

FLOR V. BARNOLA: UNA BIOQUÍMICA VENEZOLANA OLVIDADA

Mariangel Delgado Lamon

Estudiante Graduada del Postgrado de Fisiología y Biofísica,
Centro de Biofísica y Bioquímica,
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)
mageldelgado@gmail.com / mdelgado@ivic.gob.ve

Resumen

Flor V. Barnola (Flor Vásquez de Barnola) nació en Nueva Esparta, Venezuela. Se formó como científica entre el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y la Universidad Central de Venezuela (UCV) antes de que en Venezuela se formalizaran los estudios de postgrado en ciencias. Luego de un breve tiempo como profesora en la UCV investigando el efecto de la insulina sobre el metabolismo de los aminoácidos, regresó al IVIC donde dedicó su vida profesional a la fisiología y bioquímica que hay detrás del impulso nervioso. Fue nombrada Investigadora Emérita del IVIC como reconocimiento a su aporte científico en 1991. Falleció en Caracas a causa de un infarto en 1997.

Palabras claves

Bioquímica, Fisiología, Impulso nervioso, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC, Membrana celular

FLOR V. BARNOLA: A FORGOTTEN VENEZUELAN BIOCHEMISTRY

Abstract

Flor V. Barnola (Flor Vásquez de Barnola) was born in Nueva Esparta, Venezuela. She was trained as a scientist between The Venezuelan Institute of Scientific Research (IVIC) and the Central University of Venezuela (UCV) before the postgraduate studies in sciences were formalized in Venezuela. After a brief time as a professor at the UCV investigating the effect of insulin on the metabolism of amino acids, she returned to IVIC where she dedicated her professional life to the physiology and biochemistry behind the nerve impulse. She was appointed Researcher Emeritus of IVIC in recognition of his scientific contribution in 1991. She died in Caracas because of a heart attack in 1997

Key words

Biochemistry, Cellular membrane, IVIC, Nerve impulse, Physiology, Venezuelan Institute of Scientific Research

Primeros Pasos

Flor V. Barnola como se la conoce en la ciencia venezolana, nació como Flor del Valle Vásquez Hernández; ella fue una científica venezolana, dedicada al estudio, a nivel molecular, del fenómeno de excitabilidad de la membrana del nervio y la permeabilidad de la membrana celular. Nació en Punta de Piedras (Municipio Tubores), Edo. Nueva Esparta, el 20 de diciembre de 1934. Hija de Tomás Vásquez y María del Pilar Hernández de Vásquez.

Cursó estudios secundarios en el Liceo Andrés Bello en Caracas, culminándolos en 1952, para posteriormente ingresar a la Universidad Central de Venezuela de donde egresa de la Escuela de Química en 1958 con el título de Doctora en Química. En aquella época, la Escuela de Química estaba adscrita a la Facultad de Ingeniería y aún no existía la Facultad de Ciencias (Texera, 1992:55-57). Más adelante, el 15 de Enero de 1959, ingresó como la primera Estudiante Graduada del departamento de Biofísica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), trabajando con el Dr. Raimundo Villegas hasta el 15 de Abril de 1960, quien se expresó de ella en estos términos

“La conducta y aplicación de la Doctora Barnola durante su pasantía por este departamento fue en todo momento sobresaliente”. (Villegas, 1963)

Durante este breve tiempo de colaboración, Barnola y Villegas publicaron dos trabajos en prestigiosas revistas internacionales: *Nature* (Villegas y Barnola, 1960:762-763) y *The Journal of General Physiology* (Villegas y Barnola, 1961:963-977). En estos trabajos, estudiaron las “vías de paso” de iones a través del axolema y lograron demostrar que este último, era capaz de mantener los gradientes de concentración iónica necesarios para la conducción del impulso nervioso. Las vías de paso de iones envueltos en el proceso de excitación, eran los ahora reconocidos estructuralmente canales de sodio y potasio, a los que describían como poros altamente selectivos en el axolema y lograron estimar su radio y área ocupada en cada centímetro cuadrado del axolema.

