

LA AVENTURA DE LA CIENCIA. DE LOS CROMOSOMAS A LOS GENES Y OTRAS ANDANZAS

Palabras clave: Aventura ciencia, cromosomas, genes.

Key words: Science adventure, chromosomes, genes.

■ Néstor O. Bianchi

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular
(IMBICE, CONICET-CICPBA)
Calle 526 entre 10 y 11. CC 403. 1900 La Plata.

secretaria@imbice.org.ar

■ 1. A MODO DE PRÓLOGO

Varias veces me invitaron a escribir una reseña de mi actividad como científico y hasta el presente nunca había aceptado hacerlo. Toda tarea humana implica un entrelazado de acciones con otras personas y aún para la Ciencia la forma en que se almacenan los recuerdos de las circunstancias que precedieron y condujeron a un determinado resultado es diferente en la memoria de cada uno de los participantes. El temor a favorecer solo mi visión de los hechos explica mi reticencia a documentarlos en un texto. Creo, sin embargo, que ha llegado el momento de asumir el desafío; el riesgo de presentar un relato sesgado aún persiste pero dado el tiempo transcurrido entre los acontecimientos y el presente es preferible relatar una parte de ellos a perderlos por completo.

Cuanto más conciso y concreto es un trabajo científico, mayor es la probabilidad de ser aceptado para publicación debido a la com-

petencia por espacio en las revistas de la especialidad. ¿De qué manera se gestó la idea que precedió a la investigación? ¿Qué dificultades tuvieron que sortearse? ¿Cuántos intentos fallidos y cuantas frustraciones precedieron la satisfacción del éxito? Estos son todos interrogantes que nunca se aclaran en los trabajos y que sólo obtienen respuesta del boca a boca de las sobremesas o de los encuentros informales entre colegas en las reuniones científicas. Mi intención es reflejar en este texto los aspectos que considero más relevantes de mi trayectoria y los motivos y eventualidades que los rodearon. Las secciones que siguen han sido organizadas por eventos. Dado que distintas actividades estuvieron superpuestas en el tiempo el orden cronológico de las mismas será mencionado pero tendrá un rol secundario. Una reseña no es un trabajo científico. Por lo tanto sólo se incluye una sección de bibliografía con referencias que documentan algunos acontecimientos o hallazgos; como complemento se mencionan

en el texto revistas, autores y años para facilitar la búsqueda de los trabajos por internet para el lector que tenga algún interés al respecto. **¡Comencemos a desentrañar recuerdos!**

■ 2. LOS COMIENZOS.

Mi infancia fue feliz. Nací el 18 de Abril de 1931 como hijo único de un matrimonio treintañero integrado por Carlos Juan Bianchi quien había sido actor gauchesco de la compañía de Pepe Podestá, carpintero y capataz de una cuadrilla de Vialidad de la Provincia de Buenos Aires al momento de mi nacimiento. Mi madre, Sara A. Adrogué, era modista y tenía un taller de costura en una casona de La Plata a la cual entramos a residir con mis abuelos el 24 de Junio de 1935, día en que falleció Carlos Gardel. Viví en esa casa hasta 1996 y por ella pasaron cuatro generaciones de la familia: mis abuelos, mis padres, mi esposa, la Dra. Martha S. Albarellos, médica e investigadora del CONICET y mis

dos hijos Carlos Marcelo el mayor y César Esteban el menor. Nadie de mi rama paterna o materna había tenido un título universitario, por lo tanto mis padres dedicaron sus mayores esfuerzos a que yo recibiera la mejor educación posible. Fue así que cursé la escuela primaria en el Colegio Monseñor Razore, el secundario en el Colegio San José y en 1949, luego de aprobar el examen de ingreso, entré a la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de La Plata y recibí el título de médico el 28 de Diciembre de 1955 (¡día de los Santos Inocentes!) con un promedio de nota de 9,33 (en aquel entonces los exámenes se calificaban con puntuación). Desde el tercer año de mi carrera médica comencé a concurrir al servicio de clínica médica de la Sala 1ª del Hospital Policlínico (hoy Instituto General San Martín) de La Plata y me formé bajo la dirección de los Dres. Rodolfo Rossi, Arturo Cabarrou y Héctor V. Caino. Bajo la dirección del Dr. Alberto Cingano hice mis primeras prácticas de cirugía y emergencias en el Servicio de Guardia del Policlínico y por algún tiempo tuve como compañeros de guardia a los Dres. René Favalaro y Felix Cantarovich. A instancias de Cabarrou y Caino comencé a asistir al Servicio de Nutrición y Endocrinología del Hospital Policlínico y bajo la dirección de ellos durante 1956 preparé, defendí y aprobé con sobresaliente mi Tesis de Doctorado sobre el tema "*Síndrome de Klinefelter, Reinfenstein y Albright*".

Si tuviera que elegir un punto de partida formal para mi actividad en la investigación científica este sería 1954, año de publicación de mi primer trabajo *-Las manifestaciones viscerales del lupus agudo diseminado-* en colaboración con Caino, Cabarrou y Fabris (Caino y cols., 1954). Casi 300 publicaciones más sobre temas médicos, de investigación clínica, de citogenética, gené-

tica molecular, ética y legislación en genética continuaron mi primera aventura como autor científico.

En la segunda mitad de la década de 1950 comenzó una investigación colaborativa internacional para evaluar la respuesta terapéutica de la diabetes mellitus a las sulfonilureas y otros compuestos orales y el Servicio de Nutrición y Endocrinología del Policlínico al cual yo concurría regularmente fue seleccionado como uno de los centros que participaban en la testificación de estos nuevos fármacos. Fue así que parte de mis publicaciones, 13 trabajos de un total de 35 publicados durante el período 1956-1963 fueron el resultado de la experiencia adquirida con los hipoglucemiantes orales. En este tema, uno de los aportes más importantes que resultaron de nuestras investigaciones fue la demostración del leve o nulo daño hepático que acontecía en los tratamientos prolongados, en una época donde el deterioro hepático era considerado uno de los riesgos de los tratamientos continuados con antidiabéticos orales (Cabarrou y cols., 1959; Laguens y Bianchi, 1963).

En 1949 Barr y Bertrand comunicaron que en el núcleo de las neuronas de los gatos hembra se distinguía un corpúsculo de cromatina que no aparecía en los machos. Poco tiempo después se demostró que este "corpúsculo de Barr" o "cromatina sexual" aparecía en todos los tejidos de las hembras de mamíferos y estaba ausente en los machos. A fines de la década de 1950 se conocía que en las disgenesias gonadales tipo Turner, con fenotipo femenino la cromatina sexual estaba ausente mientras que en los síndromes de Klinefelter que exhibían un fenotipo masculino el corpúsculo de Barr estaba presente. En ese entonces se discutía si la cromatina sexual ocurría por la fusión y condensación de

los dos cromosomas X en los mamíferos hembra. Mi tesis sobre síndrome de Klinefelter había despertado mi interés en el tema y, en consecuencia, dediqué mis esfuerzos a buscar una respuesta al interrogante. Publicamos cuatro trabajos al respecto utilizando ratones de ambos sexos con hepatectomía parcial en los cuales analizábamos la formación de la cromatina sexual en las células en profase mitótica durante el proceso de regeneración hepática posthepatectomía. Así pudimos demostrar que la cromatina se originaba por la condensación de uno de los cromosomas X de las hembras y que su ausencia en los machos se debía a la falta de condensación del único X del par XY (Bianchi y Bianchi, 1963). Además para facilitar el estudio en embriones y fetos publicamos en *Nature* un método para estudiar la cromatina sexual en la membrana amniótica de los embriones tempranos de rata (Bianchi y Bianchi, 1966).

