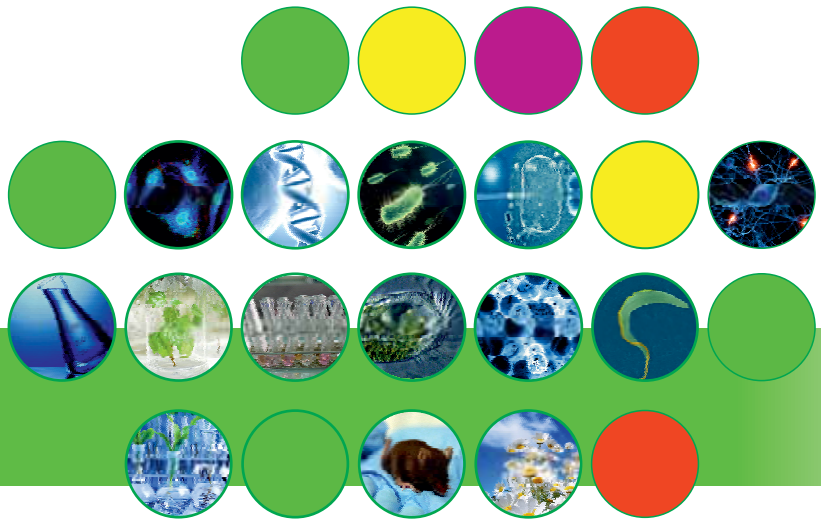
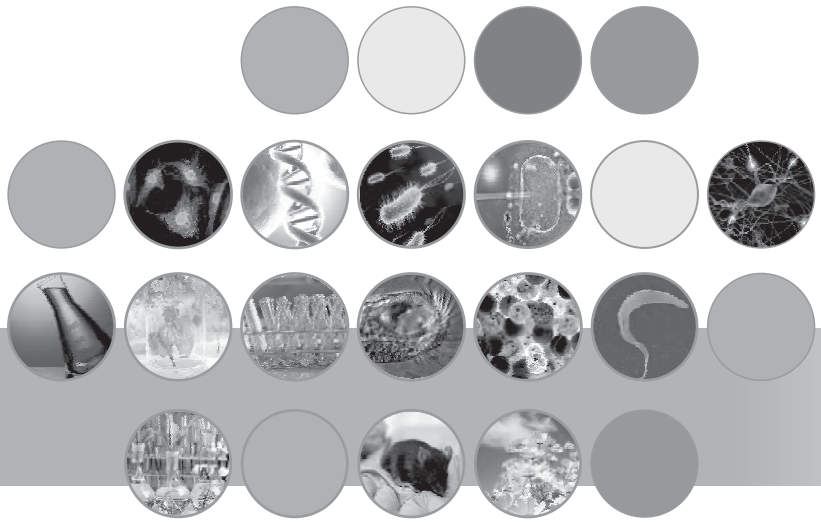


SUB

XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

5 al 7 de setiembre, 2014

ARGENTINO HOTEL DE PIRIÁPOLIS, MALDONADO



SUB

XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

5 al 7 de setiembre, 2014

ARGENTINO HOTEL DE PIRIÁPOLIS, MALDONADO

Índice

Comisión Directiva SUB 2013-2014 / Comité Organizador de las Jornadas 2014 03
Agradecimientos 04
Invitados de centros de investigación del exterior 05
Programa 07
Actividades Plenarias 11

Mesas Temáticas

Sociedad Uruguaya de Genética 16
Sociedad Uruguaya de Microscopía e Imagenología 18
Marcando el tiempo 20
Biotecnología 22
Viviendo al extremo: investigaciones en biociencias antárticas 24
Seccional Biofísica 28
Seccional Terapia Génica: proyectos actuales en desarrollo en Uruguay 29
Biología Vegetal 30
Seccional Bioquímica y Biología Molecular 32
Biodiversidad y sus determinantes 34
Organismos modelo 36
I+D de fármacos de terapia y diagnóstico: de la investigación básica a la biomedicina traslacional 38
Sociedad Uruguaya de Microbiología 40
Fluorescencia Biológica: desde la cubeta al microscopio 42
Nuevos enfoques químicos y biológicos para el tratamiento del cáncer 44
Ciencias Cognitivas 46
Sociedad Zoológica del Uruguay: fauna autóctona como modelo de biología evolutiva 48
Mecanismos de plasticidad en el Sistema Nervioso 50
Biofísica como ciencia interdisciplinaria en estudios de proteínas 52
Interacción Hospedero-Parásito 54
Bioinformática 56
Biología Reproductiva en Metazoos 58
Virología en Uruguay: batallando con el enemigo invisible 60
Productos Naturales 62
Mesa Redonda de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay, Dr Luis Colom 64
Taller: Educación Científica y Motivación Académica 66

Posters

Biofísica - Sesión 1 69
Bioinformática - Sesión 2 97
Biología Molecular - Sesión 2 99
Biología Reproductiva - Sesión 1 72
Biología Vegetal - Sesión 1 76
Bioquímica - Sesión 3 123
Biotecnología - Sesión 2 104
Cáncer - Sesión 2 107
Ciencias Cognitivas - Sesión 2 110
Cronobiología - Sesión 2 111
Desarrollo de fármacos y farmacología - Sesión 1 78
Divulgación y Educación Científica - Sesión 2 111
Ecología - Sesión 3 134
Genética - Sesión 2 111
Investigaciones Antárticas - Sesión 2 115
Microbiología - Sesión 2 118
Microscopía e Imagenología - Sesión 2 123
Neurociencias: General - Sesión 1 83
Neurociencias: Plasticidad - Sesión 1 93
Organismos Modelo - Sesión 2 124
Parasitología - Sesión 1 94
Terapia Génica y Celular - Sesión 2 125
Virología - Sesión 3 136
Presentaciones orales - Sesión 3 137

Índice 139
Notas 145

ISSN: 1688-9819
XV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias
© Sociedad Uruguaya de Biociencias
Compilador: Flavio Zolessi

Montevideo 2014

IMPRESO EN URUGUAY
Imprenta GEGA s.r.l.
Andrés Martínez Trueba 1133 - Tel. 2412 0911 - Fax: 2413 6037
E-mail: carlos@ciganda.com

Comisión Directiva SUB 2013-2014

Flavio Zolessi - **Presidente**

Ana María Ferreira - **Vicepresidenta**

Giselle Prunell - **Secretaria**

Gianella Facchin - **Prosecretaria**

Javier Nogueira - **Tesorero**

Inés Pose - **Protesorero**

José Badano - **Vocal**

Comité Organizador de las Jornadas 2014

Flavio Zolessi - **Presidente**

Natalia Álvarez
Florencia Arredondo
José Badano
Mariana Bresque
Magdalena Cárdenas
Virginia Comas
Carolina Echeverry
Gianella Facchin
Ana María Ferreira
Javier García
Maria Lamas
Ernesto Miquel
Camila Mouhape
Javier Nogueira
Lucía Otero
Lucía Piacenza
Inés Pose
Giselle Prunell
Mariana Sotelo
Lucía Turell
Lucía Ziegler

Agradecimientos

La Sociedad Uruguaya de Biociencias agradece a todos los organismos y personas que han apoyado y colaborado en la realización de estas Jornadas.

Declarado de Interés Nacional

PRESIDENCIA
República Oriental del Uruguay

Declarado de Interés Ministerial por:

Uruguay Natural
Ministerio de Turismo y Deporte

MIEM
Ministerio de Industria, Energía y Minería

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
República Oriental del Uruguay

mec
Ministerio de Educación y Cultura

Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente.
MVOTMA

Ministerio de Salud Pública
República Oriental del Uruguay

Apoyan:

The Company of Biologists

Embassy of the United States of America
Montevideo - Uruguay

PEDECIBA

CSIC

ANII

Patrocinador Platino:

Biológistica

Patrocinador Oro:

ASM

Itagaca

BIRIDEN
instrumental científico

ELECO S.A.
líder en alta tecnología

BIODIAGNOSTICO

Roche

TANIREL
BIOTECNOLOGÍA

TEKSOL

Auspician:

IIBCE

Institut Pasteur de Montevideo

Intendencia de Maldonado
Gobierno Departamental

Municipio de Piriápolis

FVET
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

Facultad de Ciencias
UDELAR
fcien.edu.uy

UDELAR
FQ
Facultad de Química

Facultad de Medicina Montevideo
1875

Invitados de centros de investigación del exterior

Invitados a las Conferencias Plenarias:

Dr. Richard Jorgensen,
Editor in Chief de la revista Frontiers in Plant Science y Profesor Emérito de la Universidad de Arizona, USA.

Dr. Ramón Latorre,
Director de la Sección Biofísica del Centro Interdisciplinario de Neurociencias de Valparaíso, Chile.

Dr. Pablo Marquet,
Prof. Titular del Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

Invitados a las Mesas Temáticas:

Dra. Astrid Agorio,
INRA Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Francia.

Dra. Alicia Leonor Basso,
Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Dra. Inés Carrera,
Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Universidad de Columbia, New York, USA.

Dra. Ana Corbacho,
Directora Asistente, Equipo de Educación Interdisciplinaria de Ciencias, Universidad de California, Davis, USA.

Dra. Man Chin Chung,
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Estadual de San Pablo (UNESP), Brasil.

Dr. Bruno Dallagiovanna,
Laboratorio de Investigación en Células Madre, Instituto Carlos Chagas, Fundación Osvaldo Cruz, Curitiba, Brasil.

Dr. Carlos González,
Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Chile.

Dr. Marcelo González-Aravena,
Laboratorio de Biorrecursos Antárticos, Departamento Científico, Instituto Antártico Chileno, Chile.

Dr. Agustín Ibañez,
Director del Laboratorio de Psicología Experimental y Neurociencias (LPEN) de la Fundación INECO, Argentina.

Dra. Griselda Irusta,
Instituto de Biología y Medicina Experimental, IBYME, Buenos Aires, Argentina

Dra. Rosa Levandovski,
Laboratorio de Cronobiología, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidad Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Dra. Giselle Oda,
Departamento de Fisiología, Universidad de San Pablo, Brasil.

Dra. Fernanda Parborell,
Instituto de Biología y Medicina Experimental, Argentina.

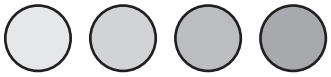
Dra. Susana Sánchez Donoso,
Departamento de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad De Concepción, Concepción, Chile.

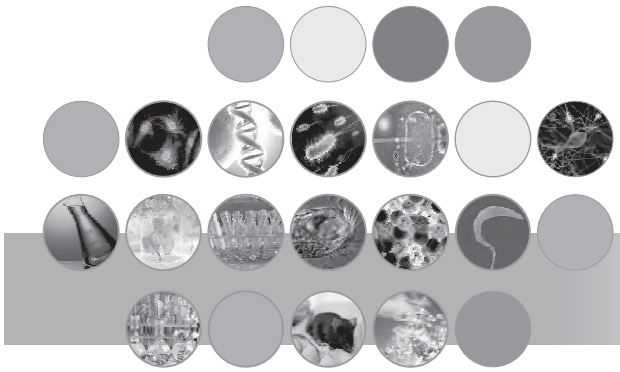
Dr. Gustavo Somoza,
Laboratorio de Ictiofisiología y Acuicultura, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Sede Chascomús, Argentina.

Dra. Ursula Wyneken,
Laboratorio de Neurociencias, Universidad de los Andes, Santiago de Chile, Chile.

Dra. Maria Eugenia Zanetti,
Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

Programa





SUB

XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD
URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

5 al 7 de setiembre, 2014
ARGENTINO HOTEL DE PIRIÁPOLIS, MALDONADO

VIERNES 5 DE SETIEMBRE

9:00-10:30 **Acreditación (Sala de Secretaría)**

10:30-11:00 **Acto de Apertura (Sala Fontana)**

Palabras del Sr. Ministro de Educación y Cultura, Dr. Ricardo Ehrlich

11:00-12:00 **Actividad Plenaria I (Sala Fontana)**

Dr. Richard Jorgensen, Profesor Emérito de la Universidad de Arizona, USA
"Fine Tuning Networks by Translational Control of Key Network Regulators
in Response to Molecular Information Signals"

12:30-14:00 **Almuerzo**

14:00-15:45 **Mesas Temáticas**

- Sociedad Uruguaya de Genética (coordinan A. Basso, P. C. Hidalgo y A. Castro; Sala Fontana)
- Marcando el tiempo (coordina A. Silva; Sala Concepción)
- Sociedad Uruguaya de Microscopía e Imagenología (coordinan A. Kun y A. Márquez; Pasillo Planta Baja)
- Biotecnología (coordinan A. Villarino y G. González; Pasillo Spa)
- Asamblea de Seccional Biofísica (Sala Jardín)

15:45-18:30 **Sesión de Posters I (Salón Dorado y Sala Génova)**

Presentación: Impares, 16:00-17:15 Pares, 17:15-18:30
Exposición Fotográfica I (Sala Génova)
Café

16:00-16:30 **Charla Técnica ELECO (Sala Jardín)**

Dra. Irina Mathov, BioProcess Product Specialist / Compañía GE Healthcare Life
Sciences. "Solución de Problemas en Cromatografía de Proteínas".

18:45-20:30 **Mesas Temáticas**

- Viviendo al extremo: investigaciones en biociencias antárticas (coordina S. Castro; Sala Fontana)
- Seccional Terapia Génica y Celular: proyectos actuales en desarrollo en Uruguay
  (coordinan G. Kramer, H. Peluffo y C. Touriño; Sala Concepción)
- Seccional Biofísica (coordinan J. Hernández y A. Pomi; Pasillo Planta Baja)
- Biología Vegetal (coordina O. Borsani; Pasillo Spa)

20:30-22:30 **Cena (Salón comedor)**
Estreno de documental (Sala Fontana):
"Escuela de Verano en la Antártida: Entrenando a los futuros investigadores
antárticos. Una experiencia educativa" de Patxi Jaso.

Grupo A:		**Grupo B:**	
20:30-21:30	Cena	20:50-21:30	Documental
21:50-22:30	Documental	21:30-22:30	Cena

SÁBADO 6 DE SETIEMBRE

9:00-10:45 **Mesas Temáticas**

- Seccional Bioquímica y Biología Molecular (coordinan A. Ramón y R. Platero; Sala Fontana)
- Organismos modelo (coordinan M. Crispo y G. Salinas; Sala Concepción)
- Biodiversidad y sus determinantes (coordina M. Arim; Pasillo Planta Baja)
- I+D de fármacos de terapia y diagnóstico: de la investigación básica a la biomedicina traslacional (coordinan M. González, D. Gambino y H. Cerecetto; Pasillo Spa)
- Asamblea de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay (Sala Jardín)

10:45-11:00 **Café**

11:00-12:30 **Actividad Plenaria II (Sala Fontana)**

"Políticas científicas en el futuro de Uruguay: resolviendo inequidades"
Panelistas Invitados: Prof. Judith Sutz, Prof. María Simón y Prof. Omar Macadar

12:30-14:00 **Almuerzo**

14:00-15:45 **Mesas Temáticas**

- Microbiología (coordinan L. Bentancor y C. Etchebehere; Sala Fontana)
- Nuevos enfoques químicos y biológicos para el tratamiento del cáncer (coordinan G. Kramer y G. Facchin; Sala Concepción)
- Fluorescencia Biológica: desde la cubeta al microscopio (coordinan L. Malacrida y A. Denicola; Pasillo Planta Baja)
- Ciencias Cognitivas (coordinan A. Cabana y L. Gómez; Pasillo Spa)
- Zoología (coordina I. Tomasco; Sala Jardín)

15:45-18:30 **Sesión de Posters II (Salón Dorado y Sala Génova)**

Presentación: Impares, 16:00-17:15 Pares, 17:15-18:30
Exposición Fotográfica II (Sala Génova)
Café

16:00-16:30 **Charla Técnica ASM (Sala Jardín)**

18:45-20:30 **Mesas Temáticas**

- Mecanismos de Plasticidad en el Sistema Nervioso (coordina F. Rossi; Sala Fontana)
- Interacción Hospedero-Parásito (coordinan C. Robello y M. N. Álvarez; Sala Concepción)
- Biofísica como ciencia interdisciplinaria en estudios de proteínas (coordina G. Ferreira; Pasillo Planta Baja)
- Bioinformática (coordina M. Paulino, Pasillo Spa)
- Biología Reproductiva en Metazoos (coordina J. García; Sala Jardín)

20:30-22:30 **Cena**

Grupo A: 20:30-21:30 Grupo B: 21:30-22:30

22:30-3:00 **Confraternización y Fiesta (Boliche Costelo)**

DOMINGO 7 DE SETIEMBRE

10:00-11:00 **Actividad Plenaria III (Sala Fontana)**

Dr. Ramón Latorre, Profesor del Centro Interdisciplinario de Neurociencias de Valparaíso, Chile "Temperatura y dolor en un solo paquete"

11:00 -12:30 **Sesión de Posters III (Salón Dorado)**

Café

12:30-14:00 **Almuerzo**

14:00 -15:45 **Mesas Temáticas**

- Virología en Uruguay: batallando con el enemigo invisible (coordinan A. Delfraro y S. Mirazo; Sala Fontana)
- Sociedad de Neurociencias del Uruguay (coordinan SNU y Sub-área Neurociencias PEDECIBA; Sala Concepción)
- Productos naturales (coordina E. Dellacassa; Pasillo Planta Baja)
- Taller: Educación Científica y Motivación Académica (dirige A. Corbacho, coordina V. Comas; Pasillo Spa)

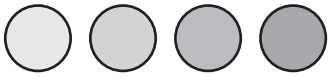
15:45-16:00 **Café**

16:00-17:00 **Actividad Plenaria IV (Sala Fontana)**

Dr. Pablo Marquet, Profesor del Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile "La emergencia de la complejidad en ecología"

17:00-17:30 **Ceremonia de Clausura y Premios a Presentaciones de Estudiantes (Sala Fontana)**

Actividades Plenarias



Viernes 5 - 10:30 a 11:00 **Fontana**

Acto de Apertura

Palabras del Sr. Ministro de Educación y Cultura, Dr. Ricardo Ehrlich

Viernes 5 - 11:00 a 12:00 - Actividad Plenaria I **Fontana**

Fine Tuning Networks by Translational Control of Key Network Regulators in Response to Molecular Information Signals

Richard A. Jorgensen [1(*)]; *Ana E. Dorantes-Acosta* [2]

1 - Plant Sciences, University of Arizona | (*) USA; 2 - INBIOTECA, Universidad Veracruzana

Resumen:
Upstream open reading frames (uORFs) are common in eukaryotic transcripts, but those that encode conserved peptides occur in less than 1% of transcripts. The peptides encoded by three plant Conserved Peptide uORF (CPuORF) families are known to modulate translation of the downstream ORF in response to a signal molecule (sucrose, polyamines, and phosphocholine). Hayden and Jorgensen (2007) found transcription factors to be statistically over-represented among genes that possess CPuORFs in angiosperms. By reassessing the functions of all known CPuORF gene families we find that 22 of these 27 families encode regulatory genes that play a diverse variety of different regulatory roles, ranging from transcriptional control to protein turnover, and from small signal molecules to signal transduction kinases (Jorgensen and Dorantes-Acosta, 2012). Importantly, 16 of these families of CPuORF genes play key roles in a variety of important biological processes, largely in abiotic and biotic stress responses. For instance, and most strikingly, the sucrose status response network includes three different CPuORF-possessing genes, creating the potential for sophisticated balancing of the network in response to three different molecular informational inputs at the level of translational control. In conclusion, we propose that the function of most CPuORFs is to modulate translation of a downstream major ORF (mORF) in response to a signal molecule recognized by the conserved peptide and that because CPuORF genes generally encode regulatory proteins (many of which are centrally important in the biology of plants), CPuORFs play crucial roles in balancing (or fine-tuning) key regulatory networks, often involving important responses to the environment.

Sábado 6 - 11:00 a 12:30 - Actividad Plenaria II **Fontana**

Políticas científicas en el futuro de Uruguay: resolviendo inequidades

Panelistas invitados: *Judith Sutz; María Simón; Omar Macadar*

Domingo 7 - 10:00 a 11:00 - Actividad Plenaria III — Fontana

Temperatura y dolor en un solo paquete

Ramón Latorre [1(*)]

1 - Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso | (*)

Resumen:
Temperature is one of the physical variables that cells and biological organisms constantly monitor to achieve homeostasis and maintain chemical reactions at a suitable speed for the living environment to which they are adapted. In order to monitor and maintain temperature on a constant basis, thermosensitive molecules were selected during evolution. One of the most remarkable sets of molecules acting as sensors is constituted by thermosensitive transient receptor potential channels (thermoTRP channels). TRP channels are a superfamily of non-selective tetrameric cation channels closely related to the classic superfamily of voltage-gated channels, having a set of distinctive sequence elements in common, while acting as polymodal receptors. This latter ability is what makes them suitable for integrating many kinds of signals in different cells, ranging from chemical to physical stimulation (i.e.: temperature, mechanosensation, osmosensitivity). All the physical stimuli to which they can respond as well the neural pathways in which they are expressed, indicate that these channels are also crucial for pain sensitivity. The property of these channels, acting as allosteric polymodal receptors integrating many different signaling processes, makes them critical for sensing the extracellular and intracellular environment for maintaining cell homeostasis. This ability has made them vital for life support, acting as essential molecules for controlling both, temperature and pain in one package.

Domingo 7 - 16:00 a 17:00 - Actividad Plenaria IV — Fontana

La emergencia de la complejidad en ecología

Pablo Marquet [1(*)]

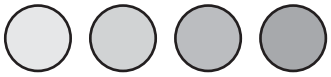
1 - Departamento de Ecología, Universidad Católica de Chile | (*)

Resumen:
La pregunta por el origen, tanto en física como en biología, es la pregunta por la posibilidad de unificar y por la existencia de leyes fundamentales que rigen la dinámica de los sistemas naturales. En esta charla intentaré reflexionar sobre un par de preguntas que me parecen fundamentales, a saber, ¿Qué es aquello que se puso en acción en el origen de la vida o el gran Big Bang biótico? y ¿Existen leyes o principios generales que nos permitan entender esta dinámica? En un intento por responder estas preguntas mostraré un par de modelos, de lo que denomino la ecología de la sopa primordial, que dan cuenta de como se origina la diversidad y de la existencia de un par de principios generales que guían su dinámica, a saber el principio de construcción de nicho y el principio de equivalencia en adecuación o equivalencia energética. Estos principios los ilustraré tomando ejemplos de sistemas ecológicos variados, desde bacterias y tumores cancerígenos hasta la biósfera.

Domingo 7 - 17:00 a 17:30 — Fontana

Ceremonia de Clausura y Premios a Presentaciones de Estudiantes

Mesas Temáticas



MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 14:00 a 15:45 **Fontana**

Sociedad Uruguaya de Genética

Coordinan: *Alicia Basso*
Pedro C. Hidalgo
Ariel Castro

Estudio del polimorfismo Pro12Ala del gen *PPARγ2* y de su relación con la insulino-resistencia en pacientes con Diabetes Mellitus
Souto, Jorge

Glutatión S-transferasas... ¿Involucradas en Parkinson?
Da Silveira, Lorena

Regulación nutricional de la ovogénesis en moscas de la fruta y efectos del stress químico
Basso, Alicia Leonor

Comparación entre Q_{ST} y F_{ST} para una colección de *Paspalum dilatatum* ssp. flavescens.
Sandro, Pablo

Mapeo asociativo para rendimiento y calidad de grano en arroz
Gutierrez, Lucia

104 Estudio del polimorfismo Pro12Ala del gen *PPARγ2* y de su relación con la insulino-resistencia en pacientes con Diabetes Mellitus

Souto, Jorge [1 *]; *Javiel, Gerardo*[2]; *Mimbacas, Adriana*[1]

[* 1] Grupo de Genética Humana, Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE); [2] UDA Diabetes, Hospital Pasteur, ASSE-MSP - Servicio de Diabetología del Centro de Asistencia del Sindicato Médico del Uruguay (CASMU)-IAMPP

La Diabetes Mellitus presenta una elevada prevalencia en el Uruguay. Dentro de esta patología la Tipo 2 es la más frecuente, siendo su base etiopatogénica a predominio de insulino-resistencia (70%). La obesidad ocupa un rol clave en su aparición, siendo reconocido el papel del gen PPARγ2 en su desarrollo. El polimorfismo Pro12Ala de dicho gen ha sido uno de los más estudiados en varias poblaciones, encontrándose diversas relaciones de asociación con la diabetes y la insulino-resistencia. Se estudiaron las frecuencias poblacionales de este polimorfismo en 157 pacientes diabéticos del Banco de ADN del Departamento de Biodiversidad y Genética del IIBCE, quienes fueron divididos en relación a la presencia o ausencia de insulino-resistencia; tomándose como indicador el índice TG/HDL. Las muestras fueron genotipificadas mediante las técnicas de RFLP o PCR en tiempo real. Se analizó la asociación de las frecuencias del polimorfismo con la insulino-resistencia y otras variables. Se hallaron diferencias significativas entre las dos subpoblaciones para el colesterol total, HDL, triglicéridos e IMC. Para la población total se hallaron frecuencias génicas de 0.923 y 0.077 para los alelos C y G respectivamente. De las frecuencias genotípicas se destacó el hallazgo de diferencias significativas con poblaciones africanas y de otros grupos hispanos. Si bien no se encontraron diferencias significativas para el polimorfismo entre las dos subpoblaciones analizadas se destaca la ausencia de genotipos GG, lo cual es importante a nivel farmacogénetico dada la relación con la terapia con Tiazolidinedionas. Este trabajo representa un aporte más para el conocimiento del polimorfismo Pro12Ala en la población uruguaya.

310 Glutatión S-transferasas... ¿Involucradas en Parkinson?

Da Silveira, Lorena[1 *]; *Raggio, Víctor*[1]; *Da Luz, Julio*[1]

[* 1] Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las glutatión S-transferasas (GSTs) citosólicas humanas se dividen en 6 clases que se encuentran en seis cromosomas diferentes, pero comparten alrededor del 30% de identidad de secuencia: Alpha (cromosoma 6), Mu (cromosoma 1), Omega (cromosoma 10), Pi (cromosoma 11), Theta (cromosoma 22), y Zeta (cromosoma 14). Estas proteínas actúan en la destoxificación de posibles carcinógenos que causan la transformación maligna y progresión de la enfermedad en ciertos cánceres. Por su parte la Enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo. El estrés oxidativo juega un papel fundamental en la patogénesis de ésta enfermedad ya que éste favorece la iniciación y la progresión de los procesos neurodegenerativos. A pesar del considerable progreso en la identificación de candidatos que promueven el desarrollo de la enfermedad, hasta la fecha el diagnóstico sigue siendo principalmente clínico y sólo confirmado en la autopsia. En este trabajo se genotipó y caracterizó las variantes de GSTs (GSTT1, GSTM1 y GSTP1) presentes en una población uruguaya. Se determinó las frecuencias alélicas y genotípicas en un grupo de 100 pacientes con EP y un grupo de 100 controles sanos con el fin de buscar una posible asociación de alguno de los genotipos estudiados con la enfermedad. Se observó una asociación entre la ausencia de alelos de GSTM y la presencia en homocigosis del alelo GSTP1 (G) con la enfermedad de Parkinson. Para confirmar los resultados obtenidos y buscar nuevas asociaciones entre los otros genotipos y la enfermedad se aumentará el número de individuos estudiados en cada grupo.

373 Regulación nutricional de la ovogénesis en moscas de la fruta y efectos del stress químico

Basso, Alicia Leonor[1] *

[*1] Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires

La ovogénesis en los insectos es un proceso típicamente limitado a la calidad de los nutrientes. La reproducción femenina incluye la maduración de los ovocitos y la síntesis de vitelogenina. La toxicidad reproductiva ha sido definida como la aparición de efectos adversos en el sistema reproductor, derivados de la exposición a agentes ambientales. Se expresa en forma de distintas alteraciones de los órganos reproductivos y/o del sistema endocrino relacionado. Sus manifestaciones pueden ser: alteraciones del comportamiento sexual, reducción de la fertilidad, resultados adversos en la oviposición, modificaciones de otras funciones que dependen de la integridad del sistema reproductor. El estatus nutricional del ambiente femenino afecta la síntesis de proteínas del huevo y la producción de huevos. En estudios recientes con Ceratitis capitata mostramos que la hormona juvenil regula la síntesis de vitelogenina y que 20-dihidroecdisona regula la maduración del ovocito. El presente trabajo muestra los efectos de la estarvación de las hembras y de agroquímicos sobre las larvas tefrítidas albergadas en el pericarpio de frutos silvestres. Los resultados comparativos mostraron que la estarvación de hembras produce un bloqueo en la síntesis de vitelogenina pero no así en el progreso del desarrollo del ovocito primario hacia la etapa de reposo; la alimentación luego de la estarvación, indujo la progresión de los ovocitos primarios desde la etapa de reposo hasta la madurez. La toxicidad reproductiva se observó en la alteración del ovipositor, de la oviposición, reducción de la fertilidad de los adultos emergidos de frutos y en la ovogénesis larval de las progenies derivadas.

