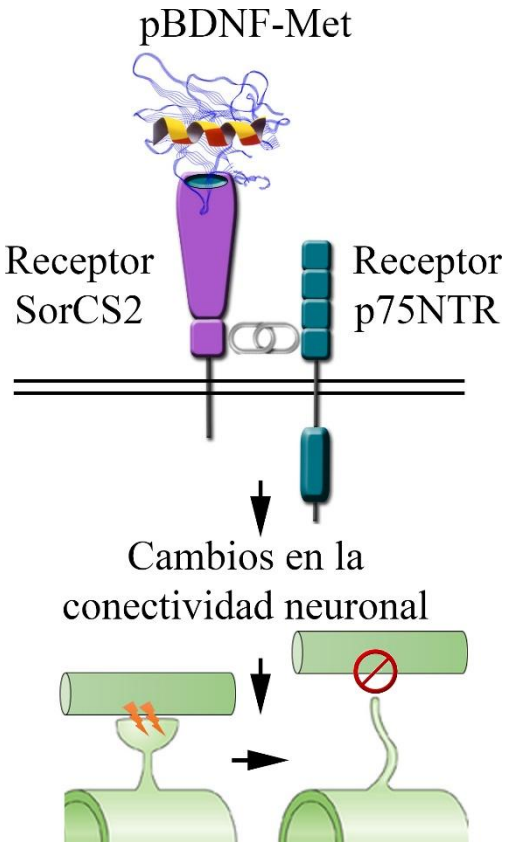
Proyectos científicos del Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra

PROYECTO DR. AGUSTIN ANASTASÍA
PREDISPOSICIÓN GENÉTICA A ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS Y NEUROPSIQUIÁTRICAS

En el 25% de la población mundial existe una variación genética en un gen llamado BDNF (siglas en inglés de Brain-Derived Neurotrophic Factor o factor neurotrófico derivado de cerebro). Esta variación genética resulta en un cambio de un solo aminoácido en una proteína llamada pBDNF. Específicamente, el aminoácido valina (Val) es reemplazado por el aminoácido metionina (Met), por lo que a las proteínas resultantes las hemos denominado pBDNF-Val y pBDNF-Met. Existe una correlación entre los humanos portadores de pBDNF-Met (un cuarto de la población mundial) y la incidencia y progresión de enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas. En particular, esta variación genética se ha asociado a depresión, desórdenes de ansiedad, estrés post-traumático, deterioro cognitivo y la enfermedad de Parkinson entre otras. Sin embargo, se desconocen las razones por la que esta proteína pBDNF-Met afecta el sistema nervioso para predisponer a dichas enfermedades.

Recientemente demostramos que pBDNF-Met es sintetizado y secretado por neuronas. Una vez liberado por estas células, se puede unir a receptores específicos de la superficie neuronal e inducir cambios morfológicos en las mismas, favoreciendo su desconexión en áreas cerebrales determinadas (ver figura). El grupo del Dr. Anastasía estudia cómo las alteraciones neuronales inducidas por pBDNF-Met resultan en cambios en la conectividad de los circuitos nerviosos cerebrales, afectando finalmente la conducta humana. En particular, está abocado al estudio del sistema nigroestriatal, que es el principal circuito afectado en pacientes con enfermedad de Parkinson. El objetivo general del grupo es estudiar si pBDNF-Met es capaz de alterar la estructura y función del sistema nigroestriatal, y de esta manera hacerlo más susceptible a neurotoxinas ambientales, facilitando el desarrollo de la enfermedad de Parkinson.



Esta investigación proporcionará las bases fundamentales para comprender los mecanismos patogénicos de la enfermedad de Parkinson, así como también ayudará a desenmascarar los mecanismos de vulnerabilidad que conducen al desarrollo de otras enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas en los humanos portadores de la variación genética.

PROYECTO DRA. ELENA ANAHI BIGNANTE
EFECTO DE LA INTERACCIÓN Aβ/APP SOBRE EL TRÁFICO INTRACELULAR DE APP Y BACE 1: IMPACTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE Aβ.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo que constituye la principal causa de demencia ligada al envejecimiento. Los síntomas clínicos que manifiestan los pacientes que padecen EA, tienen una evolución temporal que comienza con un deterioro intelectual leve, con pérdida de la memoria de corto plazo y progresa hacia un estado de demencia y disfunción motora. Este síndrome incapacita gravemente al paciente, el cual requiere de asistencia total y genera un importante problema sanitario y socioeconómico.

El cerebro de un paciente con EA presenta dos lesiones características: placas seniles y ovillos neurofribrilares. Los ovillos neurofibrilares son agregados de la proteína tau anormalmente fosforilada que se encuentran en el interior de la neurona. Las placas seniles son lesiones extracelulares cuyo componente principal es una proteína llamada beta amiloide (Aβ). Actualmente se considera que el Aβ y sus formas agregadas serían los desencadenantes de la disfunción sináptica y muerte neuronal descriptas en los cerebros afectados por la enfermedad.

Nuestro objetivo en el laboratorio es entender de qué manera los depósitos de Aβ resultan tóxicos a las neuronas. Particularmente, nos centramos en estudiar los procesos por los cuales la unión de Aβ a su proteína precursora (APP) conducen a la disfunción sináptica y muerte neuronal. Además, planteamos la hipótesis de que esta interacción Aβ/APP podría tener un rol en la producción de Aβ y por ende en la formación de las placas de Aβ. Dilucidar los mecanismos que subyacen a tales procesos tendría una gran relevancia en la comprensión de la progresión de la EA y permitiría plantear estrategias terapéuticas tendientes a prevenir y/o impedir el desarrollo de esta enfermedad.

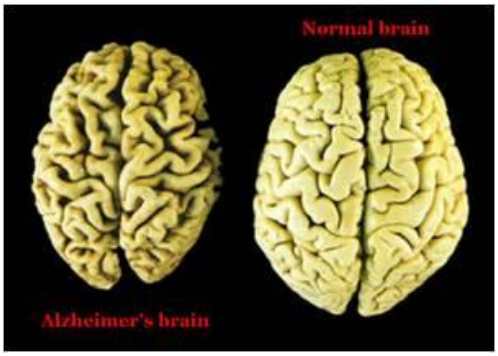


Figura 1. El cerebro de la izquierda corresponde a un individuo que padecía la enfermedad de Alzheimer. Nótese la atrofia cerebral (reducción del tejido neuronal) en comparación al cerebro de la derecha, que corresponde a un individuo sano.

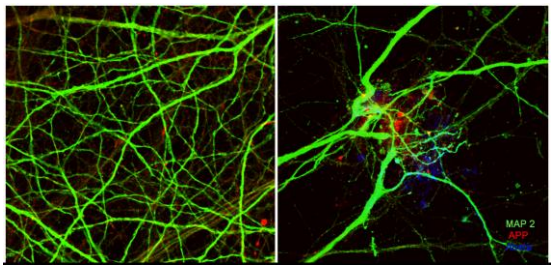


Figura 2. Inmunohistoquímica de cultivos de neuronas de rata marcados con un anticuerpo contra la proteína dendrítica MAP2 (verde), APP (rojo) y la proteína Aβ (azul). Puede verse como el tratamiento del cultivo con Aβ (derecha) provoca una distrofia neuronal que se observa como la interrupción de los procesos dendríticos y la acumulación de APP. A la izquierda se observa el cultivo control, el cual no presenta distrofia.

PROYECTO DR.MARIANO BISBAL

Las neuronas son células altamente especializadas, las cuales poseen dos dominios estructural y funcionalmente diferenciados, axones y dendritas, encargados de transmitir y recibir la información, respectivamente. Esta asimetría (polaridad) es la que permite el flujo vectorial de la señalización dentro de las neuronas. La polaridad hace referencia a la organización asimétrica de diferentes aspectos celulares, incluyendo la composición de la membrana plasmática, organelas intracelulares y el citoesqueleto, los cuales deben coordinarse de una manera altamente regulada.

Para formar y mantener los distintos compartimentos neuronales deben existir numerosos mecanismos que regulen el transporte de proteínas y de membrana a cada subcompartimento específico y que aseguren su correcta composición molecular. La vía biosintética de secreción transporta membrana y nuevas proteínas de membrana desde los compartimentos (organelas) Retículo Endoplasmático (RE) vía el Aparato de Golgi (AG) y la red de trans-Golgi (TGN por trans-Golgi-Network) a la membrana plasmática. La vía secretoria es entonces esencial para dirigir la síntesis y transporte de proteínas de membrana, proteínas de secreción y membrana plasmática hacia toda la superficie de las neuronas.

El principal objetivo de nuestro laboratorio es estudiar los mecanismos moleculares y celulares encargados de regular la formación y el mantenimiento de la polaridad neuronal, como mencionamos, un fenómeno crucial para entender tanto el desarrollo y el funcionamiento normal del sistema nervioso, como así también la patogenia de enfermedades neurodegenerativas. Específicamente, el interés del laboratorio es estudiar los mecanismos celulares que regulan la dinámica, estructura y función del Aparato de Golgi en neuronas y, en particular, el estudio de los mecanismos que regulan el posicionamiento y la distribución polarizada del Aparato de Golgi y de la vía biosintética en neuronas piramidales de hipocampo en cultivo y su efecto en el desarrollo y mantenimiento del árbol dendrítico.