En 1960, en colaboración con A. Caino, A. Cabarrou, R. Laguens y M. Palatnik publiqué en la *Revista de Clínica Española* mis dos primeros trabajos en citogenética humana (Bianchi y cols., 1960; Laguens y cols., 1960). En esa época el análisis cromosómico se efectuaba en cultivos de médula ósea. Estas publicaciones me abrieron las puertas para que la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA) me concediera una beca de cinco meses en el *Presbyterian Hospital* de Nueva York para trabajar con los Dres. Melvin M. Grumbach y Akira Morishima. Durante ese período recibí entrenamiento para realizar estudios citogenéticos en muestras de sangre cultivadas in vitro. Asimismo, en la *Columbia University*, en el laboratorio de Herbert Taylor quien recientemente había efectuado un aporte importante para confirmar la síntesis

semi-conservativa del ADN, realicé mis primeras experiencias en el análisis de la replicación cromosómica humana mediante la marcación de células con timidina tritiada (TdH3) durante el periodo de síntesis del ADN y el posterior estudio de distribución de la radioactividad mediante técnicas autoradiográficas en los cromosomas en metafase.

A mi regreso a Argentina en 1962, la CICPBA me facilitó fondos y espacio físico en el sector de laboratorios de su sede para instalar un laboratorio de investigaciones citogenéticas humanas. En aquel entonces el presidente y el vicepresidente de CICPBA, Dres. Héctor Isnardi (físico) y Martín Vucetich (médico) respectivamente, mantenían una posición diferente de la del Presidente del CONICET, Dr. Bernardo Houssay. Para Isnardi, Vucetich y demás integrantes del Directorio de la CICPBA los investigadores debían mantenerse en contacto con la sociedad ejerciendo sus profesiones y la investigación científica debía ser un complemento adicional. En la década de 1960 era médico del Policlínico con un cargo de la Provincia, atendía el consultorio de endocrinología del Hospital Naval de Río Santiago, por las tardes atendía pacientes en forma privada y además era Jefe de Trabajos Prácticos en la Cátedra de Patología Médica del Dr. Luciano Andrieu en la Facultad de Medicina de La Plata. Mi tiempo para la investigación eran los fines de semana y los días hábiles a partir de las 19 horas. Estas actividades se mantuvieron hasta el comienzo de mi radicación en Nueva Orleans, EE.UU., a principios de 1970. Durante esos ocho años de actividad continua la vida familiar se mantuvo normalmente gracias a dos circunstancias favorables. Mi esposa, Martha S. Albarells, también Dra. en Medicina y pediatra se ocupaba de nuestros hijos y comenzó activida-

des de investigación con el fin de compartir conmigo parte de su tiempo. Además, la convivencia en nuestra casona de La Plata con mi madre facilitó la atención de la rutina hogareña. Entre 1962 y 1970 publiqué 35 trabajos en revistas internacionales. Varias de estas publicaciones, por su importancia, serán mencionadas en las secciones siguientes. Sin embargo deseo destacar aquí tres trabajos que consolidaron mi trayectoria en la citogenética molecular humana. En 1965, con mi esposa comunicamos en *Chromosoma* la cronología completa de síntesis del ADN en los cromosomas humanos. En este trabajo se confirmaba la replicación tardía en las mujeres del cromosoma X que formaría la cromatina sexual y por primera vez se describía el comienzo tardío de la replicación del cromosoma Y (Bianchi y Bianchi, 1965).

En 1964, durante una estadía en el laboratorio de Antonio Lima de Faría en la Universidad de Lund, Suecia, en colaboración con Peter Nowell (quien en 1960 conjuntamente con D. Hungerford había descrito el cromosoma "*Philadelphia* (Ph)" en la leucemia mieloide crónica (LMC)) iniciamos el análisis de la replicación del ADN en cultivos de células de pacientes de LMC centrandó nuestro estudio en el comportamiento del cromosoma Ph (Lima de Faría y cols., 1967). Aunque no encontramos nada especial, nuestros estudios fueron el preámbulo que sirvió para descifrar el mecanismo fino generador de la anomalía cromosómica involucrada en el origen de la leucemia mieloide crónica.

Los estudios autoradiográficos de cromosomas marcados con TdH3 eran largos y tediosos. Los cromosomas radiactivos sensibilizaban el film autoradiográfico y luego de revelada la película autoradiográfi-

ca y recolorados con Giemsa los cromosomas marcados mostraban grumos de sales de plata en las zonas cromosómicas que habían captado la TdH3 durante la síntesis de ADN. Sin embargo, estos precipitados de plata dificultaban la identificación cromosómica y por lo tanto antes de la autoradiografía era necesario teñir y fotografiar las metafases, para volver a fotografiar e identificar las radioactivas después del proceso autoradiográfico. Habitualmente, no más de un 25% a un 30% de las metafases analizadas había captado la TdH3 durante el proceso de replicación del ADN. Por tal motivo era muy común que hubiera que fotografiar varios cientos de metafases para obtener un número suficiente de células marcadas que hicieran posible indagar la secuencia de la replicación cromosómica. Conjuntamente con Lima de Faría y Halina Jaworska, una investigadora polaca, presentamos en *Hereditas* una modificación técnica (Bianchi y cols., 1964). Primero teñíamos los cromosomas con un colorante resistente a los reactivos fotográficos, luego efectuábamos la autoradiografía y solo registrábamos las metafases radioactivas. Finalmente hacíamos invisibles los granos de plata mediante un tratamiento químico y luego volvíamos a fotografiar las mismas metafases para identificación cromosómica. Obviamente esta simplificación y eficiencia metodológica fue rápidamente adoptada por la mayor parte de los laboratorios que analizaban la replicación cromosómica.

■ 3. LOS ROEDORES AKODON Y EL MISTERIO DE LA REVERSIÓN DEL SEXO.