369 Mapeo asociativo para rendimiento y calidad de grano en arroz

Bonnecarrère, Victoria[1] *; *Blanco, Pedro*[2]; *Perez de Vida, Fernando* [2]; *Rosas, Juan*[2]; *Berberian, Natalia*[3]; *Fernández, Schubert* [1]; *Garaycochea, Silvia*[1]; *Quero, Gaston*[4]; *Gutierrez, Lucia*[3]

[*1] Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria - Las Brujas; [2] Programa Nacional de Arroz, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria - Treinta y Tres; [3] Departamento de Biometría, Estadística y Cómputo. Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [4] Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

El arroz es el segundo cultivo de exportación en Uruguay, posicionando al país como uno de los principales exportadores de este grano a nivel mundial. Por otro lado, es uno de los países con rendimientos promedios más altos, por lo que el mejoramiento para caracteres cuantitativos como rendimiento y calidad constituye un desafío. Identificar las regiones genómicas asociadas a estos caracteres (QTL) podría permitir superar estas limitantes. El objetivo de este trabajo es mapear QTLs para rendimiento y calidad de grano en germoplasma del programa de mejoramiento de Arroz de INIA. La población de mapeo está constituida por 665 líneas avanzadas (330 japónica y 335 indica), la que fue genotipada utilizando la técnica de GBS (del inglés, Genotyping By Sequencing) mediante la cual se obtuvieron 18569 SNPs. Las líneas fueron fenotipadas para rendimiento, días a floración, altura de la planta y diferentes parámetros de calidad de grano (porcentaje de yesado y blancura total) durante tres años. El mapeo asociativo se realizó usando modelos mixtos para corregir por estructura de la población. Se identificaron QTLs para todas las características aunque no todos fueron consistentes entre los diferentes ambientes. Para días a floración, altura de la planta, yesado y blancura total del grano se identificaron QTLs en todos los ambientes analizados. Los SNPs asociados a estos QTL fueron anotados en el genoma de referencia para analizar su posible implicancia funcional.

159 Comparación entre Q_{ST} y F_{ST} para una colección de *Paspalum dilatatum* ssp. flavescens.

Sandro, Pablo[1] *; *Gutiérrez, Lucia*[2]; *Speranza, Pablo*[1]

[*1] Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Departamento de Estadística, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

En el campo las gramíneas C_4 representan el grupo funcional dominante, las praderas artificiales son deficitarias para este grupo funcional. Paspalum dilatatum ssp. flavescens conjuga producción de forraje estival con resistencia al frio, características que difícilmente se encuentran combinadas en otras estivales. Conocer la estructura de variabilidad morfológica en la especie es vital para su domesticación. Se plantea como objetivo conocer la estructura geográfica para la variabilidad morfológica y que procesos evolutivos le dieron origen. La colección consistió en 12 poblaciones con 8 a 14 líneas puras por población, se evaluó fenotípicamente en ensayos con plantas individuales aleatorizadas en bloques completos generalizados en 2 localidades. Se estimó la proporción de la variabilidad total debida a varianza entre subpoblaciones para caracteres cuantitativos (Q_{ST}) y marcadores moleculares presumiblemente neutros (F_{ST}). La colección fue caracterizada para 6 loci de microsatéllites y se obtuvo un F_{ST} de 0.37. Los valores de Q_{ST} para diferentes características variaron entre 0,2 y 0,62. La comparación entre ambos parámetros permite estimar el efecto de la selección sobre un carácter cuantitativo (Q_{ST}) con respecto al efecto de la deriva sobre caracteres neutros (F_{ST}). Los caracteres Largo de Raquis y Largo de primer Racimo muestran signos de selección divergente y las variables Fecha de Floración y Número de Racimos muestran signos de selección homogeneizadora, mientras que el Largo de Hoja aparece como neutro. Este comportamiento de las variables en el espacio deberá ser tomado en cuenta al planificar y definir zonas de colecta o conservación.

MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 14:00 a 15:45 **Pasillo Planta Baja**

Sociedad Uruguaya de Microscopía e Imagenología

Coordinan: *Alejandra Kun*
Alejandro Márquez

Efecto de la activación de PKC sobre la morfogénesis del tubo neural
Aparicio, Gonzalo

Capacidad neurogénica de las zonas proliferativas del cerebro de *Gymnotus omarorum* en la vida posnatal
Olivera-Pasilio, Valentina

Orientación y propiedades elásticas del colágeno Tipo I en el crecimiento neurítico simpático. Posible papel en la remodelación de la inervación uterina por el estrógeno.
Martínez, Gaby

Análisis Microscópico de los efectos de la Restricción Calórica en ratones Trembler-J.
Bresque, Mariana

El transporte de los ARN axonales neosintetizados en la célula de Schwann depende de los microtúbulos.
Canclini, Lucia

La microscopía electrónica de barrido y la espectrometría de energía dispersiva en Uruguay: su utilización en análisis de materiales y pericias forenses.
Marquez, Alejandro

261 Efecto de la activación de PKC sobre la morfogénesis del tubo neural

Aparicio, Gonzalo[1 *]; *Arruti, Cristina*[2]; *Zolessi, Flavio R.*[1]

[* 1] Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Institut Pasteur de Montevideo; [2] Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La neurulación comprende los eventos morfogenéticos que generan el tubo neural a partir del ectodermo. Este proceso depende en gran medida del citoesqueleto de actina, el cual está finamente regulado por distintas vías de señalización. Desarrollamos un protocolo para la activación farmacológica de una de estas vías, la de PKC, en néurulas de pollo bajo condiciones de cultivo. La adición del agonista PMA produjo defectos en el cierre del tubo neural, acompañados de una intensa fosforilación y translocación de la proteína moduladora de actina MARCKS. Los embriones expuestos al PMA presentaron un ensanchamiento lateral de la placa neural y un acortamiento en el eje céfalo-caudal, sin que se haya registrado disminución de la proliferación celular. Con el objetivo de evidenciar si el efecto producido por la activación de PKC se debe a una hipercontracción del cinturón de actina-miosina realizamos co-tratamientos con PMA y Blebistatina (inhibidor de la miosina II). Los embriones expuestos al co-tratamiento no presentaron diferencias con respecto al tratamiento con PMA. Hemos extendido el estudio del efecto de la activación de PKC a otros epitelios en invaginación, como son las placodas cristalineana y ótica. En ambos casos encontramos efectos similares a los descritos en la placa neural. Nuestros resultados sugieren que la activación de PKC altera el movimiento morfogenético de extensión-convergencia durante la neurulación. A su vez, los efectos generados no se deben a una hipercontracción del cinturón contráctil de las células neuroepiteliales. Concluimos que la actividad de PKC debe estar regulada durante la invaginación de tejidos epiteliales.

054 Capacidad neurogénica de las zonas proliferativas del cerebro de *Gymnotus omarorum* en la vida posnatal

Olivera-Pasilio, Valentina[1 *]; *Castelló, María* [1]

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El sistema nervioso central de los peces teleósteos presenta en la vida adulta una amplia distribución de zonas proliferativas (ZPs) con una alta capacidad neurogénica. En estos peces no solamente ocurre neurogénesis en regiones homólogas a las de los mamíferos -sugiriendo que es un mecanismo conservado entre los vertebrados- sino también en otras regiones de todas las divisiones cerebrales, indicando que es un rasgo ancestral sujeto a una modulación negativa a lo largo de la evolución. En el teleósteo *Gymnotus omarorum* existen múltiples ZPs que persisten en la vida posnatal. Para evaluar su capacidad neurogénica se demostró, mediante doble-inmunohistoquímica, la expresión de marcadores de estirpe neuronal o transporte de trazadores neuronales *in vivo*, en células que presentan retención de larga duración de un análogo de la timidina (cloro-deoxiuridina; CldU). La co-localización de HuC/HuD en células derivadas de las ZPs que retienen CldU indica que ocurre neurogénesis en el cerebro de *G. omarorum* en regiones localizadas en todas las divisiones cerebrales, incluyendo además del bulbo olfatorio y subpallium (Lasserre et al., 2014), el tectum opticum y torus semicircularis mesencefálicos, la región preóptica diencefálica, y en el rombencéfalo, el cerebelo y el lóbulo electrosensorial, región característica del cerebro de peces eléctricos en la cual se evidenció por primera vez capacidad neurogénica en la vida adulta. La co-localización de trazadores neuronales y CldU en células grano del corpus cerebelli, además de reafirmar la capacidad neurogénica de la ZP cerebelar, aporta evidencias de la inserción de las nuevas neuronas en el circuito cerebeloso.

126 Orientación y propiedades elásticas del colágeno Tipo I en el crecimiento neurítico simpático. Posible papel en la remodelación de la inervación uterina por el estrógeno.

*Martínez, Gaby[1 *]; Richeri, Analía[1]; Bianchimano, Paola[1]; Brauer, Mónica[1]*

[*1] Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La matriz extracelular (MEC) juega un papel clave en el guiado de los axones durante el desarrollo y participa en ciertos procesos de plasticidad en el adulto. Ensayos de criocultivo mostraron que algunas señales asociadas al sustrato contribuyen a establecer el patrón organotípico de la inervación simpática del miometrio uterino, y señalaron que el estrógeno modifica ese sustrato haciéndolo inhibitorio para el crecimiento neurítico. La microscopía electrónica de transmisión mostró que el estrógeno provoca la reorientación espacial y compactación de las fibrillas de colágeno tipo I de la MEC miometrial. Surge así la hipótesis de que los cambios en la alineación y rigidez del colágeno afectan el crecimiento neurítico simpático. Para evaluar los efectos del alineamiento, se realizaron criocultivos usando como sustrato cortes de tendón de cola de rata. Observamos que las neuritas crecían siguiendo la dirección de las fibrillas de colágeno Tipo I y no crecían en forma perpendicular a las mismas. Para evaluar los efectos de la rigidez, se cultivaron explantos de ganglios simpáticos en matrices tridimensionales de colágeno Tipo I. Los distintos grados de rigidez de las matrices se lograron mediante la exposición por tiempos crecientes a un agente promotor del entrecruzamiento (crosslinking). Los resultados obtenidos sugieren una dependencia del crecimiento neurítico simpático del grado de rigidez de las matrices. En suma: el alineamiento y rigidez del colágeno Tipo I afecta el crecimiento de las neuritas simpáticas y podrían explicar los efectos inhibitorios provocados por el estrógeno en el sustrato miometrial.

248 Análisis Microscópico de los efectos de la Restricción Calórica en ratones Trembler-J.

*Bresque, Mariana[1 *]; Romeo, Carlos[1]; Cal, Karina[2]; Rosso, Gonzalo[3]; Pizzarossa, Carlos[3]; Canclini, Lucia [3]; Sotelo, Jose Roberto[3]; Verdes, Jose Manuel[4]; Kun, Alejandra[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable - Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable - Facultad de Veterinaria, Universidad de la República; [3] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [4] Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Dentro del heterogéneo grupo de las neuropatías hereditarias periféricas humanas, las alteraciones en el gen codificante de la Proteína de Mielina Periférica-22 (PMP22) constituyen más del 50%. Charcot-Marie-Tooth 1E (CMT1E), ubicada dentro de este grupo por su sustitución L16P, es una neuropatía desmielinizante, que afecta inicialmente la célula de Schwann (CS) y finalmente el axón y la fisiología toda de la fibra nerviosa. En el modelo murino Trembler-J, utilizado para estudiar CMT1E, la patología se manifiesta en dificultades en el plegamiento, agregación y acumulación en agregosomas citoplasmáticos y perinucleares de PMP22. En este contexto la vía autofágica-lisosomal se observa espontáneamente incrementada, favoreciendo la eliminación de agregados. ¿Puede ser la estimulación de la autofagia un recurso terapéutico en estas afecciones neurodegenerativas incurables? Nuestro grupo, utilizando la estrategia de la Restricción Calórica (RC) como inductor autofágico, evaluó las consecuencias del tratamiento en la fibra nerviosa con abordajes morfométricos, moleculares y ultraestructurales. Se exploraron las respuestas al tratamiento analizando parámetros morfométricos (microscopía óptica), de expresión de marcadores específicos (microscopia confocal cuantitativa) y de la citoarquitectura de la fibra nerviosa (microscopia electrónica). Estas técnicas conjuntamente han permitido observar en los ratones tratados incrementos en el grosor mielínico, disminución de los agregados proteicos alrededor de los núcleos y aumento de la expresión de marcadores autofágico-lisosomales. Los resultados confluyen en una fibra nerviosa funcional y estructuralmente moduladas por el tratamiento.

294 El transporte de los ARN axonales neosintetizados en la célula de Schwann depende de los microtúbulos.

*Canclini, Lucia[1 *]; Di Paolo, Andres[1]; Farias, Joaquina[1]; Sotelo Silveira, Jose Roberto[1]; Kun, Alejandra [1]; Sotelo , Jose Roberto[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Recientemente hemos demostrado que los axones en regeneración de nervios ciáticos lesionados acumulan ARNs neosintetizados transferidos desde las células de Schwann que los circundan. La disrupción del citoesqueleto de actina mediante el uso de Latrunculina A o la ausencia de la expression de miosina Va en los ratones mutantes (dilute) da como resultado la ausencia total de ARNs derivados de la célula de Schwann en los axones, asi como también una acumulación de los mismos en el citoplasma de la célula de Schwann cercano al límite entre la misma y el axón. Es así que hemos identificado parte del mecanismo responsable de la transferencia de ARNs desde la célula de Schwann al axón. En el presente trabajo, centramos nuestro interés en identificar si el transporte a través de los microtúbulos es tambien parte de este mecanismo. Utilizando inmunomicroscopía confocal y microscopía FRET confocal hemos determinado la participación de los microtúbulos en el transporte de los ARNs neosintetizados desde el núcleo de la célula de Schwann hacia el límite de la misma con el axón. Además, hemos indagado la identidad de los motores moleculares asociados a microtúbulos responsables de dicho transporte, determinando las kinesinas que interactúan con los ARNs neosintetizados y cuáles no lo hacen.

342 La microscopía electrónica de barrido y la espectrometría de energía dispersiva en Uruguay: su utilización en análisis de materiales y pericias forenses.

*Marquez, Alejandro[1 *]*

[*1] Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La microscopía electrónica de barrido (SEM) permite la caracterización morfológica de superficies de una gran variedad de muestras. Una limitación en el análisis de materiales para utilizar SEM se presenta en muestras con baja conductividad eléctrica. Con la preparación adecuada se puede superar esta limitación y casi cualquier tipo de material sólido puede analizarse. Además, el caracter no destructivo de la técnica permite utilizarla en materiales que requieran análisis posteriores a la microscopía. Contando con el equipamiento adecuado, con un SEM se puede obtener información de la composición química de la muestra, conjuntamente a la información topográfica. La espectrometría de energía dispersiva (EDS) es una técnica que habitualmente se implementa en un microscopio de barrido, que permite en pocos minutos conocer los elementos químicos presentes en el material observado. La conjunción de estas técnicas abre un espectro de posibles análisis en materiales que van desde la evaluación de los productos de reacciones químicas para generar cristales, los controles de calidad y las pericias forenses. Todas estas actividades se han desarrollado en la Facultad de Ciencias, tanto para Unidades Académicas, empresas privadas y organismos estatales. En este presentación, se muestra un resumen de las actividades desarrolladas en la Facultad de Ciencias utilizando SEM y EDS en análisis de materiales, mostrando las potencialidades técnicas que cuenta el país para la caracterización de materiales.

MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 14:00 a 15:45 **La Concepción**

Marcando el tiempo

Coordina: *Ana Silva*

Haciendo el tiempo: tiempos sociales, tiempos simbólicos y las artes de gestar el tiempo
Guigou, Nicolás

Chronobiology of a south american subterranean rodent, the Tuco-Tuco
Oda, Gisele

Control neuroendócrino de la ritmicidad circadiana de la conducta eléctrica en peces eléctricos autóctonos
Migliaro, Adriana

El sueño y el humor en el verano antártico
Tassino, Bettina

Ritmos circadianos humanos en poblaciones rurales y urbanas
Levandovski, Rosa

335 Haciendo el tiempo: tiempos sociales, tiempos simbólicos y las artes de gestar el tiempo

Guigou, Nicolás [1] *
[*1] Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, Universidad de la República

Se indagan las principales corrientes teóricas en el campo de la antropología, las ciencias de la comunicación y las ciencias sociales sobre la temática del tiempo y las temporalidades. Se presentan modelos contrapuestos basados en las perspectivas socio céntricas, las dimensiones que atienden la producción y humanización del tiempo (hermenéutica) y las miradas que se ajustan a las no-temporalidades inconscientes. Asimismo, se ahonda en la contemporánea modalidad colonial de tiempo único y las formas de resistencia al mismo.

339 Chronobiology of a south american subterranean rodent, the Tuco-Tuco

Oda, Gisele[1] *; *Valentinuzzi, Verónica*[2]
[*1] USP-IB, Departamento de Fisiologia, São Paulo; [2] CRILAR-CONICET

Discrepancies between data obtained in laboratory and in field conditions have long been recognized in several biological studies, suggesting that a fundamental feature of the natural environment might not have been reproduced in the laboratory. This discrepancy can get quite dramatic dimensions in Chronobiology, with increasing evidence that some rodent species, characterized as nocturnal in the lab, are diurnal in the field. Tuco-tucos (Ctenomys aff. knighti) are South-American, subterranean rodents that clearly display such phenomenon. It is known that the timing of activity is a function of how the circadian oscillator is synchronized by light/dark cycles. Then, our first approach has been to verify whether the diurnal to nocturnal inversion might be due to the discrepant photic entrainments that result from the peculiar daily light exposure of these subterranean animals in the field and from the artificial LD12:12 light regimens of the laboratory. Our second approach has been to verify factors that are downstream from the circadian oscillator. The “thermoenergetic hypothesis” (Hut et al., 2013), associates timing differences to the discrepancy in energy demands between the field and the ad-libitum food regimens of the lab. Subterranean rodents are excellent subjects to explore this proposition because their natural foraging activity involves intense underground digging, which demands high energy expenditure. All these investigations have been developed through an integrative chronobiological approach based on behavioral observations in semi-natural enclosures, photic entrainment experiments, mathematical modeling and metabolism/energetics measurements.

349 Control neuroendócrino de la ritmicidad circadiana de la conducta eléctrica en peces eléctricos autóctonos

Migliaro, Adriana[1 *]

[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República / Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los ritmos biológicos endógenos se sincronizan con claves ambientales adaptándose a sus variaciones ciracadianas y circaanuales. En la actualidad se ha centrado el foco en dilucidar los mecanismos operantes en animales en libre desempeño, sometidos a influencias sensoriales y sociales que modulan los ritmos biológicos. Los peces eléctricos autóctonos Gymnotus omarorum (solitario) y Brachyhypopomus gauderio (gregario) emiten descargas eléctricas (DOE) a intervalos regulares con un doble rol sensorial y comunicativo. La DOE es comandada por el núcleo electromotor bulbar (NEB) cuya actividad es modulada por señales sensoriales y sociales. La frecuencia basal de la DOE es un indicador de jerarquía social en ambas especies y presenta un aumento nocturno (AN) cuya amplitud y dinámica son diferentes entre ambas especies: importante, persistente y modulado por el estado reproductivo y el contexto social en B. gauderio; pequeño y transitorio en G. omarorum. Este estudio comparativo permite explorar el vínculo entre la neuromodulación mediada por el sistema melatoninérgico (circadiana) y por el sistema AVTérgico (principal neuromodulador social en teleósteos). Para ello realizamos experimentos farmacológicos utilizando experimentos in vitro en rodajas conteniendo el NEB y experimentos in vivo en peces aislados en su hábitat natural y en condiciones de laboratorio.Los resultados muestran que el bloqueo de receptores melatoninérgicos inhibe el AN en ambas especies. La modulación AVTérgica produce efectos diferentes, posiblemente relacionados con la socialidad de cada especie.

282 Ritmos circadianos humanos en poblaciones rurales y urbanas

Levandovski, Rosa [1 *]

[*1] Laboratório de Cronobiologia HCPA/UFRGS: Escola GHC/HNSC

The physiological pattern of the sleep-wake cycle is influenced by external synchronizing agents such as light and social patterns, creating variations in each individual's preferred active and sleep periods. So that, we have been conducted epidemiological studies considering chronobiological variables applying instruments capable to measure environmental and biological rhythms variables. Such as the Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ), to assesses circadian phenotype (chronotype and social jetlag), based on sleep behavior. In this lecture I will present some results related to difference in sleep patterns and chronobiological parameters between rural urban populations. Compared with the urban population, the rural population presented a predominantly early sleep pattern, as determined by the mid-sleep phase, less social jetlag, and higher light-exposure. Regarding to depressive symptoms, late chronotypes had a higher level of depression symptoms and was correlated positively with >2 h of social jetlag. Related to the sunlight exposure, in another study the amount of time that humans were exposed to sunlight was directly related to their pro-inflammatory cytokine interleukin-6 (IL-6) levels, and depressed subjects differed in their IL-6 levels depending on the amount of time they were exposed to sunlight. Our results emphasize the idea that latitude may not be the main factor influencing individual circadian habits. Rather, circadian physiology adapts to differences in exposure to light (natural and artificial) as well as social and work schedules.

257 El sueño y el humor en el verano antártico

Tassino, Bettina[1 *]

[*1] Facultad de Ciencias, UdelaR

Influencias ambientales (fotoperíodo, temperatura) y sociales (agenda curricular, entretenimiento) modulan los ritmos circadianos de sueño-vigilia en humanos. Se evaluó el efecto del cambio brusco de factores ambientales y sociales al viajar desde Montevideo a Antártida en 17 jóvenes ($\times$=23,12 años, SD=1,6) equipados con actímetros, que respondieron cuestionarios (Munich, Escala Depresión Beck) y construyeron diarios de sueño. La duración promedio de sueño autoestimada fue de 7h58min (SD=42min), el punto medio de sueño en días laborables fue 4h23min (SD=1h16min), y en días libres de 6h22min (SD=1h25min). Estos datos no coinciden con datos obtenidos por registros actimétricos ni por diarios de sueño, que sin embargo presentan alta correlación mutua (65-83%). Se observa un mayor puntaje en síntomas depresivos asociados a menor duración promedio e inferior punto medio de sueño en el período pre-antártico y disminución en mesor y amplitud de actividad y reposo en el período antártico. La asociación entre calidad y duración del sueño difiere en la percepción subjetiva de los participantes en ambas etapas. Aunque la luz se considera un importante sincronizadorde los ritmos con repercusiones en el humor, su influencia durante el período antártico fue menor a la experiencia del viaje, que actuó como sincronizador social.

MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 14:00 a 15:45 **Pasillo Spa**

Biotecnología

Coordinan: *Andrea Villarino*
Gualberto González

Leucemia Bovina Enzoótica: desde la caracterización molecular a las aplicaciones biotecnológicas
Pritsch, Otto

GENIA, 20 años brindando servicios de biología molecular a los sectores de salud y agropecuaria
Azambuja, Carlos J.

Aplicaciones del sistema CRISPR al mejoramiento de cultivos *starters* industriales
Achigar, Rodrigo

La eficacia de los nanobodies neutralizantes puede aumentarse generando anticuerpos biespecíficos
Rossotti, Martin

Desarrollo y caracterización de anticuerpos monoclonales anti-nitroNGF
Varela, Valentina

408 Leucemia Bovina Enzoótica: desde la caracterización molecular a las aplicaciones biotecnológicas

Pritsch, Otto [1 *]
[*1] Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República - Unidad de Biofísica de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es causada por el Virus de la Leucosis Bovina (VLB) que pertenece a la familia Retroviridae. Desde su aparición en Uruguay, la prevalencia de la LBE ha ido en aumento llegando a infectar más del 50 % del ganado lechero, implicando un importante problema económico por descenso de la productividad y pérdida de mercados internacionales.Con el objetivo de mejorar el conocimiento sobre esta patología, nuestro grupo ha focalizado su trabajo en la caracterización molecular del VLB mediante:El análisis de la variabilidad genética del VLB en Uruguay, caracterizando a nivel molecular diferentes estirpes virales circulantes en nuestro país y su comparación con las reportadas a nivel regional e internacional.El análisis proteómico de partículas de VLB, por electroforesis bidimensional e identificación por espectrometría de masa, permitiendo caracterizar las modificaciones post-traduccionales y la presencia de proteínas provenientes de la célula infectada.La expresión y análisis bioquímico de la glicoproteína Env de VLB, esencial para la infectividad ya que al interactuar con el receptor celular específico permite la entrada del virus a la célula blanco. Asimismo, Env es uno de los principales antígenos virales generando una respuesta de anticuerpos con capacidad neutralizante en los bovinos infectados. En nuestro laboratorio desarrollamos un sistema de expresión de Env utilizando células S2 de Drosophila transfectadas de forma estable lo cual nos permite la caracterización a nivel bioquímico y estructural de esta glicoproteína central en la biología viral.La caracterización biofísica y estructural de la proteína de cápside de VLB, ya que la formación de la cápside representa un proceso clave en el ciclo viral. Caracterizamos diferentes determinantes que condicionan el proceso de auto-ensamblado in vitro de esta proteína, y logramos elucidar su estructura tridimensional mediante cristalografía y difracción de rayos X.Por otro lado, también trabajamos en el desarrollo y evaluación de nuevas metodologías de diagnóstico de VLB en bovinos. A partir de las proteínas de cápside y Env purificadas estamos desarrollando métodos inmunoenzimáticos por ELISA y Western blot para detectar anticuerpos específicos anti-VLB en sueros bovinos. Asimismo, a partir de los datos moleculares obtenidos estamos desarrollando un método por real-time PCR para detectar ADN proviral en la sangre de los bovinos infectados.Finalmente, mediante ensayos de inmunización en diferentes modelos animales estamos evaluando la respuesta inmune humoral y celular de modo de analizar el empleo de estas proteínas recombinantes virales como potenciales inmunógenos.

409 GENIA, 20 años brindando servicios de biología molecular a los sectores de salud y agropecuaria

Azambuja, Carlos J. [1 *]
[*1] Laboratorios Genia, Genética Molecular

Sin resumen

131 Aplicaciones del sistema CRISPR al mejoramiento de cultivos *starters* industriales

Achigar, Rodrigo[1 *]; *Hernandez Magadán, Alfonso*[2]; *Moineau, Sylvain*[2]; *Pianzzola, María Julia*[1]

[* 1] Laboratorio de Microbiología Molecular, Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] GREB, Université Laval

En Uruguay la industria láctea es una de las actividades de mayor y más sostenido crecimiento en la última década, con un aumento en el volumen de leche destinada a producción de un 76% en este período y facturaciones cercanas a 300 millones de dólares al año. Los atáques fágicos son hoy en día la causa más importante de problemas a nivel industrial. Contaminación con fagos virulentos puede resultar en lisis de los cultivos iniciadores en la tina de fermentación, causando fermentaciones lentas o incluso la falla total del proceso con la consecuente pérdida de producción. Nuestro grupo de investigación en conjunto con investigadores de la Université Laval (Quebec, Canadá) comenzó en el año 2012 a trabajar en el mejoramiento de cepas de *Streptococcus thermophilus* para conferirles resistencia a fagos presentes en el ambiente industrial uruguayo, mediante la aplicación de la tecnología CRISPR, tecnología en auge a nivel mundial con aplicaciones tan variadas como el mejoramiento de cepas bacterianas, hasta la edición de genomas en mamíferos vivos. Algunos resultados de nuestro trabajo muestran que ensayos multigeneracionales de obtención de resistentes pueden influir positivamente en el producto final, asi como que el paradigma establecido para el mecanismo de adquisición de resistencia mediado por CRISPR no siempre se cumple, siendo hasta ahora según nuestro conocimiento el primer caso reportado.