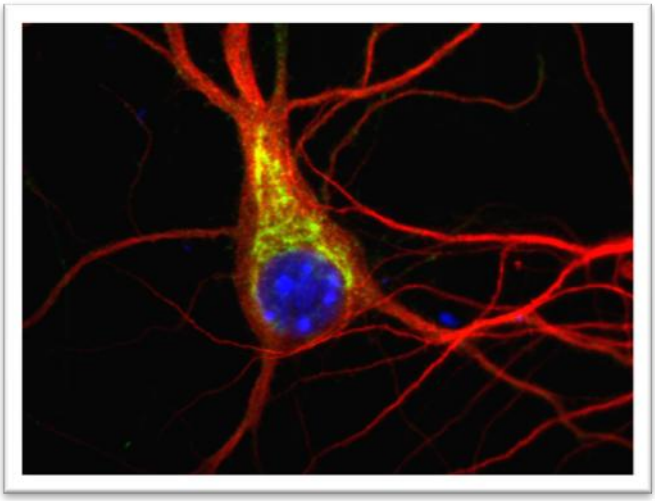
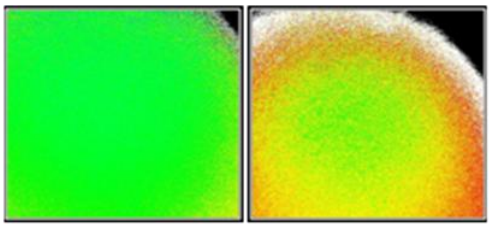


Imagen de microscopía de fluorescencia convencional (100x de magnificación) mostrando la distribución subcelular de la proteína MAP6d1 endógena –una de las proteínas de interés de estudio en el laboratorio- (verde), el marcador somato-dendrítico MAP2 (rojo) y el núcleo celular (Azul). Nótese la distribución de la proteína MAP6D1 alrededor del núcleo.

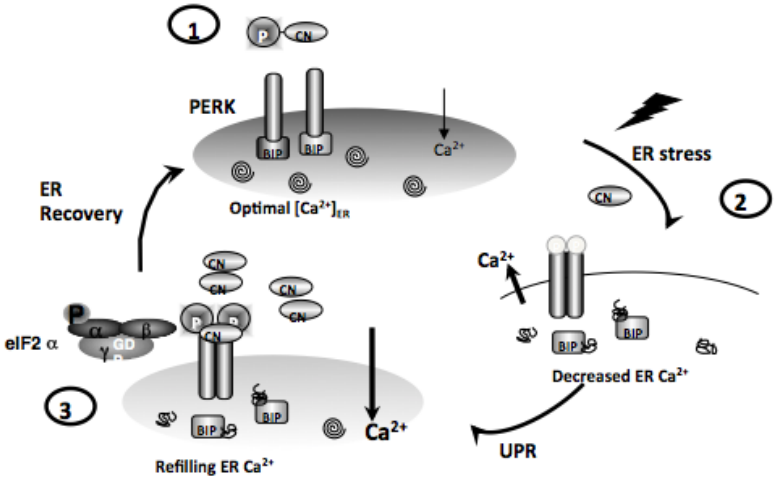
PROYECTO DRA. MARIANA BOLLO
IMPLICANCIAS DE LA SEÑAL DE CALCIO EN LA RESPUESTA DESENCADENADA POR ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO.

Esta línea de investigación está relacionada con el papel que juega la señal de calcio en restablecer el normal funcionamiento del Retículo Endoplásmico (RE) una vez desencadenado estrés. El RE es un compartimento intracelular que se encarga de la síntesis, plegamiento y control de calidad de una gran parte de las proteínas que se producen en las células. En general, cuando la expresión de proteínas excede la capacidad de este compartimento -lo cual produce acumulación de las mismas en su interior-, se desencadena lo que se conoce como *estrés de RE.* Para restablecer la normalidad, se activa una señal de transducción denominada *UPR* (por las siglas en inglés correspondientes a "respuesta a proteínas no plegadas"). Si el daño es demasiado grande o se hace crónico, se desencadena una respuesta de muerte celular (apoptosis). Es decir, la respuesta de UPR en sí es paradojal, ya que comprende tanto la activación de vías protectoras como pro-apoptóticas.

Son cada vez más las evidencias de que la activación de estrés de RE constituye la base molecular de muy diversas patologías. Nuestro interés se centra no solo en estudiar aspectos básicos de esta respuesta celular, sino también en su relación con procesos patológicos, haciendo hincapié en el papel que juega el ión calcio en regular la transición desde una fase protectora celular a una apoptótica.



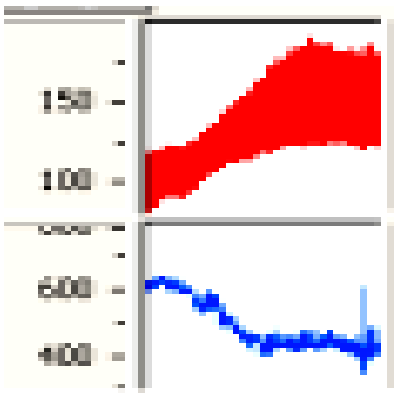
Liberación de Ca^{2+} después de inducir Estres de RE



PROYECTO DRA. XIMENA CAEIRO
ROL DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES EN EL DIMORFISMO SEXUAL CARDIOVASCULAR

Un importante número de estudios señalan diferencias entre machos y hembras en la regulación de la presión arterial y en la progresión de las enfermedades cardiovasculares. Si bien en muchos casos las diferencias entre los sexos pueden ser explicadas por los efectos directos de las hormonas sexuales, no todas ellas pueden ser circunscriptas a su acción. Machos y hembras no sólo difieren respecto a la presencia de testículos y ovarios (factor hormonal), sino que además sus células son portadoras de diferentes complementos cromosómicos, XY y XX respectivamente (factor genético). Nuestro objetivo es analizar el efecto modulador de los cromosomas sexuales y de las hormonas gonadales en las respuestas hipertensivas diferenciales que presentan ambos sexos.

A lo largo de la historia, la mayor parte de los estudios clínicos y experimentales han sido llevados a cabo en machos, basándose en el concepto que ambos sexos son similares entre sí y difieren sólo en la magnitud de la respuesta. Machos y hembras no necesariamente utilizan los mismos mecanismos para regular la presión arterial, y a sabiendas de que existen estas desigualdades, el esclarecimiento de las diferencias así como de las similitudes dentro y entre los sexos permitirá en un futuro el desarrollo de nuevos enfoques para la prevención, el diseño de adecuados instrumentos de diagnóstico y la consiguiente aplicación de tratamientos según el sexo.

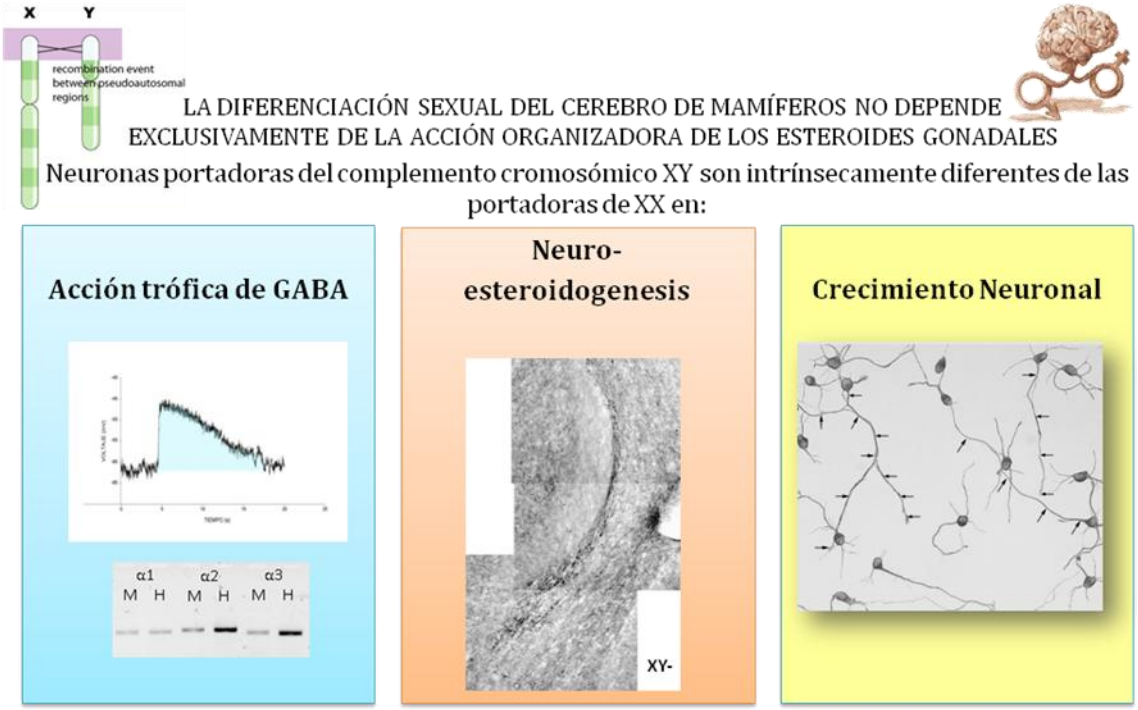


Registro de la presión arterial media y la frecuencia cardíaca (panel superior e inferior respectivamente).