A mediados de 1965, a través de Jorge Serraino, quien años más tarde se desempeñaría como técnico bajo mi dirección, conocí a Julio Contre-
ras, en aquel entonces estudiante de Biología dedicado al estudio taxo-

nómico de los roedores silvestres. Recuerdo que Julio me trajo tres ejemplares, un macho y dos hembras, de *Akodon azarae*, Rodentia, Cricetidae, capturados en la zona de Berazategui, provincia de Buenos Aires, para que les efectuara el estudio cromosómico. Al cabo de una semana habíamos determinado que el número cromosómico diploide de la especie era 38. Sin embargo, con gran sorpresa encontramos que una hembra era XX, pero la otra tenía un par sexual idéntico al del macho. Lo primero que se me ocurrió fue lo más obvio: un ejemplar había sido identificado incorrectamente y era macho en lugar de hembra. Sin embargo, teníamos en el congelador los restos de los ejemplares estudiados y el sexado había sido acertado. En un par de meses Contreras me trajo varios ejemplares más y el hallazgo se repetía: aproximadamente un 50% de las hembras tenía un par sexual idéntico al de los machos. Con los conocimientos sobre determinación sexual de aquellos años era temerario pensar que pudiera haber en la naturaleza hembras de mamíferos XY que fueran fértiles. Los problemas que planteaba una hipótesis de este tipo eran de tal magnitud que haría casi imposible que un comité de revisores diera el visto bueno para la publicación de nuestro hallazgo. Fue así que comenzamos a estudiar otras especies de *Akodon* para determinar si el fenómeno era extensivo a otras variedades del género. Sin embargo no teníamos ni las facilidades ni los fondos para ir a regiones geográficas con especies de *Akodon* diferentes de *azarae*. ¿A quién podíamos convencer de financiar un proyecto basado, para aquella época, en una hipótesis increíble y fantástica? A mediados de 1966 conseguí que el Dr. Frederick H. Kasten, de la *Pasadena Foundation for Medical Reserch* me invitara a dar una conferencia sobre replicación cromosómica. En Pasadena,

California, estaba también el *City of Hope Medical Center* (institución en la cual trabajaría 32 años más tarde), donde tenía su laboratorio Susumu Ohno, la máxima autoridad del momento en cromosomas sexuales y determinación sexual, con quien había estado intercambiando correspondencia acerca de mis hallazgos en *A. azarae*. En Septiembre de 1966 viajé a Pasadena y visité a Ohno, su respuesta a la posible existencia de roedores con hembras XY fértiles fue tajante: ¡¡era imposible!! Intentar publicar un trabajo con esa hipótesis también sería imposible. Fue así que en 1967 en la revista *Cytogenetics* (hoy *Cytogenetics and Cell Genetics*) comunicamos con Contreras que aproximadamente el 50% de las hembras de *A. azarae* en lugar de inactivar un cromosoma X por condensación y formación del corpúsculo de Barr, mostraban un mecanismo extremo de inactivación que producía la pérdida (deleción) de todo el brazo largo de un cromosoma X, quedando solo el brazo corto y un par sexual Xx con una morfología idéntica al XY de los machos (Bianchi y Contreras, 1967). No estábamos del todo conformes pero era una buena hipótesis alternativa y quizá fuera verdad, pero más importante aún, nos daba bases sólidas para obtener financiación y llevar adelante nuestro proyecto. En los años siguientes encontramos el mismo fenómeno en *A. varius* de Tucumán, *A. boliviensis* de Cuzco, Perú y en *A. mollis* capturados en las laderas del volcán Cotopaxi, en Ecuador. Sin embargo, la demostración de que el cromosoma sexual variante de algunas hembras de *Akodon* no era un "x" delecionado sino un verdadero Y tuvo que esperar más de 20 años, cuando en una secuencia de tres trabajos realizados y publicados en colaboración con Albert de la Chapelle, de la Universidad de Helsinki, Finlandia, identificamos genes Y-específicos en

las hembras con par sexual variante (Bianchi y cols., 1989, 1992, 1993). Uno de los genes estudiados fue el *Sry* cuya acción es iniciar el desarrollo testicular en los machos de mamíferos. En las hembras XY no pudimos encontrar ninguna pista que indicara porque este gen falla en su función y permite el desarrollo de un ovario fértil. Mi último trabajo sobre el tema apareció en 2002 en un número homenaje a Carl Fredga (sueco, gran amigo y especialista en genética de la determinación sexual en roedores) de la revista *Cytogenetics and Cell Genetics*. En esta revisión analizamos a fondo lo hecho en más de 35 años de investigación en el tema, los posibles mecanismos de reversión sexual en *Akodon* y mi incapacidad para encontrar la respuesta final a un interrogante que aún persiste (Bianchi, 2002).

Akodon es un género de cricétidos sudamericanos. En mi búsqueda de hembras XY capturé o recibí roedores desde Venezuela a Tierra del Fuego. No solamente encontramos otras especies con hembras XY sino que encontramos mecanismos interesantísimos de citogenética evolutiva que me llevaron a comenzar los estudios genéticos de especiación en *Akodon* y en otras variedades de vertebrados. El balance final fue un total de siete tesis de doctorado aprobadas, 56 publicaciones en coautoría con más de 20 investigadores argentinos entre los cuales deseo mencionar por sus aportes a O. Reig, S. Merani, M. Lizarralde y A.J. Solari, con investigadores chilenos (R. Fernández Donoso), brasileños (W. Beçak, J. Paulette-Vanrell), ecuatorianos (G. Cantos, L. Lobato Santillán), colombianos (M. Quintana Sosa) estadounidenses (J.L. Patton, A.L. Gardner), italianos (E. Capanna, C.A. Redi, E. Garagna), suecos (U. Gripenberg) y finlandeses (A. de la Chapelle, P. Peltomaki).

■ 4. CESANTÍAS, CLASTOGÉNESIS, MUTAGÉNESIS Y CARCINOGENÉISIS.

En 1968, durante el gobierno *de facto* del Gral. Francisco Imaz en la provincia de Buenos Aires, asumieron nuevas autoridades en la Comisión de Investigaciones Científicas y al año siguiente resolvieron que los investigadores que desearan continuar trabajando en los laboratorios de la CICPBA debían hacerlo bajo el régimen de dedicación exclusiva, ingresando a la nueva carrera de investigación científica implementada por el gobierno provincial. Mi esposa y yo estuvimos entre los pocos que aceptaron la propuesta. Fuimos evaluados por comisiones asesoras del CONICET y clasificados en la categoría equivalente a "Investigador Independiente". Dejé de atender mi consultorio y solicité licencia sin goce de sueldo por un año en mis cargos estatales. Otro tanto hizo mi esposa. ¡Era agradable dedicar el día a la investigación y disponer de los fines de semana y las noches para la familia! Existía sin embargo un inconveniente: la carrera de investigador de la provincia, que creíamos vigente, no había sido aprobada (fue promulgada varios años después) y por lo tanto a fin de mes no recibíamos remuneración alguna. Al cabo de cuatro meses de no recibir retribución los ahorros y la paciencia estaban casi agotados. Envié una nota de reclamo a las autoridades de CICPBA y al conocer la inexistencia de la carrera de investigador elevé una nota de protesta y en respuesta a la misma recibí la cesantía de un cargo inexistente. En esa misma época asumí un nuevo Directorio en la *Pasadena Foundation for Medical Research*, y Frederick H. Kasten, con quien mantenía contacto epistolar, me informó que había sido considerado prescindible, que había aceptado el cargo de Profesor Titular de Anatomía en la *Louisiana State Uni-*

