

Instituto Multidisciplinario de Investigaciones Biológicas (IMBIO)

Grupo de investigación

Nutrición, Medio Ambiente y Metabolismo Celular

Director: Dra. María Sofía GIMENEZ

En este proyecto se analizarán los efectos metabólicos del desequilibrio de nutrientes y del medio ambiente sobre el metabolismo celular, en particular sobre los lípidos y el estrés oxidativo. Se estudiarán: 1-Marcadores de obesidad provocada por: alteraciones en el aporte de nutrientes energéticos y deficiencias hormonales. 2- El efecto de la deficiencia de vitamina A sobre riñón y el sistema cardiovascular, en particular sobre el proceso aterosclerótico. Se determinará la composición lipídica, beta oxidación de ácidos grasos, enzimas antioxidantes, expresión de óxido nítrico sintetasas y ciclooxigenasa II, NFkB y marcadores de permeabilidad vascular. 3- El rol de la vitamina A en la regulación circadiana de la lipoperoxidación y la actividad de enzimas antioxidantes en hipocampo. Influencia sobre memoria y aprendizaje. 4- El efecto de la deficiencia de zinc sobre el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo, como así también el efecto de plasmalógenos y ceramida en el proceso apoptótico de pulmón y órganos reproductivos: epidídimo. 5- Se estudiará el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo en adenohipofisis, hígado y próstata de ratas que reciben cadmio, a través del agua de bebida.

Estudio Bioquímico-Molecular de Receptores y Mecanismos de Transducción

Director: Dra. G.M. CIUFFO

Los procesos de desarrollo y organogénesis son consecuencia de un intrincado programa de diferenciación controlado por interacciones célula-célula. La expresión diferencial de receptores de Ang II durante el desarrollo permitió proponer un papel en crecimiento y organogénesis. Se han seleccionado para este estudio, puntos claves en el desarrollo del feto, riñón y cerebelo por su importancia biológica en la organogénesis y maduración del sistema motriz. Se propone caracterizar la localización, mecanismos de transducción de señal y nivel de expresión de receptores involucrados en procesos de desarrollo y diferenciación. Objetivos generales: a. Estudiar la expresión diferencial de receptores de Ang II en diferentes modelos experimentales de desarrollo. b. Caracterizar las vías de señalización intracelular de receptores en diferentes modelos. c. Estudiar el cross-talk entre distintos receptores en sistemas *ex vivo* e *in vivo*. La metodología a emplear incluye estudios de expresión por RT-PCR, Northern blot, autoradiografía e hibridación in situ. Estudio de mecanismos de transducción por coimmunoprecipitación y ensayos de actividad tanto en sistemas libre de células como en sistemas celulares. Este proyecto contribuiría al esclarecimiento de la función de diversos receptores durante el desarrollo y es de aplicación clínica por su importancia en el establecimiento y control de la hipertensión

Búsqueda y Diseño de Nuevos Compuestos de Interés en Química Medicinal

Director: Dr. Ricardo D. ENRIZ

Los estudios están orientados fundamentalmente a la obtención de nuevos compuestos con actividad antifúngica y dopaminérgica. Parecería que existe una gran variedad de drogas útiles para el tratamiento de infecciones producidas por hongos. Desafortunadamente la realidad es diferente ya que existen solamente muy limitadas opciones terapéuticas. La terapia con anfotericina B está asociada con toxicidad crónica y aguda, incluyendo toxicidad renal mientras que la utilización indiscriminada de los azoles ha dado lugar a la peligrosa aparición de

resistencia a estas drogas. Así, existe una real necesidad de contar con una nueva generación de agentes antifúngicos.

Por otro lado, el estudio a un nivel molecular de inhibidores de los receptores D1 y D2 de dopamina permitirá un mayor conocimiento del rol de estos subtipos de receptores y la posibilidad de obtener nuevos agentes para el tratamiento de la esquizofrenia y otros trastornos de la conducta.

Es importante remarcar que el objetivo de este Proyecto no es la mera medición de bioactividades, sino sobre una base del conocimiento sub-molecular del problema, poder diseñar nuevas estructuras más potentes y más específicas.