PROYECTO DRA. MARÍA JULIA CAMBIASSO

El cerebro de hombres y mujeres es diferente; muchos ejemplos de nuestra realidad cotidiana nos lo demuestran: en promedio los hombres poseen mayor habilidad para ubicarse en el espacio, mientras que las mujeres poseen mayor fluidez verbal. Estas diferencias se extienden al ámbito de la clínica, encontrándose diferencias sexuales en cuadros como epilepsia, enfermedad de Parkinson, disquinesia tardía, depresión, adicción a drogas, agresividad o sensibilidad al dolor.

En nuestro laboratorio estudiamos cómo se establecen las diferencias sexuales en el cerebro durante el desarrollo, analizando la participación relativa de las hormonas esteroideas y los genes de los cromosomas XX/XY. Conocer el origen y los mecanismos determinantes de estas diferencias tiene importantes implicancias para la comprensión de muchas funciones del cerebro, así como también será de central importancia en el desarrollo de terapias efectivas para el tratamiento de diversas enfermedades neurológicas y psiquiátricas.



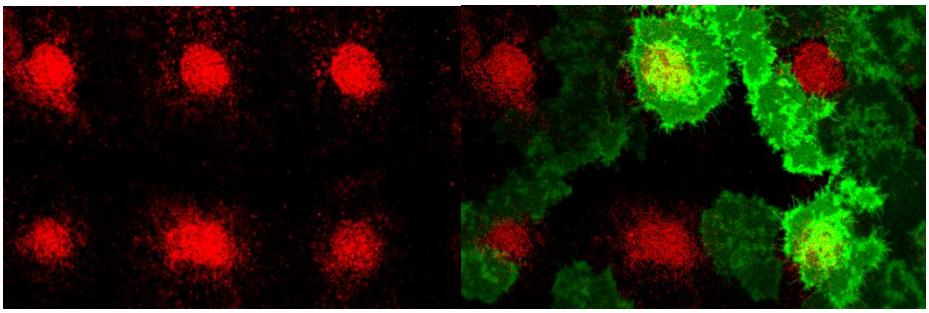
.. por lo que durante el desarrollo la acción de los esteroides sexuales es diferente en ambos sexos

PROYECTO DOLORES C. CARRER
BIOFÍSICA DE MEMBRANAS Y NANOTECNOLOGÍA

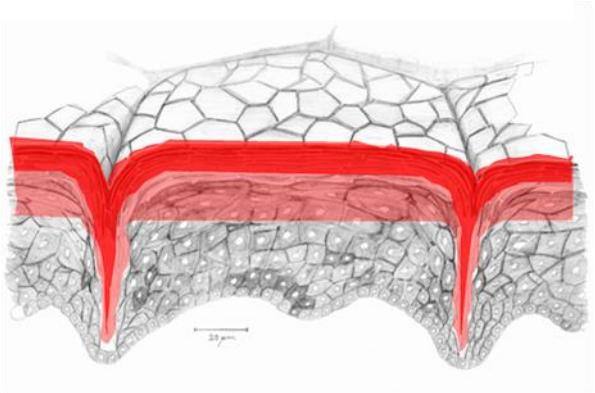
Nuestro laboratorio utiliza técnicas de la física para estudiar problemas de relevancia para la biología y la medicina. En particular, nuestras herramientas son la microscopía confocal y la espectroscopía de correlación de fluorescencia, una técnica que permite medir la velocidad a la que se mueven las moléculas.

A través de estas técnicas estudiamos el efecto que una superficie decorada con membranas con una cierta geometría puede tener sobre la respuesta de células en cultivo que se unen a esa superficie a través de una proteína.

Nuestra línea de trabajo más aplicada se basa en el estudio de diversas mezclas de lípidos y detergentes para producir nanopartículas (liposomas) que puedan acarrear drogas terapéuticas a través de la piel. Nos interesa en particular el tratamiento de una enfermedad endémica en América Latina, la Leishmaniasis Cutánea.



Unas células interactuando con una superficie decorada
con lípidos y proteínas



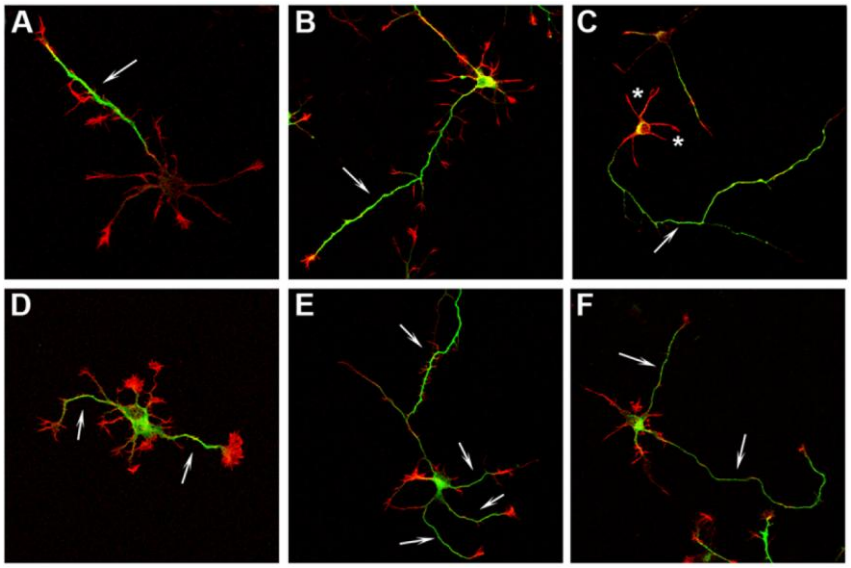
Esquema de cómo los liposomas penetran a través de la piel

PROYECTO DRA. CECILIA CONDE
TRÁFICO ENDOSOMAL Y ROL DE SARA EN LA REGULACIÓN DE PROCESOS ENDOCÍTICOS Y TRÁFICO DE MEMBRANA DURANTE EL DESARROLLO NEURONAL

Los endosomas son estructuras limitadas por una membrana que intervienen en la redistribución, el transporte y la transformación de componentes que provienen de la endocitosis, que es el mecanismo por el cual se introducen moléculas empaquetadas en vesículas al interior celular. En las neuronas, estas estructuras participan en el establecimiento y mantenimiento de los distintos dominios que las componen -conocidos como axones y dendritas-, colaborando para que cada uno de estos compartimentos pueda tener la composición molecular correcta.

La pregunta que nos planteamos es cómo se logra esta rigurosa regulación entre dos dominios tan diferentes de las neuronas. En muchos organismos (como por ejemplo los hongos), la organización y regulación de este sistema endosomal están bien estudiados. Sin embargo, en neuronas se dispone de menos información acerca de estos mecanismos. Hasta ahora, se han publicado numerosos trabajos respecto del rol fundamental que tiene la regulación del sistema endosomal en el desarrollo del sistema nervioso, incluyendo el destino inicial de las células, la polaridad neuronal, migración, crecimiento y direccionamiento axonal.

En nuestro laboratorio tratamos de aportar nuevos datos respecto de esta vía endosomal y las moléculas que participan en su regulación y/o que influyen en los cambios morfológicos de las neuronas, es decir la formación y mantenimiento del crecimiento de axones y dendritas. Para abordar nuestros estudios utilizamos principalmente técnicas de biología celular y molecular y de microscopía de avanzada.



Neuronas de embriones de rata en cultivo. Imágenes de microscopía confocal de neuronas control (**A-C**) cuyo axón fue marcado con la proteína Tau1 (en verde) Se puede observar un único axón en estas neuronas (flecha). Cuando se apaga la expresión de una proteína de la vía endosomal involucrada en la regulación de la entrega de moléculas a los dominios axonal o dendrítico, las neuronas desarrollan más de un axón (**D-F**; flechas).