versity (LSU) de Nueva Orleans, que estaba organizando un nuevo laboratorio de investigación, y que me invitaba a sumarme a su grupo con el cargo de Profesor Asistente. Inmediatamente acepté; la LSU me gestionó una visa permanente y pagó mi viaje a Nueva Orleans. A fines de 1969 asumí el cargo de Profesor y comencé a ahorrar dinero para trasladar a mi familia a Estados Unidos. A principios de 1970 llegaron mi esposa y mis hijos y entonces aconteció un nuevo episodio que se sumó al conjunto de eventos extraños que sucedieron en esos años. Nueva Orleans era también la sede de la *Gulf South Research Institute* (GSRI), entidad no gubernamental ("*non-profit*") que obtenía sus recursos de los contratos ganados por concurso para el desarrollo de temas de investigación específicos. Dirigía el Departamento de Biología de la GSRI un buen amigo de F.H. Kasten, el Dr. Benjamin Sweet quien había sido un importante colaborador de Jonas Salk en la producción de la vacuna antipoliomielítica inyectable. Sweet también había descubierto, y le había sido prohibido que publicara, que la vacuna aplicada a millones de niños estaba contaminada con virus SV40, el cual aumentaba el riesgo de carcinogénesis en humanos. Por una cuestión de conciencia Sweet publicó su hallazgo (Sweet y Hillerman, 1960). El resultado de esa publicación fue el esperado: Sweet perdió su cargo, pasó a desempeñarse en la GSRO y a fines de 1969 ganó un importante contrato para producir una vacuna antirubeólica libre de contaminación viral, para lo cual necesitaba un investigador que se hiciera cargo del establecimiento de las líneas celulares a utilizarse en la producción de la vacuna y para evaluar el daño cromosómico inducido por virus en las células. A instancias de Kasten, Sweet me ofreció y yo acepté, la dirección del laboratorio de cultivo celular y mi

esposa me reemplazó en el cargo de Profesor Asistente de la LSU. Las tareas en la GSRI consolidaron mis conocimientos sobre clastogénesis (daño cromosómico inducido) y se plasmaron en seis publicaciones en coautoría con Sweet y J. Ayres (Bianchi y cols., 1975).

A fines de 1971, a instancias de la Comisión Directiva de la Sociedad Argentina de Genética presidida por el Dr. Juan Hunziker, fui incluido por el Dr. Bernardo Houssay en una lista de investigadores argentinos en el extranjero invitados a regresar al país. Acepté la invitación y en 1972 regresé a Argentina como investigador del CONICET con lugar de trabajo en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina en Llavallol, dirigido en aquel entonces por el Ing. Luis Mazotti. En 1974, durante la Presidencia del Dr. Antonio Rodríguez en la CICPBA, y de Vicente H. Cicardo en el CONICET, por convenio entre las dos instituciones, se creó y asumí la dirección del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE) con sede en la sección de laboratorios de la CICPBA. La planta inicial de investigadores del IMBICE fueron los Dres. Jose R. Grigera, Alberto Solari, Angela Suburu, Martha S. Albarellos y Lidia Vidal Rioja, siendo Néstor Carri el primer becario externo del instituto. Ya en el IMBICE continué los estudios de clastogénesis, mutagénesis y carcinogénesis consolidados en el GSRI, y los amplié mediante dos estancias por año sabático: en el *Laboratory of Radiobiology and Environmental Health* de James Cleaver en San Francisco (1983-1984) y en el laboratorio de Gerald Holmquist (1998-1999) en *City of Hope Medical Center*, Pasadena (donde me encontré con S. Ohno y los *Akodon* hembra XY). Cleaver y Holmquist eran y son internacionalmente reconocidos por sus investigaciones sobre los mecanismos de reparación del daño indu-

cido por la radiación UV en el ADN. Con ellos analicé los cambios de estructura de la cromatina producidos por UV y los resultados obtenidos se detallaron en dos publicaciones en coautoría con Cleaver (Bianchi y cols., 1984, 1985) y en un trabajo en colaboración con Ye y Holmquist (Ye y cols., 1999).

Las dosis muy bajas de radiaciones ionizantes producen un daño cromosómico que es muy difícil de evaluar debido a la reducida frecuencia de metafases afectadas. Por lo tanto, un análisis estadístico confiable de las alteraciones cromosómicas inducidas requiere el análisis de miles de mitosis. Los estudios de este tipo habitualmente exceden la capacidad de los laboratorios de citogenética. En 1980, la Agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA por sus siglas en inglés) me invitó a participar en un grupo colaborativo con otros 22 investigadores internacionales para efectuar un esfuerzo conjunto destinado a evaluar el daño cromosómico inducido por dosis bajas de neutrones y otras radiaciones ionizantes en linfocitos humanos; integrábamos ese grupo (por orden alfabético) los siguientes investigadores: Albarellos M.S., Bianchi N.O., Brewen J.G., Buckton K.E., Fabry L., Fischer P., Gooch P.C., Kucerová M., Léonard A., Mukherjee R.N., Mukherjee U., Nakai S., Natarajan A.T., Obe G., Palitti F., Pohl-Rüling J., Schwarzacher H.G., Scott D., Sharma T., Takahashi E., Tanzarella C. y van Buul P.P.W. Como resultado del esfuerzo conjunto aparecieron cuatro publicaciones; el último de estos trabajos en coautoría con los participantes del Grupo IAEA lo publicamos en 1986 en *Mutation Research*, con Pohl-Rüling como primer autor (Pohl-Rüling y cols., 1986).

El 26 de Abril de 1986 ocurrió el accidente nuclear de Chernobyl, en Rusia. Inicialmente el gobierno de

la Unión Soviética solicitó la ayuda de la AIEA para evaluar el daño cromosómico en las personas expuestas a diferentes dosis de radiación y la Agencia recurrió a nuestro grupo colaborativo. Sin embargo, cuando la estrategia del estudio estaba planificada y a días de comenzar, la Unión Soviética cambió su posición y solo permitió la participación de investigadores soviéticos y estadounidenses no asociados con entidades internacionales. Recién en 1990 diversas agencias, entre ellas la IAEA, fueron autorizadas a realizar observaciones e informes sobre lo acontecido con los individuos expuestos a las radiaciones del accidente Chernobyl. En esa época nuestro grupo había terminado sus funciones y aunque no participamos de las visitas a Chernobyl los datos obtenidos con dosis bajas de neutrones fueron empleados en los informes de la AIEA.

Como corolario de esta sección debo mencionar: que se publicaron un total de 62 trabajos sobre mutagénesis y daño cromosómico inducido (clastogénesis) en colaboración con investigadores nacionales e internacionales; que dirigí ocho becarios del CONICET (M. Larramendy, 1976; H. Panisse, 1980; E. Hasson, 1983; D. Lopez Larraza, 1986; E. Villacis-Guzman, 1988; G. Paez 1998; S. Richard, 2000 y W. Pavicic, 2004) y que culminaron exitosamente cuatro tesis doctorales sobre mutagénesis y clastogénesis bajo mi dirección (D. López Larraza, G. Paez, S. Richard y W. Pavicic). En la actualidad el Dr. Alejandro Bolzan ha reemplazado a la Dra. M.S. Albarellos en la dirección del Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, continuando activamente las investigaciones en esta disciplina.