Además, estos trabajos contribuyeron a establecer la independencia eléctrica entre el axón y las células de Schwann, comprobando que el impulso nervioso se daba a través del axolema. Esto constituyó uno de los mayores aportes científicos del IVIC al conocimiento de la bioquímica y fisiología de las membranas excitables, un tema que desde sus primeros hallazgos había generado infinidad de debates entre fisiólogos y morfólogos (Villegas, GM; 1982). Gloria Mercader de Villegas pone de relieve el aporte de Barnola en este punto:

“Quiero destacar un sólo hecho importante: en el poco tiempo que la Dra. Barnola trabajó como Estudiante Graduada, realizó uno de los trabajos más importantes que han salido de este departamento, el cual es citado continuamente en la literatura universal” (Villegas, GM., 1968).

En esta etapa inicial del IVIC se estaban gestando los estudios de postgrado y aún no existía el Centro de Estudios Avanzados (CEA), organismo coordinador de las actividades académicas del instituto. Sin embargo, los estudiantes graduados eran considerados personal del instituto y recibían una beca por sus trabajos cuyo pago se hacía directamente por nómina al igual que a los investigadores. Esto fue un incentivo para que los jóvenes continuaran en la investigación científica y se inscribieran en los cursos ofrecidos por la institución, los cuales eran materias de nivelación del conocimiento científico, para entender y generar ciencia de primer nivel que fuera reconocida internacionalmente (Freites, 1992).

El gran interés que sentía Flor Barnola por la ciencia y la investigación, la llevó a realizar los cursos ofrecidos por el IVIC de 1959 a 1965 y a realizar cursos especiales de la Universidad Central de Venezuela (UCV), que incluyeron: el curso de Fisiología Animal de la escuela de Biología (1959-1960) y el curso especial de Matemáticas de la escuela de Medicina (1962-1963). Estos cursos constituían lo más próximo a alguna asignatura de postgrado en el extranjero y se ofrecían en la UCV para el estudio de las ciencias naturales.

Es importante destacar que durante esta época, la Facultad de Ciencias de la UCV estaba dando sus primeros pasos, siendo con su creación el 13 de Marzo de 1958, bajo la rectoría de Francisco de Venanzi (Texera, 1992:56). Esto implicaba que la formalización de los postgrados en Ciencias continuaba siendo un evento aún lejano. Tuvieron que pasar 23 años para que se crearan, en la Facultad de Ciencias de la UCV, los postgrados de Biología con menciones en Biología Celular, Botánica, Zoología y Ecología, sucedidos por el de Química en 1982.

Fue instructora por concurso y profesora asistente en la cátedra de Patología General y Fisiopatología de la Facultad de Medicina de la UCV de 1960 a 1968. En este tiempo su línea de investigación estuvo enfocada en el efecto de la insulina en el metabolismo de los aminoácidos. Publicó 3 trabajos, el primero de ellos en el Acta Científica Venezolana, donde hacía observaciones del uso de la electroforesis en el estudio del suero sanguíneo y su reproducibilidad (Barnola, 1962:178-180); los otros dos trabajos fueron publicados en inglés en Acta Fisiológica Latinoamericana (Barnola, 1965:260-265) (Barnola y Pierluissi, 1968:20-25), órgano de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas.

Sin embargo, y a pesar de haber realizado un curso de capacitación pedagógica en la Escuela de Educación de la Universidad Central de Venezuela (1962-1964), no se sentía cómoda como profesora universitaria. El sistema universitario daba mayor prioridad a la formación de profesionales y a la reproducción, más que a la generación de conocimiento, por lo que ser profesor universitario implicaba una carga docente excesiva, que dificultaba combinar la investigación y la docencia, llevando a que la investigación universitaria se convirtiera en una fachada, que resultaba en trabajos de ascenso y que dejaba poco espacio y estímulo a la investigación (Vessuri,

1992:22-25). Siendo esto último lo que realmente motivaba a Flor, quien además poseía una naturaleza tímida y con una gran aversión a hablar en público.

Regreso al IVIC

Flor Barnola se reincorpora al IVIC en 1969, en calidad de Investigadora Asociada y trabajando en el laboratorio de Biofísica del Nervio junto a su antiguo tutor en la investigación científica, Raimundo Villegas. En este laboratorio se dedicó a estudiar los mecanismos de selectividad iónica del axolema y las moléculas responsables del pasaje de los iones sodio y potasio a través de dicha membrana, durante la conducción del impulso nervioso. Trataron de identificar, aislar y caracterizar las moléculas que forman las estructuras básicas para el funcionamiento del nervio.