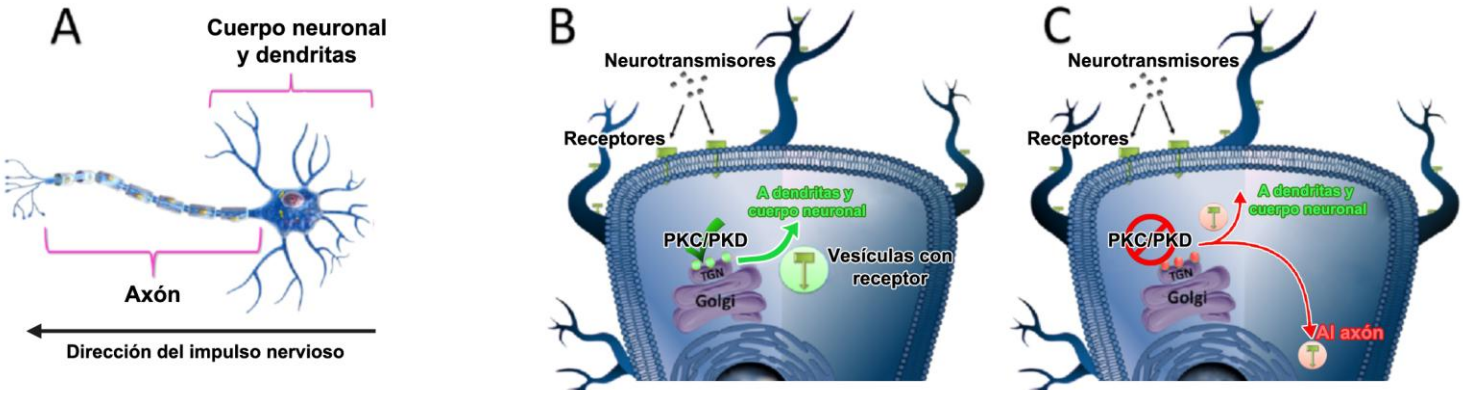
PROYECTO DR. ALBERTO DÍAZ AÑEL
ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DEL TRANSPORTE INTRACELULAR Y SU RELACIÓN CON LAS ENFERMEDADES PSIQUIÁTRICAS

La salud mental depende en gran parte de una perfecta coordinación entre las neuronas de nuestro cerebro. Para que ello ocurra, cada mecanismo interno de este tipo particular de células debe funcionar a la perfección. Uno de esos mecanismos, el tráfico intracelular, regula el correcto traslado y localización final de los componentes que estas células elaboran para su ideal funcionamiento, particularmente aquellos que las neuronas necesitan para comunicarse entre ellas.

En nuestro laboratorio, estudiamos un grupo de proteínas que se encuentran involucradas en la regulación del transporte de receptores especializados, los cuales dirigen el impulso nervioso desde la superficie celular para una fluida conexión entre las neuronas.

Algunas de estas proteínas reguladoras del tráfico intracelular presentan anomalías de funcionamiento en ciertos tipos de enfermedades neuropsiquiátricas, como el trastorno bipolar (TB). Además, muchas de esas mismas proteínas se ven afectadas por drogas moduladoras del ánimo como el litio, uno de los compuestos más utilizados para el tratamiento del TB.

El principal objetivo de nuestro grupo se centra en la investigación de la relación existente entre los cambios en el ánimo de los pacientes con TB -que fluctúa entre la depresión y la manía- y los defectos en el transporte de receptores neuronales. Nuestros estudios servirán para determinar si algunas de las proteínas que regulan este mecanismo podrían definirse como potenciales biomarcadores medibles en sangre. Estos marcadores se emplearían para predecir los cambios de ánimo, lo cual permitiría la aplicación del tratamiento acertado en el momento adecuado.



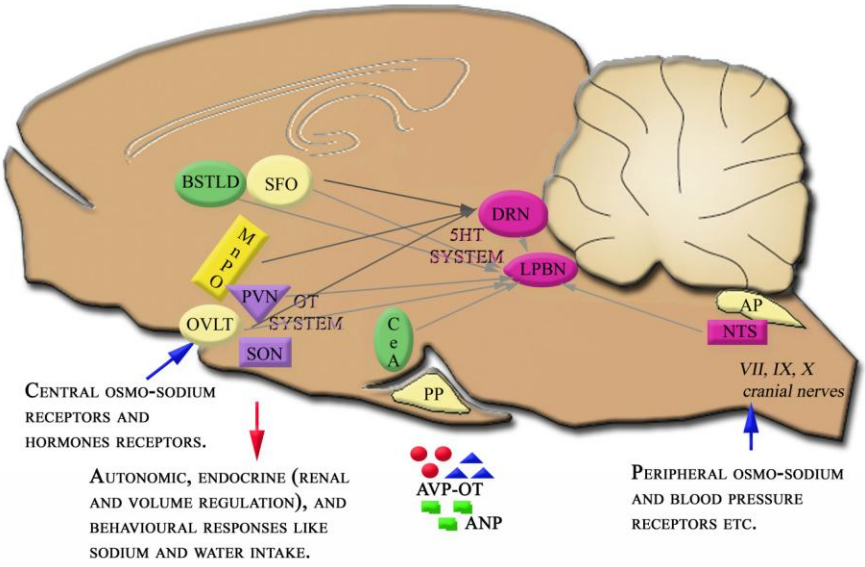
A: estructura típica de una neurona. El impulso nervioso se inicia en las dendritas y se transmite a través de los axones. B: en condiciones normales, numerosos receptores de membrana son transportados en vesículas hacia la superficie de las dendritas para modular la llegada del impulso nervioso. C: el bloqueo de varias proteínas reguladoras del tráfico vesicular (PKC, PKD) produce cambios en la distribución normal de estos receptores, lo que conduce a defectos notorios en el desarrollo celular y en la comunicación entre neuronas.

PROYECTO DRA. ANDREA GODINO
MECANISMOS Y CIRCUITOS NEURALES INVOLUCRADOS EN EL CONTROL DE LA HOMEOSTASIS HIDROSALINA Y HEMODINAMICA

En nuestro laboratorio se están llevando a cabo dos proyectos. En uno de ellos estudiamos la participación de las proteínas MAPK en la señalización temporal de angiotensina II en el desarrollo del apetito por el sodio, mientras que en el otro investigamos la participación del sistema serotoninérgico central en la latencia existente entre la depleción de sodio corporal y la aparición del apetito por el sodio.

Ambos proyectos se orientan específicamente a solucionar problemas en el ámbito de las ciencias básicas. No obstante, el aporte al conocimiento básico del tema contribuirá a la solución de problemas en el campo de la medicina clínica, como son el tratamiento y la prevención de trastornos del balance hidro-electrolítico y de la presión sanguínea arterial.

Numerosas investigaciones en distintas especies animales, como así también en el hombre, han demostrado que tanto la deficiencia de sodio como su exceso tienen efectos adversos sobre la salud. Con lo cual, estudiar el circuito de control central y los posibles sistemas neuroquímicos y mecanismos intracelulares involucrados en el mantenimiento del balance hidrosalino en individuos normales, adquiere relevancia no solo aportando al conocimiento general, sino también a la hora de buscar posibles alteraciones o tratamientos en patologías relacionadas.

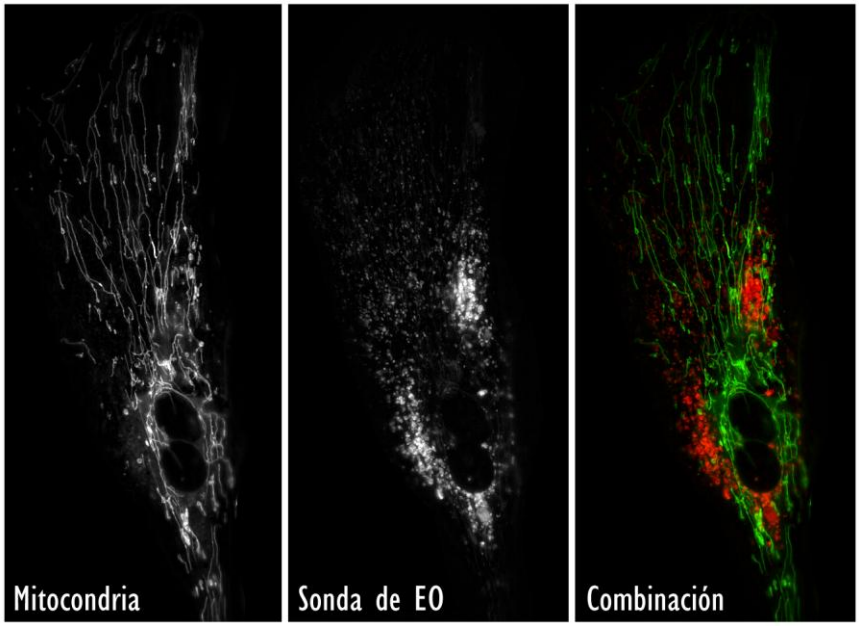


Grupos neuroquímicos y areas involucradas en la regulación del apetito por el sodio.

PROYECTO DR. PABLO HELGUERA
MODELOSEXPERIMENTALES DE ENVEJECIMIENTO

El aumento de la edad media de la población mundial presenta el desafío de un incremento acorde de las afecciones de la salud propios de la edad madura. Se hace necesario entender los procesos de envejecimiento para poder garantizar calidad de vida a este segmento creciente de las sociedades en todo el mundo. Una aproximación muy importante al desafío de mantenerse sano a lo largo del tiempo es la concientización sobre la importancia de consumir dietas balanceadas, con elementos antioxidantes (frutas, vino tinto, verduras), que por su naturaleza reducen el daño causado por alimentos hipercalóricos, los cuales, entre otras consecuencias aumentan lo que denominamos operativamente como "daño oxidativo". Gran parte de los esfuerzos de la ciencia se focalizan en la reducción de este daño oxidativo, ya que su acumulación a lo largo del tiempo es considerada por la mayoría de la comunidad científica como responsable del envejecimiento de los organismos.