■ 5. LAS EVAS Y EL ADÁN AMERICANO.

En 1992, durante una visita a la

Facultad de Medicina en Santiago de Chile mi buen amigo y excelente antropólogo Francisco (Pancho) Rothhammer me invitó a iniciar una investigación conjunta empleando el ADN mitocondrial (ADNmt) para rastrear el inicio del poblamiento del continente americano. El ADNmt tiene una serie de peculiaridades que lo hacen apropiado para este tipo de estudios. Se transmite a la descendencia por vía exclusivamente materna (los varones y las mujeres lo reciben de su madre pero solo las hijas lo transmiten a la siguiente generación) y además tiene una alta frecuencia de mutaciones como consecuencia del daño inducido en el genoma mitocondrial por los mecanismos respiratorios que acontecen en la mitocondria y la deficiencia de esta organela para repararlos. Por tal motivo, todos los individuos de una población que comparten una misma mutación del ADNmt tienen una alta probabilidad de constituir un linaje descendiente de la primera mujer (¿Eva?) que tuvo la mutación. Por otra parte, empleando métodos que determinan la frecuencia de aparición de mutaciones nuevas en el ADNmt es posible estimar la antigüedad del origen del linaje.

Entre 1992 y 1993, empleando ADNmt, el grupo de A. Torroni había propuesto la cronología de poblamiento del continente americano, estableciendo que la casi totalidad de los amerindios podían agruparse en cuatro linajes maternos (haplotiposmt) que habían entrado a América desde el noreste de Asia, a través del corredor de Beringia formado por la menor profundidad del mar de Behring durante el último período de glaciación.

A mediados de 1993, en colaboración con F. Rothhammer, G. Bailliet, F. Carnese y C. Bravi, estudiamos el ADNmt de 109 amerindios de tres tribus argentinas y chilenas y rea-

nalizamos los datos de la literatura correspondientes a 482 indígenas integrantes de 18 tribus americanas. Nuestra publicación de 1994 (Bailliet y cols., 1994) confirmó los linajes de Torroni pero además agregó algunos nuevos linajes fundadores que sumaron unas Evas más a las cuatro descritas por Torroni. La propuesta de nuestro trabajo tuvo una buena recepción en la comunidad científica y mereció comentarios elogiosos en un editorial de R.L. Cann aparecido en 1995 en la misma revista de nuestra publicación (Cann, 1995). En años posteriores nuestro grupo y otros grupos de antropólogos confirmaron y reclasificaron varios de los nuevos linajes maternos descritos en 1994 (ver: MITOMAP, <http://www.mitomap.org/MITOMAP>).

¿Si el ADNmt nos había demostrado la existencia de varias Evas amerindias, por qué no buscar los Adanes? El primero en plantearme esta idea en 1994, fue mi colega y amigo Sergio Pena de Belo Horizonte, Brasil. La forma de hacerlo era mediante el análisis del cromosoma Y. En este cromosoma reside el gen que inicia el desarrollo del testículo y la subsiguiente diferenciación del fenotipo masculino. Es esencial que este gen no recombine como lo hacen los genes autosómicos, ya que si lo hiciera la bisexualidad y la reproducción de los mamíferos sería decididamente diferente de la que conocemos. En consecuencia, el cromosoma Y es el resultante de una serie de cambios evolutivos destinados a evitar la recombinación en la mayor parte del cromosoma. A esta región no-recombinante se la denomina Y-específica. Debido a esta peculiaridad el Y, a diferencia del ADNmt, se transmite por vía masculina de padres a hijos de tal forma que toda la descendencia masculina de un individuo que por primera vez mutó su región Y-específica recibirán el mismo marcador y tal individuo será el Adán de un linaje.

En 1994 la información sobre la secuencia del cromosoma Y humano era escasa, por lo tanto decidimos emplear dos marcadores Y-específicos: una secuencia alfoide (α) que exhibía 23 formas variantes y un microsatélite (DYS19) con 5 alelos posibles la combinación de estos dos marcadores nos permitía identificar 115 cromosomas Y diferentes (linajes o haplotipos-Y). Empleando esta estrategia estudiamos los cromosomas Y de individuos de etnias Africanas, Caucásicas, Asiáticas y Amerindias. En las poblaciones Africanas, Caucásicas y Asiáticas identificamos 13 a 23 linajes diferentes. En la población Amerindia un 74% de los varones pertenecía a un único linaje y este porcentaje ascendía al 91% cuando se descartaban los casos donde era clara la existencia de mezcla génica no amerindia. ¡¡Habíamos identificado un Adán amerindio!! Sabíamos que el laboratorio de L. Cavalli-Sforza estaba persiguiendo el mismo objetivo y esto nos apresuraba a publicar nuestros hallazgos. Inmediatamente redactamos una comunicación breve y la enviamos a *Nature*. Sin embargo, los editores prefirieron que fuera a una revista más especializada y nos aconsejaron reenviarla a *Nature Genetics*. Así lo hicimos y a principios de 1995 el trabajo vio la luz (Pena y cols., 1995). Un año más tarde aparecieron los datos de Cavalli-Sforza (Underhill y cols., 1996) confirmando nuestros hallazgos y al año siguiente un nuevo trabajo de nuestro grupo ampliaba y ratificaba definitivamente nuestra primera publicación (Santos y cols., 1997). Por otra parte en dos editoriales de la revista *Science* se reconocía la validez de nuestra identificación del Adán Amerindio (Gibbons, 1996; de Mendoza y Braginski, 1999).

En los siguientes años fuimos adquiriendo mayor información y ampliando el número de marcadores de ADNmt, Y-específicos y autosómicos.

El resultado fue la publicación de 28 trabajos de antropología molecular en los cuales participé como autor principal o coautor, además recibieron becas del CONICET Graciela Bailliet, Verónica Martínez Marignac y Claudio Bravi y los tres culminaron exitosamente sus tesis doctorales. En la actualidad Graciela y Claudio han formado sus equipos de trabajo y llevan adelante en el IMBICE, de forma independiente las investigaciones en antropología y genética molecular poblacional.

La información adquirida con el empleo del ADNmt y el cromosoma Y en antropología me permitió aplicar estas herramientas de trabajo en nuestros estudios de carcinogénesis y publicar 11 trabajos comunicando la presencia de mutaciones, deleciones e inestabilidad del ADNmt y del cromosoma Y en diversas formas de cáncer. El análisis crítico de estos hallazgos ha sido informado en una revisión sobre el cromosoma Y en procesos malignos (Bianchi, 2009) y en otra sobre ADNmt en cáncer (Bianchi, 2010) publicada en un número especial de *Cytogenetics and Genome Research* dedicado al amigo e investigador uruguayo Máximo Drets con motivo de su octagésimo aniversario.

■ 6. INDOCUMENTADOS. AVENTURAS Y OTRAS DIGRESIONES.