258 Desarrollo y caracterización de anticuerpos monoclonales anti-nitroNGF

Varela, Valentina[1 *]; *Richter, Monique*[1]; *Lago, Natalia*[1]; *De León, Andres*[1]; *Puig, Natalia*[1]; *Alzari, Pedro*[2]; *Barbeito, Luis*[1]

[* 1] Laboratorio de Neurodegeneración, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Structural Microbiology Unit, Institut Pasteur Paris

El NGF (Nerve Growth Factor), proteína perteneciente a la familia de las neurotrofinas, es esencial para la diferenciación y supervivencia de poblaciones específicas de neuronas durante el desarrollo, y modula la plasticidad del sistema nervioso maduro. En condiciones inflamatorias, hay una sobreexpresión de NGF, actuando como mediador nociceptivo en el sistema sensorial. El bloqueo de la acción del NGF por anticuerpos neutralizantes resulta en un potente efecto antinociceptivo. Nuestro laboratorio demostró la existencia de especies nitradas de NGF (nitroNGF) bajo condiciones oxidantes y nitrantes de la inflamación, adquiriendo una "ganancia de función" con respecto a la neurotrofina no nitrada. Recientemente hemos desarrollado cuatro anticuerpos monoclonales (mAbs) que reconocen un epítope específico del nitroNGF. Mediante Western Blot y ELISA observamos que dos de ellos reconocen un epítope conformacional, mientras que los otros dos reconocen un epítope lineal. El aliniamiento de las secuencias de los mAbs mostró similitudes con el patrón de reconocimiento. Estos mAbs muestran actividad neutralizante de la degranulación mastocitaria de la línea RBL-2H3 estimulada por nitroNGF, y no interfieren con la actividad trófica del NGF no nitrado en bioensayos con células PC12. In vivo, se realizaron inmunizaciones pasivas en ratones sujetos a un modelo de dolor inflamatorio para demostrar el rol biológico de los mAbs. Los resultados preliminares muestran un gran potencial terapéutico y diagnóstico de los mAbs anti-nitroNGF.

327 La eficacia de los nanobodies neutralizantes puede aumentarse generando anticuerpos biespecíficos

Rossotti, Martin[1 *]; *Gonzalez-Techera, Andres* [1]; *Guarnaschelli, Julio* [2]; *Chabalgoity, Alejandro*[2]; *González-Sapiénza, Gualberto*[1]

[* 1] Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, Instituto de Higiene; [2] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Instituto de Higiene

Los nanobodies, derivados del dominio variable de los anticuerpos de cadena simple de camélidos, por su pequeño tamaño (~15 Da) tienen un gran potenciál para la rápida neutralizacion de toxinas o drogas en casos de emergencia, pero son rápidamente eliminados por vía renal perdiendo efectividad. En este trabajo se desarrolló una estrategia innovadora para mejorar la capacidad de neutralización de los nanobodies. La misma consiste en generar anticuerpos biespecíficos, en los cuales se combina un nanobody neutralizante con otro que reconoce un receptor celular que impide su eliminación renal. A tales efectos se desarrolló le metodología para producir en forma eficiente nanobodies bi-específicos, y utilizando como modelo la toxina tetánica (TT) y el receptor CR3 del complemento (CD11b/CD18), se seleccionaron nanobodies para cada uno de los antigenos mencionados y se estudio el efecto protector de estas quimeras bifuncionales anti-TT/antiCD11b en un modelo murino de muerte por Téanos. Respecto al nanobody neutralizante monomérico, la combinación de ambas especificidades produjo una significativa mejora en su poder neutralizante, observándose diferencias de acuerdo al nanobody anti-CD11b utilizado en la formulación de la quimera. Una de estas combinaciones, dio lugar a un nanobody biespecífico capaz de asegurar en un 100% la sobrevida de ratones expuestos a una concentración de toxina igual a cinco veces superior a la DL50. Dado que CR3 está presente en distintas céluals fagocíticas, el efecto protector estaría asociado a una eficiente captacion de la toxina por estas células y al aumento de la permanencia del anticuerpo en circulación.

MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 18:45 a 20:30 **Fontana**

Viviendo al extremo: investigaciones en biociencias antárticas

Coordina: *Susana Castro*

Mesa Redonda con la participación del Dr. Juan Cristina, delegados del Instituto Antártico, DICyT y ANII

Ciencia Antártica: tendencias de investigación en un continente que se transforma
González, Marcelo

Efectos de la variabilidad climática sobre los ecosistemas de agua dulce en la Península Antártica
Eguren, Gabriela

Levaduras antárticas para el control biológico de patógenos poscosecha en frutas durante el almacenamiento en cámara fría
Arrarte, Eloisa

Ritmos circadianos humanos desafiados por las condiciones ambientales antárticas
Horta, Stefany

120 Ciencia Antártica: tendencias de investigación en un continente que se transforma

González, Marcelo[1] *

[*,1] Sección Biorrecursos Antárticos. Departamento Científico. Instituto Antártico Chileno

La Antártica es un continente que cambia constantemente, como también las tendencias en investigación científica que se realizan allí. Las primeras etapas de exploración marcaron una época heroica, que nos mostró un continente lleno de vida adaptada a condiciones extremas. A partir del Año Geofísico Internacional (1957-1958), la Antártica develó sus primeros secretos y posterior a esta fase de investigación doce países que realizaron investigación firmaron el Tratado Antártico, declarando a ese territorio para uso con fines exclusivamente pacíficos y de promoción de la libertad de investigación científica y la cooperación entre las naciones. En el año 58 se fundó el Comité Científico de Investigaciones Antárticas (SCAR) que durante estos últimos años ha delineado la investigación antártica desarrollando y coordinando investigación internacional de alto impacto en la Antártica y el océano Austral. El SCAR ha promovido la creación e implementación de diversos programas de investigación científica en el área de las ciencias biológicas que han ido cambiando sus objetivos, enfoques y metodologías. Algunos de estos programas han realizado importantes aportes al estudio de la evolución y la diversidad antártica, como el programa EBA y consecuentemente con estos nuevos desafíos se han impulsado dos nuevos programas relacionados a las ciencias biológicas (AntEco y Ant-ERA). Es así como el Programa Nacional de Ciencia Antártica (PROCIEN) de Chile ha establecido nuevas líneas de investigación, procurando reforzar un vínculo con los programas internacionales vigentes y así tener una sintonía más fina con la indagación del estado del Continente Blanco, sus dinámicas, relaciones y tendencias que es posible observar en los planos físico y ecosistémico.

410 Efectos de la variabilidad climática sobre los ecosistemas de agua dulce en la Península Antártica

Eguren, Gabriela[1] *

[*,1] Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El Cambio Climático Global que se encuentra experimentando nuestro planeta y sus efectos económicos, sociales y ambientales, es uno de los principales problemas que enfrentan las sociedades humanas en la actualidad. Por tanto, comprender cómo y por qué alteraciones a escala local o regional pueden regular procesos a escala global y viceversa, es un desafío para la comunidad científica. Ha sido ampliamente documentado que las regiones de latitudes altas están evidenciando los efectos del cambio climático a tasas superiores que otras regiones. En particular la Antártida, debido a que se encuentra relativamente poco afectada por la actividad humana, ofrece ventajas comparativas para el desarrollo de estudios tendientes a comprender mecanismos y/o procesos vinculados al cambio climático. En tal sentido, lagos, lagunas y pozones son ecosistemas altamente sensibles y representan atractivos modelos para entender y predecir los efectos estructurales y funcionales del cambio climático. Al respecto, en el presente trabajo se analizan los efectos de los cambios en las condiciones macro y microclimáticas de la Península Fildes (Isla rey Jorge, Antártida marítima) sobre los patrones de circulación y flujo de nutrientes en el Lago Uruguay.

268 Levaduras antárticas para el control biológico de patógenos poscosecha en frutas durante el almacenamiento en cámara fría

Arrarte, Eloisa [1 *]; *Garmendia, Gabriela*[2]; *Rufo, Caterina*[3]; *Vero, Silvana*[3]

[* 1] Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Facultad de Química, Universidad de la República; [3] Facultad de Química

Con el fin de mantener la disponibilidad de frutas luego de la cosecha se recurre al almacenamiento en frío, con temperaturas y períodos de almacenamiento variados dependiendo del producto. En el caso de peras y manzanas la temperatura utilizada es 0ºC-1ºC, lográndose en manzanas almacenamientos de hasta 6 meses. Las bajas temperaturas utilizadas no impiden el desarrollo de patógenos de fruta, por lo cual se recurre a bañar la fruta con fungicidas previo al almacenamiento. Una alternativa que ha mostrado gran potencial es el uso de levaduras como biocontroladores de patógenos poscosecha, respondiendo de esa forma a la creciente demanda de disminuir los tratamientos con plaguicidas. Las levaduras utilizadas como biocontroladores en dichas condiciones deben ser capaces de crecer a bajas temperaturas, por ello es necesario utilizar levaduras psicrótorfas. En dicho contexto, se planteó la búsqueda y selección de levaduras a partir de muestras de suelo y agua de la zona antártica. Se obtuvieron 72 aislamientos, de los cuales se descartaron 36 por ser pectinolíticos. Se evaluó la capacidad de los 36 restantes de crecer en jugo de manzana y pera a 0ªC y la capacidad de controlar el desarrollo de *P. expansum* y *B. cinerea* en manzanas Red Delicious y Granny Smith y en peras Williams. Los aislamientos se caracterizaron por su capacidad de formar biofilms, de producir sustancias antifúngicas solubles y volátiles y de formar sideróforos y quitinasas. Un aislamiento oceánico identificado como *Debaryomyces hansenii* resultó buen controladote en todos los casos, logrando niveles de protección del 80%

121 Ritmos circadianos humanos desafiados por las condiciones ambientales antárticas

Horta, Stefany[1 *]; *Santana, Noelia*[1]; *Martino, Natalia*[1]; *Levandovski, Rosa*[2]; *Tassino, Bettina*[3]; *Silva, Ana* [4]

[* 1] Primera Escuela de Iniciación a la Investigación Antártica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Cronobiología, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidad Federal de Rio Grande do Sul; [3] Escuela de Iniciación a la Investigación Antártica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República- Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Primera Escuela de Iniciación a la Investigación Antártica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República- Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República- Unidad Bases Neurales de la Conducta, Instituto de Investigacio

En el marco de la Primera Escuela de Verano de Iniciación a la Investigación Antártica, se realizó una investigación con el objetivo de evaluar el impacto de las extremas condiciones antárticas (temperatura y fotoperíodo) sobre los ritmos circadianos humanos. Los objetivos específicos fueron determinar cronotipos, estudiar variaciones en tiempos de reacción, y evaluar el ciclo de sueño-vigilia de la población de estudio constituida por 17 estudiantes universitarios (21-25 años). Se construyeron diarios de sueño y se midió actividad, temperatura corporal y exposición a la luz por actimetría durante 35 días subdivididos en tres períodos: Pre Antártico, Antártico y Post Antártico, (enero-febrero, 2014) en Montevideo y en la Base Científica Antártica Artigas. Al inicio, se utilizó el cuestionario de Munich para determinar el cronotipo de los participantes. Se evaluó el desempeño cognitivo por pruebas de medida del tiempo de reacción a diferentes horas del día durante el período Antártico. Los resultados muestran cronotipos mayoritariamente tardíos. Se observó una disminución significativa en la duración del sueño y el MSF (mid-sleep on free days) en el período Antártico y un aumento en el período Post antártico de ambos parámetros. Se comprobó la existencia de una discrepancia entre el reloj interno y el reloj social (jet lag social) de dos horas. Sin embargo, el patrón circadiano del desempeño cognitivo no se alejó de lo reportado en estudios previos en jóvenes. Se confirma el interés de esta población para evaluar el impacto de la desincronización entre la agenda socio-laboral y los ritmos biológicos.

MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 18:45 a 20:30 **Pasillo Planta Baja**

Seccional Biofísica

Coordinan: *Julio Hernández*
Andrés Pomi

El fosfato inorgánico en el músculo esquelético: ¿potenciador o inhibidor de la liberación de Ca2+?
Brum, Gustavo

Residuos de cisteina involucrados en la modulación por óxido nítrico del transportador de arginina CAT-2A.
Peluffo, R. Daniel

Redes neuronales y espacios semánticos
Cabana, Álvaro

Medidas de transitorios de calcio intra retículo sarcoplásmico bajo control de voltaje en fibras de músculo esquelético de anfibio
Olivera, Fernando

379 El fosfato inorgánico en el músculo esquelético: ¿potenciador o inhibidor de la liberación de Ca2+?

*Ferreira Gregorio, Juan[1 *]; Pequera, Germán[1]; Launikonis, Bradley[2]; Ríos, Eduardo[3]; Brum, Gustavo[1]*

[* 1] Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] School of Biomedical Sciences, University of Queensland; [3] Department of Molecular Biophysics and Physiology Section of Cellular Signaling, Rush University

En condiciones de fatiga muscular se acumula fosfato inorgánico (Pi) como consecuencia de la hidrólisis de ATP y fosfocreatina. Este anión tiene diversos efectos a nivel intracelular que afectan la performance muscular. Existe acuerdo que el efecto más relevante es su acumulación a nivel del retículo sarcoplasmático (RS). Debido al bajo Kps el Pi precipita en este organelo formando sales de Ca2+ y afectando negativamente la liberación de este catión hacia el citoplasma. Sin embargo, por otro lado se ha reportado que el Pi tiene efectos potenciadores sobre el canal de liberación de Ca2+. En fibras musculares aisladas de rana, en experimentos de control de voltaje, confirmamos que el flujo de liberación de Ca2+ es suprimido en presencia de alto Pi citoplasmático. En fibras permeabilizadas observamos una disminución de la frecuencia de eventos de liberación espontánea (chispas). Contrariamente, a concentraciones bajas (<10 mM) este parámetro aumenta. El monitoreo del Ca2+ en el RS muestra que disminuye en función de la concentración de Pi citoplamática y en parelalo con la supresión de las chispas. Estos efectos pueden ser revertidos mediante el uso de bloqueantes de canales de Cl- impidiendo la entrada de Pi al RS. En estas condiones se evidencia un efecto potenciador del Pi sobre la frecuencia de chispas posiblemente por un efecto directo sobre el canal de liberación.

267 Residuos de cisteina involucrados en la modulación por óxido nítrico del transportador de arginina CAT-2A.

*Peluffo, R. Daniel[1 *]*

[* 1] Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la Repúbica

Los cardiomiocitos dependen del transporte de L-arginina (L-Arg) desde el medio extracelular via transportadores de aminoácidos catiónicos (CATs) para las varias rutas metabólicas en las que participa este aminoácido, incluida la síntesis del vasodilatador y segundo mensajero, óxido nítrico (NO). Por lo tanto, estos CATs tienen un rol esencial en el mantenimiento de niveles adecuados de L-Arg y NO en el músculo cardiaco. Nuestro grupo encontró que NO inhibe en forma aguda y directa la actividad de CATs. Basados en estos hallazgos, propusimos que NO regula la actividad de los transportadores mediante la S-nitrosación de residuos de cisteína. La isoforma CAT2A con un Flag-tag (Flag-mCAT2A) fue sobre-expresada en líneas celulares para realizar estudios de site-directed mutagénesis. Hallamos que la mutación Cys347Ala se vuelve resistente a la inhibición por NO, disminuyendo además su capacidad de transporte en un 65% comparado con wild-type (WT) mCAT2A pero sin modificar expresión del transportador o afinidad aparente por el ligando. El reemplazo Cys347Ser en cambio muestra una capacidad de transporte similar al WT pero retiene la resistencia a la inhibición por NO. En células co-transfectadas con NO Sintasa endotelial y Flag-mCAT2A, la exposición a L-Arg inhibe el uptake de aminoácidos marcados en WT pero no en la mutante Cys347Ser. El efecto inhibitorio sobre WT desaparece en presencia de inhibidores de la NOS. Concluyendo, el SH de Cys347 es responsable de la modulación por NO de CAT2A.

260 Redes neuronales y espacios semánticos

Cabana, Álvaro[1 *]; *Valle Lisboa, Juan*[1]; *Mizraji, Eduardo*[2]

[* 1] Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, e Instituto de Fundamentos y Métodos en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República; [2] Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La representación del significado sigue siendo un problema foco de intensa investigación y desarrollo en diversas disciplinas como la psicología, las neurociencias y la ingeniería. Desde hace algunas décadas, han aparecido modelos matemáticos capaces capturar algunas relaciones del significado de las palabras, los que han sido usados tanto para resolver problemas informáticos como para comprender la cognición humana. Una variedad de estos modelos son los espacios semánticos, espacios vectoriales en los cuales una palabra o fragmento de texto corresponde a un punto, y la distancia entre puntos guarda relación con la similitud del significado de las palabras. Los métodos más exitosos para generar espacios semánticos, como el Análisis Semántico Latente, se basan en la distribución diferencial de palabras en grandes colecciones de texto (corpora). Si bien han resultado exitosos, no incorporan información acerca de la posible implementación neuronal de los mismos.Los modelos de redes neuronales se inspiran en la realidad biológica para intentar explicar fenómenos conductuales y cognitivos, y han sido aplicados a diversos fenómenos lingüísticos. Si bien existen modelos de este tipo que sustenten la representación del significado de las palabras, son muy pocos los que se logran alcanzar una escala relativamente grande basándose en la abundante información distribucional presente en grandes corpora. En este trabajo presentamos algunos intentos de construir modelos de redes neuronales capaces de almacenar representaciones léxicas similares a los espacios semánticos.

124 Medidas de transitorios de calcio intra retículo sarcoplásmico bajo control de voltaje en fibras de músculo esquelético de anfibio

Olivera, Fernando [1 *]; *Pizarro, Gonzalo*[1]

[* 1] Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Fibras aisladas de músculo esquelético de Rana se cargaron con el indicador de Ca^{+2} de baja afinidad Mag Fluo 4 AM (que cruza las membranas) y se montaron en una cámara de doble trampa de vaselina para control de voltaje emplazada en un microscopio de epifluorescencia. Pulsos depolarizantes en el rango de la activación contráctil causaron transitorios fluorescentes consistentes con un aumento de $[Ca^{+2}]$ en el mioplasma. Al agregar [EGTA]=50 mM intracelular esas señales diminuyeron progresivamente hasta invertir su polaridad. Estos transitorios en alto [EGTA] se originan en el retículo sarcoplasmático (RS) como consecuencia de la liberación de Ca^{+2}. Su amplitud y su pendiente (dF/dt) presentan una dependencia sigmoidea con el voltaje. La pendiente ajustada con una función de Boltzmann de dos estados tiene parámetros dF/dt_{max}=11.7 10-3 mV/ms, V1/2= -38.8 mV y k=6 mV. Estos son consistentes con los del movimiento de carga medido simultáneamente (Q_{max}=29.3 nC/μF, V1/2= -39.1 mV y k=5.5 mV). En los primeros 100 ms de un pulso máximamente activante el cambio de fluorescencia (ΔF) normalizada a su valor de reposo (Fr) fue de -17% $\pm$ 4% (n=5, media $\pm$ e.s.m.). La máxima ΔF/Fr fue de -80% $\pm$ 3%. En algunos experimentos se midieron en la misma célula señales fluorescentes de Rhod2 K3, de origen exclusivamente citoplasmático. Los transitorios de Ca^{+2} reportados por este segundo pigmento se correlacionan razonablemente con las señales de depleción del RS. (Financiado por CSIC, proyecto 659 I+D 2012 a GP)

Viernes 5 - 18:45 a 20:30 **La Concepción**

Seccional Terapia Génica: proyectos actuales en desarrollo en Uruguay

Coordinan: *Gabriela Kramer*
Cristina Touriño
Hugo Peluffo

MSC: Identidad, propiedades y usos terapéuticos
Touriño, Cristina

Nicho celular y matriz cardiaca: suficientes para inducir cardiomiogénesis en células madre adultas?
Dallagiovanna, Bruno

Caracterización y aplicación terapéutica de células estromales mesenquimales multipotentes caninas en medicina regenerativa veterinaria
Yaneselli, Kevin

Terapia génica lentiviral para el tratamiento de dolor crónico
Villamil, Emilia

Terapia génica del cáncer empleando vectores que expresan interleuquina-12
Kramer, M. Gabriela

383 MSC: Identidad, propiedades y usos terapéuticos

*Touriño, Cristina[1 *]; Echarte, Lourdes[1]; Preza, Matias[1]; Boada, Matilde[1]; Sujanov, Alexandra[1]*

[*1] Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa del Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad de la República

Las células madre/estromales mesenquimales (MSC: Del inglés, Mesenchymal Stromal/ Stem Cells) fueron descritas por primera vez como una población de células adherentes, aisladas de la médula ósea, no fagocíticas, con aspecto fibroblastoide y con capacidad de diferenciación "in vitro" hacia hueso, cartílago y tejido adiposo. Posteriormente, se demostró que podían ser fácilmente aisladas de otros tejidos y que tenían gran capacidad de expansión "in vitro". Como resultado de su supuesta capacidad de autorrenovación y diferenciación, se las consideró como células madre, si bien esto está en debate ya que existen evidencias que se trata de una población bastante heterogénea. Para poder extraer conclusiones que sean comparables y puedan ser reproducidas, se hizo necesario revisar la nomenclatura y la definición de las MSC. En el año 2006 la Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT) propuso tres criterios mínimos para definir MSC: 1) adherencia al plástico 2) diferenciación trilínea 3) co-expresión de ciertos marcadores de superficie y ausencia de otros. Estas células se caracterizan por: regular la hemapoyesis, migrar hacia sitios de lesión celular, tener propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y capacidad de secreción de moléculas bioactivas. Debido a estas propiedades particulares, las terapias celulares con CEM constituyen una opción terapéutica prometedora para un amplio rango de enfermedades médicas no resueltas. Sin embargo, este tipo de terapias continúan siendo experimentales (salvo alguna excepción) y los pacientes que reciben estas terapias deben ser incluidos en ensayos clínicos bien reglados que permitan obtener conclusiones válidas para establecer las indicaciones y protocolos precisos de tratamiento.

389 Nicho celular y matriz cardiaca: suficientes para inducir cardiomiogénesis en células madre adultas?

*Robert, Anny [1 *]; Reus, Thamile[1]; Batti, Addeli[1]; Abud, Ana Paula[1]; Correa, Alejandro [1]; Stimamiglio, Marco[1]; Aguiar, Alessandra[1]; Dallagiovanna, Bruno[1]*

[*1] Laboratório de Biologia Básica de Células Tronco, Instituto Carlos Chagas

Células madre son células no diferenciadas que tienen la capacidad tanto de auto-renovarse como de generar diferentes tipos celulares. Este potencial de diferenciación celular las convierte en una fuente promisoria para ser utilizadas en terapia celular con el objetivo de reparar tejidos dañados. Células madre adultas (ASCs) mostraron resultados promisorios en el tratamiento del infarto cardiaco. Para esto es necesario que estas células se diferencien eficientemente en cardiomiocitos para entonces repoblar el corazón. Esto resulta de una compleja red de señalización molecular en la que participan la matriz extracelular (ECM) y moléculas secretadas por las células del entorno. Este ambiente celular y molecular característico de cada tejido es denominado nicho celular. En este trabajo intentamos reproducir in vitro las características físicas y bioquímicas del ambiente utilizando ECM derivada de cordón umbilical y tejido cardiaco en combinación con medio condicionado (CM) obtenido de células cardiacas en cultivo. Tanto la ECM como el CM fueron caracterizados en su composición proteica por espectrometría de masas. ASCs derivadas de tejido adiposo fueron cultivadas en ECM de tejido cardiaco en presencia/ausencia de CM. ASCs cultivadas en estas condiciones mostraron un aumento en su capacidad de proliferación y una clara alteración fenotípica. A los 7 días se evaluó la expresión de marcadores cardíacos como troponina I, conexina 43, GATAS-4 y actina de musculo liso. Estos marcadores resultaron aumentados en las ASCs en diferenciación sugiriendo que la combinación de matriz extracelular con factores solubles secretados por el tejido cardiaco son capaces de inducir diferenciación cardiomiogénica.

002 Caracterización y aplicación terapéutica de células estromales mesenquimales multipotentes caninas en medicina regenerativa veterinaria

*Yaneselli, Kevin[1 *]; Filomeno, Andrea[1]; Semiglia, Gabriel[1]; Arce, Carolina[1]; Díaz, Heike[1]; Rial, Analía[2]; Muñoz, Natalia[2]; Moreno, María [2]; Magrisso, Alessandra[3]; Oliveira, Fernanda [3]; Gonçalves, Fabiany[3]; Pizzato, Sabrina[3]; Cirne Lima, Elizabeth[3]; Maisonnave, Jacqueline[1]*

[*1] Facultad de Veterinaria, Universidad de la República; [2] Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal de Rio Grande do Sul

En la actualidad la evaluación de las células estromales mesenquimales multipotentes (CEM) ha aumentado debido a sus atractivas características para ser utilizadas en medicina regenerativa. Especialmente han incrementado los estudios de CEM derivadas de tejido adiposo (CEM-TA) debido a las ventajas *ex vivo* que poseen sobre las células derivadas de médula ósea, como alta capacidad proliferativa y más perdurable la capacidad de multidiferenciación. Los defectos óseos en caninos ocurren frecuentemente asociado a dolor, limitación de función, atrofia muscular y fístulas asociadas a ostemielitis. La aplicación de CEM podrían mejorar la regeneración ósea y modular la inflamación local. El objetivo de este estudio es desarrollar la terapia regenerativa en medicina veterinaria con fines experimentales y terapéuticos, como también los estudios de caracterización *ex vivo* de las CEM-TA. Fue realizada la caracterización de CEM-TA por citometría de flujo con los marcadores $CD90^{low}$, $CD44^{high}$, y CD45-, multidiferenciación *ex vivo* en los linajes adipogénico, condrogénico y ostegénico para estudios de biología celular. Se realizaron repetidas aplicaciones de CEM-TA alogénicas en 3 caninos con defecto óseo crónico asociado a osteomielitis. En todos los casos tratados existió una completa recuperación del paciente, disminuyo la claudicación, incremento de masa muscular, ausencia de fístulas. Post-tratamiento no existieron recidivas durante un año de seguimiento. No existieron evidencias de rechazo local o sistémico a los aloimplantes. Fue posible la caracterización *ex vivo* y la aplicación terapéutica de las CEM-TA, la terapia celular en defectos óseos caninos potencialmente podría ser un modelo animal en humanos.

079 Terapia génica del cáncer empleando vectores que expresan interleuquina-12

*Rodriguez- Madoz, Juan R.[1 *]; Zabala, Maider[2]; Alfaro, Maite[3]; Prieto, Jesus[3]; Kramer, M. Gabriela[4]; Smerdou, Cristian[3]*

[*1] Laboratorio de Terapia Celular, Centro de Investigación Médica Aplicada; [2] Stanford Institute for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine; [3] Unidad de Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada; [4] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, UdelaR

La terapia génica consiste en la introducción de material genético en el organismo con el fin de corregir una disfunción hereditaria o desencadenar una respuesta terapéutica concreta. Para el tratamiento del cáncer se han empleado estrategias muy diversas, que comprenden desde la transferencia de productos génicos con actividad citotóxica o anti-angiogénica directamente a las células tumorales hasta la estimulación de efectores inmunológicos con genes expresados desde una variedad de células no tumorales. En todos los casos, para conseguir acceder a estas células se requiere de vehículos génicos (vectores). Los vectores de origen viral tienen habilidad intrínseca para infectar células de mamíferos con alta eficacia. En ellos, los genes estructurales del virus pueden ser sustituidos por el gen heterólogo que se desea expresar. Los vectores plasmídicos son de origen bacteriano y pueden emplearse tanto como ADN desnudo como acomplejados en macromoléculas más complejas. En esta sesión comentaremos resultados obtenidos en distintos modelos animales de cáncer de hígado cuando los genes de la interleuquina-12 (IL-12), una potente citoquina inmunoestimuladora heterodimérica, son transferidos al hígado o a tumores hepáticos inducidos experimentalmente, empleando vectores plasmídicos o virales. En un estudio comparativo entre ambos tipos de vectores encontramos que la expresión intratumoral transciente y en alta dosis de IL-12, mediada por un vector alfaviral, fue la estrategia más eficiente para inducir una respuesta antitumoral prolongada en un modelo de carcinoma hepatocelular espontáneo (Hum Gene Ther. 2014 Feb;25(2):132-143).