[Artritis reactiva inducida por *Yersinia enterocolitica*: a\) Estudio de mecanismos inmunopatogénicos en ratones knockout en citoquinas. b\) Estudio molecular e inmunológico de bacterias artríticas en líquidos sinoviales de pacientes con artropatías de la ciudad de San Luis](#)

Director: Dra. María Silvia DI GENARO

Artritis reactiva (ARe) es una inflamación articular inducida por infecciones gastrointestinales o genitourinarias. *Y. enterocolitica* O:3 ha sido asociada más frecuentemente a ARe. Los objetivos del proyecto son: A) Estudiar mecanismos inmunopatogénicos que influyen en el desarrollo de ARe inducida por *Y. enterocolitica* O:3. B) Investigar empleando métodos moleculares e inmunológico bacterias artríticas en líquidos sinoviales (LS) de pacientes con artropatías del Hospital de San Luis. Ratones inmunodeficientes serán infectados por vía intragástrica con *Y. enterocolitica* O:3. Se emplearán ratones C57BL/6 knockout en TNFRp55, IL-12 o IL-4. Se estudia invasión bacteriana, expresión de citoquinas y apoptosis. La artritogenicidad será evaluada por estudios clínicos y cambios histológicos. Se estudia expresión de receptores de la inmunidad innata Toll like TLR2 y TLR4. Se medirá la capacidad artrítica de LPS. Además, se colectarán LS de pacientes con artropatías. Se investigarán anticuerpos específicos para *Yersinia*, respuesta celular proliferativa, presencia de antígenos y niveles de citoquinas. El DNA bacteriano será detectado por PCR empleando primers específicos.

El proyecto aportará al conocimiento de mecanismos patogénicos de la ARe y datos regionales de artropatías causadas por infecciones bacterianas.

[Artritis reactiva inducida por *Yersinia enterocolitica* o: 3: a\) Mecanismos inmunopatogénicos. b\) *Y. enterocolitica* en líquidos sinoviales de pacientes con artropatías](#)

Director: Dra. María Silvia DI GENARO

Artritis reactiva (ARe) es una inflamación articular inducida por infecciones gastrointestinales o genitourinarias. Se sabe que *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* y *Chlamydia* causan ARe. Sin embargo, no se conocen los mecanismos por los cuales estas bacterias interactúan con el sistema inmune de mucosas para producir ARe. El lipopolisacárido (LPS) es un componente de membrana externa común a todas las bacterias artríticas. Se cree que la inflamación articular es desencadenada por antígenos microbianos llevados a la articulación luego de la infección en mucosas. El LPS de *Yersinia* ha sido hallado en articulación y postulado como un factor artrítico. El presente proyecto se propone estudiar en ratones inmunodeficientes, mecanismos inmunopatogénicos en mucosas luego de la infección gastrointestinal con *Y. enterocolitica*. Se estudia invasión bacteriana, expresión de citoquinas e inducción de apoptosis. Se mide la capacidad artrítica de *Yersinia* y LPS. Se realizan estudios histológicos de articulación e intestino. Por otro lado, a fin de disponer de datos regionales, estudiamos bacterias artríticas en líquidos sinoviales de pacientes de San Luis.

Se investiga activación policlonal, como posible mecanismo inmunopatogénico, la presencia de anticuerpos específicos y de DNA bacteriano