En las secciones anteriores la documentación existente fue una ayuda-memoria esencial para reconstruir la cronología y las circunstancias que rodearon a las investigaciones y las vivencias relatadas. Otros acontecimientos no fueron mencionados pues el ejercicio de transportarlos del pasado al presente descansa sólo en mi memoria y me cuesta aceptar y hacer público que no soy "Funes el memorioso", personaje del increíble cuento de Borges. He dudado en decidirme a in-

cluir esta sección, pero finalmente la incorporé a la reseña porque los hechos que describiré o influyeron mi futuro o relatan un acontecimiento poco conocido. Confío que la benevolencia del lector compensará los hiatos de mi memoria.

En 1962, conjuntamente con los colegas chilenos Danko Brncic y C. Zañartu organizamos en Santiago de Chile un curso teórico-práctico de citogenética humana e invitamos a participar en el mismo a Michael Bender del Laboratorio Nacional de Oak Ridge, Tennessee. Bender era un experto en daño cromosómico inducido por radiaciones ionizantes y debido a mi interés en el tema iniciamos un intercambio epistolar. A principios de la década de 1960, las agencias espaciales rusa y la estadounidense (NASA) habían acumulado información acerca del daño celular que acontecía en los astronautas como consecuencia de los vuelos espaciales. Por lo tanto en marzo de 1965 en el tercer vuelo de los 12 que conformaron la etapa "*Gemini*" comenzó el proyecto "*Blood In Gemini Device*" o BIG-1 bajo la dirección de M. Bender, con la finalidad de estudiar el riesgo de daño cromosómico en los astronautas por las dosis bajas de radiaciones y falta de acción gravitacional a la cual están sometidos durante los vuelos espaciales. Mediante el desarrollo de equipamiento y procedimientos especiales se cultivaron en la "*Gemini III*" cinco grupos de muestras de sangre duplicadas; un grupo sirvió de control y cada uno de los otros grupos fue irradiado con dosis crecientes de radiaciones β emitidas por fósforo-32. Otros cinco grupos de muestras se mantuvieron en tierra en las mismas condiciones experimentales que en la cápsula, excepto la falta de gravedad. Además se tomaron muestras de sangre de los tripulantes John Young y Virgil Grisson dentro de las 48 horas

previas y posteriores al vuelo de la *Gemini III*. Todas las muestras fueron transportadas al laboratorio de Bender en Oak Ridge para su procesamiento y análisis por el grupo BIG-1, del cual formé parte durante 10 días por invitación de Bender. En ese período participé en el análisis de las muestras de los astronautas y mis datos fueron una pequeña parte de la información publicada en 1967 por Bender, P.C. Gooch y S. Kondo, en el cual se informaba que en los cultivos irradiados durante el vuelo acontecía un incremento significativo de un tipo de anomalía cromosómica (ruptura de cromátida), en relación al daño inducido en los controles de tierra y que las condiciones de vuelo no generaban daño cromosómico en los astronautas. Tiempo más tarde, a través de Bender me relacioné con la IAEA y finalmente fui invitado por la Agencia a participar en el grupo colaborativo al cual hice referencia en la sección 3 de esta reseña. Los estudios con dosis bajas de radiaciones realizados con el patrocinio de la IAEA me llevaron a pensar que la ausencia de daño cromosómico en los astronautas Young y Grisson era aparente y se debía al insuficiente número de células estudiadas en relación con la baja dosis de radiaciones existentes en el espacio. Presunción que ha sido demostrada en varias publicaciones de la última década.

En 1970 necesitaba incorporar un virólogo a mi grupo de vacuna para la rubeola del GSRI de "*New Orleans*", para lo cual anunciamos la posición en la sección de avisos clasificados de la revista *Science*. Unos meses antes, el Presidente de Estados Unidos, Richard Nixon, había restringido severamente la actividad de los laboratorios de guerra biológica de Fort Detrick y había transferido parte de las facilidades al Departamento de Salud. Un número importante de investigadores de Fort

Detrick perdió su trabajo y cinco o seis virólogos de Detrick se presentaron a la entrevista de selección al cargo vacante en mi laboratorio. Todos ellos habían firmado un acuerdo de confidencialidad con el Gobierno que les impedía publicar los resultados de sus investigaciones. Por lo tanto para fundamentar su idoneidad nos relataban el tipo de investigaciones que habían realizado, lo cual me brindó información de primera mano sobre algunos de las técnicas de guerra biológica ofensiva. En Octubre de 1973, J.D. Perón asumió su tercer mandato como Presidente. Algún tiempo antes habían acontecido tres hechos significativos: un brote inusual de fiebre aftosa que generó una baja en la demanda de carne vacuna de exportación, una epidemia de peste aviar que diezmó los criaderos de pollos del litoral y produjo un aumento en el costo de la carne de ave y la aparición de varios casos de carbunco humano en el personal del zoológico de Buenos Aires. Por motivos que ignoro Perón sospecho que esos eventos podrían ser la consecuencia de una agresión biológica contra Argentina y por lo tanto decidió crear una comisión con investigadores de la Fuerzas Armadas, el CONICET y la Universidad para evaluar y proponer medidas defensivas contra una eventual agresión biológica a nuestro país. En esa época tuve varias entrevistas con el Dr. V.H. Cicardo, Presidente del CONICET, para interesarlo en la creación del IMBICE y en las conversaciones que mantuve con él le referí mi experiencia con los virólogos de Fort Detrick. Resultado: cuando llegó el pedido al CONICET de candidatos para la comisión de guerra biológica mi nombre fue propuesto y recibí la invitación oficial correspondiente. La comisión se reunió regularmente durante dos meses en la sede del organismo oficial de ciencia y tecnología dependiente del Ministerio de Educación.

El resultado final fue un documento en el cual participé en la redacción de la sección introductoria y en la preparación de gran parte del capítulo sobre las posibles formas de transmisión de virus patógenos mediante aves migratorias. Parte de estos datos se emplearon años más tarde para una publicación sobre el tema en un simposio de la especialidad (Bianchi, 1991). La sospecha de Perón de la vulnerabilidad de Argentina a una agresión biológica se confirmaría años después en el episodio de la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

El *Instituto Wistar* y la OPS colaboraban para probar la efectividad de una vacuna experimental recombinante "vaccinia/rabia" producida por los *Laboratorios Merieux* de Francia. Por lo tanto, en 1986, sin conocimiento y obviamente sin consentimiento del Gobierno Argentino, la OPS introdujo (en realidad contrabandé) al país por valija diplomática la vacuna recombinante y la probó en la granja de la OPS en Azul (provincia de Buenos Aires), inyectándola en un total de 20 vacas lecheras que eran ordeñadas por cuatro peones. El objetivo del experimento era evaluar la efectividad de la vacuna para inducir anticuerpos anti-viruela y anti-rabia no solamente en el ganado lechero sino también en los ordeñadores, ninguno de los cuales había recibido previamente la vacuna antivariólica, ni conocía el experimento, ni había dado el correspondiente consentimiento informado. Paralelamente, se emplearon como controles otras 20 vacas lecheras no inoculadas y los trabajadores rurales que las atendían. Al tomar conocimiento del hecho, las autoridades argentinas formaron una comisión con investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y con expertos de Ministerio de Salud Pública, quienes informaron que

todas las vacas inoculadas y tres de los cuatro peones a cargo de los animales inoculados habían generado anticuerpos para la rabia. Además se dictaminó que la investigación carecía de condiciones mínimas de seguridad, ya que las excretas del ganado no habían sido tratadas y la leche obtenida en parte había sido consumida por el personal de la granja y en parte había sido comercializada. Como consecuencia de este informe el experimento terminó tres meses antes de lo previsto, las 20 vacas inoculadas fueron sacrificadas previa toma de muestras de sangre y tejidos para estudio, se dio asistencia médica gratuita a los peones con reacción sérica positiva, la granja experimental de Azul fue cerrada y la Argentina se abstuvo de pagar la cuota anual de 400.000 dólares al Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO) que en colaboración con la OPS había facilitado los experimentos.