107 Terapia génica lentiviral para el tratamiento de dolor crónico

*Villamil, Emilia[1 *]; Negro, Luciana[1]; Joan, Sayós[2]; Peluffo, Hugo[3]; Lago, Natalia[1]*

[*1] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Hospital Universitari Vall d'Hebrón, Barcelona; [3] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo- Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El dolor crónico se caracteriza por persistir en el tiempo por semanas, meses e incluso años. Genera una disminución en la calidad de vida de quienes lo padecen así como costos sanitarios muy elevados, no existiendo tratamientos eficaces antinociceptivos. En los últimos años, se ha descrito que las células inmunitarias juegan un papel importante en la modulación del dolor no sólo en tejido inflamado sino también en nervio periférico dañado o sistema nervioso central. La respuesta inflamatoria es regulada en parte por receptores inmunes modulando las respuestas celulares. El inmunoreceptor CD300f es una diana interesante mostrando efectos anti-inflamatorios en modelos de esclerosis múltiple, alergia y lupus. En el presente trabajo hemos evaluado el efecto de la modulación del inmunoreceptor CD300f sobre la hiperalgesia producida por inyección intraplantar de Adyuvante Completo de Freund (ACF). Hemos observado como la expresión de CD300f aumenta en la piel inyectada con ACF. Bajo este marco, se evaluó si el bloqueo de la interacción entre el CD300f y sus ligandos exacerba la hiperalgesia térmica, mediante la inyección intraplantar de una proteína de fusión CD300f-IgG2a. Los resultados muestran que la inyección única de la proteína de fusión no es suficiente para exacerbar la hiperalgesia térmica. La utilización de ratones CD300f-KO serán necesarios para confirmar este resultado. Por otro lado, se inyectó intraplantarmente un lentivector integrativo para sobreexpresar el CD300f. Los resultados mostraron que la sobre-expresión de CD300f disminuyó significativamente la hiperalgesia térmica mostrándose como una estrategia terapéutica prometedora para el tratamiento del dolor crónico.

MESAS TEMÁTICAS

Viernes 5 - 18:45 a 20:30 **Pasillo Spa**

Biología Vegetal

Coordina: *Omar Borsani*

Mutantes tolerantes a Cadmio: hacia cultivos con seguridad nutricional
Agorio, Astrid

Dynamics of cytoplamic RNAs at early stages of the nitrogen fixing symbiosis between legumes and rhizobia
Zanetti, Eugenia

Las hemoglobinas vegetales pueden ser mantenidas en su forma activa por flavinas reducidas y confieren tolerancia a estrés nitro-oxidativo
Sainz, María Martha

La enzima citocromo P450 CYP78A9 está involucrada en el desarrollo reproductivo de Arabidopsis.
Sotelo, Mariana

412 Mutantes tolerantes a Cadmio: hacia cultivos con seguridad nutricional

Agorio, Astrid[1 *]; *Giraudat, Jérôme* [1]; *Merlot , Sylvain* [1]; *Thomine, Sébastien* [1]

[* 1] Institut des Sciences du Végétal, CNRS, Gif-sur-Yvette 91198

El Cadmio (Cd) es un metal altamente tóxico con efectos adversos para la salud humana. En las plantas, el Cd causa una disminución en la actividad fotosintética y altera la nutrición mineral, teniendo como consecuencia una reducción en el crecimiento vegetal. La acumulación del Cd en plantas es un problema de salud pública dado que ésta es la vía de entrada de este metal tóxico en la cadena alimenticia. Estrategias de seguridad nutricional o fitorremediación pueden prevenir la intoxicación por Cd en humanos. Sin embargo, poco se conoce sobre el efecto tóxico del Cd o sobre su acumulación en plantas que pueda ayudar con estas estrategias. En esta charla enseñare algunos de los resultados obtenido tras realizar un rastreo genético, en busca de plantas mutantes tolerantes al Cd, con el fin de ayudar a un mejor entendimiento de los procesos de acumulación y toxicidad del Cd. En este rastreo genético he diseñado una estrategia que nos permitiera evidenciar fundamentalmente el efecto del Cd sobre la homeostasis de los metales esenciales más importantes para las plantas y nutrición humana: Hierro y Manganeso. Aquí presentaré algunos datos sobre la genética y la estrategia utilizada para la clonación de los genes mutados en dos de los mutantes identificados, así como el posible mecanismo de tolerancia al Cd en estos mutantes.

375 Dynamics of cytoplamic RNAs at early stages of the nitrogen fixing symbiosis between legumes and rhizobia

Zanetti, Eugenia[1 *]

[* 1] Instituto de Biotecnología y Biología Molecular Universidad de la Plata

Regulation of gene expression occurs at multiple levels within eukaryotic cells, including chromatin-based, transcriptional and post-transcriptional events. In the cytoplasm, mRNAs can be recruited by the translational machinery to form polysomes (mRNAs with = 2 ribosomes), sequestered into translational inactive storage granules or targeted to degradation into processing bodies. Translating Ribosome Affinity Purification (TRAP) is a technology developed to specifically isolate the population of mRNAs associated with at least one ribosome, referred as the translatome. By the use of TRAP we have previously identified mRNAs and small RNAs that are selectively recruited to polysomes at early stages of the root nodule symbiosis between Medicago truncatula and Sinorhizobium meliloti. More recently, we combined TRAP with high throughput sequencing of RNA (RNA-seq) to characterize changes in the translatome in response to rhizobial infection. This analysis identified a number of mRNAs that significantly increased or decreased their levels of association with ribosomes. The first category includes genes that play essential roles in nodulation (e.g., a pectate lyase and a SINA family member). The second category contains transcripts that dissociate from polysomes upon rhizobial infection and is represented by NCR secreted peptides, receptor-like kinases and SAUR-auxin responsive proteins. Quantitative analysis of the small RNA population revealed that both microRNAs and tasiRNAs associates to polysomes and some of them change their abundance or degree of association to polysomes in response to rhizobia. The importance of dynamic partitioning of cytoplasmic mRNAs, as well as microRNA-mediated post-transcriptional regulation during root nodule symbiosis will be discussed

108 Las hemoglobinas vegetales pueden ser mantenidas en su forma activa por flavinas reducidas y confieren tolerancia a estrés nitro-oxidativo

*Sainz, María Martha[1 *]; Pérez-Rontomé, Carmen[2]; Ramos, Javier[2]; Mulet, José Miguel [3]; James, Euan K.[4]; Becana, Manuel[2]*

[* 1] Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) - Filiación actual: Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la Repúb; [2] Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC); [3] Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Politécnica de Valencia-CSIC; [4] The James Hutton Institute, Invergowrie

Originalmente, se pensaba que las hemoglobinas (Hbs) estaban restringidas a los eritrocitos y a los nódulos de las leguminosas. En las dos últimas décadas, sin embargo, se han descubierto diversas Hbs en todos los organismos. Las plantas pueden expresar Hbs simbióticas, no-simbióticas y truncadas en distintos tejidos, donde llevan a cabo múltiples funciones tales como transporte y destoxificación de oxígeno y destoxificación de óxido nítrico. Hemos caracterizado las Hbs no simbióticas (dos de clase 1 y una de clase 2) y truncadas (dos de clase 3) de la leguminosa modelo Lotus japonicus. Estas proteínas, para ser funcionales, requieren tener el hierro del grupo hemo en el estado reducido y, por tanto, deben existir mecanismos que reduzcan el hemo de la forma férrica (inactiva) a la forma ferrosa (activa). Las cinco globinas pueden ser mantenidas en su forma activa por flavinas libres, que actúan como transportadores de electrones intermediarios entre el NAD(P)H y el hierro del grupo hemo. Las Hbs de clase 1 se reducen muy rápido preferentemente con FAD, las de clase 2 se reducen a tasas mas lentas tanto con FMN como FAD, y las de clase 3 a tasas intermedias, preferiblemente con FMN. Las tres clases de Hbs se localizan predominantemente en núcleos y plastidios. La expresión de las proteínas en una cepa de levadura deficiente en flavohemoglobina confirió tolerancia a estrés nitro-oxidativo.

111 La enzima citocromo P450 CYP78A9 está involucrada en el desarrollo reproductivo de Arabidopsis.

*Sotelo, Mariana[1 *]; Cucinotta, Mara[2]; Chauvin, Anne-Laure[3]; Chavez-Montes, Ricardo[3]; Colombo, Lucia[2]; Marsch-Martinez, Nayelli[3]; de Folter, Stefan[3]*

[* 1] Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, Facultad de Agronomía, Universidad de la República (filiación actual); [2] Università degli Studi di Milano; [3] Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad

La comunicación sincronizada entre los tejidos gametofíticos y esporofíticos es crucial para el éxito de la reproducción y las hormonas juegan un papel preponderante durante este proceso. Hemos estudiado el rol de *CYP78A9* durante el desarrollo reproductivo de Arabidopsis. Los experimentos de polinización cruzada indicaron que *CYP78A9* responde a la fecundación. Mientras la sobreexpresión de *CYP78A9* puede desacoplar el crecimiento del fruto del proceso de la fecundación. El doble mutante *cyp78a8 cyp78a9* presenta una reducción en el número de semillas formadas, debido a la pérdida de fertilidad femenina provocada por el detenimiento del crecimiento de los integumentos externos del óvulo. Por otra parte *CYP78A9* presentó un patrón de expresión específico en los integumentos internos durante el desarrollo temprano de los óvulos, así como en el funículo, embrión e integumentos de las semillas en desarrollo. No se observaron cambios en la respuesta a las hormonas involucradas en el desarrollo de flores y cuajado de los frutos a causa de la sobreexpresión de *CYP78A9*. Dicha sobreexpresión parece no tener efecto sobre las rutas hormonales más importantes. De acuerdo a las predicciones bioinformáticas, se detectaron perturbaciones en la vía de biosíntesis de flavonoides en los mutantes *cyp78a9*, *cyp78a8 cyp78a9* y *es1-D*. A pesar de esas predicciones, dichas perturbaciones no fueron causantes de los fenotipos observados. Este trabajo presenta, la primera caracterización metabolómica de mutantes en esta familia de genes, arrojando indicadores interesantes para futuras investigaciones de la(s) reacción(es) que catalizan.

Sábado 6 - 09:00 a 10:45 **Fontana**

Seccional Bioquímica y Biología Molecular

Coordinan: *Ana Ramón*
Raúl Platero

Inhibidores de la NAD⁺ glicohidrolasa CD38 para el tratamiento de enfermedades metabólicas
Escande, Carlos

Los sistemas de adquisición de hierro mediados por Serobactinas optimizan la aptitud competitiva de *Herbaspirillum seropedicae* dentro de las plantas de arroz
Rosconi, Federico

La activación de receptores purinérgicos con ATP inhibe tanto la apoptosis dependiente como la independiente de caspasas en células de endotelio de córnea de bovino en cultivo
Justet, Cristian

Estudio comparativo del transcriptoma nuclear y citoplásmico: implicancias en la regulación de la expresión génica en Trypanosoma cruzi
Pastro, Lucia

La inhibición de NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cells) reduce la aterosclerosis inducida por diabetes: regresión o limitación de la progresión de la placa de ateroma?
Blanco, Fabiana

Citocromo *c*: mecanismo de nitración y polimerización
Tortora, Veronica

382 Inhibidores de la NAD⁺ glicohidrolasa CD38 para el tratamiento de enfermedades metabólicas

Escande, Carlos[1] *
*[*1] Institut Pasteur de Montevideo

La obesidad y patologías asociadas, como la diabetes tipo II, son un creciente problema de salud en todo el mundo. Sus principales causas son los cambios alimenticios, aumento del sedentarismo, e incremento en la expectativa de vida. La obesidad afecta al 25% de la población mundial adulta, por lo que se hace imprescindible desarrollar nuevas estrategias para su prevención y tratamiento. En los últimos años, diferentes grupos de investigación han demostrado que el aumento en la disponibilidad de NAD^+ a nivel sistémico mejora varios aspectos de la obesidad y diabetes tipo II in vivo. Este efecto protector del NAD^+ transcurre principalmente a través de la activación de las enzimas sirtuinas, especialmente SIRT1, enzima que juega un papel central en el control del metabolismo y el envejecimiento. Intervenir en la dinámica de NAD^+ se presenta entonces como una estrategia posible para el tratamiento de enfermedades metabólicas. Nuestros trabajos fueron pioneros en demostrar que la glicohidrolasa de NAD^+ CD38 es la principal enzima responsable de la degradación de NAD^+ en mamíferos. Los ratones knockout para CD38 tienen niveles elevados de NAD^+ y están protegidos contra la obesidad y el síndrome metabólico. Posteriormente desarrollamos un screening de fármacos en busca de inhibidores naturales de CD38, y descubrimos que el flavonoide Apigenina inhibe CD38 in vitro en in vivo, incrementa los niveles de NAD^+ in vivo y protege contra la diabetes tipo II. Actualmente nos encontramos desarrollando nuevos inhibidores de CD38, mas potentes y específicos. Consideramos que estos abordajes farmacológicos pueden abrir nuevas perspectivas de tratamiento de la obesidad y diabetes tipo II.

156 Los sistemas de adquisición de hierro mediados por Serobactinas optimizan la aptitud competitiva de *Herbaspirillum seropedicae* dentro de las plantas de arroz

Rosconi, Federico[1] *; *Trovero, Fernanda*[1]; *Davyt, Danilo*[2]; *Fabiano, Elena*[1]
*[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Facultad de Química, Universidad de la República

Los sistemas bacterianos de adquisición de hierro demostraron ser relevantes en la interacción huésped-microorganismo, principalmente en patógenos animales. Estudios de genómica comparativa y metagenómica sugieren que dichos sistemas son importantes en la interacción plantas-bacterias endófitas. Los sideróforos son moléculas orgánicas de bajo peso molecular producidas por las bacterias bajo condiciones limitantes de hierro, que se unen al ion férrico con alta afinidad y lo transportan al interior celular mediante receptores de membrana específicos. Utilizando como modelo de endófito a la ß-Proteobacteria *Herbaspirillum seropedicae* Z67, nos propusimos caracterizar estructuralmente los sideróforos producidos por esta cepa, los mecanismos de transporte y su importancia en la interacción con plantas de arroz. La identificación estructural de los sideróforos producidos por *H. seropedicae* se logró utilizando técnicas de mutagénesis generalizada, herramientas computacionales y análisis químicos. Demostramos que los sideróforos producidos por *H. seropedicae* Z67 son un conjunto de lipopéptidos anfifílicos que varían en la longitud de cadena del ácido graso. Los nombramos como serobactinas. Mediante estudios de expresión diferencial de proteínas de membrana externa y ensayos genéticos, identificamos el gen Hsero_2345 como responsable de producir el receptor involucrado en la internalización de las serobactinas. Mutantes afectados en la producción y transporte de serobactinas son capaces de colonizar y sobrevivir en el interior de plantas de arroz de la misma manera que la cepa salvaje. Sin embargo, en ensayos de co-inoculación, dichos mutantes presentan una clara desventaja competitiva en la sobrevivencia en el interior de la planta frente a la cepa salvaje.Financiación: ANII, PEDECIBA.

095 La activación de receptores purinérgicos con ATP inhibe tanto la apoptosis dependiente como la independiente de caspasas en células de endotelio de córnea de bovino en cultivo

Justet, Cristian[1 *]; *Hernández, Julio Andrés*[2]; *Chifflet, Silvia*[1]

[* 1] Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Además de su rol como molécula de alta energía, el ATP participa de procesos de señalización. Diversos estímulos inducen su liberación al medio extracelular, donde activa receptores purinérgicos. La activación de estos receptores genera principalmente el incremento de concentración citosólica de calcio. En trabajos previos encontramos que, en células de endotelio de córnea de bovino (BCE) en cultivo, se produce apoptosis caspasa-dependiente durante las primeras 24 horas después de realizada una herida. Asimismo, de forma instantánea luego de realizada una herida, se produce una onda de calcio mediada por la liberación de ATP. En nuestro laboratorio hemos encontrado que dicha onda inhibe la apoptosis durante la cicatrización.En este trabajo nos propusimos determinar el efecto de la incubación con ATP sobre la apoptosis en monocapas indemnes de células de BCE en cultivo. Encontramos que la incubación durante 24 horas con etopósido 150 μM (inductor de apoptosis caspasa-dependiente) o con hexametilen-amiloride 80 μM (inductor de apoptosis caspasa-independiente) provoca un incremento del índice apoptótico de aproximadamente 300%. Sin embargo, la incubación previa durante 2 minutos con ATP 100 μM induce una reducción del incremento de apoptosis hasta aproximadamente 150% en ambos casos. Además, la inhibición del incremento de concentración de calcio citosólico (utilizando ácido ciclopiazónico 10 μM y EGTA 100 μM) bloquea por completo el efecto protector del ATP. En su conjunto, nuestros resultados sugieren que la activación de receptores purinérgicos mediante incubación con ATP tiene un efector de protección contra la apoptosis de forma dependiente del incremento de calcio citosólico.

032 Estudio comparativo del transcriptoma nuclear y citoplásmico: implicancias en la regulación de la expresión génica en Trypanosoma cruzi

Pastro, Lucia[1 *]; *Pablo, Smircich*[1]; *Duhagon, María Ana*[1]; *Sotelo-Silveira, José*[2]; *Garat, Beatriz*[1]

[* 1] Laboratorio de Interacciones Moleculares. Facultad de Ciencias. Universidad de la República; [2] Departamento de Genética. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. MEC

Trypanosoma cruzi es el agente causal de la enfermedad de Chagas que produce la muerte de miles de personas al año en América Latina. Este organismo resulta un excelente modelo para el estudio de la regulación postranscripcional de la expresión génica debido a la aparente falta de control del inicio de la transcripción de los genes que codifican para proteínas que, a su vez, son transcritos en forma de policistrones que contienen genes no relacionados funcionalmente. Los estudios de la regulación postranscripcional de la expresión génica en *T. cruzi* se han volcado principalmente al análisis de niveles de ARNm de homogenados celulares. Nuestra hipótesis de trabajo es que la compartimentación subcelular de ARN juega un rol en el control de la expresión génica en este parásito, por lo que el análisis de secuenciación masiva de ARN de fracciones subcelulares podría aportar una perspectiva nueva en la comprensión de este fenómeno. Como forma de evidenciar si el tráfico núcleo-citoplasma influye en la expresión génica en *T. cruzi* utilizamos análisis de secuenciación masiva de ARN (Illumina HiSeq 2000, *paired ended library*) extraído de fracciones nuclear, citoplásmica y de homogenado total del estadio epimastigota. Los resultados indican que existe una distribución subcelular diferencial. Notoriamente, la fracción nuclear está enriquecida en transcriptos codificantes para proteínas que no se expresan en este estadio del parásito.Nuestros datos reúnen nueva evidencia acerca del control de los mecanismos de regulación de la expresión génica a nivel postranscripcional en este parásito.

035 La inhibición de NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cells) reduce la aterosclerosis inducida por diabetes: regresión o limitación de la progresión de la placa de ateroma?

Blanco, Fabiana[1 *]; *Heinonen, Suvi*[2]; *Gurzeler, Erika*[3]; *Dutius Andersson, Anna-Maria*[4]; *Berglund, Lisa M*[4]; *Jönsson-Rylander, Ann-Cathrine* [2]; *Ylä-Herttuala, Seppo*[3]; *Gomez, Maria F* [4]

[* 1] Department of Clinical Sciences in Malmö, Lund University - Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Astra Zeneca R&D Bioscience; [3] Department of Biotechnology and Molecular Medicine at A.I. Virtanen Institute for Molecular Sciences, University of Eastern Finland; [4] Department of Clinical Sciences in Malmö, Lund University

Evidencias clínicas vinculan la diabetes con generación de aterosclerosis, pero no están claros los mecanismos moleculares involucrados. Recientemente, demostramos que la hiperglicemia activa el factor de transcripción NFAT en la pared arterial. Aquí, estudiamos el rol de NFAT en el desarrollo de la aterosclerosis inducida por diabetes. Para ello, utilizamos un novedoso modelo de ratón con diabetes tipo2 (IGF-II/LDLR-/-ApoB100/100) que desarrolla hiperglicemia, leve hiperinsulinemia y complejas placas de ateroma calcificadas. Ratones jóvenes (n=10) y adultos (n=16) recibieron durante ocho semanas una dieta rica en grasas y fueron tratados diariamente con inyecciones i.p del bloqueador de NFAT (A-285222, 0.29 mg/Kg) o vehículo (NaCl) a partir de la cuarta semana. Utilizando biomicroscopía de ultrasonido, se observó que el tratamiento *in vivo* con A-285222 reduce significativamente el tamaño de placa en la arteria braquiocefálica en los ratones jóvenes, comparado con ratones controles ($0{,}0405 \pm 0{,}0056 mm^2$ y $0{,}0818 \pm 0{,}016 mm^2$; *p=0.0218), y con los mismos animales previo al tratamiento ($0405 \pm 0{,}0056 mm^2$ y $0.0643 \pm 0{,}0063 mm^2$; *p=0.0182). Resultados histológicos revelaron una disminución del tamaño de placa también en los ratones adultos. Nuestros resultados proveen evidencias de que NFAT está involucrado en el desarrollo de las complicaciones macrovasculares en la diabetes. La inhibición de la señalización de NFAT en ratones diabéticos IGF-II/LDLR-/-ApoB100/100, no sólo limita la progresión de la aterosclerosis en la arteria braquiocefálica, sino que aún más importante, lleva a la regresión de la placa de ateroma.

362 Citocromo *c*: mecanismo de nitración y polimerización

Tortora, Veronica[1 *]; *Scandroglio, Fiorella*[1]; *Castro, Laura*[1]; *Radi, Rafael*[1]

[* 1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina and Center for Free Radical and Biomedical Research, Universidad de la República

El citocromo c es una hemo proteína mitocondrial que participa en la cadena de transporte electrónico y en la apoptosis. En su estructura se destaca un hemo penta-coordinado y 4 tirosinas altamente conservadas: dos internas (Tyr48, Tyr67) y dos expuestas al solvente (Tyr74, Tyr97). El citocromo c es capaz de nitrarse por peroxinitrito, en primer lugar en las tirosinas externas, dando lugar a un citocromo más lábil, el cuál pierde la sexta posición de coordinación del hemo, con una ganancia en actividad peroxidasa. Con el fin de determinar las tirosinas involucradas en su nitración y polimerización se realizaron mutantes de cada una de las tirosinas por fenillanina y se valido su estructura y funcionalidad. Cada mutante fue expuesto a distintas concentraciones de peroxinitrito y se realizaron ensayos de western blot anti-NO2Tyr y anti-citocromo c. Todos los mutantes presentaron menor nitración que el salvaje, pero los mutantes en las Tyr48 y Tyr67 presentaron también menos formación de agregados. El doble mutante Tyr74 97Phe presenta casi tantos agregados como el citocromo salvaje.Proponemos un mecanismo mediante el cual el peróxinitrito nitra en primer lugar las tirosinas más externas del citocromo c, que debido a esta nitración adquiere una conformación más desplegada que expone las tirosinas que inicialmente estaban más internas, al mismo tiempo que favorece la nitración por un mecanismo tipo peroxidasa, catalizada por el hierro hémico, favoreciendo la polimerización del citocromo. Estas formas oxidadas del citocromo no muestran actividad biológica ni como transportador de electrones ni como desencadenante de la apoptosis.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 09:00 a 10:45 **Pasillo Planta Baja**

Biodiversidad y sus determinantes

Coordina: *Matías Arim*

Papel del paisaje en la estructura y funcionamiento de las redes tróficas
Arim, Matias

Desentrañando procesos locales y regionales en los patrones de biodiversidad
Borthagaray, Ana

Empaquetamiento de especies: Aportes desde la Ley de Taylor en tamaños corporales
Rodríguez-Tricot, Lucía

Dependencia metabólica de la riqueza de especies del fitoplanctón lacustre
Segura, Angel Manuel

Factores ecológicos y filogenéticos involucrados en la distribución en América de la cianobacteria emergente *Cylindrospermopsis raciborskii*
Cremella, Bruno

361 Papel del paisaje en la estructura y funcionamiento de las redes tróficas

*Arim, Matias[1] *; Borthagaray, Ana[2]; Loureiro, Marcelo[3]*

[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República / Centro Universitario de la Región Este (CURE), Universidad de la República; [2] Centro Universitario de la Región Este (CURE), Universidad de la República; [3] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Avanzar en la conexión entre el cambio global (pérdida de especies, homogeneización de biotas, fragmentación y cambio climático) y su efecto en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas representa hoy un objetivo apremiante. Las redes tróficas y la estructura de tamaños corporales en las comunidades están interrelacionadas en la relación tamaño corporal-posición trófica (M-TP). La relajación de limitantes por tamaño al consumo de presas determinaría una relación M-TP positiva, pero restricciones energéticas determinarían el patrón opuesto; prediciendo ambos mecanismos un patrón en joroba. Paralelamente es aceptado que la distribución espacial de las comunidades determina la relación M-PT observada en ellas, aunque esto no ha sido prácticamente evaluado. En base a modelos alométricos y simulaciones estocásticas encontramos una conexión entre el aislamiento de las comunidades locales y la relación M-TP. Las bajas tasas reproductivas y densidades poblacionales harían particularmente sensibles a los depredadores de gran tamaño en altas posiciones tróficas al grado de aislamiento, a pesar de sus mayores capacidades de movimiento. Estos organismos también se ven desproporcionalmente afectados por los cambios en productividad, área y diversidad, siendo así particularmente vulnerables al cambio global. El presente trabajo incorpora los procesos de fragmentación y aislamiento de las comunidades como un mecanismos adicional reforzando esta idea, e identifica un determinante previamente ignorado de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas.

365 Desentrañando procesos locales y regionales en los patrones de biodiversidad

*Borthagaray, Ana[1] *; Berazategui, Mauro[1]; Arim, Matias[2]*

[*1] Centro Universitario de la Región Este (CURE), Universidad de la República ; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República / Centro Universitario de la Región Este, Universidad de la República

Durante mucho tiempo los proceso locales asociados a interacciones biológicas y condiciones ambientales han sido considerados determinantes principales de la estructura comunitaria. Esta concepción de comunidades como entidades aisladas ha sido reemplazada por una visión en donde la estructura del pool regional de especies sería un importante determinante de su estructura. Más recientemente, el concepto abstracto de pool regional de especies es modificado por una consideración explícita del intercambio de individuos entre comunidades. Sin duda, la teoría de metacomunidades ofrece un marco óptimo para desentrañar la importancia de los procesos locales y regionales sobre los patrones de diversidad. No obstante, el avance en abordajes empíricos ha ido notablemente más atrasado que los desarrollos teóricos en el área. En esta presentación analizamos la importancia relativa de las condiciones locales y del aislamiento de las comunidades dentro de una metacomunidad de 18 charcos temporales como determinantes de la riqueza de especies para 25 taxa. A pesar de que los factores locales han dominado ampliamente la atención de la teoría ecológica, nuestro estudio indica que la estructura de la red metacomunitaria de charcos es igualmente importante para explicar los patrones de diversidad local. Además, mostramos que el efecto relativo de las condiciones locales y de la red metacomunitaria dependen del tamaño corporal y abundancia de los taxa analizados. Este trabajo provee uno de los primeros soportes empíricos para el sugerido rol de la red metacomunitaria como determinante de la diversidad comunitaria y muestra la naturaleza taxón-dependiente de estas redes.

366 Empaquetamiento de especies: Aportes desde la Ley de Taylor en tamaños corporales

Rodríguez-Tricot, Lucía [1 *]; *Arim, Matías*[1]

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República / Centro Universitario de la Región Este

El tamaño corporal es un atributo individual básico, afectando percepción y utilización del ambiente. La distribución de tamaños en una comunidad reflejaría la acción de los principales mecanismos ecológicos y evolutivos. La idea de similitudes límites en el tamaño de especies coexistentes es central a teorías clásicas y contemporáneas donde predominó una visión tipológica considerándose el efecto del tamaño corporal promedio en la coexistencia. A pesar de ser generalmente ignorada, la varianza participa en los procesos de coexistencia afectando el grado de sobreposición entre especies. En este trabajo reportamos un escalamiento varianza=a.mediab en los tamaños de los invertebrados de una metacomunidad de charcos temporales. Esto permite estimar un segundo escalamiento: la relación entre la diferencia en tamaño corporal de especies similares y su tamaño corporal promedio, tal que se mantenga constante el grado de sobreposición entre especies. El intercepto de este escalamiento representa la sobreposición promedio y la pendiente si esta sobreposición es independiente al tamaño corporal o si aumenta o disminuye con este; como fuera sugerido por predicciones antagónicas de la teoría disponible. Esto permite un nuevo abordaje al análisis empírico de aspectos medulares de la teoría ecológica. En el sistema analizado, ambos parámetros estuvieron asociados a condiciones locales como área o heterogeneidad. Este estudio representa una de las primeras evidencias empíricas sobre una conexión entre el grado de empaquetamiento (sobreposición) y su tendencia con el tamaño de las especies y las condiciones en las cuales la comunidad está inserta.