Existen diversas enfermedades/condiciones que, debido a causas muy diferentes, tienen como consecuencia compartida un envejecimiento acelerado, entre ellas el Síndrome de Down y la Progeria. En nuestra línea experimental, queremos estudiar a nivel celular estas y otras formas de envejecimiento. Nos planteamos discernir qué elementos tienen en común estas enfermedades, si involucran daño oxidativo y, aprovechando esta información, diseñar terapias de prevención de las secuelas incipientes consecuencia del paso del tiempo.

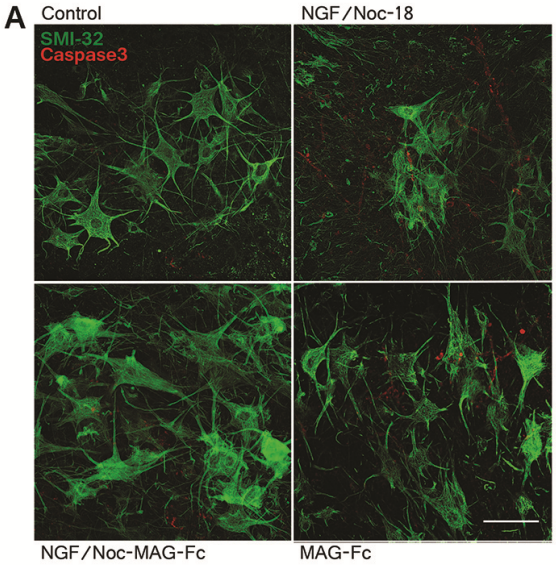


Panel izquierdo: mitocondrias totales de la célula
Panel central: sonda de detección de estrés oxidativo (ES)
Panel derecha: solapamiento de los dos paneles anteriores, en colores distintos

PROYECTO DR. PABLO H. H. LOPEZ
NEUROBIOLOGÍA

Nuestro laboratorio posee dos líneas de investigación independientes. Por un lado, estudiamos los mecanismos naturales que poseen los individuos para prevenir el daño del sistema nervioso asociado a enfermedades tales como Esclerosis Múltiple, Esclerosis Lateral Amiotrófica y Accidentes cerebro vasculares. Nuestro objetivo específico consiste en primer lugar en dilucidar las estrategias que posee nuestro sistema nervioso para proteger sus neuronas, tanto en la salud como en la enfermedad. Posteriormente, se pretende desarrollar nuevas terapias protectoras basadas en la producción de fármacos que simulen estos mecanismos naturales.

Nuestra segunda línea de investigación está relacionada con el estudio de factores que afectan la recuperación clínica del Síndrome de Guillain Barrè (SGB), una enfermedad caracterizada por la presencia de debilidad muscular generalizada que requiere hospitalización. Después de haber identificado inicialmente factores en el suero de estos pacientes capaces de enlentecer su recuperación clínica, al presente estamos estudiando los mecanismos por los cuales estarían actuando estos factores, como así también el desarrollo de posibles estrategias terapéuticas que disminuyan las graves secuelas neurológicas que padecen estos pacientes con las terapias actuales.



Efecto protector contra la muerte de neuronas relacionadas con la contracción muscular mediada por MAG, una proteína que se encuentra en íntimo contacto con estas neuronas en un individuo sano. Este experimento se realizó en rebanadas de médula de ratas mantenidas artificialmente en el laboratorio. Las neuronas sanas se identifican con el color verde. **Control:** Neuronas sanas. **NGF/NOC-18:** Neuronas expuestas a un agente tóxico que induce su muerte, lo cual se evidencia por un menor número de neuronas. **NGF/NOC-18-MAG-Fc:** Protección de neuronas por el agregado de MAG, lo cual se evidencia por un número de neuronas sanas similar al observado en la situación "control".

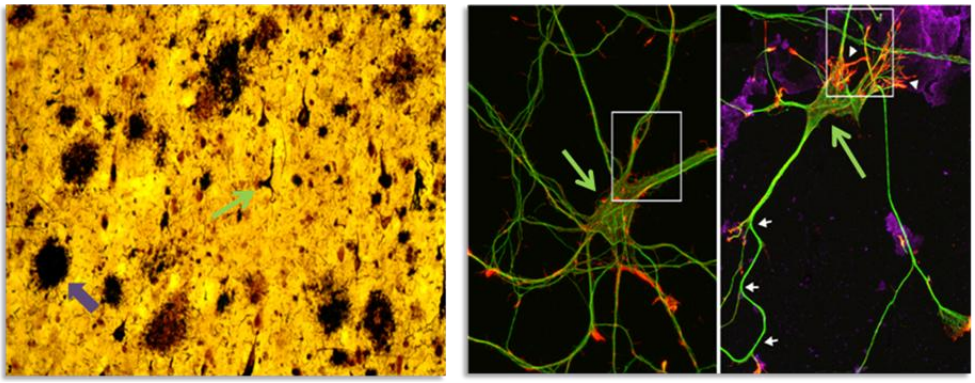
PROYECTO DR. ALFREDO LORENZO
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Entre las diez principales patologías causales de muerte en adultos mayores, la enfermedad de Alzheimer (EA) sobresale por ser la principal causal de demencia y la única que no tiene aún métodos de diagnóstico precoz, ni tratamientos efectivos. Por ello, la EA es una de las principales preocupaciones para los sistemas de salud mundial.

Los pacientes con EA sufren un deterioro progresivo de las funciones intelectuales, incluyendo la memoria y el razonamiento. En etapas avanzadas de la enfermedad, los pacientes son incapaces de reconocer a sus familiares y amigos o a las cosas que los rodean, quedando completamente incapacitados.

El deterioro intelectual en la EA es consecuencia de la paulatina disfunción y muerte de neuronas en el cerebro debido a la acumulación patológica de una sustancia denominada Amiloide Beta (Abeta). Se sabe que los depósitos de Abeta dañan a las neuronas, impiden la comunicación entre ellas y deterioran los circuitos neurales responsables de los procesos cognitivos. Sin embargo, el mecanismo por el cual el Abeta produce ese deterioro es aún motivo de fuerte debate científico.

En nuestro laboratorio estudiamos la relación patológica entre el Abeta y APP, una proteína que tiene variantes genéticas que causan formas heredables de EA. Recientemente, obtuvimos evidencias experimentales que indican que una nueva variante de APP podría tener un efecto protector sobre el efecto tóxico del Abeta. Estas observaciones podrían servir como punto de partida para desarrollar terapias efectivas que eviten el proceso de degeneración neuronal desencadenado por los depósitos de Abeta en la EA.



La imagen de la izquierda corresponde a una fotografía de microscopio de bajo aumento. Muestra un parte del tejido nervioso de un cerebro humano afectado por la enfermedad de Alzheimer. Se aprecian numerosos depósitos de Amiloide beta (flecha violeta) y neuronas degenerativas (flecha verde).

La doble imagen de la derecha corresponde a un par de fotografías de microscopio de mayor aumento. Muestra neuronas de rata en cultivo. La imagen del centro corresponde a un cultivo normal donde la neurona (flecha verde) tiene sus prolongaciones intactas. La neurona en la imagen de la derecha fue tratada con agregados de Amiloide beta (flecha violeta) y muestra alteraciones en la forma de sus prolongaciones (flechas y cabezas de flecha blancas). Los cambios morfológicos y funcionales observados en cultivos tratados con Amiloide beta permiten modelar la enfermedad de Alzheimer y explorar los mecanismos de la patología.

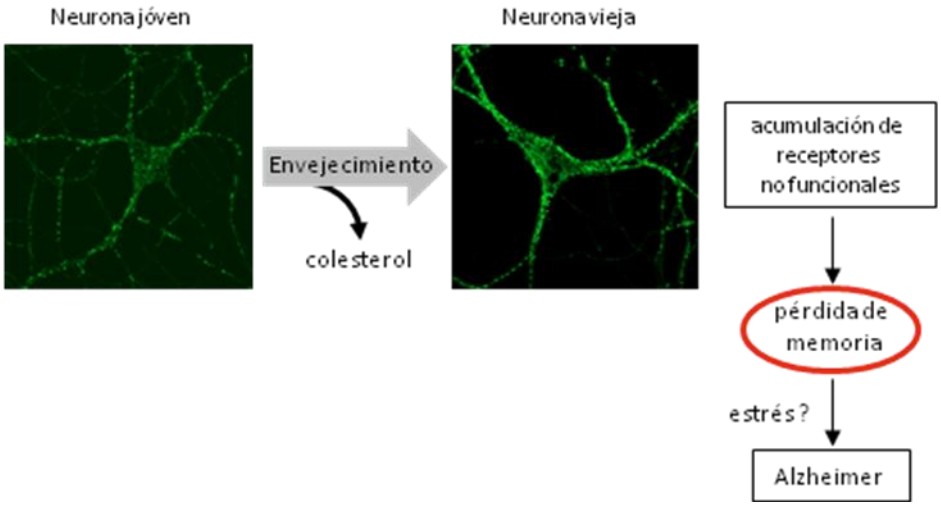
PROYECTO DR. MAURICIO MARTÍN

El envejecimiento va acompañado por cambios en la composición de lípidos de la membrana plasmática de las neuronas, como consecuencia de la acumulación de estrés oxidativo. Nuestro grupo ha descubierto que con el envejecimiento se produce una pequeña pero significativa pérdida de colesterol en una estructura específica del cerebro, lo que afecta los procesos de aprendizaje y memoria.