Según sus propias palabras:

“El área fundamental de los trabajos por mí desarrollados ha sido el estudio, a nivel molecular, del fenómeno de excitabilidad de la membrana del nervio. La determinación del radio promedio del poro de las vías de paso iónica del axolema y el aislamiento y caracterización bioquímica de esta membrana, resultados de trabajos por mí realizados, son citados en la literatura como base y punto de partida para el desarrollo y posterior fortalecimiento de campos fundamentales para el estudio de este tipo de fenómeno”. (Barnola, 1998).

En el IVIC obtiene el título de Philosophus Scientiarum (PH.Sc.), en 1973 mediante el Artículo 9 de la Gaceta oficial #29.689. Esta Gaceta del 18 de Diciembre de 1971 corresponde al decreto #830, y establece el reglamento de los estudios de postgrados del IVIC y que incluyen los cursos formales de *Magister Scientiarum* y *Philosophus Scientiarum*. Además, en su artículo 9 dispone lo siguiente:

“Quienes hayan realizado estudios e investigaciones en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas en calidad de investigadores, estudiantes graduados o becarios que hayan sido integrantes del personal científico del Instituto, podrán solicitar, en el lapso de un año, a partir de la fecha de promulgación de este Reglamento, el reconocimiento de dichos estudios e investigaciones para optar el título correspondiente”.

Impulsando la ciencia venezolana con el impulso nervioso

Junto al Dr. Raimundo Villegas, en el laboratorio de Biofísica del Nervio del IVIC, formó un equipo altamente productivo con 25 comunicaciones en congresos nacionales, 10 en congresos internacionales, 2 capítulos en libros y alrededor de 15 publicaciones en revistas arbitradas del más alto impacto internacional en su campo.

Además, uno de los mayores legados de este equipo fue su contribución a hacer visible internacionalmente, la ciencia básica que se desarrollaba en el IVIC. Las publicaciones y comunicaciones no bastaban, así que cada año contaban con frecuentes visitas de investigadores de algunas de las mejores instituciones científicas del mundo, que venían a observar, colaborar y muchas veces a aprender las técnicas desarrolladas en el laboratorio. Entre los investigadores visitantes, se pueden destacar: R. Keynes (Universidad de Cambridge), L.J. Mullins y F.J. Brinley (Universidad de Maryland), V.P. Whittaker y W. Hasselbach (Instituto Max-Planck de Heidelberg), O. Kedem (Instituto Weizmann de Ciencias), E. Racker (Universidad de Cornell), B. Hille (Universidad de Washington) y G. Chacko (Colegio Médico de Pensilvania).

El tema de estudio desarrollado en el laboratorio era, en líneas generales, investigar los mecanismos que fundamentan la excitabilidad del nervio y la conducción del impulso nervioso. Para ello, consideraban que era necesario desarrollar técnicas de aislamiento de una fracción de membrana que preservara las estructuras envueltas en la regulación del movimiento iónico durante la conducción del impulso nervioso y así facilitar la caracterización de las mismas (Camejo y col.,1969), siendo importante resaltar que estos trabajos permitieron que por primera vez en el mundo se contara con una preparación aislada de membranas de nervios, todo esto a partir de los nervios de calamar (De Villegas,G, 1982).

Una vez logrado el aislamiento, trataban a las fracciones con diferentes enzimas y toxinas, para obtener ciertas indicaciones sobre el posible arreglo químico de estas estructuras, especialmente del canal de sodio, ya que al estudiar las fracciones aisladas encontraban que la presencia y actividad de este canal era indicativa de la preservación de la capacidad excitante de los nervios (Barnola y col.,1971) (Barnola y col., 1973) (Villegas y col., 1973) (Villegas y col., 1975). Además, proponían que la estructura del canal era compleja porque debía involucrar: un filtro responsable de la selectividad de paso para sodio, un sensor de voltaje para detectar el cambio del potencial eléctrico producido por el estímulo, y moléculas receptoras de las toxinas que activaban, inactivaban o bloqueaban a dicho canal (De Villegas,G; 1982).