Fisicoquímica Biológica: Estudios Fisicoquímicos de Enzimas y de Fármacos

Directora: Dra. Sonia M. BLANCO

Este Proyecto, tiene como principal objetivo investigar propiedades fisicoquímicas de enzimas y de compuestos naturales y sintéticos bioactivos. Es de naturaleza interdisciplinaria y permite la formación de recursos humanos en campos comunes a la Química, Física y Biología. Las investigaciones enzimáticas comprenden: 1) el estudio de la actividad inhibitoria ejercida por compuestos polifenólicos sobre xantina oxidasa, mediante la determinación del tipo y constantes de inhibición; 2) caracterización fisicoquímica de la polifenol oxidasa de frutas y vegetales de la región, análisis de la influencia de diferentes variables y la búsqueda de inhibidores enzimáticos. Por otra parte se realizan estudios experimentales y teóricos vinculados con la capacidad complejante de polifenoles (flavonoides, benzofenonas) y dihidroxibenzenos en diferentes condiciones; la determinación de los valores de pK_a de compuestos mono y dihidroxilados en función del solvente; la solubilidad, estabilidad y reactividad química de flavonoides y fármacos en sistemas homogéneos y heterogéneos. Los resultados obtenidos del análisis cinético permiten la formulación de probables mecanismos de reacción y el establecimiento de relaciones estructura actividad. Adicionalmente, se espera contribuir en el mejoramiento de la enseñanza de Química-Física Aplicada, demostrando la utilidad de diferentes herramientas fisicoquímicas en la resolución práctica de problemas específicos de Carreras Biológicas

Preferencias Mediadas por Metabolitos Secundarios y Valor Nutricional de la Vegetación en Vertebrados

Director: Dr. Antonio MANGIONE

En este proyecto se propone estudiar el papel que cumplen los metabolitos secundarios de plantas y el valor nutricional de las mismas en las preferencias de vertebrados de zonas semiáridas en la región Centro-Oeste de Argentina. Dado que los parámetros disponibilidad y calidad del recurso son factores claves en el uso del hábitat y la preferencia por vertebrados por ciertos hábitats y alimentos se medirán las variaciones de la composición química/nutricional de las plantas y la disponibilidad para vertebrados. Por lo que los objetivos particulares de este proyecto son a.- caracterizar la variabilidad desde el punto de vista químico de semillas y plantas a escala taxonómica, espacial y temporal, b.-determinar si la composición químico/nutricional de semillas y plantas explican la ya observada selección de semillas y plantas por parte de especies de aves y en particular del roedor *Dolichotis patagonum* o mara y c.- establecer si la disponibilidad y/o composición química de las semillas/plantas determinan el uso del hábitat por mara.

Lo expuesto anteriormente se relaciona directamente con las hipótesis generales que a mayor disponibilidad de recurso y calidad del mismo, se observará un uso más intensivo y frecuente del hábitat y que la calidad del recurso afecta directamente la selección de semillas por parte de aves granívoras

Fisiología Ecológica y Evolutiva, Ecotoxicología de Vertebrados de San Luis

Director: Dr. Enrique CAVIEDES VIDAL

La adquisición y la distribución de energía de los organismos es un tópico central para entender su ecología. Por esta razón, nosotros estamos interesados en caracterizar estrategias, procesos y restricciones endógenas/exógenas relacionadas con el flujo de la

energía en los animales. En este proyecto se cuantificarán procesos que involucran adquisición y distribución de energía (e.g. digestión, tasas metabólicas) en distintos grupos taxonómicos, mamíferos, aves, reptiles y anfibios que habitan al provincia de San Luis, y se someterán a prueba hipótesis ecológicas y evolutivas.

Ecotoxicología de vertebrados de San Luis

Los pesticidas organoclorados y los metales pesados son contaminantes ambientales importantes dado que han sido asociados a distintos problemas biológicos y comportamentales en los animales. El monitoreo de estas sustancias en animales de una zona permite obtener información precisa de su biodisponibilidad, biomagnificación y biotransferencia que puede ser usada para prevenir su riesgo potencial para la fauna en general y aun para los seres humanos. Por lo expuesto, se estudiarán la biodisponibilidad de contaminantes, pesticidas organoclorados y metales pesados, en agua, anfibios, peces y aves de ecosistemas acuáticos de la zona centro de la Provincia de San Luis

[LABORATORIO DE CRONOBIOLOGIA. Proy. GRIP R01-TW006974 financiado por FIC/NIH \(USA\).](#)

[Director: Dra. Ana Cecilia ANZULOVICH](#)