Experimentos realizados en nuestro laboratorio mostraron que cuando ratas longevas fueron sometidas a tratamientos para recuperar los niveles de colesterol en la membrana neuronal, se restablecieron los mecanismos celulares afectados y estos animales recuperaron la capacidad de aprendizaje y memoria propia de ratas jóvenes.

Nuestros estudios están orientados a la comprensión de las bases moleculares de los déficits cognitivos que acompañan al envejecimiento, lo que permitirá diseñar estrategias para identificar tratamientos, ya sea en escenarios de pérdida cognitiva fisiológica (envejecimiento) o patológica (Alzheimer).

Entre nuestros objetivos se encuentra además el de determinar si los cambios observados durante el envejecimiento normal son responsables, bajo condiciones agravantes como estrés, sobrepeso, etc., de los déficits cognitivos profundos como los que caracterizan a la enfermedad de Alzheimer.



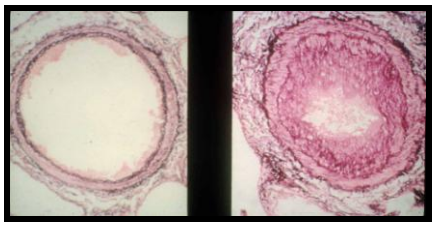
PROYECTO DRA. MELINA MUSRI

En nuestro laboratorio estamos interesados en estudiar los mecanismos celulares y moleculares que regulan y mantienen la diferenciación de las células que componen el sistema cardiovascular, especialmente de las células musculares lisas (CML) que componen las arterias. Estas células, son las principales encargadas de regular el tono vascular y con ello, el pasaje de oxígeno hacia todos los tejidos. Las células musculares lisas poseen una característica distintiva diferente a los otros tipos de células especializadas del organismo ya que son capaces de modificar su estado fenotípico de acuerdo a los estímulos recibidos.

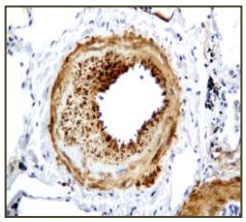
Estos cambios fisiológicos se encuentran finamente regulados por diversos mecanismos de control. Cuando existen estímulos de daño a nivel vascular de manera sostenida, como humo de tabaco, altos niveles de colesterol y otros factores, la alteración de dichos mecanismos promueve el engrosamiento de las arterias. Este cambio estructural promueve una serie de cambios celulares y tisulares dando lugar a enfermedades vasculares y cardiovasculares.

Nuestro principal objetivo es entender cuáles son los factores que se encuentran alterados durante el desarrollo de enfermedades vasculares con el objetivo de encontrar nuevas dianas terapéuticas. Para ello utilizamos tanto modelos animales que desarrollan enfermedad vascular como animales alimentados con una dieta rica en grasa, con exposición al humo de tabaco o en bajo contenido en oxígeno (hipoxia), así como células primarias aisladas de humano, rata y ratón.

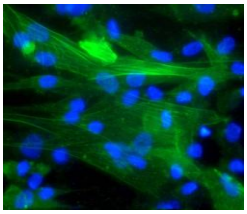
Arterias humanas



Arteria normal **Arteria engrosada**



Tinción de α-actina de CML



CML humanas en cultivo

PROYECTO DRA. GABRIELA PAGLINI

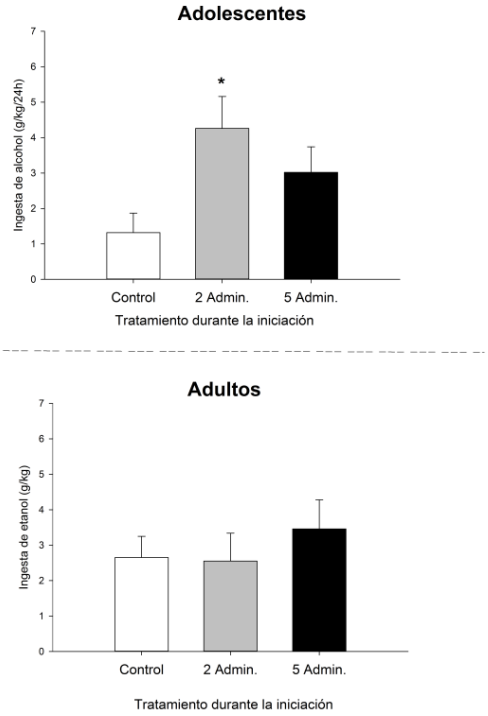
A lo largo de la vida de un individuo el cerebro va cambiando de manera constante para adaptarse a las diversas situaciones. Las neuronas que lo componen y sus conexiones se pueden modificar por diferentes razones, por el desarrollo mismo, por una lesión, por la acción de drogas, como así también por un aprendizaje. A esta capacidad del cerebro para cambiar se la conoce como PLASTICIDAD.

En nuestro laboratorio nos interesa comprender fenómenos de plasticidad neuronal y las respuestas neuroadaptativas que ocurren durante el desarrollo de diferentes funciones cognitivas del individuo, y cómo este desarrollo se ve afectado por la exposición a drogas de abuso, a estés crónico y en situaciones patológicas como lo es el Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad.

PROYECTO DR. RICARDO PAUTASSI

Los adolescentes consumen habitualmente más alcohol que los adultos, y es en el momento en que comienzan a hacerlo de manera regular cuando tienen más posibilidades de escalar hacia un consumo problemático que aquellas personas que empiezan a beber en la adultez. A su vez, dentro del grupo de los adolescentes, hay algunos que son más propensos a iniciar trayectorias de consumo problemático. Mi investigación intentar arrojar luz a porqué se dan estos fenómenos.

En nuestro trabajo hemos encontrado que los adolescentes parecen ser menos sensibles a varios de los efectos del alcohol (como por ejemplo sedativos, de inducción de malestar gástrico, etc.) que sirven en el adulto como barreras para frenar los episodios de consumo excesivo. Por el contrario, los jóvenes percibirían el consumo de alcohol como más placentero y el mismo facilitaría la interacción con sus compañeros, procesos ambos que retroalimentarían positivamente este consumo. A su vez, la probabilidad de consumo de alcohol en adolescentes estaría modulada por exposiciones aún más tempranas durante la vida pre-natal y la infancia. Este fenómeno de exposición repetida, que deriva en vulnerabilidad incrementada por el consumo de alcohol, ha sido denominada "generador de alcoholismo", y subraya la importancia de la perspectiva evolutiva y de desarrollo para entender el consumo patológico de sustancias. La adicción es considerada ahora un trastorno del desarrollo, con origen temprano. Nuestras investigaciones tienen implicancias de política pública, sugiriendo que se acentúen las medidas que tienden a demorar el inicio del consumo de alcohol en los menores, y regular la venta de bebidas alcohólicas en esta población.



La figura ilustra un experimento que demuestra el mayor riesgo que genera la exposición al alcohol en la adolescencia. Se ilustra el consumo de alcohol (gramos por kilogramo de peso) en ratas adolescentes y adultas que fueron expuestas pasivamente (mediante intubación) a dos, cinco o ninguna (grupo control) administración de una dosis elevada de alcohol. Unos días después de estas administraciones, los animales fueron evaluados en una prueba de consumo libre en la que podrían elegir entre alcohol y agua. Se observó que los adolescentes, pero no los adultos, expuestos al alcohol aumentaban significativamente su consumo de alcohol en referencia al grupo control de cada edad. Adaptado de Fabio, M. C., Nizhnikov, M. E., Spear, N. E., & Pautassi, R. M. (2013). Binge ethanol intoxication heightens subsequent ethanol intake in adolescent, but not adult, rats. Developmental psychobiology, doi:10.1002/dev.21101.

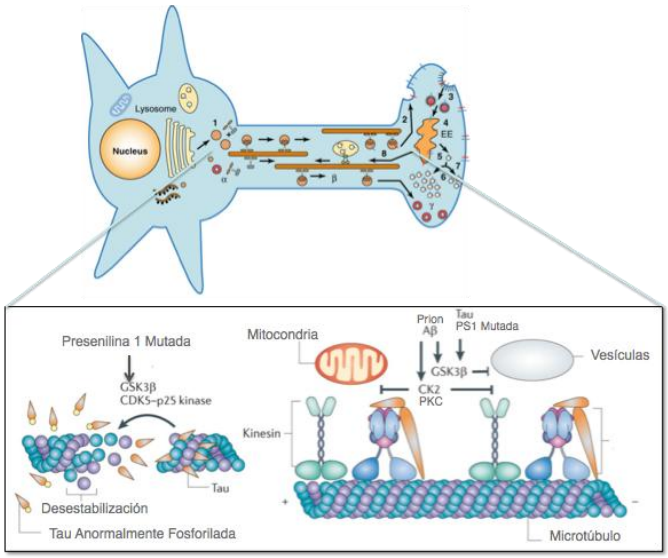
PROYECTO DR. GUSTAVO PIGINO

El foco primario de la investigación en nuestro laboratorio se centra en los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la disfunción y subsecuente degeneración axonal y sináptica, las cuales están íntimamente asociadas a numerosas patologías del sistema nervioso central conocidas como ¨neuropatías de degeneración reversas¨. Dentro de éstas, nos focalizamos en las enfermedades de Alzheimer, Parkinson, y Priónicas (Creutzfeldt-Jakob, Enfermedad de la Vaca Loca).

