentraciones de SDS sobre el complejo cobre-oxígeno; 8) Analizar el efecto de diferentes concentraciones de SDS sobre la estructura de proteínas mediante el uso de técnicas espectrofluorescentes.

15) ESTUDIOS DE LA INTERACCIÓN TOXINAS PROTEICAS-MEMBRANAS.

Directora: Dra. Laura Susana Bakás. Investigadores: Dra. Vanesa Herlax, Dra. Sabina Maté. Tesista: Lic. Romina Vazquez

PROYECTO A : Estudio del mecanismo de acción de la toxina proteica Hemolisina de *Escherichia coli*

Esta línea forma parte de los proyectos: Mecanismo de acción de alfa Hemolisina de *Escherichia coli* a concentraciones líticas y sublíticas ANPCyT-PICT 2007

00647), y Mecanismo de acción de alfa Hemolisina de *Escherichia coli* a concentraciones líticas y sublíticas en eritrocitos SCyT UNLP M127 (2008-2010)

En la Argentina *Escherichia coli* causa del 75% al 90% de los episodios de infecciones urinarias, prevaleciendo en la infección urinaria neonatal, pediátrica, así como en la pielonefritis. Existe un grupo de cepas de *E. coli* que si bien comensales normales del intestino, una vez que salen del mismo producen una serie de patologías como infección urinaria, meningitis y septicemia. A estas cepas se las denomina cepas uropatogénicas de *E. coli* (UPEC). La habilidad de las mismas para invadir y colonizar otros tejidos está determinada por un conjunto de factores, donde se incluyen entre otros, toxinas. Dentro de las mismas podemos mencionar alfa hemolisina (HlyA) y el factor citotóxico necrotizante I (CNF-1). Ambas han demostrado alta correlación con septicemia y daño renal. En un principio se pensó que la única función de HlyA era lisar eritrocitos, de ahí su nombre, pero estudios posteriores aseguran que a muy bajas concentraciones (sublíticas) como las que se encuentran lejos del sitio de infección, ataca a las células del sistema inmune del hospedador. Nuestro proyecto intenta avanzar en los estudios de la relación estructura función de HlyA, a fin de determinar el mecanismo de acción, tanto a concentraciones líticas como sublíticas.

PROYECTO B: Caracterización de Microdominios lipídicos en Membranas (LIPID RAFT)

Esta línea forma parte de los proyectos: Mecanismo de acción de alfa Hemolisina de *Escherichia coli* a concentraciones líticas y sublíticas ANPCyT-PICT 2007 00647, y Caracterización Biofísica de microdominios de membranas : aspectos estructurales y funcionales. SCyT UNLPM141 2010-2012

Los estudios acerca de los aspectos funcionales del tráfico de lípidos y la transducción de señales sugieren que los lípidos y las proteínas de membrana no difunden libremente en el plano de la monocapa alcanzando una distribución homogénea, como lo sugiere el modelo de Singer y Nicholson. Ciertas clases de proteínas son secuestradas dentro de pequeños compartimentos o microdominios llamados *lipid-raft*, favoreciendo de esta manera interacciones proteína-proteína y activando la vía de transducción de señales. Debido al alto contenido de colesterol en los *lipids raft*, y al hecho que altas concentraciones de colesterol originan la formación de las denominadas fases líquidas ordenadas (Lo) en bicapas lipídicas, se considera que estos microdominios estarían también en fase Lo. Como resultado de esto, las fases ricas en esfingolípidos y colesterol promueven la formación de fases líquidas ordenadas, las cuales son insolubles frente a ciertos detergentes no iónicos. Estudios realizados de Espectrometría de Masas realizados por nuestro laboratorio han permitido caracterizar las especies mo-

leculares de lípidos presentes en eritrocitos de carnero. Estas membranas, por su composición lipídica particular (presencia mayoritaria de SM), constituyen un excelente modelo biológico para el estudio y caracterización de microdominios lipídicos. Nosotros realizamos experimentos de extracción de colesterol con ciclodextrinas y realizamos el aislamiento de fracciones resistentes a detergentes DRM de membranas de eritrocitos de carnero así como estudios de solubilización de liposomas compuestos por distintas especies moleculares de SM y la caracterización a escala manométrica empleando microscopía confocal de bicapas soportadas sobre mica que nos permitieron reconocer la importancia de la especie molecular de SM en la formación de dominios con colesterol concretamente solo en presencia de SM 16:0 pudimos observar la formación de dominios, no así en presencia de SM 24:1- A su vez, estos resultados permitieron demostrar que las técnicas usualmente empleadas en el estudio de los microdominios lipídicos, tal como la obtención de DRM, no refleja la formación de microdominios en membranas biológicas.

16) GRASAS Y ÁCIDOS GRASOS EN NUTRICIÓN HUMANA - DIETA GRASA Y LAS ENFERMEDADES CORONARIAS. ESTRATEGIA MUNDIAL SOBRE RÉGIMEN ALIMENTARIO, ACTIVIDAD FÍSICA Y SALUD - OMS 2004.

Director: Dr. Julio Marcelo Tavella. Personal de apoyo: Bioq. Graciela Peterson. Colaboradores externos: Graciela Albo, Silvia Alejandra Marteau, Luis Perego, Daniela Ardohain, Virginia Bañares.

De crucial importancia para el desarrollo de estas líneas de investigación es la labor del Personal de Apoyo. El personal involucrado en las diferentes áreas es el siguiente. Secretaría y Administración: Sras. Mabel Puzewicz y Ana Laura Rodríguez. Traductoras: Sras. Norma Tedesco y Rosana del Cid. Diseño gráfico: Sr. Mario Ramos. Bioterio e insectario: Méd. Vet. Juan Lofeudo, Ing. Oscar Vercellini, Sr. Rino Abriani y Sr. Facundo Bozzolo. Mantenimiento general, lavado de material y maestranza: Sres. Santiago Ferrara, Marcelo Sánchez y Miguel Iademarco. Técnicos de laboratorio: Sras. Ana María Bernasconi, Norma Susana Cristalli, Mónica Cristina Farquete, Laura Edith Hernández, María Eva Illara, María Cristina Pallanza y María Prinzo. Profesionales de apoyo: Lic. Gabriela Sandra Finarelli, Ing. Cecilia Beatriz Fuse, Téc. Hist. Yolanda Sosa, Bioq. Sergio Mijailovski, Bioq. Graciela Peterson, Dra. Mónica Polo y Dr. Juan D. Toledo.

Es de destacar la importancia que tuvieron para el crecimiento del INIBIOLP las siguientes personas que fueron retirándose por jubilación. Entre los investigadores y docentes: los Dres. Mario Nervi, Sixta Ayala, Irma Nelva Tacconi de Gomez Dumm, Ricardo Pollero, y recientemente las Dras. Graciela Hurtado y María Cristina Marín. Entre el personal de apoyo: las Sras. Leonor Scappini y Marta Gallotti, y los Sres. Rubén Paulovich y Juan Carlos Amerise. Por último, merecen un especial reconocimiento quienes tanto han contribuido al desarrollo del INIBIOLP y hoy están fallecidos: Dr. Osvaldo Mercuri, Dra. María Elena De Tomás, Dr. Raúl Omar Peluffo, Dr. Carlos Enrique Irazú, Bioq. María Susana González, Dr. Emilio Rivas y Sr. José Luis Marchioni.