Nuestro planeta se encuentra en continuo cambio: días y noches, estaciones, mareas, etc. Estos fenómenos cíclicos afectan directa o indirectamente los procesos biológicos en la mayoría de los organismos. Para un ser viviente el sólo hecho de predecir alguno de estos cambios constituye una herramienta vital para su supervivencia. Los ritmos biológicos son generados a partir de un reloj con esta capacidad: leer cambios externos, aprender a predecirlos y así comunicarlo al tejido o célula correspondiente para que respondan correctamente. La ciencia que estudia estos parámetros temporales y su regulación es la Cronobiología. La sincronización de distintos procesos a un ciclo solar de 24 h (de allí denominados circadianos, de "circa": it. cerca, alrededor de) y el ajuste de las funciones reproductivas al tiempo estacional adecuado en muchas especies, son principalmente influenciados por los cambios de luz ambiental. Nuestra vida está marcada por pautas temporales que hacen que nos despertemos a una hora cercana o coincidente con la salida del sol y nos retiremos al descanso y al sueño durante la noche, que necesitemos alimentarnos siguiendo un horario más o menos estricto, y que nuestro ritmo de vida en general se vea ajustado a un período de 24 h. El interés general de este laboratorio está dirigido al estudio del funcionamiento del Sistema Circadiano, constituido, en la mayoría de los organismos, por un reloj central que entrena y sincroniza los relojes periféricos localizados prácticamente en cada célula de cada órgano o tejido. La maquinaria molecular del reloj celular endógeno consiste en dos circuitos que interaccionan y se controlan entre sí, uno positivo y otro negativo. Los factores de transcripción BMAL1 y CLOCK, forman un heterodímero y se unen a elementos específicos denominados "E-box" en el promotor de otros genes del reloj: *Period* (Per) 1 y 2, *Cryptochrome* (Cry) 1 y 2 y *Rev-Erb α* , y de genes blanco controlados por el reloj. Cuando las proteínas PER se acumulan, forman un complejo con las proteínas CRY y con la Casein kinasas I ϵ/δ (CKI ϵ/δ). Luego de ser fosforilados, estos complejos se translocan al núcleo e interactúan con el heterodímero BMAL1:CLOCK interfiriendo con su actividad transcripcional y constituyendo el denominado circuito negativo. Esta inhibición de la activación transcripcional mediada por BMAL1:CLOCK, hace que los niveles de REV-ERB α también disminuyan y por lo tanto se "desreprima" la síntesis de BMAL1. Los niveles de BMAL1 comienzan a aumentar regenerando el circuito positivo y dando lugar a un nuevo ciclo. Existen varios estudios que demuestran que el estado redox celular es determinante del funcionamiento y la activación transcripcional dependiente del reloj. Así cualquier factor que altere la homeostasis del estado redox, afectará el funcionamiento del reloj y la ritmicidad de procesos claves para la

supervivencia celular y de los organismos. Específicamente, nosotros nos centramos en el papel de ciertos nutrientes en la regulación del estado redox y del funcionamiento reloj celular endógeno en áreas del cerebro relacionadas al proceso memoria-aprendizaje. Nuestras líneas de investigación incluyen estudios *in vivo* e *in vitro* de: la variación diaria del estado redox celular, la regulación circadiana del sistema de defensa antioxidante y de la ritmicidad del proceso memoria-aprendizaje y el papel de los receptores nucleares para retinoides en dicha regulación circadiana. Esta propuesta es innovativa debido a que describiría por primera vez posibles alteraciones en el patrón circadiano del estado redox celular, particularmente en ratas deficientes en vitamina A, con reducidos niveles de sus receptores nucleares, estableciendo un rol para los retinoides como reguladores de la expresión génica circadiana en cerebro, en áreas relacionadas con memoria y aprendizaje. Estos estudios tendrían un impacto en los campos de la neuro y cronobiología y en la salud pública ya que un mejor entendimiento de la influencia de factores nutricionales sobre los patrones circadianos en áreas relacionadas con la memoria y el aprendizaje, revelaría la importancia de la suplementación en la dieta de niños en edad escolar, y aún de adultos, en orden a alcanzar una óptima performance diaria de las tareas cognitivas.