Los tratamientos clínicos que se llevan a cabo en pacientes con dichas neuropatías no previenen ni retrasan la degeneración axonal ni la pérdida de conexiones sinápticas en las neuronas afectadas. Por consiguiente, existe una urgente necesidad en el campo de la neuromedicina de comprender los mecanismos patológicos y los componentes moleculares que subyacen a la pérdida temprana de conexiones neuronales, responsable en última instancia de la muerte neuronal y de las típicas manifestaciones clínicas en las neuropatías mencionadas.

Nuestro interés científico incluye: vías de traducción de señales en neuronas, el citoesqueleto, proteínas motoras y el transporte axonal, tanto en condiciones normales como patológicas.

Tranasporte Axonal y Enfermedades Neurológicas Progresivas



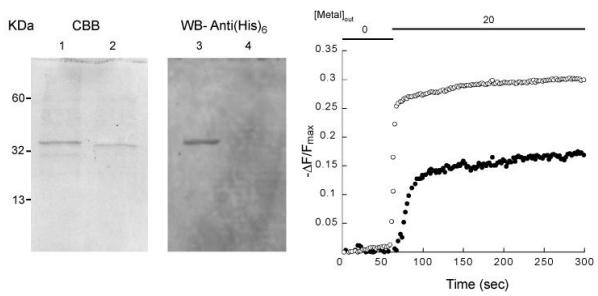
Aquí vemos una representación de una neurona de proyección, en donde se destaca el axón y su terminal pre-sináptico. En el cuadro se observa un microtúbulo en proceso de depolimerización (izquierda), y a la derecha un microtúbulo al cual se le han asociado proteínas motoras, las cuales tienen la capacidad de movilizar diferentes cargos a lo largo de dichos microtúbulos. Cuando la integridad de los microtúbulos es afectada, se compromete también el transporte axonal de cargos que son importantes para el nomal funcionamiento del axón y de la sinapsis, y por ende de la neurona en última instancia (izquierda). El transporte axonal también se puede perturbar por una actividad anormal de moléculas que regulan el transporte axonal (derecha). Dentro de ellas, las proteínas fosfotransferasas (quinasas y fosfatasas) son un ejemplo. Cuando las proteínas quinasas CK2, PKC y GSK3-β incrementan su actividad debido a diferentes proteínas patológicas, tanto el transporte axonal anterógrado como el retrógrado se ven alterados. Estas quinasas funcionan anormalmente en las enfermedades de Alzheimer, Parkinson y Creutzfeldt-Jakob o mal de la vaca loca.

PROYECTO DR. DANIEL RAIMUNDA
ROLES FUNCIONALES DE TRANSPORTADORES DE METALES DE TRANSICIÓN DE LA FAMILIA *CATION DIFFUSION FACILITATOR* (CDF) EN PROCESOS DE INFECCIÓN BACTERIANOS

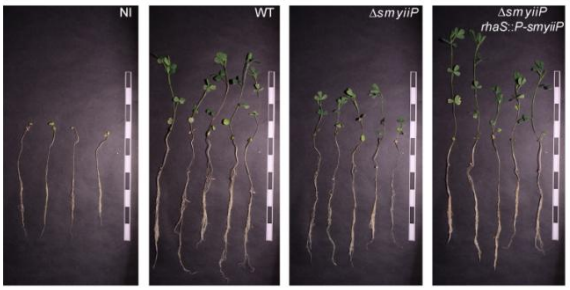
Todas las formas de vida requieren de pequeñas concentraciones de metales de transición (MT), Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, $Cu^{+/2+}$ y Zn^{2+}, para llevar a cabo procesos celulares tales como regulación de la transcripción génica, respiración oxidativa y protección contra estrés oxidativo/nitrosativo.

Durante los procesos infecciosos el agente invasor, o huésped, obtiene estos micronutrientes del organismo hospedador. Como respuesta primaria contra la infección el hospedador regula las concentraciones de MT en el entorno del huésped (mucosa epitelial, fagosoma, etc.) a fin de aumentar o reducir la biodisponibilidad de los mismos. Estos cambios producen en el huésped aumento intracelular de MT y luego generación de radicales libres, con el daño consecuente del ADN genómico y de otras estructuras celulares. En bacterias los transportadores de la familia *Cation diffusion facilitator* exportan específicamente MT al exterior celular evitando así la toxicidad por aumento de la concentración intracelular. Una parte de nuestra investigación está enfocada en comprender los mecanismos de salida de MT a través de estas proteínas evaluando desde la especificidad (qué metal se transporta) en función de la estructura y composición del sitio de transporte, hasta su participación y rol durante procesos infecciosos utilizando como organismos modelos a bacterias patogénicas en humanos y simbióticas en plantas leguminosas *Pseudomonas aeruginosa* y *Sinorhizobium meliloti*, respectivamente.

En organismos bacterianos varias metalo-proteínas son secretadas vía el sistema Sec; es decir, sin plegar y sin co-factor metálico ($Cu^{+/2+}$, Zn^{2+}, $Fe^{2+/3+}$, Mn^{2+}) el cual es adquirido en el periplasma. Si bien los sitios de unión en metalo-proteínas tienen afinidades similarmente altas para todos los MT sólo uno de ellos se encuentra presente en la holo-proteína funcional. Una segunda línea de investigación se basa en nuevas evidencias que demuestran que las metalo-proteínas adquieren su co-factor o MT a través de reacciones específicas de intercambio de ligandos dirigidas por interacciones proteína-proteína. Dada la especificidad de transporte de los CDF nuestra hipótesis de trabajo plantea su participación en el ensamblado de co-factores de proteínas periplásmicas necesarias para establecer la infección, en la interfaz huésped-hospedador.



La figura muestra la caracterización funcional *in vitro* del transportador smYiiP (Smc02724) en la bacteria *S. meliloti*. Los ensayos de flujos de MT en liposomas con proteína pura incorporada indican que el Mn^{2+} es el sustrato transportado. Otros metales no se transportan.



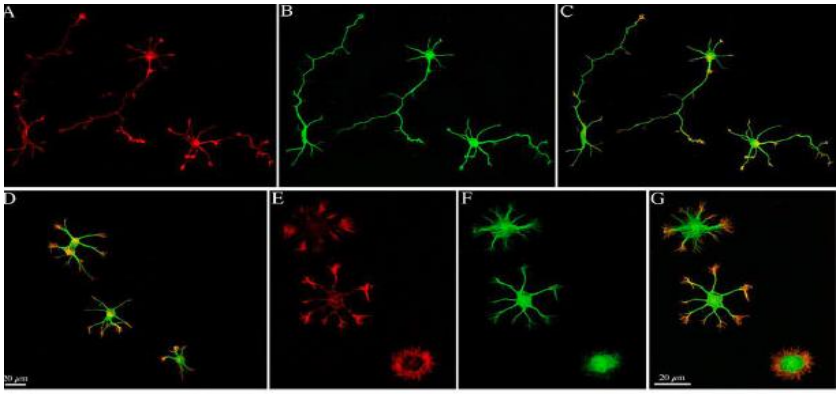
Plantas de alfalfa infectadas con cepas de *S. meliloti* normales o donde la función de transporte de Mn^{2+} está afectada, muestran menor número de nódulos y menor crecimiento.

PROYECTO DRA. MÓNICA SÁNCHEZ
EFECTO NEUROTÓXICO DE ROTENONA SOBRE EL DESARROLLO DE LA POLARIDAD NEURONAL

Numerosos estudios indican que la exposición a ciertos plaguicidas, entre ellos la rotenona, están relacionados con el desarrollo de enfermedades neurológicas. Por otro lado, sabemos que el diez por ciento de los pacientes con enfermedad de Parkinson obedecen a una causa genética. El resto es una combinación entre una predisposición genética y determinados factores ambientales que desencadenan la enfermedad.

Nuestro laboratorio se encuentra abocado a evaluar los posibles mecanismos subyacentes a los efectos neurotóxicos del mencionado plaguicida. A tal fin utilizamos cultivos primarios de neuronas del hipocampo de rata con el fin de aportar nuevas evidencias en esta área del conocimiento. Los resultados obtenidos hasta el momento indican que una exposición de 48 horas a la rotenona produce una supresión completa y selectiva de la formación del axón (Figura 1). Este efecto es dosis dependiente, no se acompaña de cambios en la organización de microtúbulos, y es reversible después de lavado del agroquímico en el medio de cultivo.