Tal como acontece en estos casos, todas las personas e instituciones involucradas hicieron su descargo y nadie asumió responsabilidad alguna: Hillary Koprowski, investigadora a cargo del experimento en el *Instituto Wistar*, y las autoridades de la OPS y del CEPANZO adujeron la existencia de convenios con la Argentina que permitían la entrada legal de la vacuna, aunque nunca explicaron porque la contrabandearon por valija diplomática sin conocimiento de las autoridades.

Resulta evidente que el episodio OPS fue un flagrante caso de agresión biológica a un país por una institución cuyo fin es velar y promover mejores condiciones de salud, sanitarias y de vida en América.

■ 7. A MODO DE COLOFÓN.

En el año 2000, después de 25 años de dirigir el IMBICE creí llega-

do el momento de dejar el cargo y permitir que otros investigadores con nuevas ideas y proyectos asumieran la orientación del Instituto. Me sucedieron los Dres. Eduardo Spinedi (2000-2002, interino), Ricardo Calandra (2003-2009), Alejandro Bolzán (2009-2011, interino) y Mario R. Ermácora, quien está en funciones en la actualidad. Un par de años más tarde cedí la dirección de mi laboratorio a Graciela Bailliet y mis dos últimos becarios, S. Richard y W. Pavicic, ingresaron a carrera de investigador del CONICET.

Luego de dejar el laboratorio me dediqué de lleno a profundizar los aspectos éticos y legales vinculados con la genética. En 2001, en colaboración con el legista Dr. Eduardo H. Tinant y el especialista en bioética Dr. José A. Mainetti, obtuvimos financiación del CONICET y creamos el Grupo de Estudios Legales y Éticos en Genética (GELEG), publicamos un libro en colaboración y dictamos cursos de la especialidad en el IMBICE y en la Facultad de Derecho de la Universidad Nacional de La Plata. Desde mi primer aporte al tema (*Revista de Política Científica. Cámara de Diputados, Provincia de Buenos Aires, 1988*) publiqué como autor o coautor ocho trabajos, dos libros e integré varios comités de ética que dieron asesoramiento a la Cámara de Diputados del Congreso de la Nación y a la Legislatura bonaerense para la preparación de tres proyectos de ley, uno de los cuales fue sancionado como ley en 1990 y está vigente en la actualidad (Ley 1044. Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos).

En 1990 fui nombrado Académico Correspondiente de la Academia de Ciencias Exactas Físicas y Naturales y Miembro de la Academia Latinoamericana de Ciencias. En 1992 fui incorporado como Miembro de la Academia Nacional de Ciencias.

Recibí varias otras distinciones y premios de los cuales deseo mencionar dos: el premio *Konex* en el Área de Genética y Citogenética (1993) y la designación como Doctor *Honoris Causa* de la Universidad Central de Ecuador.

En la sección 3 resumí las circunstancias que llevaron a la creación del IMBICE en 1974; es atinente mencionar aquí que otros dos institutos del CONICET, el IFLISYB y el IGEVET, fueron la resultante del pasaje al ámbito de la Universidad de dos investigadores de planta del IMBICE: Raul Grigera y Fernando N. Dulout. Por otra parte, desempeñé un papel importante en la creación de otras dos entidades: el Instituto Privado de Nutrición y Endocrinología de La Plata (IPENSA), el cual inició sus actividades en 1958 gracias al esfuerzo conjunto de los Dres. A. Cabarrou, H. Caino, N. Baylon, O. Pintado y el mío propio, y el Laboratorio de Ecogenética del CADIC en Ushuaia que dirigí durante varios años hasta que la Dra. M. Lizarralde me reemplazó en la función. K. Fredga de Suecia, J. Patton de Estados Unidos y O. Reig de Argentina realizaron estadías y tareas de campo en el Laboratorio del CADIC y este laboratorio fue el punto de partida de mis viajes de colecta de roedores a distintas zonas de Tierra del Fuego e Isla de los Estados.

De los muchos viajes realizados hay tres que gratifican mi memoria. En 1993 el apacible Prof. Huang Pan me invitó a dar un ciclo de conferencias en la Universidad Nacional Yang-Ming de Taiwán y en el año 2000 fui nuevamente invitado a dar la conferencia principal en la ceremonia de recalificación de la Escuela de Medicina como Facultad de Medicina de Taipei. Las atenciones que recibí durante los dos meses de estadía en Taiwán y la posibilidad de interiorizarme de las peculiaridades del sistema hospitalario y universi-

tario de ese país fueron experiencias inolvidables. El otro viaje duró dos semanas (23/06/- 06/07/1999) y fue patrocinado y financiado por la Fundación Rockefeller en la residencia que la Fundación tiene en un lugar de ensueño: Bellagio, a orillas de lago Como al norte de Italia. Allí, en una sala de reuniones con amplios ventanales ubicada en un magnífico parque donde se encuentran los restos del solar natal y residencia de Plinio el Joven (61-113 dC), Tribuno, Pretor y Cónsul del Imperio Romano, en reclusión casi total conjuntamente con Eduardo Castilla, Lucio H. Castilla, Julian Adams, Ieda Orioli, Roberto Giuliani y Pierpaolo Mastroiacovo planificamos y redactamos un proyecto sobre "*Molecular Epidemiological Surveillance Network for Birth Defects in Latin Systems*", el cual fue unos años más tarde implementado por E. Castilla y I. Orioli.

En esta reseña se han mencionado los investigadores que estuvieron directamente asociados con mis actividades. Hay, sin embargo, muchos nombres que no han sido consignados pero que no están en el olvido. Sé que no puedo incluirlos a todos pero no puedo omitir a Joaquín Paz, Ovidio Núñez, Hebe Campagna y Jorge López Camelo de Argentina; a Francisco Sáez de Uruguay; a Raúl Fernández Donoso de Chile; a Crowdowaldo Pavan, Oswaldo Frota Pessoa, Francisco Lara y el inefable y querido Francisco Salzano de Brasil; a Päivi Peltomaki de Finlandia con quien compartí tareas durante los siete años que duró mi proyecto con la Universidad de Helsinki; a Galo Cantos y Leonardo Lobato, quienes facilitaron mis actividades en Ecuador y gestionaron el viaje que hice con F.N. Dulout y S. Merani durante un mes a las islas Galápagos para capturar roedores. Mi más profundo agradecimiento a Omar Molina, César Horgan, Gisela Vigo y Beatriz Tosti, "Personal de Apoyo" del CO-

NICET, por la colaboración y afecto que me brindaron. Finalmente, mi reconocimiento a mi esposa e hijos. Sin la comprensión y el respaldo de ellos esta reseña no existiría.