Análisis Estructural y Funcional de Proteínas

PhD Carlos AGUILAR

El tema central del proyecto es el estudio funcional y estructural, por cristalografía de Rayos X, de proteínas del parásito *Trypanosoma Cruzi* causante de la enfermedad de Chagas endémica en América del Sur y Centro. Las proteínas bajo estudio en esta fase del proyecto son: Proteínas ribosomales P, Arginina Kinasa (AK), nucleósido difosfato kinasa (NDPK), Factor de Interacción con Pap1 (FIP1-like) y Factor específico de clivaje y poliadenilación (CPSF-30). Las proteínas P de *T. cruzi* han sido involucradas en la inmunopatología de la fase crónica de la enfermedad de Chagas mientras que Arginina Kinasa es una enzima implicada en el metabolismo energético ausente en tejidos de mamíferos. NDPK es la enzima principal en la síntesis de nucleósidos trifosfatos diferentes a ATP. FIP1-like y CPSF-30 son factores que participan en el proceso de maduración del RNA mensajero.

El conocimiento estructural de estas proteínas y de sus complejos permitirá en el caso de las enzimas contribuir al conocimiento del mecanismo de reacción y al diseño racional de drogas para la quimioterapia antiparasítica en la enfermedad de Chagas. En el caso de las proteínas P, el conocimiento estructural de las mismas contribuirá al entendimiento de la estructura y función del tallo ribosomal eucariota y de la base estructural de la respuesta autoinmune en contra de receptores de corazón que ocurre en la enfermedad crónica de Chagas. Resultados de este estudio podrían eventualmente conducir al desarrollo de tratamientos para eliminar los síntomas mediados por el receptor en la etapa crónica de la enfermedad

Síntesis de proteínas en *Trypanosoma cruzi* como posible blanco terapéutico

Dr. Maximiliano Juri Ayub

Trypanosoma cruzi es el agente causal de la Enfermedad de Chagas, una endemia en América del Sur y Central. Actualmente no existen drogas efectivas para el tratamiento de esta enfermedad, a pesar de que se han propuesto numerosos posibles blancos terapéuticos. El ribosoma es la maquinaria de la célula donde se sintetizan las proteínas, y por lo tanto es esencial para todo tipo de organismos. A pesar de que el ribosoma es el blanco de acción de numerosos antibióticos y algunos antifúngicos, el mismo no ha sido postulado como blanco en tripanosomátidos, principalmente debido a que ha sido muy poco estudiado en estos

organismos. Basándonos en algunos pocos trabajos antiguos, en nuestro laboratorio hemos retomado esta línea y tenemos evidencias, estructurales y funcionales, de que el ribosoma de tripanosomátidos presenta suficientes diferencias con su contraparte de mamíferos, que harían posible hallar y/o diseñar drogas específicas. Entre dichas evidencias cabe mencionar el hallazgo de que Proteínas Inactivantes del Ribosoma (RIPs) pueden distinguir entre ribosomas de parásitos y mamíferos. Actualmente nos hemos centrado en dos proteínas ribosomales de *T. cruzi* (L19 y S21) que presentan grandes dominios específicos del parásito, así como en el factor de elongación 2 (EF-2), que interactúa con la misma región que las RIPs.

Rol de esfingosina 1 fosfato en cáncer y procesos inflamatorios.

Dr. Sergio Alvarez

El objetivo del proyecto es examinar la función de Esfingosina 1 fosfato (S1P) en procesos inflamatorios crónicos, con especial énfasis en la activación de NF- κ B, un factor crítico en inflamación y enfermedades asociadas. La inflamación es una respuesta fisiológica normal para contrarrestar la acción de una agresión. Sin embargo, una respuesta inflamatoria no controlada puede iniciar o agravar un proceso patológico. Es de particular interés el mejor entendimiento de la progresión del melanoma como enfermedad asociada a la inflamación. El melanoma es el cáncer de piel más agresivo y su incidencia ha aumentado enormemente en los últimos años. Ningún cáncer se considera tan agresivo como el melanoma, y una vez que el mismo alcanza su estado invasivo la supervivencia promedio es de 6 a 9 meses.

Desafortunadamente, las terapias actuales para el tratamiento de melanoma no son efectivas.

