

Instituto de Fisiología y Biofísica – Bernardo Houssay (IFIBIO-Houssay)

Laboratorio de Fisiopatogenia
Departamento de Ciencias Fisiológicas

PROYECTO/S DE INVESTIGACIÓN

Mecanismos fisiopatológicos implicados en la acción de la toxina Shiga tipo 2 (Stx2) en distintos órganos blanco. Evaluación de fármacos como estrategia de prevención.

DOCENTE/S A CARGO: **Dra. Cristina Ibarra/ Dra. María Marta Amaral/ Dra. Flavia Sacerdoti**

DIRECCIÓN O UBICACIÓN: **Paraguay 2155 – 6° y 7° piso, M3**

REQUERIMIENTO: Conocimientos básico de idioma inglés necesarios para la interpretación de textos y publicaciones científicas. Manejo de word, excel y programas simples de computación.

TAREAS A REALIZAR

- 1) Adquirir conocimiento sobre la temática de investigación del Laboratorio a través de la lectura
- 2) de artículos científicos y la discusión de los mismos en seminarios de laboratorio.
- 3) Aprender el manejo de instrumental de laboratorio de uso cotidiano: balanza, destilador,
- 4) autoclave, termociclador, shaker, termobloques, baños termostatzados, etc.
- 5) Adquirir entrenamiento para el trabajo en condiciones de esterilidad para realizar aislamiento
- 6) de células epiteliales, endoteliales y trofoblásticas humanas y proliferación de cultivos *in vitro*.
- 7) Aprender a procesar muestras de células y tejidos para observación por microscopia optica que
- 8) incluyen la fijación, el corte por micrótopo o criostato, coloración y montaje adecuado.
- 9) Aplicar técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica al estudios de células y tejidos.
- 10) Adquirir entrenamiento en el uso de reactivos de EILSA para la caracterización de biomarcadores
- 11) de danos celulares.
- 12) Aprender el manejo de animales de laboratorio (ratas, ratones) y las normas que rigen el
- 13) cuidado de los mismos de acuerdo a la a Comisión Institucional para el Cuidado y Uso de
- 14) Animales de Laboratorio (CICUAL)..
- 15) Participar en la elaboración de hipótesis de trabajo, diseño experimentales, tratamiento de
- 16) datos, elaboración de resultados y conclusiones parciales y finales
- 17) Preparar los resultados para su difusión en seminarios y congresos de la especialidad.

PROGRAMA DE FORMACIÓN

El practicante se incorporara al grupo de investigación del Laboratorio de Fisiopatogenia y colaborar con las técnicas que permitan abordar los objetivos planteados.

El objetivo general del proyecto es el estudio de los mecanismos fisiopatológicos implicados en la acción citotóxica de Stx2 en el epitelio y endotelio intestinal, renal y placentarios y la evaluación de anticuerpos monoclonales recombinantes anti---Stx2. Los objetivos específicos serán:

- 1) Analizar los mecanismos de producción, endocitosis y translocación de Stx2 a través de la barrera intestinal humana en presencia de *E. coli* O157:H7 productor de Stx2 a fin de precisar la importancia bacteriana en el pasaje y acción de la toxina.
- 2) Desarrollar cultivos primarios de podocitos de riñón humano en monocapas y bicapas con células endoteliales de microvasculatura renal humana para estudiar los efectos citotóxicos de Stx2 y precisar su importancia en el desarrollo de la proteinuria observada en pacientes con SUH,

3) Evaluar los efectos citotóxicos de Stx2 en trofoblasto extravascular humano y endotelio de microvasculatura de placenta humana para determinar la acción de la toxina en células que intervienen en el desarrollo fetal,

4) Analizar la capacidad neutralizante de anticuerpos monoclonales recombinantes anti-Stx2 (en ratones inoculados con Stx2 o infectados con *E. coli* O157:H7. Para los experimentos *in vitro* se empleará líneas celulares aceptadas como modelo de epitelio intestinal humano (HCT-8) y renal (Vero), de endotelio de microvasculatura (HMEC-1) y de trofoblasto (Swan 71). Paralelamente se desarrollarán cultivos primarios de células endoteliales de microvasculatura intestinal (HIMEC), renal (HGEC), placentaria (HPMEC) y de podocitos humanos (HuPo) a partir de fragmentos de órganos obtenidos de la Fundación Favaloro, Hospital Posadas y Sanatorio de la Trinidad. Las células se cultivarán sobre soporte fijo para medir viabilidad, necrosis y apoptosis y en monocapas y bicapas sobre soporte permeable (insertos Millicells) para medir funcionamiento celular (transporte de Stx2 y de agua, migración e invasión de trofoblasto, etc.). Se usará Stx2 pura, *E. coli* O157:H7 cepa 125/99 aislada de paciente con SUH y la isogénica mutada en el gen *stx2* (O157:H7 Δ stx2). Además, se ensayará la neutralización de anticuerpos monoclonales recombinantes sobre la acción de Stx2 en experimentos en ratones lactantes inoculados con Stx2 y *E. coli* O157:H7. Estos estudios permitirán aportar hacia la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos cuyo entendimiento es fundamental para el desarrollo de herramientas eficaces para la prevención y tratamiento para el SUH. El practicante estará comprendido en el UBACYT 2018-2021 No 20020170100600BA dirigido por la Dra Cristina Ibarra.

OBJETIVOS A CUMPLIR

El practicante deberá aprender los conocimientos teóricos a través de la lectura de bibliografía del área que incluye las publicaciones científicas nacionales e internacionales. En particular deberá conocer en detalle los trabajos científicos publicados por el grupo de investigación del laboratorio referida al proyecto de trabajo. El practicante ayudará en distintas actividades relacionadas con cada una de las líneas de investigación del laboratorio. Aprenderá a analizar e interpretar los resultados en los que realice la colaboración. El objetivo fundamental es el aprendizaje de técnicas de laboratorio, diseño experimentales y análisis de resultados para realizar un aporte original que contribuirá a la comprensión del estado de salud enfermedad.

Durante el proceso de aprendizaje se desarrollará su pensamiento crítico que le permitirá comprender que la toma de las mejores decisiones siempre estarán guiadas por distintos grados de incertidumbre que deberá poder manejar. La formación de pensamiento crítico será esencia para su formación médica.

CARGA HORARIA: 15 hs semanales totales