Por otro lado, Barnola contribuyó en un proyecto a finales de la década de los setentales años 70's con miembros del laboratorio de permeabilidad iónica del Centro de Biofísica y Bioquímica, liderados por el Dr. Reinaldo Di Polo; este proyecto se enfocaba en los aspectos bioquímicos del transporte de calcio en sistema nervioso. Para ello, estudiaban una proteína ATPasa dependiente de calcio en nervio óptico de cCalamar. Con su ayuda, lograron purificar la membrana del nervio óptico del calamar, obteniendo una preparación libre de mitocondrias, retículo endoplasmático y lisosomas, y en la que posteriormente lograron demostrar la existencia de una actividad ATPasica activada por calcio (Beaugé y col., 1981). El hallazgo y caracterización de esta ATPasa fue muy importante para comprender el mecanismo de transporte activo de iones a través de la membrana.

Dificultades y reconocimiento

Uno de los grandes problemas enfrentados en su vida profesional fue a causa de la amplia colaboración con el Dr. Raimundo Villegas, uno de los más destacados científicos venezolanos y con un relevancia en la política científica. El entorno del IVIC tendía considerar que Barnola era una asistente del Dr. Villegas y cuestionaba su capacidad como generadora independiente de conocimiento científico.

“Su producción científica ha estado asociada con la mía. Esta situación puede para algunos significar falta de autonomía. Deseo dejar expresa constancia de que su intervención en los trabajos que hemos realizado conjuntamente ha sido determinante. Creo que los trabajos que hemos publicado juntos fueron realizados por sus conocimientos, tenacidad y espíritu de equipo. Su formación universitaria como químico, distinta a la mía, creo que permite a cualquier persona distinguir lo decisivo de su labor en la realización de los temas de investigación a los cuales se dedica nuestro laboratorio en el presente”. (Villegas, 1972)

Posterior a la salida de Villegas del IVIC, para encargarse de la dirección de las actividades del recién fundado Instituto de Estudios Avanzado (IDEA), a la Dra. Barnola le fue negada la posibilidad de asumir la jefatura del Laboratorio de Biofísica del Nervio, el cual dejó de existir. Este evento la llevó a solicitarle al Dr. Carlos Sevcik su incorporación al laboratorio de Neurofarmacología Celular, al cual pertenecería desde 1982 hasta su retiro en 1991 (Figura 1). El Dr. Sevcik, quien había sido estudiante en el Laboratorio de Biofísica del Nervio y posteriormente, fundador del Laboratorio de Neurofarmacología Celular se expresó así:

“Flor Barnola se caracteriza por tener una de las mentes más agudas y críticas que yo conozco, excelente asociada, asesora y sobretodo, sumamente discreta. Su capacidad crítica y su discreción han sido sus mayores virtudes. Ha sido además una excelente investigadora de grupo y químico de formación, por lo que en sus trabajos resalta persistentemente ese espíritu que le viene de la Química”. (Sevcik, 1992).



Figura 1. Flor Vázquez de Barnola en su oficina del Laboratorio de Neurofarmacología Celular.
Fuente: Unidad de Fotografía Científica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

En el laboratorio de Neurofarmacología Celular, Barnola trabajó en la purificación de la Toxina II α del veneno de escorpión *Leiurus quinquestratus* y logró la identificación del receptor de esta toxina en la membrana del nervio (Delgado y Barnola, 1987). Además, se enfocó en la obtención de preparaciones biológicas sensibles a compuestos neuroactivos, para ello desarrolló una técnica de aislamiento de terminales sinápticos, presinápticos y membrana de electroplaca del órgano eléctrico del *Electrophorus electricus*, conocido como “temblador” o anguila eléctrica. Así, la obtención de membranas altamente purificadas del órgano eléctrico de la anguila, constituía un material excelente para la medición de actividades biológicas de compuestos neuroactivos (Barnola y col., 1987) (Figura 2).



Figura 2. Flor Vásquez de Barnola obteniendo membranas altamente purificadas mediante técnicas de ultracentrifugación. Fuente: Unidad de Fotografía Científica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Por otro lado, es importante resaltar que Barnola fue miembro activa de sociedades científicas siendo, de 1968 a 1970, secretaria de correspondencia de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia (AsoVAC), y Miembro de la Sociedad Americana para el Avance de la Ciencia (AAAS). De naturaleza tímida, evitaba dar seminarios, cursos de pregrado y postgrado, siendo tutora únicamente de la Tesis de licenciatura en Química de Daniel Delgado, su asistente de laboratorio y titulada: “Preparación de un derivado marcado y fotosensible de toxina de escorpión, para la identificación de su receptor en la membrana axonal de nervios de pata de langosta”.