168 Factores ecológicos y filogenéticos involucrados en la distribución en América de la cianobacteria emergente *Cylindrospermopsis raciborskii*

Cremella, Bruno[1 *]; *Piccini, Claudia*[2]; *Somma, Andrea*[1]; *Aubriot, Luis*[1]; *Bonilla, Sylvia*[1]

[* 1] Sección Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Las cianobacterias son componentes del fitoplancton que en algunas condiciones pueden crecer en forma acelerada comprometiendo la calidad de agua. La expansión de la cianobacteria de agua dulce *Cylindrospermopsis raciborskii* desde el trópico hacia climas subtropicales y templados constituye un potencial peligro debido a su capacidad de producir toxinas. La distribución de la especie abarca diversas condiciones ambientales y estaría asociada al bajo fósforo total en el agua, pero se desconoce la situación actual para las Américas. En este estudio se generó una base de datos sobre la presencia, distribución y preferencias ecológicas de la especie en el continente americano (45.4°N a 34.9°S), analizando máximos biovolúmenes y contribución relativa (%CR) en gradientes de temperatura, PT (fósforo total) y Z_{eu} (indicador de turbidez), y un análisis filogenético (*nifH*) de la distribución de la especie. La distribución de biomasas de la especie no presentó diferencias entre los climas subtropicales y tropicales, siendo menor en climas templados, y la presencia de biovolúmenes $>0.1 mm^3$ ocurrió en amplios rangos ambientales. Los máximos biovolúmenes ocurrieron a temperaturas de 30.5°C, 130 μgL^{-1} de PT y en aguas moderadamente turbias. El %CR tuvo un máximo a 62 μgL^{-1} de PT y no mostró dependencia clara con la temperatura y la turbidez. La filogenia mostró subclústeres filogeográficos. Esto sugiere que *C. raciborskii* no es una especie invasora y el principal motivo de su emergencia es el aumento de cuerpos de agua en etapas tempranas de eutrofización.

393 Dependencia metabólica de la riqueza de especies del fitoplanctón lacustre

Segura, Angel Manuel[1 *]; *Calliari, Danilo*[1]; *Kruk, Carla*[2]; *Izaguirre, Irina*[3]; *Saad, Juan Francisco*[3]; *Fort, Hugo*[4]; *Arim, Matías* [5]

[* 1] Facultad de Ciencias y Centro Universitario Regional Este, Universidad de la República - Ecología Funcional de Sistemas Acuáticos, CSIC, Universidad de la República; [2] Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Instituto IEGEBA (CONICET-UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; [4] Grupo de Sistemas Complejos, Instituto de Física, Universidad de la República; [5] Departamento de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias y Centro Universitario Regional Este, Universidad de la República

Se analizó la dependencia de la riqueza de especies (S) con la temperatura (T) en el marco de la Teoría Metabólica Ecológica (TME) evaluando explícitamente sus supuestos y predicciones. La TME propone que el logaritmo natural de la riqueza de especies y el inverso de la temperatura están relacionados de forma lineal y con una pendiente igual a la energía de activación. Esto depende de que la abundancia total de organismos de la comunidad, el tamaño corporal y la productividad promedio por especie sean independientes de la temperatura. Estas predicciones y sus supuestos fueron evaluados en ~660 comunidades de fitoplancton lacustre del Hemisferio Sur (Antártida a Argentina) y Norte (Europa y Norteamérica) y con 281 mediciones experimentales de la tasa de crecimiento del fitoplancton compiladas de la literatura. Las relaciones propuestas por la TME se evaluaron mediante ajustes lineales, cuadráticos y en segmentos. La relación entre riqueza y temperatura presentó una relación con tres segmentos lineales. A temperaturas superiores a 17°C e inferiores a 11°C la relación fue débil o inexistente. A temperaturas intermedias la relación fue negativa para los tres set de datos según lo esperado, pero las pendientes fueron significativamente más pronunciadas (~1) que lo esperado según la TME (~0.3). Cuando se incluyó el efecto de la densidad total de organismos de la comunidad y el tamaño corporal, la relación con la riqueza dio cuenta de un 64% de la varianza. Una conclusión central es que la TME en su formulación original, es decir, con los supuestos de independencia de la abundancia y el tamaño corporal con la temperatura, es un modelo ineficiente para describir los patrones latitudinales de riqueza. Por el contrario, cuando se incluye explícitamente la dependencia de estas variables en la TME, la misma tiene un poder predictivo destacable. Se desprende que la tensión entre la energía de activación, la abundancia total y el tamaño corporal produce el patrón en segmentos observado en la relación T-S del fitoplancton lacustre.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 09:00 a 10:45 **La Concepción**

Organismos modelo

Coordinan: *Martina Crispo*
Gustavo Salinas

Estudio del papel que cumple una nueva proteína, Patched-related, en la embriogénesis de *Drosophila melanogaster*
Bolatto, Carmen

El pez cebra como modelo experimental para el estudio de las ciliopatías.
Cardenas-Rodriguez, Magdalena

Desarrollo de modelos murinos en la Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación (UATE)
Schlapp, Geraldine

Lógica regulatoria en cis de genes pan-neuronales en *C. elegans*
Carrera, Inés

317 Estudio del papel que cumple una nueva proteína, Patched-related, en la embriogénesis de *Drosophila melanogaster*

Bolatto, Carmen[1 *]; *Cambiazo, Verónica*[2]

[* 1] Depto. Histología y Embriología. Facultad de Medicina. Universidad de la República; [2] INTA-Universidad de Chile

Patched-related (Ptr), es una nueva proteína transmembrana que presenta una topología similar a la descrita para Patched (Ptc), un componente bien caracterizado de la cascada de señalización que involucra al morfógeno Hedgehog (Hh). Utilizando las reconocidas ventajas genéticas y moleculares que tiene el modelo *Drosophila*, estudiamos la posibilidad de participación de Ptr en la vía de señalización gatillada por Hh durante la embriogénesis de este organismo. Nuestros resultados muestran que tanto la disminución de la expresión de Ptr como la pérdida de función del gen, provocan fusiones en los cinturones de dentículos e incrementan la letalidad en estadios tardíos de la embriogénesis. Por su parte, la detección inmunocitoquímica de Ptr muestra co-localización de esta proteína con Ptc en estadios tempranos embrionarios mientras que tardíamente se obseva una fuerte expresión de Ptr en los hemocitos. Los ensayos de gen reportero realizados para medir la actividad de la vía de Hh en células cl-8 luego de la transfección de ARN doble hebra o DNA, muestran que Ptr estaría actuando como un componente negativo en la mencionada cascada de señalización. Los datos obtenidos hasta el momento sugieren fuertemente que en *Drosophila,* Ptr tiene un rol importante en el patronamiento del embrión probablemente desempeñando funciones como regulador negativo en la cascada de Hh e indican también que la proteína estaría cumpliendo algún rol en relación con los hemocitos. Financiamiento: PEDECIBA y CSIC I+D 2010, CB. Fondecyt, VC

144 El pez cebra como modelo experimental para el estudio de las ciliopatías.

Cardenas-Rodriguez, Magdalena[1 *]; *Novas, Rossina*[1]; *Prieto-Echague, Victoria*[1]; *Badano, José Luis*[1]

[* 1] Institut Pasteur de Montevideo

El pez cebra se ha convertido en uno de los principales modelos de experimentación animal para el estudio de la biología de los vertebrados, particularmente para el estudio del desarrollo embrionario, para análisis genéticos y como modelo de enfermedades humanas. Una de sus características más favorables es su modo de reproducción externa, lo cual confiere la ventaja de poder estudiar las primeras etapas del desarrollo embrionario así como estudiar y controlar los tiempos de la fecundación. Debido a que sus huevos son transparentes y su desarrollo embrionario es muy rápido, permite visualizar y registrar en tiempo real todo el desarrollo de los órganos. Su genoma ha sido completamente secuenciado y se han desarrollado métodos muy efectivos para manipular su expresión génica. Debido a que presenta un alto grado de homología a nivel genómico con el hombre, el pez cebra se ha convertido en un excelente modelo para el estudio de enfermedades humanas, como ser las ciliopatías. Éstas son definidas como una clase de enfermedades genéticas humanas, cuya etiología es el mal funcionamiento de las cilias primarias. El pez cebra es ideal para su estudio porque presenta muchos órganos ciliados de fácil acceso y permite analizar genes requeridos para la función ciliar, por medio de combinar la manipulación genética con imagenología de alta calidad y resolución *in vivo*. En el laboratorio utilizamos este modelo para estudiar el rol biológico de proteínas asociadas con la ciliopatía Bardet-Biedl, con el objetivo de poder comprender y aportar información sobre la etiología de esta enfermedad.

130 Desarrollo de modelos murinos en la Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación (UATE)

Schlapp, Geraldine[1 *]; *Meikle, María Noel*[1]; *Mulet, Ana Paula*[1]; *Arévalo, Ana Paula*[1]; *Fernández, Gabriel* [1]; *Ancheta, Sergio*[1]; *Mereles, Martín*[1]; *Crispo, Martina*[1]

[*1] Institut Pasteur de Montevideo

Los modelos murinos han contribuido a la comprensión de las bases genéticas de muchas patologías, la búsqueda de nuevos blanco de drogas y al desarrollo de nuevas terapias. La UATE ha sido concebida para generar y mantener modelos murinos bajo condiciones SPF (*Specific Pathogen Free*), para su uso por la comunidad científica nacional y regional. Las líneas *wild-type* y transgénicas provienen de repositorios internacionales tales como Jackson laboratory y Charles River, y de institutos de investigación, las cuales se someten a rederivación embrionaria para ingresar al bioterio. Asimismo, en la Unidad se han implementado técnicas diversas para generar líneas transgénicas, tales como microinyección pronuclear de ADN, transgénesis mediada por lentivirus y por transposones (*Sleeping beauty transposon*), y líneas *knock-out* (KO) condicionales mediante *gene-targeting* en células madre embrionarias murinas. Recientemente comenzamos a generar animales mediante la tecnología de CRISPRs, la cual está teniendo gran auge en la comunidad científica dada la alta eficiencia en la generación de animales KO. Contamos con las líneas endocriadas BALB/cJ y C57BL/6J que son ampliamente utilizadas en una gran diversidad de estudios, así como 26 líneas transgénicas que tienen aplicaciones diversas como: cáncer, obesidad, diabetes, envejecimiento, inmunología, inflamación, leucemia, neurodegeneración, entre otros. Dado que la generación de líneas modificadas genéticamente es laboriosa y consume mucho tiempo, estos modelos se respaldan en forma de esperma y embriones criopreservados en nitrógeno líquido, lo cual a su vez disminuye la necesidad de espacio, y evita la contaminación con patógenos, la deriva genética y los problemas de infertilidad.

285 Lógica regulatoria en cis de genes pan-neuronales en *C. elegans*

Carrera, Inés[1 *]; *Stefanakis, Nikolaos* [1]; *Hobert, Oliver*[1]

[*1] Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Columbia University, New York, Howard Hughes Medical Institute

El establecimiento de la identidad de distintos tipos neuronales en el sistema nervioso, como ser la identidad colinérgica o gabaérgica, requiere factores de transcripción denominados Selectores Terminales (ST). Éstos activan la batería de genes terminales necesaria para la síntesis y recaptación de neurotransmisores a través de un mecanismo de coregulación. En neuronas que carecen de estos factores, no se detecta expresión de genes terminales pero sí esas células no pierden la identidad neuronal ya que genes pan-neuronales son se ven afectados. Si bien mecanismos que definen de esta manera la identidad de grupos de neuronas se conocen en detalle, los mecanismos de regulación transcripcional, cuales son los factores de transcripción y secuencias en cis necesarias para expresar genes presentes en todas la neuronas, genes pan-neuronales, se desconocen. Utilizando *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo, estudiamos la regulación de una batería de genes pan-neuronales y las secuencias en cis necesarias para su regulación en neuronas. Encontramos, a diferencias con genes terminales, una alta redundancia de diversos factores de transcripción. Uno de estos factores son los ST que también parecen regular mecanismos mas generales de identidad neuronal aparte de los terminales. Encontramos además, que genes de tipo HOX regulan algunos genes pan-neuronales. En conjunto, mostramos una lógica regulatoria para genes pan-neuronales de redundancia de factores que hipotetizamos sea requerida para una expresión robusta durante el desarrollo.

Sábado 6 - 09:00 a 10:45 **Pasillo Spa**

I+D de fármacos de terapia y diagnóstico: de la investigación básica a la biomedicina traslacional

Coordinan: *Mercedes González; Hugo Cerecetto; Dinorah Gambino*

Efecto del ion metálico sobre la actividad y el mecanismo de acción anti *Trypanosoma cruzi* de complejos metálicos con tiosemicarbazonas derivadas de nitrofurano
Otero, Lucía

The therapeutic benefits of taurine and its derivatives.
Chung, ManChin

Uso de fluoróforos y radionucleidos en la síntesis de sondas híbridas
Osorio Martínez, Carlos Alberto

Estudios de interacción con ADN de compuestos antiparasitarios de Pd y Pt
Vieites, Marisol

Uso del extracto hidro-etanólico de *Aristeguietia glutinosa* en la búsqueda de nuevos tratamientos para la enfermedad de Chagas
Varela, Javier

Estudio de la biodisponibilidad en plasma y cerebro de rata de los principales flavonoides contenidos en *Achyrocline satureioides Lam. DC. (A. satureioides).*
Martínez-Busi, Marcela

Desarrollo de compuestos anti-inflamatorios y anti-aterogénicos: Estudio de los mecanismos de acción de los nitroalquenos derivados del alfa-tocoferol
Rodriguez Duarte, Jorge

192 Efecto del ion metálico sobre la actividad y el mecanismo de acción anti *Trypanosoma cruzi* de complejos metálicos con tiosemicarbazonas derivadas de nitrofurano

*Cipriani, Micaella[1] *; Toloza, Jeannette[2]; Sarniguet, Cynthia [1]; Vieites, Marisol[1]; Maya, Juan Diego[3]; Olea Azar, Claudio[2]; Gambino, Dinorah[1]; Otero, Lucía[1]*

[*1] Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile; [3] Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La Química Inorgánica Medicinal ha evolucionado desde el descubrimiento casual de la actividad farmacológica de diferentes complejos metálicos, incluyendo el cisplatino, al diseño racional de fármacos metálicos con actividades biológicas y blancos moleculares específicos. En este sentido, nuestro grupo ha trabajado en el desarrollo de complejos metálicos con ligandos que sean activos frente a Trypanosoma cruzi, con el fin de obtener mejores agentes terapéuticos para combatir la enfermedad de Chagas. En particular, se han obtenido doce complejos de paladio, platino y rutenio con tiosemicarbazonas derivadas de 5-nitro-2-furaldehído (HL) como ligandos bioactivos y PTA (1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano) como co-ligando. La inclusión de este último tiene como finalidad modular la solubilidad en agua y la lipofilia de las nuevas especies así como facilitar su interacción con ADN. El efecto de la naturaleza del ion metálico sobre la actividad anti T. cruzi de los complejos [RuCl2(L)(HPTA)2]Cl2 y [MCl(L)(PTA)] M= Pd o Pt obtenidos resultó evidente, siendo los complejos de paladio y platino significativamente más activos. De ellos, los más activos, además resultaron muy poco tóxicos sobre células endoteliales mamíferas. Estos resultados fueron relacionados con la solubilidad en agua, la lipofilia y el potencial redox del grupo nitro de los complejos. En relación al mecanismo de acción, se estudió la capacidad de los complejos de generar radicales libres tóxicos para el parásito (mecanismo descripto para los ligandos bioactivos), de inhibir la enzima cruzipaína (potencial blanco de las tiosemicrabazonas) y de interactuar con ADN (a través del metal y facilitada por el ligando PTA).

384 The therapeutic benefits of taurine and its derivatives.

*Chung, ManChin[1] **

[*1] Universidad Estadual de San Pablo

Taurine (2-aminoethanesulfonic acid) is a semi-essential amino acid and the most abundant intracellular amino acid in the body and is related to be involved in several physiological functions, including: the liver, kidney, heart, pancreas, retina, brain, the maintainance of the structural integrity of the membrane; regulation of transport and binding of calcium, antiplatelets antioxidant and immunomodulation. In fact, its depletion is associated a several disease conditions such as diabetes, Parkinson□s, Alzheimer□s cardiovascular diseases, and neuronal damages in the retina. Based on this, we designed new prodrugs of classical antiiinflammatory drugs. It is estimated that exists more than 50 different non-steroidal anti-inflammatory (NSAIDs) drugs in the market and the global anti-inflammatory therapeutics market in 2010 accounted for $65.8 billion and the growing will continue but none of them are wholly without side effects such as gastro toxicity with bleeding , renal failure, hepatotoxicity, even the selective COX2 (cicloxigenase) receptors, as the celecoxib. For this reason none of NSAIDs is recommended for use more than 5 days or in chronic inflammatory diseases. The use of classical NSAIDs that inhibit COX1 generates an inflammatory process due to excess acid and failure of the gastric defense system. The use of taurine as carrier of these new prodrugs showed no gastric toxicity and also protect bowel in colitis model.

237 Uso de fluoróforos y radionucleidos en la síntesis de sondas híbridas

*Osorio Martínez, Carlos Alberto[1] *; Cabral, Pablo [1]; Cerecetto, Hugo [1]; González, Mercedes[2]*

[*1] Area de RadioFarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Grupo de Química Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En este trabajo se propone el desarrollo de agentes químicos con potencial uso como sondas híbridas, que combinen en su estructura dos o más farmacóforos de detección, permitiendo por ejemplo, incrementar la sensibilidad en los procesos de imagenología

molecular. Los 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (BODIPYs por sus siglas en ingles), se describen como un sistema electrófilico fluorescente con capacidad de ser utilizado para el desarrollo de diferentes sondas fluorescentes. La estructura central del BODIPY recuerda a las cianinas y su fluorescencia puede ser explicada por el arreglo electrónico entre sus átomos de nitrógeno. Se plantea la sustitución del ácido de Lewis de dicho compuesto de coordinación, el átomo de boro, por un radionucleido metálico, por ejemplo 99mTc, para generar un análogo metal-dipirrometeno (MDIPY) que actúe como sonda híbrida. Igualmente se propone trabajar en el desarrollo de nuevos agentes fluorescentes derivados y análogos de BODIPY, que permitan posteriormente mediante reacciones químicas adecuadas, generar sondas híbridas que posean una distancia entre los átomos donores (del compuesto de coordinación) diferente a las de unión dipirrometeno (DIPY), para que puedan coordinarse mejor los metales de mayor volumen atómico (como por ejemplo el Re y el Tc). Se presentarán ejemplos de los agentes desarrollados hasta el momento y su aplicación. AGRADECIMIENTOS: ANII

098 Estudios de interacción con ADN de compuestos antiparasitarios de Pd y Pt

*Bradford, Lara[1] *; Cipriani, Micaella [1]; Toloza, Jeannette[2]; Putzu, Eugenia [1]; Tomaz, Ana Isabel[3]; Garat, Beatriz[4]; Gambino, Dinorah [1]; Otero, Lucía[1]; Vieites, Marisol [1]*

*[1] Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Departamento de Química Inorgánica y Analítica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile; [3] Centro de Ciências Moleculares e Materiais, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa; [4] Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En la búsqueda de una quimioterapia adecuada para combatir la Tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas, nuestro grupo ha trabajado en el desarrollo de complejos de ligandos que tienen actividad contra Trypanosoma cruzi con metales de transición de importancia farmacológica. El objetivo ha sido la generación de agentes que actúen por múltiples mecanismos de acción y que tengan un perfil farmacológico mejorado. Uno de los blancos de acción propuestos para estos compuestos es el ADN. En este trabajo, se presentan los resultados de los estudios de interacción con ADN de los complejos [MCl(L)(PTA)] con M = Pd^{2+} o Pt^{2+}, L = tiosemicarbazonas derivadas de nitrofurano y PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano, desarrollados por el grupo. Se realizaron experimentos de interacción con ADN plasmídico por electroforesis en gel y de desplazamiento de bromuro de etidio de su aducto con ADN de timo de ternera por medidas de fluorescencia. Los resultados de ambos experimentos son consistentes con un modo de interacción con ADN de tipo intercalante. La interacción resultó tanto dependiente de la naturaleza del ion metálico como del ligando L. En particular, los complejos de paladio mostraron un efecto sobre el ADN mucho mayor que los correspondientes de platino produciendo degradación del mismo a altos valores de relación molar complejo:ADN. Los experimentos de fluorescencia muestran que existen también diferencias en el mecanismo de dicha interacción. A partir de los resultados de estos últimos experimentos fue posible determinar las constantes de asociación k_{SV} (Stern-Volmer) para los complejos estudiados.

148 Uso del extracto hidro-etanólico de *Aristeguietia glutinosa* en la búsqueda de nuevos tratamientos para la enfermedad de Chagas

*Varela, Javier[1] *; Lavaggi, Maria Laura[1]; Cabrera, Mauricio[1]; Rodríguez, Alejandra[2]; Miño, Patricio[3]; Chiriboga, Ximena[3]; Serna, Elva [4]; Torres, Susana[4]; Yaluff, Gloria[4]; Vera de Bilbao, Ninfa[4]; Cerecetto, Hugo [1]; González, Mercedes[1]*

*[1] Grupo de Química Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Química Analítica, Polo Tecnológico, Facultad de Química, Universidad de la República; [3] Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central, Ecuador; [4] Departamento de Medicina Tropical, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoario flagelado Trypanosoma cruzi, es una endemia ampliamente difundida en América Central y del Sur que genera graves problemas sanitarios, económicos y sociales en los países afectados. A más de un siglo de su descubrimiento no existen hasta el momento fármacos efectivos para su tratamiento. Aristeguietia glutinosa Lam. ("Matico") es utilizada en la medicina tradicional de Ecuador para tratar enfermedades de la piel y presenta actividad antibacterial, antifúngica y antiviral [1]. En nuestro trabajo se realizó el aislamiento de los principios activos anti-Trypanosoma cruzi, 15-hidroxi-7-labden-17-al (1) y 13,14,15,16-tetranor-labd-7-en-17,12-ólido (2), de baja actividad hemolítica, baja actividad citotóxica y ausencia de mutagenicidad [2]. Se evaluó la actividad in vivo del extracto hidro-etanólico y los principios activos purificados, y se observó relevante disminución de la parasitemia en sangre tanto con el tratamiento con (1) como con el extracto hidro-etanólico. Se observó que (1) actúa a nivel de deshidrogenasas mitocondriales y (2) inhibe la biosíntesis de esteroles de membrana [3]. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran al extracto hidro-etanólico de Aristeguietia glutinosa como posible nuevo tratamiento para la enfermedad de Chagas. [1] El-Seedi HR, Ohara T, Sata N, Nishiyama S. J. Ethnopharmacol. 2002, 81, 293-296.[2] Varela J, Lavaggi ML, Cabrera M, Rodríguez A, Miño P, Chiriboga X, CerecettoH, González M. Nat. Prod. Commun. 2012, 7, 1139-1142.[3] Varela J, Serna E, Torres S, Yaluff G, Vera de Bilbao N, Miño P, Chiriboga X, Cerecetto H, González M. Molecules 2014, 19, 8488-8502.Agradecimientos: ANII, CSIC

198 Estudio de la biodisponibilidad en plasma y cerebro de rata de los principales flavonoides contenidos en *Achyrocline satureioides Lam. DC. (A. satureioides).*

*Martínez-Busi, Marcela[1] *; Rivera, Felicia [2]; Dajas, Federico[2]; Abin-Carriquiry, Juan Andrés[1]*

*[1] Departamento de Neuroquímica y Plataforma de Servicios Analíticos, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Estudios previos mostraron que la infusión de A. satureioides presenta una potente capacidad citoprotectora. Esto la hace atractiva para estudios que continúen en la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas en la prevención de neuropatologías. Con el objetivo de determinar parámetros farmacocinéticos de los principales flavonoides contenidos en A. satureioides, se administró a ratas macho Sprague-Dawley por vía intragástrica una decocción de la misma (5 mg quercetina/mL determinada experimentalmente por HPLC-DAD). Mediante canulación de la vena femoral, se extrajeron muestras de plasma a distintos tiempos post-administración. Luego los animales fueron perfundidos vía transcardíaca y se les extrajo el cerebro. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo mediante la técnica de SPE-C18. El contenido de flavonoides en plasma y cerebro se determinó mediante la técnica de HPLC-ECD C18. A partir del gráfico de concentración plasmática versus tiempo se determinó: semi-vida de absorción (quercetina 28 min, luteolina 22 min y 3-O-metilquercetina 20 min) y eliminación (quercetina 237 min, luteolina 889 min y 3-O-metilquercetina 667 min), concentración máxima (quercetina 0,13 μg /mL, luteolina 0,24 μg /mL y 3-O-metilquercetina 0,47 μg /mL), tiempo máximo (quercetina 45 min, luteolina 180 min y 3-O-metilquercetina 60 min) y área bajo la curva (quercetina 36,9 μg/mL*min, luteolina 101,3 μg/mL*min y 3-O-metilquercetina 177,7 μg/mL*min). Para cada flavonoide se observó un comportamiento clásico de un modelo monocompartimental con administración extravascular. Se logró cuantificar en todos los casos la concentraciones en cerebro (quercetina 61,5 pg/mg tejido, luteolina 326.6 pg/mg tejido y 3-O-metilquercetina 435.0 pg/mg tejido).