El tiempo pasado se mide en recuerdos y el futuro en sueños y proyectos. Para los que tenemos una larga trayectoria pesa más en la balanza el platillo de las reminiscencias que el de las expectativas. Esto es lo que corresponde. Algunas de las personas mencionadas en mi historia ya no están pero sobreviven en mi memoria y vivencias. Espero tener el privilegio de persistir en el recuerdo de otros cuando mi tiempo se haya acabado.

■ BIBLIOGRAFÍA

- Bailliet G., Rothhammer F., Carnese F.R., Bravi C.M., Bianchi N.O. (1994) *Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations*. *Am J Hum Genet* **55**, 27-33.
- Bianchi N.O. (1991). *Chemical-biological warfare and aggression: origins and evolution*. En: *Prevention of a Biological and Toxin Arms Race and the Responsibility of Scientists*. Geissler E., Haynes R.H., Eds. Berlin: Akademie Verlag, pp. 415-425.
- Bianchi N.O. (2002) *Akodon sex reversed females: the never ending story*. *Cytogenet Genome Res* **96**, 60-65.
- Bianchi N.O. (2009) *Y chromosome structural and functional changes in human malignant diseases*. *Mutat Res* **682**, 21-27.
- Bianchi N.O. (2010) *Mitochondrial genome instability in cancer*. *Cytogenet Genome Res* **128**, 66-76.

- Bianchi N.O., Ayres J., Sweet B.H. (1975) *Diploidy and heteroploidy in cultured cells derived from New Zealand rabbits*. *Cytologia* **40**, 119-127.
- Bianchi N.O., Bianchi M.S. (1963). *Origin of sex chromatin in rat liver embryos*. *Exp Cell Res* **32**, 599-602.
- Bianchi N.O., Bianchi M.S. (1965). *DNA replication sequence of human chromosomes in blood cultures*. *Chromosoma* **17**, 273-290.
- Bianchi N.O., Bianchi M.S. (1966). *Technique for investigation of sex chromatin in amniotic membrane of rat fetuses*. *Nature* **212**, 1592-1593.
- Bianchi N.O., Bianchi M.S., Bailliet G., de la Chapelle A. (1993) *Characterization and sequencing of the sex-determining region Y gene (Sry) in Akodon (Cricetidae) species with sex-reversed females*. *Chromosoma* **102**, 389-395.
- Bianchi N.O., Bianchi M.S., Cleaver J.E. (1984) *The action of ultraviolet light on the patterns of banding induced by restriction endonucleases in human chromosomes*. *Chromosoma* **90**, 133-138.
- Bianchi N.O., Bianchi M.S., Pamilo P., Vidal Rioja L., de la Chapelle A. (1992) *Evolution of zinc finger-Y and zinc finger-X genes in Oryzomyne-Akodontine rodents (Cricetidae)*. *J Mol Evol* **34**, 54-61.
- Bianchi N.O., Contreras J. (1967) *The chromosomes of the field mouse Akodon azarae (Cricetidae, Rodentia) with special reference to sex chromosome anomalies*. *Cytogenetics* **6**, 306-313.
- Bianchi N.O., de la Chapelle A., Vidal Rioja L., Merani S. (1989) *The sex-determining zinc finger sequences in XY females of Akodon azarae (Rodentia, Cricetidae)*. *Cytogenet Cell Genet* **52**, 162-166.
- Bianchi N.O., Laguens R., Cabarro A., Caíno H., Palatnik M. (1960) *Estudios cromosómicos humanos*. *Rev Clín Española* **79**, 328-336.
- Bianchi N.O., Lima de Faría A., Jaworska H. (1964) *A technique for removing silver grains and gelatin from tritium autoradiographs of human chromosomes*. *Hereditas* **51**, 207-211.
- Bianchi N.O., Morgan W.F., Cleaver J.E. (1985) *Relationship of ultraviolet light-induced DNA-protein cross-linkage to chromatin structure*. *Exp Cell Res* **156**, 405-418.
- Cabarrou A., Caíno H., Schaposnik F., Pianzola L., Bianchi N.O. (1959) *Punción hepática en diabéticos tratados con sulfodrogas. Resultados en 92 biopsias*. *Rev Clín Española* **72**, 308-316.
- Caíno H., Cabarro A., Fabris R., Bianchi N.O. (1954) *Las manifestaciones viscerales del Lupus eritematoso diseminado*. *Rev Med La Plata* **12**, 75-87.
- Cann R.L. (1995) *MtDNA and Native Americans: A Southern perspective*. *Am J Hum Genet* **55**, 7-11.
- Gibbons A. (1996) *The peopling of the Americas*. *Science* **274**, 31-33.
- Laguens R., Bianchi N.O. (1963) *Fine structure of the liver in human idiopathic diabetes mellitus. I. Parenchymal cell mitochondria*. *Exp Mol Pathol* **2**, 203-214.
- Laguens R., Bianchi N.O., Cabarro A., Caíno H. (1960) *Estudio cromosómico en el síndrome de Turner en el varón*. *Rev Clín Española* **79**, 534-539.
- Lima de Faría A., Bianchi N.O., Nowell P. (1967) *Patterns of chromosome replication in a patient with chronic granulocytic leukemia*. *Hereditas* **58**, 31-62.
- Mendoza D.H. de, Braginski R. (1999) *Y chromosomes point to native american Adam*. *Science* **283**, 1439-1440.
- Pena S.D.J., Santos F.R., Bianchi N.O., Bravi C.M., Carnese F.R., Rothhammer F., Gerelsaikhan T., Munkhtuja B., Oyunsuren T. (1995) *A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians*. *Nature Genetics* **11**, 15-16.
- Pohl-Rüling J., Fischer P., Lloyd D.C., Edwards A.A., Natarajan A.T., Obe G., Buckton K.E., Bianchi N.O., van Buul P.P.W., Das B.C., Daschil F., Fabry L., Kucerová M., Léonard A., Mukherjee R.N., Mukherjee U., Nowotny R., Palitti F., Poliková Z., Sharma T., Schmidt W. (1986) *Chromosomal damage induced in human lymphocytes by low doses of D-T neutrons*. *Mutat Res* **173**, 267-272.
- Santos F.R., Bianchi N.O., Pena, S.D.J. (1996) *Worldwide distribution of human Y chromosome haplotypes*. *Genome Res* **6**, 601-611.
- Sweet B.H., Hilleman M.R. (1960) *The vacuolating virus, SV 40*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **105**, 420-427.
- Ye N., Bianchi M.S., Bianchi N.O., Holmquist G.P. (1999) *Adaptive enhancement and kinetics of nucleotide excision repair in humans*. *Mutat Res* **435**, 43-62.