Hemos demostrado además que la rotenona modifica la actividad de las Rho GTPasas, una familia de proteínas que participa en la regulación de la morfología celular, las interacciones célula-célula, la migración y la polaridad celular, principalmente debido a su acción preponderante en la regulación del esqueleto celular de actina. Razón por la cual, nuestros resultados nos permiten sugerir que al menos algunos de los efectos neurotóxicos de la rotenona se asocian con una inhibición de la dinámica de la actina a través de modificaciones de la actividad de Rho-GTPasas. Actualmente, nos encontramos abocados a ampliar y profundizar estos estudios.



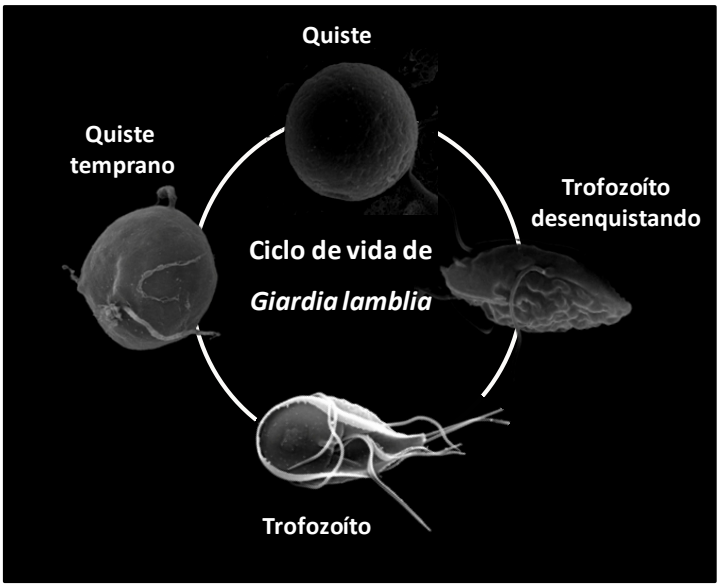
La rotenona inhibe la formación axonal en neuronas piramidales hipocampales. Las imágenes muestran la morfología de células controles (A-C) y tratadas con rotenona (D-G) durante dos días. Los cultivos fueron marcados con rhodamina-phalloidina (roja) y con el anticuerpo contra α-tubulin tirosinada (verde). Las neuronas controles se encuentran en el estadio 3 del desarrollo neuronal mientras que las tratadas con Rotenona permanecen en el estadio 2 (menos desarrolladas).

PROYECTO DRA. CAROLINA TOUZ Y DRA. ANDREA RÓPOLO
MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA

Giardia lamblia es un parásito que habita el intestino delgado de humanos y otros vertebrados causando una enfermedad conocida como giardiasis. A nivel mundial, la giardiasis es la causa más común de enfermedad diarreica no asociada a virus o bacterias que lleva a la pérdida de peso y puede causar desnutrición, lo que puede dar lugar a retrasos en el crecimiento en los niños y también puede retardar la pubertad, afectar negativamente al desarrollo cognitivo y causar la muerte prematura.

En el medio ambiente, *G. lamblia* está protegido por una carcasa exterior (pared del quiste) que le permite sobrevivir durante largos períodos de tiempo y hace que sea tolerante a la desinfección por hipoclorito. La infección se inicia con la ingesta de los quistes, los que se desenquistan en el intestino liberando los trofozoítos, la forma del parásito que prolifera en el intestino y es responsable de los síntomas de la enfermedad.

Desde 2004, *G. lamblia* es parte de la "Iniciativa de Enfermedades Olvidadas" por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), resaltando la importancia de realizar estudios de biología molecular, bioquímica y celular para obtener información valiosa sobre la biología, la epidemiología y la interacción hospedador-parásito que permitan generar un enfoque integral de la giardiasis. Así, nuestro grupo de trabajo se encuentra abocado al estudio de la biología de *G. lamblia*, principalmente de los mecanismos moleculares involucrados en el transporte de proteínas y en la generación de señales que regulan la supervivencia del parásito. Este esfuerzo ayudará a sentar las bases para el análisis de nuevas drogas e iluminará no sólo las diferencias, sino también las similitudes de los procesos biológicos celulares comunes a otros organismos parásitos.

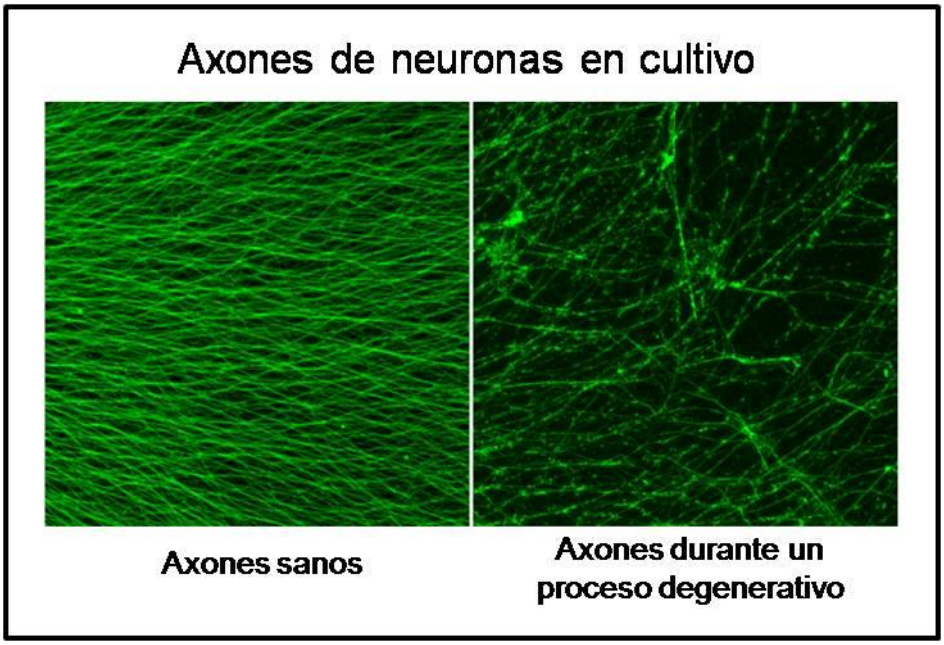


PROYECTO DR. NICOLÁS UNSAIN
MECANISMOS DE DEGENERACIÓN AXONAL

Las neuronas se conectan unas con otras gracias a procesos largos llamados axones. Los axones funcionan como cables que conectan unas neuronas con otras y forman así los circuitos que comandan nuestras actividades cerebrales, los sentidos, la contracción muscular, etc. En procesos patológicos y durante el envejecimiento, los axones sufren deterioro estructural, lo que implica que el circuito en el que participan funciona mal y eso a su vez lleva a los signos y síntomas clínicos de diversas enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson o glaucoma.

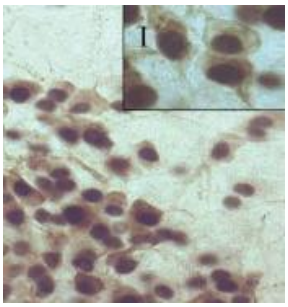
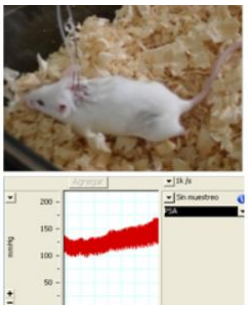
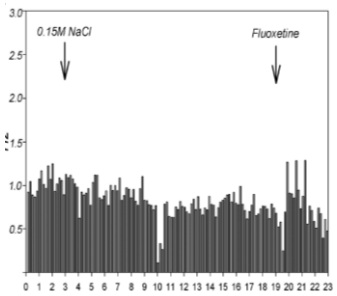
Curiosamente, la destrucción de axones es también un proceso normal, y necesario, del desarrollo pre- y post-natal del sistema nervioso. Gracias a esta destrucción controlada de axones, los circuitos adquieren la forma funcional que tendrán en el animal adulto.

En mi laboratorio estudiamos los mecanismos moleculares que llevan a la destrucción del axón en condiciones tanto patológicas como normales del desarrollo. Esperamos poder identificar eventos y proteínas clave para la ejecución del programa celular que termina con la destrucción de axones. Para esto, utilizamos cultivos neuronales y herramientas de biología molecular e ingeniería genética, microscopía y análisis bioquímico.



PROYECTO DRA. LAURA VIVAS
HOMEOSTASIS HIDROSALINA E HIPERTENSIÓN

El objetivo de nuestros estudios se centra en identificar los mecanismos, sistemas de neuromodulación y circuitos cerebrales que controlan la respuesta neuroendócrina y conductual tendiente a mantener cooperativamente el balance del fluido corporal.

Importancia:

Conocer los mecanismos, circuitos y sistemas neuroquímicos que subyacen al funcionamiento normal o patológico del sistema homeostático de control cardiovascular e hidroelectrolítico contribuirá al tratamiento de trastornos hipertensivos, hipotensivos, de déficit renal, etc., así como al desarrollo de agentes terapéuticos adecuados.