205 Desarrollo de compuestos anti-inflamatorios y anti-aterogénicos: Estudio de los mecanismos de acción de los nitroalquenos derivados del alfa-tocoferol

*Rodriguez Duarte, Jorge [1] *; Galliussi, German[2]; Botti, Horacio[2]; Ferrer-Sueta, Gerardo [3]; López, Gloria V.[4]; Batthyány, Carlos [5]*

*[1] Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo - Grupo de Química Medicinal, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Grupo de Química Medicinal, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [5] Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo - Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La aterosclerosis es la principal causa de muerte en las sociedades La aterosclerosis es la principal causa de muerte en las sociedades desarrolladas. Comienza en sitios especiales del sistema vascular con la retención de partículas de LDL en la íntima arterial, el reclutamiento de células inflamatorias y la generación de condiciones inflamatorias que conduce a modificaciones de la LDL, formación de células espumosas y disfunción endotelial. Desarrollamos una nueva estrategia farmacológica para el tratamiento y la prevención de la aterosclerosis. Diseñamos y sintetizamos un compuesto híbrido análogo de a-tocoferol al que adicionamos un grupo funcional electrófilo, nitroalquenilo (1). El raciocinio de nuestra idea es que el híbrido tocoferol-nitroalqueno se incorpore selectivamente en las partículas de lipoproteínas durante su metabolismo normal y debido a la presencia del cromanilo del a-tocoferol. Una vez incorporado, las lipoproteínas distribuirán el compuesto por todo el organismo, incluyendo las lesiones ateroscleróticas, donde podrá ejercer las potentes propiedades anti-inflamatorias/anti-aterogénicas de los nitroalquenos. Sintetizamos los compuestos y realizamos la caracterización fisicoquímica/biológica. Los nitroalquenos derivados del tocoferol son electrófilos, capaces de incorporarse a las lipoproteínas en plasma y presentan actividad anti-inflamatoria:A-inhibiendo la secreción de citoquinas pro-inflamatorias controladas por el factor NFkB (IL-6, MCP-1, TNFa) en macrófagos murinos;B-induciendo la expresión de las enzimas de fase 2 dependientes del sistema Nrf2/Keap-1 (HO-1, GCLM, NQO-1) tanto in vitro como in vivo; C-inhibiendo la secreción de interleuquina 1-ß modulada por el inflamasoma NLRP3 en macrófagos THP-1.Ref. 1: (Solicitud de patente provisional N º 61/903, 068, EEUU; 2013; co-inventores C. Batthyány y G.V. López)

Sábado 6 - 14:00 a 15:45 **Fontana**

Sociedad Uruguaya de Microbiología

Coordinan: *Laura Betancor*
Claudia Etchebehere

Funciones de IL-17A durante la infección por Streptococcus pneumoniae
Rial, Analía

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas a cultivos multipropósitos de interés nacional
Battistoni, Federico

Superficie de *Salmonella*, territorio inexplorado.
Pérez, Victoria

Rhodotorula graminis como fuente de materia prima para biodiesel. Escalado en fermentador
Martínez Silveira, Adalgisa

Identificación de genes involucrados en los sistemas de adquisición de citrato férrico en el endófito *Herbaspirillum seropedicae* Z67
Trovero, Ma. Fernanda

Poblaciones de microorganismos oxidadores de amonio en cultivos de arroz; su respuesta al riego, el cultivar y el tipo de suelo.
Azziz, Gastón

202 Funciones de IL-17A durante la infección por Streptococcus pneumoniae

*Rial, Analía[1] *; Marqués, Juan Martìn[1]; Céspedes, María Paula[1]; Herrera, Daniel[1]; Muñoz, Natalia[1]; Crispo, Martina[2]; Chabalgoity, José Alejandro[1]*

[*,1] Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo

Streptococcus penumoniae es uno de los principales patógenos respiratorios humanos, con muy altas tasas de morbi-mortalidad a nivel mundial. Esta bacteria capsulada es capaz de colonizar de manera asintomática y transitoria la nasofaringe de niños y adultos, desde donde puede propagarse y provocar infecciones no invasivas (sinusitis u otitis), u otras patologías invasivas de mayor severidad como neumonía bacteriémica, meningitis o sepsis. La colonización nasofaríngea por neumococo es eventualmente controlada por el hospedero, si bien aún existe controversia sobre el principal mecanismo efector involucrado. Nuestro grupo ha estado trabajando en el desarrollo de modelos murinos de colonización nasofaríngea, y hemos mostrado que la citoquina IL-17A es esencial en su eliminación, puesto que animales Il17a-/- mantienen una colonización persistente. Por otro lado, considerando que neumococo es el principal agente etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad, nos interesó ahondar y estudiar la inmunidad protectora frente a ésta. Mostramos que la protección contra la neumonía aguda se correlaciona con niveles incrementados de IL-17A y la generación de células Th17. Sin embargo, los animales Il17a-/- quedan igualmente protegidos que los salvajes, habiendo mostrado que la presencia conjunta de anticuerpos específicos y neutrófilos es el principal mecanismo asociado a la protección. Además, de estos trabajos, ha surgido una línea de investigación en desarrollo que busca profundizar en la función de IL-17A en la respuesta secundaria de anticuerpos contra el polisacárido capsular. Consideramos que estos resultados son de utilidad para el diseño y desarrollo de nuevas y mejores vacunas frente a este patógeno.

331 Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas a cultivos multipropósitos de interés nacional

*Battistoni, Federico[1] **

[*,1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Existe a nivel mundial, un creciente interés en la reducción del uso de la energía fósil, y los efectos adversos que la misma produce sobre el medio ambiente. En nuestro país se está llevando a cabo un plan estratégico con la finalidad de diversificar la matriz energética, empleando energías propias y renovables. En este contexto, es que se está promoviendo la producción de biocombustibles. Las principales materias primas para la producción de los mismos son el cultivo de sorgo dulce (Sorghum bicolor) y la caña de azúcar (Saccharum officinarum). Sin embargo, estos cultivos, presentan una alta demanda de fertilización química la cual conlleva problemas económicos y medioambientales. Una alternativa mas sustentable a tener en cuenta, es el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), las cuales se asocian a plantas de manera benéfica promoviendo su crecimiento o controlando el estado sanitario de las mismas. Colecciones de probables endófitos bacterianos (los cuales habitan los tejidos internos de las plantas), asociados a los cultivos mencionados, fueron construidas en nuestro laboratorio las cuales han sido caracterizadas biquímica, genetica y fisiológicamente. Aislamientos de interés fueron identificados y ensayados como inoculantes en ambos cultivos, con el fin de poder determinar su potencial PCV. Los resultados mostraron que varios de los aislamientos nativos son novedosos siendo PCV en las condiciones ensayadas. Los mismos han sido establecidos como modelos de estudio, describiéndose la colonización e infección de los mismos en los cultivos huéspedes. Por otra parte el efecto de la fertilización química sobre la estructura de la comunidad endofítica asociada o la PCV ha sido estudiada mediante diferentes aproximaciones. Resultados de las mismas serán presentados. Financiación: PEDECIBA, ANII-FSE, ANII-Alianza

250 Superficie de *Salmonella*, territorio inexplorado.

Pérez, Victoria[1 *]; *D´Alessandro, Bruno*[1]; *Iriarte, Andrés*[1]; *Yim, Lucía*[1]; *Betancor, Laura*[2]

[* 1] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR

Nos planteamos utilizar la información genómica disponible para avanzar en el diseño racional de vacunas contra la salmonelosis. Realizamos genómica comparativa para evaluar la presencia de potenciales antígenos en las secuencias genómicas de diferentes cepas de *Salmonella*. Basándonos en datos nacionales y mundiales nos propusimos el desarrollo de una cepa vacunal recombinante polivalente que posibilite la protección contra los 5 principales serotipos de *Salmonella* definidos a partir de este análisis (Enteritidis, Typhimurium, Newport, Infantis y Montevideo) por ser los de mayor prevalencia. Hemos avanzado en la determinación del conjunto de proteínas de superficie con variabilidad a nivel aminoacídico (identidad menor al 99%) que puedan explicar la existencia de determinantes antigénicos diferenciales para los serotipos de interés. 910 proteínas resultaron ser comunes a todos los serotipos seleccionados. Entre éstas, un 46% son proteínas de unión y transporte, un 21% proteínas de membrana interna y las restantes son OMPs, fimbrias y flagelos, entre otras. Por otra parte, 249 resultaron ser proteínas variables entre serotipos, correspondiendo un 28% a proteínas de membrana interna, 24% a lipoproteínas periplásmicas y de exportación y un 20% a fimbrias y flagelos. Además hemos encontrado OMPs, polisacáridos de superficie, antígenos, proteínas de transporte que también varían entre serotipos. Estas proteínas serán evaluadas mediante un análisis de predicción de epítopes por homología. Continuaremos seleccionando un conjunto de proteínas para ser expresadas en una cepa atenuada recombinante para ser evaluada como vacuna dirigida a proteger animales de producción de alimentos contra la infección por las serovariedades más prevalentes de *Salmonella*.

026 Rhodotorula graminis como fuente de materia prima para biodiesel. Escalado en fermentador

Martínez Silveira, Adalgisa[1 *]; *Pereyra, Virginia*[1]; *Rufo, Caterina*[2]; *Vero, Silvana*[1]

[* 1] Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Polo tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República

El biodiesel es considerado como una prometedora alternativa a los combustibles fósiles. Sin embargo, debido a los costos de obtención de las materias primas vegetales utilizadas y a la competencia con el sector alimentario, fuentes alternativas de ácidos grasos tales como los aceites microbianos están siendo exploradas. En ese sentido el uso de levaduras oleaginosas se plantea como una alternativa factible. El objetivo de este trabajo consistió en optimizar las condiciones de producción de lípidos intracelulares en fermentador de una levadura oleaginosa nativa seleccionada previamente e identificada mediante análisis fenotípico y molecular como Rhodotorula graminis. Dicha levadura fue capaz acumular triglicéridos intracelulares equivalentes al 45% de su biomasa seca, con un perfil de ácidos grasos adecuado para la producción de biodiesel. Mediante cultivo a escala de laboratorio, en volúmenes de 50 ml de medio, se logró obtener una producción de lípidos de 5 g/L y de 12g/l de biomasa, utilizando un medio con glicerina cruda (subproducto de la producción de biodiesel) como fuente de carbono y energía. En dichas condiciones se demostró que el aumento de la biomasa estaba limitado por falta de oxígeno y nitrógeno. Mediante escalado a fermentador de 2,5 litros, ajustando las condiciones de aireación y agotación y realizando un cultivo alimentado se logró aumentar la biomasa al doble, obteniéndose una concentración de 23 g/L.

127 Identificación de genes involucrados en los sistemas de adquisición de citrato férrico en el endófito *Herbaspirillum seropedicae* Z67

Trovero, Ma. Fernanda[1 *]; *Tardra-Sfeir, Michelle*[2]; *Platero, Raúl*[1]; *Souza, Emanuel*[2]; *Fabiano, Elena*[1]; *Rosconi, Federico*[1]

[* 1] Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de Bioquimica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná

Herbaspirillum seropedicae Z67 es un endófito modelo que coloniza el xilema de diversas gramíneas. En el xilema de las plantas existe una alta concentración de citrato férrico (10-100 μM). Nos planteamos como hipótesis que el citrato férrico puede ser utilizado como fuente de hierro por *H. seropedicae*. Para la identificación de los genes involucrados en los posibles mecanismos de captación del compuesto, realizamos dos abordajes: proteómico y transcriptómico. Se creció la cepa salvaje en distintas condiciones de disponibilidad de hierro y citrato férrico. Para el primer abordaje, se obtuvo la fracción de proteínas de membrana totales y se analizó por SDS-PAGE. Las bandas expresadas diferencialmente se identificaron por MALDI-TOF. En el abordaje transcriptómico, se extrajo el ARN de las bacterias a distintos tiempos y en las distintas condiciones, se realizó PCR en tiempo real con cebadores específicos para posibles genes candidatos y se secuenció el ARN total utilizando la plataforma ION-Proton. Mediante MALDI-TOF logramos identificar a los receptores TonB-dependientes *fiu* y *fecA* (Hsero_3255, Hsero_1277) un probable transportador de citrato férrico. El abordaje de secuenciación masiva mostró la expresión diferencial entre otros de: *fecA*; los genes involucrados en los sistemas de adquisición de hierro mediado por los sideróforos endógenos de *H. seropedicae*, las serobactinas; y de un sistema de transporte de Fe^{2+} en membrana interna (Hsero_2720). La expresión diferencial de *fecA* y Hsero_2720 fue confirmada mediante PCR en tiempo real. Como perspectiva, estudiaremos el fenotipo de mutantes en los genes identificados en las condiciones de crecimiento estudiadas.

007 Poblaciones de microorganismos oxidadores de amonio en cultivos de arroz; su respuesta al riego, el cultivar y el tipo de suelo.

Azziz, Gastón[1 *]; *Trasante, Tania*[1]; *Irisarri, Pilar*[1]; *Monza, Jorge*[1]

[* 1] Facultad de Agronomía, Universidad de la República

El N2O es un importante gas de efecto invernadero (GEI). Tiene un potencial de calentamiento 310 veces mayor que el CO2 y una vida media de 120 años en la atmósfera. La agricultura representa la mayor fuente de emisiones antropogénica de N2O, las que han aumentado 17% entre 1990 y 2005. El N2O es producido biológicamente mediante los procesos microbianos de nitrificación y desnitrificación. Durante la nitrificación, el N2O es formado como un subproducto de la oxidación del amonio. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la abundancia y diversidad de las poblaciones de arqueas y bacterias oxidadoras de amonio (AOA y AOB, respectivamente) en ensayos de invernáculo donde se evaluaron distintos manejos de agua, cultivares de arroz y dos suelos de distintas regiones arroceras del país. Se utilizó el gen amoA bacteriano y arqueano; se evaluó la abundancia mediante q-pcr y la estructura de la población mediante T-RFLP. La abundancia de las poblaciones de AOB se vio afectada por las variables manejo de agua, suelo y fecha, mientras que la de AOA sólo varió de acuerdo a la fecha de muestreo y según el riego en el segundo ensayo. Las estructuras de las poblaciones fueron diferentes según el suelo y el cultivar de arroz. El efecto del suelo sobre estas poblaciones fue muy marcado, se encontraron unidades taxonómicas operacionales (OTUs) exclusivas de cada suelo; la OTU 633 se encontró solamente en las muestras de Treinta y Tres con una abundancia promedio de 27.2%.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 14:00 a 15:45 **Pasillo Planta Baja**

Fluorescencia Biológica: desde la cubeta al microscopio

Coordinan: *Leonel Malacrida*
Ana Denicola

Laurdan GP y el estudio de los dominios de membrana en vivo y en vitro
Sanchez Donoso, Susana

Avances en el estudio sobre la función de las cilias primarias en la diferenciación de las células ganglionares de la retina.
Lepanto, Paola

Fasores espectrales y en tiempo de vida para el estudio de la emisión de LAURDAN y PRODAN en membranas: una nueva perspectiva para los estudios de biofísica de membranas.
Malacrida, Leonel

Desarrollo de métodos fluorescentes de medida de actividad quinasa de PknG de *Mycobacterium tuberculosis*
Dalla Rizza, Joaquín

209 Laurdan GP y el estudio de los dominios de membrana en vivo y en vitro

Sanchez Donoso, Susana[1 *]

[*1] Departamento de Polímeros. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Concepción

Laurdan (6-lauroyl,1-2-dimethylamino naphthalene) es una sonda fluorescente diseñada en 1979 por Gregorio Weber y es usada para estudiar propiedades de las bicapas lipídicas en sistemas modelos y en células. Laurdan es sensible a la polaridad dentro de la bicapa lipidica y es capaz de detectar cambios de polaridad dentro de ella. Los cambios de polaridad se ven reflejados en el desplazamiento del espectro de emisión que es cuantificado usando el parámetro llamado Polarización Generalizada de Laurdan (Laurdan GP). Esta técnica originalmente implementada en mediciones en un fluorimetro convencional, hoy en día y gracias al uso de la microscopia con excitación bi-fotonica se ha convertido en una técnica capaz de distinguir áreas (micro-dominios) con diferentes grados de penetración de solvente. En esta presentación se discuten las modificaciones que nacen del cambio de la cubeta al microscopio, los sistemas, los análisis y la interpretación de las imágenes de Laurdan GP como aporte al entendimiento de las propiedades de membrana en vivo.

062 Avances en el estudio sobre la función de las cilias primarias en la diferenciación de las células ganglionares de la retina.

Lepanto, Paola[1 *]*; Davison, Camila*[2]*; Badano, José*[1]*; Zolessi, Flavio*[3]

[*1] Institut Pasteur de Montevideo; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Institut Pasteur de Montevideo

Durante el desarrollo embrionario, las neuronas se diferencian de acuerdo a un programa intrínseco moldeado por información proveniente del entorno. Las cilias primarias, son organelos especializados en la recepción y procesamiento de señales extracelulares, sin embargo se desconoce cómo participan en la diferenciación neuronal. Para aproximarnos al problema hemos estudiado la localización *in vivo* de las cilias primarias en células ganglionares de la retina (CGRs) de zebrafish por medio de time-lapse y microcopía confocal. Nuestros resultados indican que las células neuroepiteliales y los neuroblastos presentan una cilia primaria en posición apical incluso durante la retracción del proceso apical, ubicándose luego en la región en que aparecerán las primeras dendritas. Su presencia y localización restringida podría ser funcional al proceso de diferenciación. Para testear esta hipótesis, intentamos determinar si existen problemas en la diferenciación de las CGRs que carecen de cilias primarias a través del uso de morfolinos diseñados para disminuir la expresión de las proteínas ciliares Ift88 y Elipsa. El fenotipo que observamos incluye una disminución del número de mitosis, un aumento de la muerte y un retraso en la diferenciación de las CGRs, lo cual indica que las cilias primarias son requeridas durante la transición de células neuroepiteliales a precursor neuronal, así como durante la diferenciación de precursores. Estos resultados concuerdan con el fenotipo reportado previamente para la disrupción de la señalización por sonic hedgehog. En el futuro deseamos testear esta hipótesis y determinar cómo influye esta u otras vías de señalización en la diferenciación de estas células.

281 Fasores espectrales y en tiempo de vida para el estudio de la emisión de LAURDAN y PRODAN en membranas: una nueva perspectiva para los estudios de biofísica de membranas.

Malacrida, Leonel [1 *]; *Toledo Gallo, Rosina* [2]; *San Román, Magdalena*[3]; *Briva, Arturo*[2]; *Denicola, Ana*[4]; *Gratton, Enrico*[5]; *Jameson, David*[6]

[* 1] Área de Investigación Respiratoria (AIR), Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas-Facultad de Medicina, Universidad de la República - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo ; [2] Área de Investigación Respiratoria (AIR), Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas-Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Sección Biofísica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [5] Laboratory for Fluorescence Dynamics, University of California at Irvine; [6] Department of Cell and Molecular Biology, John A. Burns School of Medicine, University of Hawaii at Manoa-Hawaii

Las propiedades solvatocrómicas del PRODAN y LAURDAN han sido importantes para estudiar aspectos hidrodinámicos y estructurales de membranas. Estas sondas sufren un gran desplazamiento espectral dependiendo del estado físico de las membranas en las que se encuentran. En este trabajo aplicamos dos nuevos métodos basados en los gráficos de fasores para medidas de tiempo de vida (t) así como en estado estacionario. Los gráficos de fasores (PP)para t utilizan una representación gráfica: M.sin(F) vs M.cos(F), donde M es la demodulación y F es el delta fase. Los fasores espectrales (SP) utilizan el espectro de fluorescencia transformado por la ecuación de Fourier (TF), lo que resulta en dos coordenadas en x e y (coseno y seno, respectivamente) que se utilizan para realizar un gráfico tipo polar. La aproximación de PP y SP muestra mejoras cuali/cuantitativas en la discriminación de los efectos de: temperatura, colesterol y fármacos, en membrana modelo y nativas cuando se compara con la polarización generalizada y el centro de masa. El PP es muy conveniente para la caracterización de sistemas complejos en donde la heterogeneidad t y la relajación por solvente están presentes. La principal ventaja de ambos métodos es que proporcionan un enfoque independiente de modelo. Además, todas las propiedades de la TF pueden ser utilizadas para determinarla proporción de los estados. El uso de mayores armónicos, λex y multifrecuencia se discutirán para ambos métodos.

186 Desarrollo de métodos fluorescentes de medida de actividad quinasa de PknG de *Mycobacterium tuberculosis*

Dalla Rizza, Joaquín[1 *]; *Gil, Magdalena*[2]; *Möller, Matías*[1]; *Denicola, Ana*[1]

[* 1] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo; [2] Unidad de Bioquímica y Proteómica Analítica, Insitut Pasteur de Montevideo

Mycobacterium tuberculosis, el agente etiológico de la tuberculosis, constituye un grave problema de salud pública a escala mundial. La quinasa PknG de *M. tuberculosis* ha emergido como un posible blanco farmacológico ya que juega un rol crítico en la regulación del metabolismo del glutamato en dicho organismo. Se sabe además que PknG es secretada al interior del fagosoma del macrófago y estaría involucrada en la inhibición de la maduración del mismo siendo esencial para la supervivencia del bacilo dentro del macrófago. Sería muy útil contar con un método continuo de medida de actividad quinasa para PknG que permitiera tanto la caracterización cinética de la enzima como la evaluación de posibles inhibidores. En el presente trabajo nos propusimos desarrollar métodos continuos de medida de actividad quinasa de PknG tomando ventaja del cambio estructural de su sustrato fisiológico, GarA, al fosforilarse. Para ello se marcó GarA con las sondas fluorescentes cloruro de dansilo y fluoresceína isotiocianato (ambas sensibles a la polaridad del entorno) esperando observar cambios espectrales en la emisión de fluorescencia ocasionados por el cambio conformacional de GarA. Además se realizaron experimentos de anisotropía de fluorescencia para observar cambios en el tiempo de correlación rotacional entre las especies fosforilada y desfosforilada. Por último se utilizó 1,8-ANS en los ensayos de fosforilación de GarA por PknG. Solo en este último ensayo pudieron observarse cambios significativos en la emisión de fluorescencia del 1,8-ANS a 470 nm, con lo que pueden seguirse cursos temporales y determinar los parámetros cinéticos de la fosforilacion.

Sábado 6 - 14:00 a 15:45 **La Concepción**

Nuevos enfoques químicos y biológicos para el tratamiento del cáncer

Coordinan: *Gabriela Kramer*
Gianella Facchin

Sistemas bioinorgánicos y sus aportes a la química inorgánica medicinal
Torre, María H.

Síntesis y evaluación citotóxica de análogos a productos naturales
Serra, Gloria

Profármacos derivados de N,N-dióxido de fenazina para células hipóxicas para el desarrollo de terapias de tumores sólidos.
Lavaggi, María Laura

Inducción de la senescencia en células de melanoma expuestas al quimioterapéutico temozolomida
Martínez, Jennyfer

Evaluación del rol de la flagelina en el efecto antitumoral de Salmonella enterica serotipo Typhimurium LVR01
Mónaco, Amy

Estudio de la función y de los genes blanco de un microARN desregulado en tumor de próstata.
Fort, Rafael

Inhibición de la adquisición de la capacidad metastásica de células ováricas tumorales humanas
Irusta, Griselda

053 Sistemas bioinorgánicos y sus aportes a la química inorgánica medicinal

Alvarez, Natalia[1]; Aguilar, Lorena[1]; Kramer, M. Gabriela[2]; Facchin, Gianella[1]; Torre, María H.[1]*

*[1] Facultad de Química, UdelaR; [2] Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR

La Química Bioinorgánica es un área que estudia sistemas inorgánicos, preferentemente metálicos, presentes en sistemas biológicos. Una de sus principales ramas es la Química Inorgánica Medicinal que abarca el desarrollo de nuevos compuestos bioinorgánicos con potencial actividad farmacológica, el estudio de sus mecanismos de acción y el diseño de formas farmacéuticas para su utilización, entre otras. Dentro de esta línea nuestro grupo de investigación desarrolló series de nuevos compuestos metálicos con actividad quimioterápica con derivados de N^1,N^4-dióxido de quinoxalinas, algunos de los cuales han presentado selectividad para el tratamiento de tumores hipóxicos[1], con bistiazoles y con terpiridina[2] que han dado lugar a complejos prometedores en este campo. Por otra parte, los aportes más significativos se relacionan con el estudio de compuestos de coordinación de Cu(II) con aminoácidos y péptidos, de donde surgieron más de 30 nuevos compuestos. Entre ellos, se destacan complejos homolépticos con dipéptidos[3] y heterolépticos con dipéptidos y fenantrolina[4], que presentaron buena actividad antiproliferativa en líneas tumorales. En la búsqueda de los posibles mecanismos de acción, se estudia la actividad SOD mimética, la producción de radical hidroxilo, la interacción con ADN, la distribución metálica en compartimentos celulares y se comenzó a realizar estudios *in vivo* de los líderes de las series. 1J. Inorg. Biochem.102(2008)119-126 2Polyhedron,68 (2014)295-302 3Polyhedron,28 (2009)2329 - 2334 4 J. Inorg. Biochem.(2014)DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2014.06.007

066 Síntesis y evaluación citotóxica de análogos a productos naturales

Peña, Stella[1]; Fagúndez, Catherine[1]; Sellanes, Diver[1]; Scarone, Laura[1]; Medeiros, Andrea[2]; Comini, Marcelo[2]; Dematteis, Sylvia[1]; Manta, Eduardo[1]; Serra, Gloria[1]*

*[1] Facultad de Química, UdelaR; [2] Instituto Pasteur de Montevideo

Alrededor del 71% de los nuevos fármacos que ingresan en el mercado son productos naturales o derivados de los mismos por lo tanto el desarrollo de nuevos fármacos inspirados en productos naturales continúa siendo la estrategia más exitosa.[1] Para la obtención de compuestos potencialmente bioactivos, nuestro grupo ha tomado como modelo a productos naturales aislados de esponjas marinas o de cianobacterias que exhiben relevantes actividades citotóxicas sobre líneas de cáncer o sobre parásitos. Siguiendo esta estrategia, se sintetizaron productos naturales, análogos simplificados y fragmentos claves para su posterior evaluación biológica. Se han investigado diversas metodologías de síntesis para la obtención de sistemas [2,4'] y [2,5'] bis-oxazoles o tiazoles análogos a los bengazoles, productos marinos con citotoxicidades del orden micro y nanomolar contra líneas de cáncer.[2] Por otro lado, se han sintetizado análogos y fragmentos claves del depsipéptido cíclico scleritodermina A,3 que demostraron actividades citotóxicas entre 8-30 μM. Más recientemente y en el marco de un programa de búsqueda de antiparasitarios, se han obtenido análogos a las aeruciclamidas, ciclohexapéptidos aislados de cianobacterias.[4] Las estrategias utilizadas comprenden desde metodologías de síntesis convergente en solución hasta síntesis en fase sólida para la obtención de péptidos. Algunos de los compuestos preparados fueron evaluados contra las líneas MCF-7 y HT29 demostrando actividades citotóxicas del orden micromolar. 1. Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* 2012, *75*, 3112. Adamcczeski, M.; Quiñoa, E.; Crews, P. *J. Am. Chem. Soc.* 1988, *110*, 1598. 3. Schmidt, E. W.; Ravento-Suarez, C.; Bifano, M.; Menendez, A. T.; Fairchild, C. R.; Faulkner, D. J. *J. Nat. Prod.* 2004, *67*, 475. 4. a) Portmann, C.; Blom, J. F.; Gademann, K.; Jüttner, F. *J. Nat. Prod.* 2008, *71*, 1193. b) Portmann, C.; Blom, J. F.; Kaiser, M.; Brun, R.; Jüttner, F.; Gademann, K. *J. Nat. Prod.* 2008, *71*, 1891.

388 Profármacos derivados de N,N-dióxido de fenazina para células hipóxicas para el desarrollo de terapias de tumores sólidos.

*Lavaggi, María Laura[1 *]; González, Mercedes [1]; Cerecetto, Hugo [1]*

[*1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, UdelaR

Actualmente el desarrollo de fármacos para el diagnóstico y tratamiento del cáncer apunta a blancos moleculares más selectivos. La hipoxia observada en tumores sólidos induce cambios en el perfil de la expresión génica, asociados a la supervivencia celular en hipoxia, a través de la inducción del factor inducible por hipoxia, HIF-1. En ese sentido, una interesante estrategia, es el uso de profármacos biológicamente inactivos, los cuales luego de su bio-reducción selectiva en condiciones de hipoxia, conducen a un fármaco el cual puede resultar citotóxico o ser utilizado como marcador para diagnóstico de tumores con zonas hipóxicas. Se han diseñado y sintetizado derivados de N,N´-dióxido de fenazina como profármacos selectivos para células hipóxicas, tomando como blanco molecular el ADN. El diseño estructural se basó en un cromóforo plano, el agrupamiento bio-reducible N-óxido y distintos sustituyentes que modularan la unión al ADN. En los estudios de evaluación de actividad biológica in vitro se observaron algunos derivados con muy buen perfil de actividad biológica y se seleccionaron derivados para estudios in vivo. Aquellos con mejor perfil de selectividad fueron evaluados como profármacos para el tratamiento de tumores mamarios. Los resultados de los estudios in vivo de tratamiento de tumores mamarios mostraron una marcada reducción del tamaño tumoral y además se ha observado una buena distribución diferencial hacia el tumor. De esta manera, esta familia de compuestos se presenta como muy promisoria para el desarrollo de terapias para el cáncer.

090 Evaluación del rol de la flagelina en el efecto antitumoral de Salmonella enterica serotipo Typhimurium LVR01

*Mónaco, Amy[1 *]; Yim, Lucía[1]; Chabalgoity, José Alejandro[1]; Moreno, María[1]*

[*1] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR

La compleja interacción entre el sistema inmune y el cáncer ha sido estudiada por décadas. La relevancia de una respuesta inmune efectiva para prevenir el desarrollo de tumores está sustentada por observaciones en pacientes inmunocomprometidos, los cuales presentan una mayor incidencia tumoral. Varias cepas de Salmonella viva atenuada han demostrado ser efectivas para la prevención y tratamiento del cáncer en diversos modelos experimentales gracias a su actividad antitumoral intrínseca y su capacidad de activar el sistema inmune. Nosotros hemos demostrado que la cepa de Salmonella enterica serotipo Typhimurium LVR01 (aroC-) es efectiva para controlar el crecimiento tumoral en modelos de linfoma a células B (A20), melanoma localizado (B16F1) y metastásico (B16F10). Dicho efecto podría deberse a la capacidad de Salmonella, a través de sus PAMPs, de inducir la activación de la respuesta inmune. En el presente trabajo nos propusimos evaluar la relevancia de la flagelina, PAMP sensado por el TLR5, en la capacidad antitumoral observada. Para ello construimos una cepa carente de flagelina y comparamos su capacidad invasiva, replicativa y tumoricida contra la parental. La cepa carente de flagelina presenta invasividad disminuida en todos los modelos estudiados, aunque su potencial para mediar muerte celular in vitro e in vivo varía según el modelo. De esta manera, pretendemos avanzar en el conocimiento del mecanismo de acción antitumoral de Salmonella para lograr un acercamiento a una posible aplicación clínica, en un intento de ofrecer mejores opciones terapéuticas.