Aunque recientes estudios destacan la importancia de la inflamación en la progresión de varias enfermedades, incluyendo cáncer, arteriosclerosis y asma, los mecanismos que participan en dicha interacción aún no se hallan claramente dilucidados. En este contexto, el factor de transcripción NF- κ B juega un rol fundamental teniendo en cuenta a) su participación en la producción de citoquinas y b) su expresión elevada en procesos malignos e inflamatorios. De manera análoga, S1P es un lípido que regula numerosos procesos fisiológicos incluyendo crecimiento, migración y angiogénesis. Los niveles intracelulares de S1P están regulados por el balance entre su producción por esfingosina kinasas (SphKs), y su degradación por fosfatasas y liasas. La estimulación de SphK1 incrementa los niveles de S1P que puede funcionar como segundo mensajero intracelular o en forma paracrina/autocrina mediante el binding a receptores de membrana. La expresión de SphK1 esta incrementada en varios tipos de cáncer, así como también en lesiones ateroscleróticas, lo cual sugiere que posee un rol determinante en estos procesos.

Es esperable que la generación de nuevas herramientas que permitan controlar el cáncer y el ambiente inflamatorio que lo rodea, signifiquen un importante aporte terapéutico para contener la progresión de enfermedades asociadas a inflamación crónica.

EQUIPAMIENTO IMIBIO

Autoclave

- » Balanzas analíticas
- » Baño termostático
- » Cabina de seguridad Biológica Eco Smart Control (tipo IIB)
- » Cabina flujo laminar de aislamiento para animales Type UNI-PROTECT-EHRET
- » Cámara fotográfica para geles-GelCamp Polaroid
- » Cell-harvester
- » Centrifugas de mesa
- » Centrifuga refrigerada Sigma modelo 3K-30
- » Citómetro de Flujo
- » CLUSTER de 80 procesadores
- » Colector automático de fracciones BioRad 2120
- » Computadora McIntosh para procesamiento de imágenes
- » Congeladoras de -86° C y -150° C
- » Contador de centelleo líquido
- » Cubas electroforéticas
- » Cubas para geles horizontales
- » Cubas para SDS-PAGE y transferencia de proteínas
- » Cuenta micrótopo de baja temperatura (crióstato)
- » Digestor químico de fibra
- » Equipo de flujo laminar Dalvo MCD 10
- » Equipo electroforesis geles de poliacrilamida MiniProteanII- BioRad
- » Equipo electroforesis geles de poliacrilamida Proten II-BioRad 165-180
- » Equipo de monitoreo de actividad radiactiva
- » Equipo de transiluminación
- » Espectrofotómetro
- » Espectrofotómetro Microlab uv/visible
- » Estufa de cultivo gaseada con CO₂
- » Estufa grande de convección
- » Estufa para cultivo celular Quebue 2711
- » Flujos Laminares
- » FPLC
- » Freezer -20° C
- » Fuentes de poder
- » Granizadora de hielo
- » HPLC
- » Lavador de microplacas de ELISA (Immunowash) BioRad-Modelo 1575
- » Lector de placas de ELISA (Micropate reader Benchmark, BioRad)
- » Liofilizador ThermovacCule
- » Luminómetro
- » Lupa estereoscópica Wild-Herrburgg
- » Luminómetro
- » Microscopio contraste de fase Zeiss 867320
- » Microcentrifuga Fisher
- » Micropipetas
- » Microscopio de fluorescencia Zeiss 4672-59 y cubos para 3 tipos de fluorescencia
- » Microscopio de luz investida Zeiss Axiovert 199

CONICET



CCT - SAN LUIS

- » MiniProteanII multiscreen apparatus- BioRad 170-4017
- » Orbit-Shaker- Lab. Line Instrum. Model. 3521
- » PCR
- » PCR con gradiente de temperatura
- » Propipeta automática
- » Rocker
- » Sistema de agua MiliQ
- » Sistema de electroforesis en geles de agarosa:Mini
- » Tanque nitrógeno líquido para preservación de células
- » Termociclador en tiempo real
- » Termociclador TC-51
- » Transiluminador con fuente UV (UVP Ultra-Violet-Products)
- » Ultracentrifuga