

Carrera de Bioquímica Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS
Práctica de Investigación Bioquímica (optativa)
Código de la Materia: Carga horaria: 50 horas
Profesor –Investigador : Gabriela Salvador Asistente/Ayudante de docencia:
Asignatura (s) Obligatoria (s) Aprobada /Cursada(s): Química Biológica I (aprobada)
Lugar de Trabajo (Laboratorio /Instituto) Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB)
Título del Proyecto de Investigación Acreditado: Lípidos bioactivos : relevancia en procesos de injuria neuronal Código Proyecto: 24B292
Resumen del Proyecto (no mayor de 250 palabras) Las enfermedades neurodegenerativas constituyen un fenómeno de incidencia creciente debido al aumento de la expectativa de vida. Este hecho influye enormemente en los sistemas sociales, económicos y sanitarios de la mayoría de los países. La principal causa de estas patologías es la muerte progresiva de las neuronas en diferentes regiones del sistema nervioso. Esta pérdida neuronal progresiva es la que origina los signos y síntomas neurológicos y neuropsicológicos característicos de cada una de ellas. Entre las patologías neurodegenerativas de mayor prevalencia se encuentran la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP). A pesar de los avances científicos realizados, estas enfermedades carecen, hoy en día, de tratamientos efectivos. En general son diagnosticadas cuando la muerte neuronal es masiva y las terapias disponibles en la actualidad apuntan principalmente a la reposición del neurotransmisor en defecto. Es por ello que los eventos de señalización que se activan/inactivan en las neuronas expuestas a estímulos injuriantes revisten especial interés no solo para lograr una mejor comprensión de los mecanismos moleculares participantes sino también para buscar nuevos blancos terapéuticos que aporten especificidad y efectividad en el tratamiento. En este proyecto abordamos el estudio de diferentes mecanismos de señalización que están alterados en los procesos de injuria neuronal asociados con enfermedades neurodegenerativas.
Plan de trabajo (resumido) Los mediadores lipídicos especializados de pro-resolución (SPM) son un grupo de moléculas bioactivas que contrarrestan las señales pro-inflamatorias, mediante un mecanismo denominado resolución. El descubrimiento y la caracterización de los SPM y de sus receptores específicos ha permitido avanzar en la comprensión de este proceso que en condiciones fisiológicas autolimita la inflamación. Sin embargo, aún existen importantes interrogantes acerca de cómo y cuándo se producen estos SPM y de cómo la desregulación y el desbalance de las vías que los generan y las vías pro-inflamatorias deriva en la inflamación crónica. La propuesta central de este proyecto es evaluar las vías de generación de dos clases de SPM, resolvinas y lipoxinas y la señalización asociada a dichos ligandos en diferentes contextos de neurotoxicidad relacionados con el parkinsonismo y la Enfermedad de Parkinson (EP): i- estrés oxidativo disparado por la sobrecarga de hierro (Fe) ii- exposición al pesticida Maneb, iii- sobreexpresión de diferentes variantes de α -sinucleína. Mientras que la sobreexpresión de α -sinucleína y la acumulación de Fe en la sustancia nigra son signos patognómicos de la EP, la exposición a Maneb se considera uno de los factores ambientales causantes de parkinsonismo. Trabajando con estos paradigmas experimentales, hemos demostrado que en la injuria neuronal se produce un desbalance en la disponibilidad de los precursores de los SPM (ácido araquidónico –AA- y docosahexaenoico –DHA-), debido a un fenómeno de cacostasis metabólica caracterizado por acumulación de gotas lipídicas y una activa acilación/deacilación de lípidos neutros. Nuestras hipótesis son que: 1- ante un evento de injuria, tanto el desbalance como la desincronización entre la producción de mediadores pro-inflamatorios y la generación de los SPM instaura un fenotipo inflamatorio crónico que deriva en disfunción y muerte neuronal; 2- la alteración en el metabolismo neuronal reportada en situaciones de injuria y caracterizada por un aumento de gotas lipídicas está relacionada con la biodisponibilidad de sustratos para la producción de SPM jugando un rol fundamental en la respuesta de pro-resolución. Esta propuesta de trabajo incluye el uso de modelos in vitro que serán expuestos a los insultos neurotóxicos mencionados y en los que abordaremos el estudio de las vías de producción de resolvinas y lipoxinas y de los mecanismos de acción que disparan estos lípidos bioactivos en relación con el daño neuronal asociado a la EP. A su vez estudiaremos el proceso de resolución teniendo en cuenta la comunicación neurona-glia durante los procesos neurodegenerativos. Debido a la complejidad química y biológica de los mediadores lipídicos mencionados anteriormente y de las vías involucradas en su producción, es necesario un enfoque metodológico integral para la caracterización de los eventos en estudio. Para ello, utilizaremos diversas técnicas de cultivo celular (primario y de líneas celulares), técnicas de bioquímica molecular y de biología celular y molecular. El abordaje metodológico mencionado se complementará con estudios de proteómica y metabólica.

Descripción de las Actividades a realizar: durante el desarrollo del POIB se realizarán las siguientes actividades:

1-Cultivo celular de neuronas y de glia.

2- Técnicas de biología celular (citoquímica, western blot, dot blot, citometría de flujo).

3- Técnicas de biología molecular (transfecciones, amplificación y purificación de plásmidos, PCR, RT-qPCR)

3- Microscopía de fluorescencia y confocal.

4-Técnicas bioquímicas analíticas para la determinación de diferentes tipos de lípidos y para el estudio de diferentes vías metabólicas.

5- Analisis in silico de datos obtenidos en experiencias y provenientes de bases de datos.

Cuatrimestre: Primero y/o segundo- PRIMERO

Cupo de alumnos: 2

Carga horaria semanal: 4 hs

Modalidad de Evaluación:

- Entrega de un informe con formato de trabajo científico
- Exposición Oral: *Se realizará en presencia de todos los alumnos de la materia y los profesores respectivos y al menos un integrante de la CCB (hasta 15 minutos)*