118 Inducción de la senescencia en células de melanoma expuestas al quimioterapéutico temozolomida

*Martínez, Jennyfer[1 *]; Moreno, María[2]; Agorio, Caroline[3]; Quijano, Celia [1]*

[*1] Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO) y Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay.; [2] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, UdelaR, Uruguay.; [3] Cátedra de Dermatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay.

La senescencia celular se caracteriza por el cese irreversible de la proliferación, activación de la respuesta al daño al ADN (DDR), cambios morfológicos, aumento en la actividad ß-galactosidasa (SA-ß-Gal) y aumento en la secreción de factores pro-inflamatorios. La senescencia celular cumple un rol importante en la protección contra el cáncer y reportes recientes indican que la senescencia es uno de los destinos que pueden tener las células cancerosas sometidas a quimioterapia. Estudiamos la inducción de la senescencia en células de melanoma de ratón (B16-F1) luego de la exposición a 200 μM del quimioterapéutico temozolomida (TMZ), un agente que metila el ADN produciendo fallas en el apareamiento de las bases. Por técnicas de citometría de flujo, determinamos que un 70 % de las células expuestas sufría un aumento de tamaño. También observamos un incremento en la SA-ß-Gal en un 60 % de las células tratadas. Ensayos de incorporación de 5-bromo-2'-deoxi-uridina revelaron que el cultivo tratado presenta menor porcentaje (30 %) de células proliferando con respecto del control (70 %). Por último, confirmamos que la exposición a TMZ activa la DDR promoviendo la fosforilación de la quinasa ataxia telangiectasia mutada (ATM) y del factor de transcripción p53.Nuestros resultados indican que aproximadamente un 60 % del cultivo de células de melanoma se torna senescente luego de la exposición a TMZ. Es nuestra intención continuar caracterizando la senescencia inducida por TMZ en melanoma, con el objetivo de aportar al desarrollo de nuevos tratamientos y técnicas de diagnóstico de esta enfermedad.

102 Estudio de la función y de los genes blanco de un microARN desregulado en tumor de próstata.

*Fort, Rafael[1 *]; Ottati, Carolina[2]; Geraldo, Murilo[3]; Yamashita, Alex[3]; Kimura, Edna[3]; Mendez, Manuel[4]; Maedo, Noemi[4]; Farrar, William[5]; Sotelo-Silveira, Jose Roberto[6]; Duhagon, María Ana[1]*

[*1] Laboratorio de Interacciones Moleculares (L.I.M.), F.Ciencias.; Depto. de Genética, F. Medicina, UdelaR; [2] Laboratorio de Interacciones Moleculares (L.I.M.), F.Ciencias, UdelaR; [3] Depto. de Biología Celular y del Desarrollo, ICB, USP, Brasil; [4] Depto. de Anatomía Patológica, Hospital Policial; [5] Cancer Stem Cell Section, National Cancer Institute Frederick, NIH; [6] Depto. de Genética. IIBCE; Depto. de Biología Celular y Molecular, F.Ciencias, UdelaR

Los microARNs son ARNs reguladores de la expresión génica que están extensamente desregulados en el cáncer. El microRNA hsa-miR-886-3p fue identificado como modulado en las células madre de cáncer de próstata inducidas a diferenciarse y se propuso como supresor de tumor en este tejido. Nuestro trabajo busca comprender su efecto en el fenotipo neoplásico y su mecanismo de acción. Primeramente, se estudió el perfil de expresión del microRNA y su precursor (Pre-miR-886) en líneas celulares y muestras de pacientes. Observamos que está sub-expresado en el tumor, lo que apoya nuestra hipótesis. La aparición de una controversia sobre la naturaleza de hsa-miR-886-3p como microARN motivó el metanálisis de datos de smallRNA-seq disponibles públicamente. Los resultados sugieren que hsa-miR-886-3p presenta las características típicas de un microARN, así como una diferencia de expresión entre las condiciones tumor de próstata localizado y metástasis consistente con lo esperado según nuestra hipótesis de trabajo. En segundo lugar, para realizar estudios funcionales se utilizaron las líneas celulares LNCaP y DU145, transfectadas establemente con la construcción Pre-miR-886/Hsa-miR-886-3p. Se realizaron ensayos de proliferación in vitro por conteo directo y MTT, e in vivo por xenoinjertos en ratones NUDE, encontrándose que la sobre-expresión de Pre-miR-886/hsa-miR-886-3p resulta en una menor proliferación respecto al control .Finalmente, en búsqueda de posibles vías y genes blanco de acción del hsa-miR-886-3p, se realizó ensayos de microarreglos de expresión Affymetrix para los transfectantes DU145 y LNCaP. Esto permitió identificar posibles vías de señalización y seleccionar genes blanco candidatos a ser regulados por el microARN.

277 Inhibición de la adquisición de la capacidad metastásica de células ováricas tumorales humanas

*Pazos, Camila[1 *]; De Zúñiga, Ignacio[2]; Bisioli, Claudio[2]; Abramovich, Dalhia[1]; Tesone, Marta[1]; Irusta, Griselda[1]*

[*1] Instituto de Biología y Medicina Experimental; [2] Medicina Reproductiva, Pregna

Durante el proceso de transición epitelio-mesenquimal (EMT) las células epiteliales sufren cambios morfológicos característicos hacia un fenotipo fibroblástico llevando a un aumento en la movilidad e invasión de las células tumorales. El sistema Notch determina la proliferación, diferenciación y apoptosis en mamíferos. El objetivo de este trabajo es estudiar el rol del camino de señalización Notch durante la EMT en una línea celular de carcinoma ovárico epitelial (SKOV3). Metodología: células SKOV3 fueron incubadas en presencia de TGF-ß1 para inducir la EMT. Además, las células se incubaron en presencia de un inhibidor de la vía de Notch (DAPT 20μM) y en presencia de ambos estímulos (TGF-ß1+DAPT). Se estudió: a.morfología celular; b.polimerización de actina; c.expresión de marcador epitelial y mesenquimal y d. migración celular. Se observó que las células adquirieron una morfología típicamente fibroblástica en presencia de TGF-ß1 (10 ng/ml, 72 hs) comparadas al control (ausencia de estímulo). En cuanto a los cambios en el citoesqueleto, TGF-ß1 produjo cambios mostrando una activa polimerización de la actina. Se observó un aumento en la expresión de la N-caderina (mesenquimal) y aumento en la migración celular, y una disminución en la E-caderina (epitelial) en presencia de TGF-ß1. La inhibición del sistema Notch no produjo cambios sobre estos parámetros, pero muy interesantemente DAPT impidió los cambios observados con TGF-ß1. Concluimos que la inhibición del sistema Notch podría ser una potencial estrategia para impedir la diseminación tumoral en cáncer de ovario tumoral.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 14:00 a 15:45 **Pasillo Spa**

Ciencias Cognitivas

Coordinan: *Álvaro Cabana*
Leonel Gómez

Estudios de conectividad cerebral (con EEG y fMRI) y su asociación con la cognición en cuadros neuropsiquiátricos
Ibáñez, Agustín

Reduciendo la incertidumbre en la navegación al integrar neuronas grilla y neuronas de lugar
Tejera, Gonzalo

Efectos comportamentales e imagenológicos de la exposición crónica a cocaína en el comportamiento maternal de ratas adolescentes y adultas.
Delgado, Hernán

Activación cognitiva durante el test de Wisconsin en adultos mayores
Méndez, Andrés

415 Estudios de conectividad cerebral (con EEG y fMRI) y su asociación con la cognición en cuadros neuropsiquiátricos

Ibáñez, Agustín[1] *
*[1] Laboratorio de Psicología Experimental y Neurociencias, Fundación INECO

Sin resumen

371 Reduciendo la incertidumbre en la navegación al integrar neuronas grilla y neuronas de lugar

Tejera, Gonzalo[1] *
*[1] Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

Actualmente, la resolución eficiente al problema de navegación es uno de los aspectos más desafiantes para los robots móviles. Este trabajo presenta un modelo de cognición espacial que tiene en cuenta estudios realizados sobre ratas tanto a nivel de su comportamiento como a nivel neuronal. La versión actual del modelo incorpora una capa de neuronas grilla (grid cells) encontradas por el grupo de Moser en 2005 en la corteza entorrinal media (MEC). Estas neuronas proporcionan el sustrato para el integrador de trayectorias, el cual permite desarrollar un componente de odometría inspirado en estudios biológicos. La información generada por este componente es luego integrada con información visual para dar lugar, en el hipocampo, a las neuronas de lugar (place cells). El modelo es evaluado, en un simulador y sobre el robot Khepera III, llevando adelante experimentos similares a los realizados por Morris en 1981. Los experimentos intentan evaluar la tolerancia al error inherente a este tipo de componentes y las posibilidades de recuperarse de éste mediante un lazo de re-alimentación del hipocampo a la MEC.

312 Efectos comportamentales e imagenológicos de la exposición crónica a cocaína en el comportamiento maternal de ratas adolescentes y adultas.

Delgado, Hernán[1 *]; *Ferreira, Annabel*[1]; *Machado, Luna*[1]; *Agrati, Daniella*[1]; *Scorza, Cecilia*[2]; *Paolino, Andrea*[3]; *Reyes, Laura*[3]; *Oliver, Patricia*[3]

[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [3] Centro Uruguayo de Imagenología Molecular

El presente estudio tuvo como objetivo examinar el efecto de la administración crónica pregestacional de cocaína en el futuro comportamiento maternal y en la actividad metabólica cerebral de ratas hembras adolescentes y adultas. Ratas hembras adolescentes (37 días, n=8) y adultas (90 días, n=8) recibieron un tratamiento crónico con cocaína (0.0 y 15.0 mg/kg, i.p.) durante 10 días consecutivos. A los 4-8 días de finalizado el tratamiento, las hembras se aparearon y su comportamiento maternal fue evaluado en los días 3 ó 4 postparto. En tanto, entre los días 7 y 9 se analizó la tasa metabólica cerebral regional, utilizando Tomografía por Emisión de Positrones. Las hembras que recibieron cocaína durante su adolescencia mostraron una reducción más acentuada en el comportamiento maternal (número de acarreos y tiempo en nido), en comparación a las ratas tratadas durante la adultez. Por su parte, el análisis preliminar del metabolismo cerebral evidenció un descenso en la tasa metabólica cerebral de mayor grado en el estriado, corteza prefrontal medial, tálamo e hipotálamo de hembras adolescentes tratadas con cocaína en comparación con adultas. Este efecto diferencial de la cocaína de acuerdo a la edad sugiere que las ratas adolescentes son más susceptibles a los efectos a largo plazo ocasionados por la cocaína que las hembras adultas. Estos hallazgos podrían estar relacionados a la acción de la cocaína en áreas del sistema nervioso central que aún se encuentran en etapa de desarrollo durante la adolescencia, alterando procesos motivacionales y cognitivos del comportamiento maternal.

411 Activación cognitiva durante el test de Wisconsin en adultos mayores

Méndez, Andrés [1 *]; *Langhain, María*[2]; *Silveira, Alicia*[2]; *Ferrando, Rodolfo*[2]

[*1] Centro de Medicina Nuclear, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República - CIBPsi, Facultad de Psicología, Universidad de la República; [2] Centro de Medicina Nuclear, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El rol de la corteza prefrontal está asociado al control ejecutivo de las acciones dirigidas a un fin específico a través de la regulación del comportamiento y de manejo de información tanto del ambiente como de elementos no presentes en el contexto actual del organismo. Los estudios de activación cerebral, sin embargo, llegan a resultados no concluyentes del mejor modelo de funcionamiento de dicha corteza debido a la diversidad de perspectivas teóricas y de metodologías utilizadas, basadas generalmente en análisis de sustracción entre tareas ejecutivas y tareas similares pero que no activen la corteza prefrontal. Los estudios en adultos mayores son muy escasos y es sabido que la capacidad funcional prefrontal desciende en la edad avanzada. En este trabajo se pretende analizar la activación prefrontal mediante el uso de tomografía por emisión de fotón único (SPECT) durante la realización del test de Wisconsin utilizando como tarea control el estado de reposo psicofísico y discutir los resultados en base a la implicancia teórica de este tipo de diseño y su posible utilidad en el estudio de la reserva cognitiva en el adulto mayor con demencia.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 14:00 a 15:45 **Sala Jardín**

Sociedad Zoológica del Uruguay: fauna autóctona como modelo de biología evolutiva

Coordina: *Ivanna Tomasco*

Las arañas Neotropicales carismáticos modelos en estudios de selección sexual
Albo, María José

Especiación en peces anuales: una mirada desde la ecología del comportamiento
Passos, Carlos

Búsqueda de adaptaciones moleculares en la a-globina en respuesta a la hipoxia en roedores caviomorfos
Boullosa, Nicolás

El rol de la capacidad como un factor determinante de la división del trabajo en insectos sociales: hormigas con mandíbulas gastadas prefieren cargar que cortar
García, Mateo

Diapausas en peces anuales: una aproximación a las claves involucradas en la resistencia al estrés ambiental. Aportes de un vertebrado extremófilo hacia la biomedicina.
Arezo, María José

399 Las arañas Neotropicales carismáticos modelos en estudios de selección sexual

Albo, María José [1 *]

[*1] Laboratorio de Etología, Ecología y Evolución, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los regalos nupciales son un rasgo sexual usualmente presente en los machos que ha evolucionado en una amplia variedad de formas en diferentes animales. Las presas envueltas en seda han sido intensamente estudiadas en la especie Paleártica Pisaura mirabilis (Pisauridae) mientras que poco se sabe de otras arañas donadoras de regalos, como el caso de la especie Neotropical Paratrechalea ornata (Trechaleidae). El objetivo de este trabajo es aportar información sobre esta última y discutir como las condiciones ecológicas modelan los comportamientos de machos y hembras. Se estudiaron diferentes aspectos del comportamiento sexual, incluyendo la función de la envoltura en seda para la elección femenina durante el cortejo, las consecuencias reproductivas de la variación en el contenido del regalo, y cómo la presencia y contenido del regalo influyen en la cantidad de espermatozoides almacenado por las hembras. Se confirma que las hembras prefieren a los machos que ofrecen regalos durante el cortejo, e incluso parecen ser atraídas por los regalos bien empaquetados y blancos, sugiriendo un rol de la seda como señal visual durante el cortejo y elección de pareja. Cuando la comida es escasa, los machos pueden comer la presa antes de envolverla, o colectar y envolver objetos no nutritivos y de esta forma "engañar" a las hembras mediante la donación de regalos simbólicos. Sin embargo, las hembras pueden contrarrestar esta explotación limitando la cantidad de esperma transferido. Estos avances ilustran el rol de las condiciones ecológicas modelando la evolución de los sistemas de apareamiento con regalo nupcial en arañas.

400 Especiación en peces anuales: una mirada desde la ecología del comportamiento

Passos, Carlos[1 *]

[*1] Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Las zonas híbridas naturales proveen oportunidades únicas para comprender los mecanismos de diferenciación genética y morfológica y por lo tanto esclarecer factores que pueden promover la especiación. En los peces anuales del género Austrolebias, las especies hermanas de divergencia reciente A. charrua y A. reicherti presentan distribución parapátrica con una zona de contacto en la cuenca del Río Cebollatí. El objetivo general de este trabajo fue determinar la naturaleza del aislamiento reproductivo entre estas especies, poniendo a prueba los modelos de especiación por reforzamiento y especiación por selección sexual. Se combinaron muestreos en el campo en áreas de parapatría y alopatría, con experimentos en laboratorio y análisis morfométricos. En el laboratorio cruzamientos interespecíficos producen híbridos viables y fértiles en todas las combinaciones posibles, a la vez que en la zona de contacto se hallaron "híbridos morfológicos". Sin embargo se manifiestan mecanismos de aislamiento reproductivo pre y postapareamiento entre las especies. El aislamiento preapareamiento se funda en la elección de pareja de las hembras, y es más pronunciado en la zona de solapamiento de la distribución de ambas especies. Además se evidenció disminución de la performance reproductiva de los híbridos. Por otro lado, los patrones de variación intraespecíficos en el diseño de pigmentación de los machos indican desplazamiento de caracteres reproductivos. El conjunto de los resultados es consistente con el mecanismo de especiación por reforzamiento y por lo tanto sugiere que la divergencia entre las especies no fue conducida directamente por la selección sexual.

064 Búsqueda de adaptaciones moleculares en la a-globina en respuesta a la hipoxia en roedores caviomorfos

Boullosa, Nicolás [1] *; *Tomasco, Ivanna* [1]

[*1] Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los ambientes hipóxicos generan severas restricciones al metabolismo aeróbico. Aunque bases genéticas de la adaptación a la hipoxia no son conocidas completamente, abundante evidencia indica que cambios en la hemoglobina fueron clave en vertebrados. Este trabajo pretendió evaluar si la evolución de la tolerancia a la hipoxia en roedores caviomorfos involucra modificaciones adaptativas en la a-globina (componente constitutivo de la hemoglobina). Este caso es particularmente interesante porque los géneros Ctenomys y Spalacopus han invadido el nicho subterráneo reciente e independientemente y viven a diferentes alturas. Ambas situaciones (la vida en altura y bajo superficie) disminuyen las concentraciones de O2 disponible. Para estos dos géneros y otros caviomorfos no subterráneos emparentados, se amplificó por PCR y se secuenció el gen de la a-globina y posteriormente se realizó un análisis bioinformático para detectar huellas de selección positiva (en particular un exceso de cambios de reemplazo aminoacídico en relación a la cantidad de cambios sinónimos) en diferentes especies dentro de un contexto filogenético conocido. Los sitios 58 y 72 fueron detectados bajo selección por los programas MEME, PALM4 y TreeSAAP en la rama basal de los octodóntidos, todos de hábitos fosoriales. En particular el sitio 58 es adyacente a una Histidina altamente conservada en los mamíferos, cuyo grupo imidazol interactúa directamente con uno de los grupos Hemo de la proteína, por lo que podría vincularse con un cambio en la afinidad de la Hemoglobina. Estos resultados sugieren cambios adaptativos asociados a la fosorialidad en general, no solamente a la vida subterránea.

031 Diapausas en peces anuales: una aproximación a las claves involucradas en la resistencia al estrés ambiental. Aportes de un vertebrado extremófilo hacia la biomedicina.

Arezo, María José[1] *; *Papa, Nicolás*[1]; *Passos, Carlos*[2]; *Clivio, Graciela*[1]; *Berois, Nibia*[1]

[*1] Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La adaptación a ambientes extremos mediante estados de dormancia ha permitido a los seres vivos conquistar casi todas las regiones del planeta. Ejemplos de dormancia son las diapausas embrionarias que en los peces anuales ocurren en tres momentos. Éstos peces viven en charcos temporales de América del Sur y África que desaparecen durante la estación seca. La sobrevida de las especies depende de los embriones enterrados en el fondo, que eclosionarán en la próxima estación lluviosa. En este contexto, las preguntas de nuestro grupo de investigación están centradas en dilucidar los mecanismos que regulan las diapausas y si existe un patrón diferencial de proteínas relacionado. Presentamos resultados preliminares sobre inducción de las diapausas I y III en *Austrolebias charrua*. Se logró inducir, en el laboratorio, la diapausa I en embriones tempranos en diferentes condiciones: presencia de adultos conespecíficos, adultos de *Danio rerio* (un teleósteo no anual) y suplementando el medio de cultivo con creatina y estradiol. Se monitoreó la inducción de esta diapusa en el charco temporal de origen. En diapausa III intentamos dilucidar cuál es la etapa más temprana en que los embriones sometidos a sequía sobreviven entrando en diapausa. En este sentido, el estudio de condiciones de inducción, sumado al análisis de expresión diferencial (transcriptoma y proteínas, actualmente en curso) serán esenciales para la caracterización global de las diapausas. Comprender las mismas es un desafío básico que se proyecta en aspectos biomédicos como la recuperación de órganos afectados por estados de hipoxia/ anoxia.

225 El rol de la capacidad como un factor determinante de la división del trabajo en insectos sociales: hormigas con mandíbulas gastadas prefieren cargar que cortar

García, Mateo[1] *; *Bollazzi, Martín* [2]; *Roces, Flavio*[3]

[*1] Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [3] Zoology II/ University of Wurzburg

En hormigas cortadoras, la actividad de forrajeo puede dividirse en una etapa de procesado en el interior del nido y dos eventos principales afuera de este, cortar y cargar. Además, se sabe que existen obreras que tienden a cortar y otras que tienen a cargar. Se ha postulado que en hormigas cortadoras el desgaste de las mandíbulas de las obreras condiciona la división de tareas de forrajeo de la colonia: obreras con mandíbulas prístinas tienden a cortar, mientras que aquellas con mandíbulas desgastadas tienden a cargar. Asimismo, en García&Bollazzi, 2012, se sugiere que obreras con mandíbulas gastadas no participan mayormente en la actividad de corte. A fin de asignar causalidad a la relación entre el desgaste de las mandíbulas y la probabilidad de corte, se le desgastó artificialmente las mandíbulas a obreras de Acromyrmex lundi y se registró la cantidad de obreras que cortaban y cargaban tres tamaños diferentes de fragmento ofrecido. Se obtuvo que efectivamente existe un cambio en la proporción de hormigas que cortan/ cargan entre hormigas manipuladas y hormigas control [Frag. de 4cm, pvalue: 0.01 *; Frag. de 5cm, pvalue: 7.8 e-4**].Estos resultados, asumiendo que el desgaste de las mandíbulas reduce la capacidad de corte de las obreras, sugieren que una reducción en la capacidad de realizar una tarea disminuye la probabilidad de realizar la misma. Dicho resultado brinda evidencia a favor de un sistema de división de trabajo afectado por la capacidad de llevar a cabo una tarea.

Sábado 6 - 18:45 a 20:30 **Fontana**

Mecanismos de plasticidad en el Sistema Nervioso

Coordina: *Francesco Rossi*

Contribución del inmunorreceptor CD300f a la regeneración nerviosa periférica
Lago, Natalia

Potenciación de la plasticidad cortical en adultos: aproximación desde la proteómica.
Rossi, Francesco Mattia

Synaptic effects of repetitive fluoxetine treatment.
Wyneken, Ursula

Transsynaptic modulation of presynaptic function by the postsynaptic N-cadherin/ß-catenin complex
Vitureira, Nathalia

203 Contribución del inmunorreceptor CD300f a la regeneración nerviosa periférica

*Peluffo, Hugo[1 *]; Solari, Patricia[2]; Sayós, Joan[3]; Negro, Maria Luciana[1]; Lago, Natalia[1]*

[* 1] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia génica, Institut Pasteur Montevideo; [2] Institut Pasteur Montevideo; [3] Grupo de Inmunología, Hospital Universitari Vall d'Hebrón, Barcelona

Recientemente se ha evidenciado que los receptores immunes de superficie celular activadores/inhibidores, juegan un papel importante en la regulacion de procesos inmunologicos e inflamatorios en el Sistema Nervioso Central (SNC). El inmunoreceptor CD300f se expresa en linea mieloide y en el SNC en microglia, oligodendrocitos y neuronas bajo determinadas condiciones; sin embargo se desconoce su expresion y la de sus ligandos en el Sistema Nervioso Periferico (SNP), donde una fina regulacion de la respuesta inflamatoria es esencial para inducir regeneracion tras lesion nerviosa. Tras lesion del nervio ciatico por aplastamiento, observamos una sobre-regulacion de la expresion de CD300f. Ademas, mediante una proteina de fusion CD300f-IgG2a, mostramos que sus ligandos se expresan en la Celula de Schwann, manteniendose su expresion estable tras lesion. El posible papel del CD300f en la regeneracion nerviosa periferica fue analizado mediante el bloqueo de la interaccion entre el receptor y su ligando utilizando la misma proteina de fusion. Los nervios ciaticos de ratones Thy1-YFP-H inyectados con CD300f-IgG2a al momento de la lesion, mostraban un numero menor de fibras YFP-H regenerando a lo largo del nervio tibial a los 10 dias post-lesion (dpl) y un retraso en la recuperacion funcional con respecto a los grupos control. Ademas, los animales tratados con CD300f-IgG2a mostraron un mayor numero de macrofagos y de celulas CD206-positivas que los grupos controles. En conclusion, estos resultados muestran que el par CD300f-ligando esta implicado en la degeneracion walleriana y la regeneracion nerviosa mediante la modulacion de la infiltracion y el fenotipo de los macrofagos.

065 Potenciación de la plasticidad cortical en adultos: aproximación desde la proteómica.

*Rossi, Francesco Mattia[1 *]*

[* 1] Laboratorio de Neurociencia - Neuroplasticity group, Facultad de Ciencias, UdelaR

Hoy en dia se considera que varias patologías en el sistema nervioso central surjan de defectos en los mecanimos celulares y moleculares de plasticidad neuronal. Por esta razón, la caracterizazión de dichos mecanismos es fundamental no solo para entender el desarollo normal, sino también para entender desviaciones de este en determinadas condiciones patológicas, y eventualmente identificar potenciales estrategias de recuperación funcional. La corteza visual se ha revelado un modelo experimental ideal para caracterizar los mecanismos de plasticidad dependiente de la experiencia, no solo por la relativa facilidad de aceso experimental, sino también porque se ha podido transferir a la clínica estrategias experimentales de recuperacion de la visión inicialmente ideintificadas en dicho sistema. El objetivo principal de nuestra linea de investigación es lo de contribuir a la caracterización de los mecanismos que controlan los niveles de plasticidad en la corteza visual. En específico, utilizamos aproximaciones desde la proteómica para identificar nuevas proteinas potenciales candidatas al control de la plasticidad, focalizando también sobre los procesos epigenéticos. En esta instancia se presentará información actualizada sobre los mecanismos celulares y moleculares que controlan los niveles de plasticidad en el sistema nervioso central ya conocidos y resultados obtenidos en nuestro laboratorio, además de presentar información novedosa sobre potenciales estrategias de recuperación de función actualmente en fase experimental a nivel clínico.

249 Synaptic effects of repetitive fluoxetine treatment.

Wyneken, Ursula[1 *]

[*1] Universidad de los Andes, Laboratorio de Neurociencias

Antidepressant drugs such as fluoxetine are administered in a chronic manner for the treatment of major depressive disorder and other psychiatric diseases. Fluoxetine acts acutely by inhibiting selectively serotonin reuptake, but in the long term, adaptations in glutamate neurotransmission, mediated in part by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its receptor TrkB, are thought to be responsible for therapeutic effects. We found that repetitive administration of fluoxetine (0.7 mg/kg for 4 weeks) to naïve adult male rats induced an increase of mature, mushroom-type dendritic spines in several forebrain regions. This was associated with a change in glutamate receptor stoichiometry, with an enrichment of GluN2A-containing N-methyl-D aspartate receptors (NMDA-Rs) and GluA2-containing a-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate receptors (AMPA-Rs), both markers for stable and decreased Ca2+ permeable synapses. To test whether glutamate receptor subunits are mobilized to synapses after fluoxetine treatment, we isolated a microsomal sub-fraction from the telencephalon containing trafficking vesicles. In immuno-isolated TrkB-containing vesicles, proteomic analysis revealed that ~20% of the proteins are excitatory synapse components, and that TrkB and GluN2A subunits are contained in the same type of transport vesicles. Moreover, both proteins co-distribute in neuronal cultures, suggesting a functional relationship of BDNF/TrkB with GluN2A trafficking. The synapses were functionally tested in the hippocampus: profound deficits in long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) were found at Schaffer collateral-CA1 synapses as well as impaired hippocampal-dependent long-term memory. Therefore, mechanisms contributing to fluoxetine-induced structural and functional synaptic adaptations could be unraveled.