Precisamente ese carácter callado y personalidad muy introvertida reafirmaba su fama de “asistente” del Dr. Villegas entre sus colegas del IVIC, lo que también contribuyó a evitar su ascenso en los últimos escalafones profesionales, llegando hasta la categoría de Investigadora Asociada Titular-2 en 1988, para posteriormente recomendarle solicitar su jubilación. Sin embargo, luego fue reconocida como Investigadora Emérita en 1991 por sus aportes científicos a la institución y al país, cargo que ocupó hasta su fallecimiento.

“Deseo señalar que su humildad y carácter apacible le hacen una persona extremadamente valiosa para nuestro equipo de trabajo aunque difícil de apreciar para el resto del instituto. Igualmente la calidad, significación de la labor que realiza en la actualidad y su dedicación al trabajo son resaltantes”. (Villegas, IVIC, 1972).

Un año después de su fallecimiento (1997), Roderick Mackinnon y sus colegas de la Universidad de Cornell, lograron mediante cristalografía de rayos X elucidar la arquitectura de los canales iónicos, específicamente canales de potasio (Mackinnon y col., 1998). A partir de allí, estudios posteriores demostraron que la mayoría de las teorías respecto a los canales iónicos formulados por Barnola, Raimundo Villegas y el resto del equipo del laboratorio de Biofísica del Nervio eran correctas (Mackinnon, 2003). El impacto de estos descubrimientos, llevaron a que Mackinnon fuese reconocido como Premio Nobel de Química en 2003 (Hiriart y Gómora, 2004).

Vida Privada

En un aspecto más personal, hay que resaltar que estuvo casada con Oscar Barnola Valdés, también químico de profesión. Ella desde el inicio asumió el apellido de casada como su nombre científico: Flor V. Barnola.

Ella junto con Oscar procrearon 3 hijos: Flor Alejandrina Barnola Vásquez, Luis Felipe Barnola Vásquez y Guillermo Barnola Vásquez. La Doctora Barnola descrita por sus colegas, era muy elegante, introvertida y celosa de su vida privada.

Falleció a los 62 años, el 17 de Abril de 1997, en su residencia ubicada en la urbanización Cumbres de Curumo, Caracas. La causa de su muerte fue una cardiopatía isquémica aguda (infarto).

Bibliografía

BARNOLA, F.V. (1962). Observaciones sobre la electroforesis de flujo continuo en papel y sobre el uso de la polivinilpirrolidona como agente de concentración. *Acta Científica Venezolana*, 13(6), pp. 178-180.

BARNOLA, F. V. (1965). The effect of insulin on plasma free amino acids. *Acta Physiologica Latino Americana*, 15(3), pp. 260-265
BARNOLA, F.V; PIERLUISSI, J. (1968). The effect of insulin on free plasma amino acids of dogs treated with actinomycin D. *Acta Physiologica Latino Americana*, 18(4), pp. 298-303.

BARNOLA, F. V (1998), Comunicación, en IVIC (1998). Expediente de investigador: Dra. Flor Barnola. Archivo del Instituto Venezolano de Investigaciones Científica (IVIC) [17 de enero de 2018]

BARNOLA, F.V; CAMEJO, G.; VILLEGAS, R. (1971). Ionic channels and nerve membrane lipoproteins: DDT-nerve membrane interaction. *International Journal of Neuroscience*, 1(5), pp. 309-316.

BARNOLA, F. V; SEVCIK, C; DELGADO, D. (1987). Isolation of membrane fractions with sodium channels sensitive to veratridine and tetrodotoxin from the electric organ of the eel *Electrophorus electricus*. *Journal of neurochemistry*, 48(3), pp. 846-852.

BARNOLA, F.V; SEVCIK, C; DELGADO, D; VILLEGAS, Raimundo; CAMEJO, Germán (1973). Tetrodotoxin receptors in plasma membranes isolated from lobster nerve fibers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 298 (1), pp. 84-94.

BARNOLA, F. V; SEVCIK, C; DELGADO, D; VILLEGAS, R. (1976). Sodium flux through the sodium channels of axon membrane fragments isolated from lobster nerves. *The Journal of General Physiology*, 67(1), pp. 81-90.

BEAUGE, L; DIPOLO, R; OSSES, L; BARNOLA, F. V; CAMPOS, M. (1981). A (Ca²⁺, Mg²⁺)-ATPase activity in plasma membrane fragments isolated from squid nerves. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 644(1), 147-152.

CAMEJO, G; VILLEGAS, G. M; BARNOLA, F. V.; VILLEGAS, R. (1969). Characterization of two different membrane fractions isolated from the first stellar nerves of the squid *Dosidicus gigas*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 193(2), pp.247-259.

CENTRO DE ESTUDIOS AVANZADO (CEA) (1971). Expediente Dra. Flor Barnola. Archivo del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) [03 de noviembre de 2017]

DELGADO, D; BARNOLA, F. V (1987). Identification of the receptor for toxin II alpha from scorpion *Leirus quinquestriatus* in isolated lobster and squid nerve membranes. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, 87(4), 867-870.

FREITES, Y. (1992). El IVIC en cuatro momentos (1958-1990), en *La ciencia en Venezuela: pasado, presente y futuro*. Cuadernos Lagoven, Caracas, pp. 65-79.

HIRIART, M; GÓMORA, G. (2004). El Premio Nobel de Química 2003: la relación entre la estructura y el funcionamiento de canales en la membrana de las células. *CIENCIA Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 55(2), pp.86-89.

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS (IVIC) (1998). Expediente de investigador: Dra. Flor Barnola. Archivo del Instituto Venezolano de Investigaciones Científica (IVIC) [17 de enero de 2018]

MACKINNON, R; DOYLE, D; CABRAL, J; PFUETZNER, R; KUO, A; GULBIS, J; COHEN, S; CHAIT, B. (1998). The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science*, 280(5360), 69-77.

MACKINNON, R. (2003). Potassium channels. *FEBS letters*, 555(1), pp. 62-65.

SEVCIK, C. (1992). Semblanza de Flor Vásquez de Barnola en la Galería de Investigadores Eméritos del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. <<http://www.ivic.gob.ve/es/institucion-2/galeria-de-emeritos-28/semblanzas-281/item/39-flor-vasquez-de-barnola>>> [20 de noviembre de 2017].

TEXERA, Y. (1992). La Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, en *La ciencia en Venezuela: pasado, presente y futuro. Cuadernos Lagoven*, Caracas, pp. 55-57.

VESSURI, H. (1992). Ciencia, tecnología y modernización en Venezuela. Segundo período (1958-1990), en *La ciencia en Venezuela: pasado, presente y futuro. Cuadernos Lagoven*, Caracas, pp. 55-57.

VILLEGAS, G.M. (1968) Comunicación del 09/10/1968, en CEA, 1971, Expediente Dra. Flor Barnola. Archivo del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) [Consultado el 03 de noviembre de 2017]

VILLEGAS, G.M. (1982). Investigaciones sobre la excitabilidad. *UNA Documenta*, 1(1), pp. 74-79.

VILLEGAS, R, (1963) Correspondencia del 20/12/1963, en CEA, 1971, Expediente Dra. Flor Barnola. Archivo del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) [Consultado el 03 de noviembre de 2017]

VILLEGAS, R. (1972) Corresponsencia del 10/10/1972, en IVIC, 1998. Expediente de investigador: Dra. Flor Barnola. Archivo del Instituto Venezolano de Investigaciones Científica (IVIC) [17 de enero de 2018]

VILLEGAS, R; BARNOLA, F. V. (1960). Equivalent pore radius in the axolemma of the giant axon of the squid. *Nature*, 188(4752), pp. 762-763.

VILLEGAS, R; BARNOLA, F. V. (1961). Characterization of the resting axolemma in the giant axon of the squid. *The Journal of General Physiology*, 44(5), pp. 963-977.

VILLEGAS, R; BARNOLA, F. V; CAMEJO, G. (1973). Action of proteases and phospholipases on tetrodotoxin binding to axolemma preparations isolated from lobster nerve fibres. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 318(1), pp. 61-68.

VILLEGAS, R; BARNOLA, F. V; SEVCIK, C; VILLEGAS, G. M. (1976). Action of the sterol-binding form of filipin on the lobster axon membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 426(1), 81-87.

VILLEGAS, R.; VILLEGAS, G.M; BARNOLA, F. V; RACKER, E. (1977). Incorporation of the sodium channel of lobster nerve into artificial liposomes. *Biochemical and biophysical research communications*, 79(1), 210-217.