398 Transsynaptic modulation of presynaptic function by the postsynaptic N-cadherin/ß-catenin complex

Vitureira, Nathalia [1 *]

[*1] Facultad de Medicina, Universidad de la República

N-cadherin is a homophilic adhesion protein that remains expressed at mature excitatory synapses beyond its developmental role in synapse formation. We investigated the trans-synaptic activity of N-cadherin in regulating synapse function in rodent cultured hippocampal neurons using optical methods and electrophysiology. Interfering with N-cadherin in postsynaptic neurons reduced basal release probability (p(r)) at inputs to the neuron, and this trans-synaptic impairment of release accompanied impaired vesicle endocytosis. Moreover, loss of the GluA2 AMPA-type glutamate receptor subunit, which decreased p(r) by itself, occluded the interference with postsynaptic N-cadherin. The loss of postsynaptic N-cadherin activity, however, did not affect the compensatory upregulation of p(r) induced by chronic activity silencing, whereas postsynaptic ß-catenin deletion blocked this presynaptic homeostatic adaptation. Our findings suggest that postsynaptic N-cadherin helps link basal pre- and postsynaptic strengths to control the p(r) offset, whereas the p(r) gain adjustment requires a distinct trans-synaptic pathway involving ß-catenin.

Sábado 6 - 18:45 a 20:30 **Pasillo Planta Baja**

Biofísica como ciencia interdisciplinaria en estudios de proteínas

Coordina: *Gonzalo Ferreira*

Architecture of the BK Channel in the Presence of Auxilliary ß Subunits
Latorre, Ramón

Contaminantes ambientales afectan funciones de canales de Calcio L y de Potasio activados por Calcio (BK).
Costa, Carlos

Role of S4 segment in the Hv channels permeation pathway
González, Carlos

Modelos de la interacción entre el ácido oleico y la a-lactoalbúmina en HAMLET: camino a entender las causas de su actividad antitumoral
Klein, Florencia

402 Architecture of the BK Channel in the Presence of Auxilliary ß Subunits

Latorre, Ramón[1 *]

[* 1] Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso

A pesar de su gran importancia fisiológica del canal de potasio activado por Ca^{2+} y voltaje (BK) poco se sabe acerca de los detalles de su estructura. Mediante el uso de transferencia de Energía resonante basada en lantánidos (Lanthanide-based resonant energy transfer, LRET), hemos podido determinar la arquitectura externa del canal BK. El donador es el ion Tb^{3+} unido a un polipéptido (LBT-Tb^{3+}) el cual fue introducido en la parte externa de los segmentos de transmembrane S0, S1, S2 y S3 del BK y en los segmentos TM1 y TM2 de la subunidad ß1. La subunidad ß1 cuando es co-expresada con la subunidad a que forma el poro de conducción del BK, aumenta la sensibilidad aparente al Ca^{2+} del canal y enlentece su cinética de aperturas y cierre. La toxina, Iberiotoxina, marcada con un fluoróforo (IbTX- BODIPY) es el acceptor. Este par, LBT-Tb^{3+}/IbTX-BODIPY nos ha permitido medir intramolecular e intermolecular distances pudiendo asi determinar: (i) La posición de los segmentos S0-S3 dentro de la subunidad a. (ii) Los cambios de conformación de la subunidad a mediados por la subunidad ß1. (iii) La posición relative de la subunidad ß1 dentro del complejo a/ß1. Estos resultados nos han permitido construir un modelo molecular del canal BK y determinar los cambios estructurales que introduce la subunidad ß1 en la subunidad a.

050 Contaminantes ambientales afectan funciones de canales de Calcio L y de Potasio activados por Calcio (BK).

Costa, Carlos[1 *]*; Torres, Hugo* [1]*; Castillo, Karen* [2]*; Carrasquel, Willy* [2]*; Latorre, Ramon*[2]*; Gonzalez, Carlos*[3]*; Ferreira, Gonzalo*[1]

[* 1] Laboratorio de Canales Iónicos, Departamento de Biofísica, Universidad de la República; [2] Centro Interdisciplinario de Neurociencias de Valparaiso; [3] Centro Interdisciplinario de Neurociencias de Valparaiso

La contaminación por metales pesados (plomo, Pb^{2+} y mercurio, Hg^{2+}) es un problema de Salud Pública creciente en el mundo. Dado dichos metales no son biodegradables la contaminación por los mismos resulta en su acumulación en ecosistemas. Ambos exhiben similitud con Ca^{2+} respecto a sus propiedades físicas y químicas atómicas. Dada la importancia del Ca^{2+} en variados procesos fisiológicos (algunos relacionados con canales de iones sensibles a Ca2+ intracelular), se decidió estudiar su efecto en canales de Ca^{2+}-L (CCaL) y canales de potasio activados por Ca^{2+} de alta conductancia (BK) en sistemas nativos y expresados en sistemas heterólogos. Pb^{2+} y Hg^{2+}, en decenas de uM, bloquean CCaL. La afinidad de dicho canal por Hg^{2+} es mayor que por Pb^{2+}. El bloqueo es reversible para Pb^{2+} y no para Hg^{2+}. La velocidad de inactivación se incrementa por ambos metales. Consistentemente, los componentes de corrientes de compuerta de dicho canal son también alterados (Ferreira et al, 2003). Respecto a los canales BK, la exposición intracelular a Pb^{2+} en el rango uM es bifásico, disminuyendo y luego aumentando la corriente por los mismos. La exposición de BK a Hg^{2+} en el mismo rango de concentraciones, produce solamente bloqueo de sus corrientes, disminuyendo la probabilidad de apertura de BK en el rango de potenciales de -50 a +100 mV. Estos resultados sugieren que ambos metales, vía mecanismos directos o indirectos, pueden afectar canales modulados por Ca^{2+} intracelular, traduciéndose en alteraciones funcionales observables en células y órganos en que los mismos se expresan.

401 Role of S_4 segment in the Hv channels permeation pathway

*Otarola, Ester[1 *]; Baez, David[1]; Pupo, Amaury[1]; Latorre, Ramón[1]; Larsson, Peter[2]; González, Carlos [1]*

[*1] Centro Interdisciplinario de Neurociencias Valparaíso, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso; [2] Physiology and Biophysics Department, University of Miami

Voltage-gated proton channels (Hv channel) are expressed by different cells type including immune cells, microglia, among others. In other voltage-gated cation channels, the pore-forming domains are S5, S6, and the P loop connecting S5 and S6. Since Hv channels do not contain a S5-S6 region, other parts of the channel must form the pore domain. Interestingly, Hv channel present three gating charges in the S4 followed by an asparagine, N264, highly conserved among all Hv channel. Using non-stationary fluctuation analysis we establish the conductance for the dimer in 200 fS. Mutations at position N264 (S4) modified the unitary conductance of Hv channel. Furthermore, the introduction of an arginine or lysine at position 264, drastically reduced or abolished the proton currents. Mutant N264R removed the H+ current remaining the S4 functioning unaltered, according to voltage-clamp fluorometry experiments. The same was observed in the monomeric form, where the mutant N264R abolish almost completely the ionic current revealing Hv gating currents. In the same way, mutation resembling the position N264 of Ciona Hv in the VSD of the voltage-dependent phosphate Ci-VSP spontaneously entail the formation of a voltage-gated H+ channel. Thus, N264 is part of the molecular determinants of permeation pathway in Hv channel. Supported by Fondecyt grants ACT 1104 and Fondecyt 1120802 to CG and 1110430 to R.L.

052 Modelos de la interacción entre el ácido oleico y la α-lactoalbúmina en HAMLET: camino a entender las causas de su actividad antitumoral

*Klein, Florencia[1 *]; Ferraro, Florencia[1]; Mastandrea, Ignacio[1]; Cancela, Saira[1]; Merlino, Alicia[1]; Coitiño, Laura [1]*

[*1] Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

HAMLET (*Human Alpha-lactalbumin Made LEthal to Tumor cells*) es un complejo lipoproteico formado por α–Lactoalbúmina (α–La) y ácido oleico (OA) que viene siendo objeto de estudio como potencial agente quimioterapéutico, existiendo evidencia clara de su actividad citotóxica contra células cancerígenas. Su mecanismo de acción sobre células tumorales aún no ha sido completamente dilucidado y varias características fisicoquímicas del complejo no están aún caracterizadas. No obstante ello, la evidencia disponible luego de 10 años de intensa investigación muestra que a concentraciones similares ninguno de los componentes aislados del complejo es efectivo para tratar células tumorales, asociándose la actividad únicamente a HAMLET. Lograr un conocimiento a nivel molecular (con detalle atómico y electrónico) de la interacción entre OA y α–La resulta fundamental tanto para lograr una mayor comprensión del mecanismo de acción anticancerígena del complejo, como hacia el diseño de nuevos agentes antitumorales más selectivos a las células tumorales.En el presente trabajo partiendo del conocimiento de la estructura cristalográfica de α–La se modeló computacionalmente la interacción entre los elementos integrantes del complejo en solución acuosa mediante técnicas de docking ligando-proteína, dinámica molecular clásica y métodos multiescala mixtos clásico-cuánticos (ONIOM QM/MM). Los resultados obtenidos permiten identificar cuáles son los residuos involucrados en la unión α–La:OA (en relación 1:1 u otra proporción) y analizar a nivel atómico los cambios conformacionales y las variaciones que la proteína y el ácido oleico inducen mutuamente en sus propiedades fisicoquímicas (estudiadas hasta detalle electrónico) a consecuencia de dicha interacción.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 18:45 a 20:30 **La Concepción**

Interacción Hospedero-Parásito

Coordina: *Carlos Robello*
María Noel Álvarez

Inmunorregulación por partículas de la capa laminar de *Echinococcus granulosus*: análisis de la señalización en células dendríticas
Pittini, Álvaro

Respuesta celular temprana a la infección por *Trypanosoma cruzi*
Chiribao, María Laura

Oxidantes derivados del cardiomiocito infectado controlan la proliferación intracelular de amastigotas de Trypanosoma cruzi: impacto de la sobrexpresión de enzimas antioxidantes
Estrada, Damián

Rutas del superóxido en la infección de macrófagos por Trypanosoma cruzi: rol de Nox2 y Nox1 en la viabilidad del parásito.
Prolo, Carolina

Desarrollo de una vacuna recombinante contra la fasciolosis
Carmona, Carlos

106 Inmunorregulación por partículas de la capa laminar de *Echinococcus granulosus*: análisis de la señalización en células dendríticas

Pittini, Álvaro[1 *]; *Casaravilla, Cecilia*[1]; *Seoane, Paula I.*[1]; *Quijano, Celia*[2]; *Ferreira, Ana M.*[1]; *Allen, Judith E.*[3]; *Díaz, Álvaro*[1]

[* 1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Bioquímica y CEINBIO, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Institutes of Immunology and Infection Research, University of Edinburgh

La larva del parásito cestodo *Echinococcus granulosus* (hidátide) está protegida por una masiva capa acelular, llamada capa laminar (CL), compuesta principalmente por mucinas. El crecimiento de la hidátide requiere la liberación de partículas de la CL al medio interno del hospedero. Trabajamos sobre la hipótesis que este material contiene señales inmunorreguladoras, que contribuyen al perfil no inflamatorio característico de esta infección. Previamente observamos que la exposición a una preparación particulada de CL (llamada pLL), induce en células dendríticas (DCs) fenotipos "semi-maduros", en ausencia y presencia de agonistas de TLR. Estamos analizando los cambios en señalización asociados con estos efectos. No encontramos alteraciones en los parámetros que estudiamos de los módulos NFκB y MAP quinasas. En cambio encontramos que la exposición a pLL inhibe la fosforilación, activadora, de Akt. Esta quinasa, efectora de la vía de PI3K y central en la proliferación y supervivencia celulares en general, es además importante en la activación de DCs por agonistas de TLR. Empleando inhibidores químicos, determinamos que parte del fenotipo inducido por pLL puede ser explicada por inhibición de Akt. Recientemente se publicó que en DCs estimuladas por agonistas de TLR, Akt es activada independientemente de PI3K, por las quinasas TBK-1/IKK-ε, cambiando el metabolismo de respiratorio a glucolítico, lo que es necesario para la "maduración" fenotípica. Estamos explorando la relación de estas observaciones con las nuestras, así como las conexiones entre internalización de pLL, activación de PI3K (necesaria para la fagocitosis), y cambios en Akt.

301 Respuesta celular temprana a la infección por *Trypanosoma cruzi*

Chiribao, María Laura[1 *]; *Libisch, Gabriela*[2]; *Faral, Paula*[2]; *Parodi, Adriana*[3]; *Robello, Carlos*[1]

[* 1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República - Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Sección Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo

Trypanosoma cruzi es el patógeno que causa la enfermedad de Chagas. Dos aspectos fundamentales caracterizan la infección por este parásito: su habilidad por infectar distintos tipos celulares y la capacidad de persistir en su hospedero durante varias décadas. Debido a la importancia de las células epiteliales como primera barrera física a la infección y de los cardiomiocitos como uno de los principales blancos en la fase crónica, nos propusimos estudiar la interacción entre el parásito y estos dos modelos celulares humanos. Para ello utilizamos como células hospederas humanas la línea celular HeLa (células epiteliales) y células de cardiomiocitos primarios (Celprogen). Los tripomastigotas utilizados pertenecen a la cepa Dm28c. Luego de la interacción parásito-célula, los perfiles transcripcionales de las células infectadas respecto a los controles fueron analizados por microarrays a distintos tiempos de infección.En ambos modelos celulares se encontró una alteración importante de la expresión génica en las células infectadas a tiempos cortos (0hs, 3hs, y 6hs post interacción) con más de 800 genes con expresión diferencial (considerando un valor de $p = 0.05$ y un cambio de expresión $=a$ 2). La comparación de la respuesta en ambos modelos mostró diferencias importantes; por un lado en las células epiteliales predominan vías vinculadas con defensa a estrés y metabolismo lipídico, mientras que en las células cardíacas predominan vías vinculadas con el metabolismo energético y la síntesis proteica. Disecar el funcionamiento de las principales vías alteradas en cada modelo de infección permitirá comprender mejor la patogénesis de la enfermedad de Chagas.

326 Oxidantes derivados del cardiomiocito infectado controlan la proliferación intracelular de amastigotas de Trypanosoma cruzi: impacto de la sobrexpresión de enzimas antioxidantes

Estrada, Damián [1] *; *Specker, Gabriela* [1]; *Radi, Rafael*[1]; *Piacenza, Lucía*[1]

[*1] Departamento de Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La infección por Trypanosoma cruzi induce la producción de mediadores proinflamatorios (TNF-a/IL-1ß; oxido nítrico, •NO) y una disfunción mitocondrial con la generación de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) yperóxido de hidrogeno (H_2O_2) en el cardiomiocito infectado. Hipotesis:mediadores con actividad-redox derivados del cardiomiocito controlan la proliferación parasitaria de los amastigotas mediante la inducción de la muerte celular programada (MCP). Resultados: La exposición de epimastigotas de T.cruzi a H_2O_2 induce la MCP parasitaria con disfunción mitocondrial, aumento de la generación de $O_2^{\bullet-}$, fragmentación del ADN y exposición de fosfatidil-serina. Parásitos sobreexpresantes de las enzimas antioxidantes peroxirredoxina (MPX) o Fe-superóxido dismutasa (FeSOD-A) mitocondrial inhiben el proceso de muerte mediado por H_2O_2. En la linea celular H9c2 así como en cardiomiocitos primarios de ratón, la disfunción mitocondrial desencadenada por la infección y estimulada por la generación de citoquinas proinflamatorias se acompañada por un aumento en la producción de H_2O_2. Amastigotas apoptóticos (CL-Brener y Dm28c) se identificaron en infecciones in vitro a cardiomiocitos estimulados o no por citoquinas pro-inflamatorias. Los resultados obtenidos muestran que los amastigotas intracelulares de la cepa atenuada CL-Brener presentan una mayor tasa de apoptosis con respecto a los de la cepa virulenta Dm28c. Más aún, la tasa de apoptosis fue mayor en cardiomiocitos estimulados con citoquinas y •NO. Conclusiones: Tanto el •NO como el H_2O_2 derivados del cardiomiocito llevan a la inducción de la MCP en amastigotas intracelulares de T.cruzi. Las cepas de T.cruzi con un mayor contenido de enzimas antioxidantes (más virulentas) serían más resistentes generando infecciones más severas durantela fase crónica de la enfermedad de Chagas.

404 Desarrollo de una vacuna recombinante contra la fasciolosis

Carmona, Carlos[1] *; *Maggioli, Gabriela*[1]; *Bottini, Gualberto*[1]; *Alonzo, Pablo* [2]

[*1] Unidad de Biología Parasitaria, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Instituto de Higiene, Universidad de la República; [2] Campo Experimental del Instituto de Higiene

La infección producida por Fasciola hepática representa un significativo impacto negativo sobre la producción de bovinos y ovinos a nivel global calculado en más de 3.000 millones de dólares anuales. Asimismo, en las últimas décadas, los estudios epidemiológicos la han transformado en una zoonosis emergente de alta prevalencia en regiones de Latinoamérica y África, donde se calcula que existen más de 11 millones de infectados. Son varios los factores asociados a la enfermedad que convergen en la necesidad de contar con una vacuna efectiva: i) Si bien existen fasciolicidas efectivos, el tratamiento no evita la reinfección; ii) la aparición de resistencia al Triclabendazol está siendo reportada con frecuencia creciente en Europa y Australia; iii) existe una notoria falta de desarrollo de nuevas moléculas con actividad fasciolicida y iv) a nivel de consumidores existe una creciente preocupación por la presencia de fármacos y sus metabolitos en carnes y leche. Diversos antígenos recombinantes han sido propuestos y ensayados como candidatos vaccinales en rumiantes. Nuestro laboratorio ha centrado sus esfuerzos en la evaluación de dos antígenos, una exopeptidasa asociada al tubo digestivo del parásito llamada Leucin Aminopeptidasa y una enzima antioxidante, la Tiorredoxina Glutatión Reductasa. Se presentarán los resultados de protección obtenidos con ambos antígenos recombinantes tanto en ovinos como en bovinos así como la respuesta humoral asociada a la protección inducida tanto a nivel de IgG como de subclases IgG1 e IgG2. Por último se discutirán los caminos a seguir a los efectos de mejorar la performance vaccinal

407 Rutas del superóxido en la infección de macrófagos por Trypanosoma cruzi: rol de Nox2 y Nox1 en la viabilidad del parásito.

Prolo, Carolina[1] *; *Radi, Rafael*[1]; *Álvarez, María Noel*[1]

[*1] Center for Free Radical and Biomedical Research, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El ciclo de vida de Trypanosoma cruzi involucra un insecto vector y un hospedero vertebrado, donde uno los primeros tipos celulares infectados son los macrófagos. Nuestro grupo ha demostrado que la citotoxicidad de macrófagos hacia T.cruzi in vitro se basa en la formación de peroxinitrito ($ONOO^-$), producto de la reacción entre el superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el óxido nítrico, producidos por la NADPHoxidasa 2 (Nox2) y la óxido nítrico sintasa inducible, respectivamente. Independientemente de las evidencias acerca de la importancia del $ONOO^-$ para la eliminación del parásito in vitro, reportes de infección de ratones deficientes en Nox2, indican que estos controlan la invasión y replicación de los parásitos de manera similar a los wt. En la búsqueda de fuentes alternativas de superóxido que expliquen estos resultados, encontramos que otra isoforma de la NADPHoxidasa, la Nox1, también se expresa en macrófagos y que su expresión se incrementa tras estímulos como el lipopolisacárido e incluso la infección con T.cruzi. Inesperadamente, mientras la infección en macrófagos deficientes en Nox2 es pobremente controlada, la respuesta es aún peor cuando se induce previamente la Nox1. Esto podría explicarse por el efecto pro-proliferativo de concentraciones sub-letales de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) derivado de la dismutación del $O_2^{\bullet-}$ evidenciado en varios tipos celulares. De hecho, al exponer epimastigotas de T.cruzi a bajas concentraciones de H_2O_2 se observa una mayor proliferación de los parásitos. Estos resultados traen nuevos elementos a la interacción entre macrófago-T.cruzi y dejan preguntas interesantes acerca del rol de la Nox1/Nox2 en la viabilidad del parásito.

Sábado 6 - 18:45 a 20:30 **Pasillo Spa**

Bioinformática

Coordina: *Margot Paulino*

Maestría y Diploma en Bioinformática PEDECIBA-UdelaR. Objetivos y realidades
Paulino, Margot / Sotelo, José

El estudio de perfiles traduccionales, mediante "*Ribosome profiling*", revela la importancia del control traduccional en la expresión génica diferencial en *T. cruzi*
Smircich, Pablo

Predicción de función sináptica en genes de *Drosophila melanogaster* a partir de su transcriptoma temporal mediante una combinación de algoritmos de aprendizaje automático
Pazos, Flavio

Genómica funcional de la tortuga Trachemys scripta: Un modelo de regeneración neural
Valentín, Adrián

416 Maestría y Diploma en Bioinformática PEDECIBA-UdelaR. Objetivos y realidades

*Paulino, Margot[1 *]; Sotelo, José[2]*

[* 1] CeBioinfo-DETEMA, Facultad de Química, Universidad de la República ; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Sin resumen

122 El estudio de perfiles traduccionales, mediante "*Ribosome profiling*", revela la importancia del control traduccional en la expresión génica diferencial en *T. cruzi*

*Smircich, Pablo[1 *]; Eastman, Guillermo[2]; Dallagiovanna, Bruno[3]; Poubel, Saloe[3]; Garat, Beatriz[4]; Duhagon, Maria Ana[4]; Munroe, David[5]; Holetz, Fabiola[3]; Sotelo Silveira, José[2]*

[* 1] Laboratorio de Interacciones Moleculares. Facultad de Ciencias / Cátedra de Genética. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay; [2] Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay; [3] Instituto Carlos Chagas-Fiocruz. Curitiba, Brazil; [4] Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay; [5] Leidos Inc-Frederick National Laboratory for Cancer Research, USA

La regulación post-transcripcional constituye el principal nivel regulatorio en tripanosomátidos. Por lo tanto, el estudio de los transcritos que están siendo traducidos (traductoma) resulta clave para entender el control de su expresión génica. En este trabajo, determinamos el traductoma de *Trypanosoma cruzi* en los estadíos epimastigota y trypomastigota metacíclico, usando la metodología *ribosome profiling*. El estadio trypomastigota metacíclico es el responsable de la infección del mamífero y resulta de un proceso de diferenciación a partir de los epimastigotas replicativos. Nuestros resultados correlacionan muy bien con datos proteomicos previos y revelan que la regulación traduccional tiene gran importancia para determinar la expresión génica diferencial entre estos dos estadios. Los datos muestran que una gran proporción del traductoma de los epimastigotas está ausente en el estadio infectivo. La eficiencia traduccional muestra un amplio rango dinámico apoyando también la importancia de la regulación traduccional. La eficiencia traduccional de determinadas familias génicas como las proteínas ribosomales y miembros de proteínas de unión al ARN disminuye luego de la diferenciación, mientras que la eficiencia de familias de proteínas de membrana con importancia en la infección aumenta. Esta variación observada en la ocupación ribosomal permitiría cambios rápidos en la expresión de los genes. Por otra parte el análisis del traductoma resulta en la detección de pausas traduccionales. El análisis del uso de codones diferencial en estos sitios sugiere que el uso de codones modula la cinética traduccional en estos parásitos. Globalmente, el estudio resalta la importancia de la regulación traduccional durante la diferenciación del parásito.

022 Predicción de función sináptica en genes de *Drosophila melanogaster* a partir de su transcriptoma temporal mediante una combinación de algoritmos de aprendizaje automático

*Pazos, Flavio [1 *]; Papalardo, Cecilia[2]; Castro, Sebastián[2]; Cantera, Rafael[1]; Guerberoff, Gustavo [2]*

[* 1] Departamento de Biología del Neurodesarrollo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Instituto de Matemática y Estadística, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

El ensamblaje y funcionamiento de la sinapsis neuronal requieren la expresión de un número de genes aún no determinado. Se conocen algunas decenas, pero se estima que son varios cientos los genes imprescindibles para este proceso. En este trabajo combinamos tres algoritmos de aprendizaje para predecir función sináptica en genes de *Drosophila melanogaster*, a partir del transcriptoma temporal correspondiente a su desarrollo. Para ello, entrenamos tres algoritmos de aprendizaje automático supervisado; Random Forest, Support Vector Machine y *k*-NN, construyendo una muestra de entrenamiento conformada por genes con función sináptica firmemente establecida y genes para los que esa función es muy poco probable. Los tres algoritmos alcanzaron errores menores al 5% sobre la muestra de entrenamiento, así como un alto grado de coincidencia en su clasificación del resto del genoma. Para obtener un catálogo de tamaño adecuado combinamos criterios estadísticos y biológicos; la minimización de la probabilidad de falsos positivos, el enriquecimiento funcional en términos GO asociados a sinapsis y el enriquecimiento en genes expresados preferencialmente en el sistema nervioso central. Los genes de nuestro catálogo final poseen, según los tres modelos, una probabilidad mayor al 90% de tener función sináptica. Aunque la importancia para la sinapsis de cada uno de estos genes debe ser experimentalmente comprobada, este abordaje permite dirigir la experimentación (ahorrando tiempo y recursos) y puede ser aplicado a la predicción de otras funciones biológicas.

336 Genómica funcional de la tortuga Trachemys scripta: Un modelo de regeneración neural

*Valentín, Adrián[1 *]; García Tejedor, Gabriela[1]; Robello, Carlos[2]; Trujillo Cénoz, Omar[1]; Ferrarini, Alberto[3]; Russo, Raúl E[1]; Álvarez Valín, Fernando[4]*

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Institut Pasteur de Montevideo; [3] Dipartimento di Biotecnologie, Università degli Studi di Verona; [4] Facultad de Ciencias

Las lesiones espinales producen secuelas que van desde el dolor crónico hasta la pérdida total de movilidad y sensibilidad en las áreas afectadas por debajo del nivel de la lesión, debido en parte a la incapacidad de la médula espinal de regenerar. Este desenlace no ocurre en otros animales, por ejemplo en las tortugas, las cuales poseen capacidad de regenerar la médula espinal inclusive en individuos adultos. Un primer paso para entender dicha capacidad, es la comprensión de los mecanismos moleculares involucrados. En este trabajo estudiamos los cambios en la expresión génica que se producen luego de una lesión espinal en la tortuga Trachemys scripta utilizando RNASeq. Debido a la no existencia de genoma de referencia, realizamos un ensamblado de novo de los reads provenientes de RNA y exploramos la posibilidad de utilizar como referencia los genomas de especies evolutivamente cercanas cuyo genoma haya sido completamente secuenciado. Encontramos que el genoma de Chrysemys picta, era más de 99% idéntico a T. scripta a nivel nucleotídico. El segundo paso del estudio consistió en el estudio de la expresión diferencial entre las condiciones de médula espinal control (sham) y lesionada. Investigamos la posible significancia biológica de los resultados obtenido a través de la búsqueda bibliográfica de las funciones de dichos genes, análisis de categorías funcionales de Gene Ontology y búsqueda de dominios funcionales. Nuestros resultados muestran que los genes regulados luego de la lesión guardan estrecha relación con procesos metabólicos que colaborarían con la regeneración de la médula espinal en estos organismos.

MESAS TEMÁTICAS

Sábado 6 - 18:45 a 20:30 **Sala Jardín**

Biología Reproductiva en Metazoos

Coordina: *Javier García Alonso*

Expresión génica del sistema kisspeptidérgico durante el período de diferenciación sexual en el pejerrey, *Odontesthes bonariensis*.
Somoza, Gustavo M.

Estrategias reproductivas en peces anuales
Berois, Nibia

Identificación del período de diferenciación sexual molecular del esturión siberiano, Acipenser baerii
Vizziano-Cantonnet, Denise

Efecto de la subnutrición durante la gestación y lactación sobre la abundancia relativa de receptor de andrógenos a nivel testicular en ratas macho neonatos, prepúberes y adultos
Genovese, Patricia

Señales eléctricas de cortejo: desde la conducta a la neurona
Quintana, Laura

Cambios afectivos que acompañan la maternidad en la rata y la mujer
Agrati, Daniella

Desarrollo de un modelo de membrana corionalantoide (CAM) en codorniz: diferentes aplicaciones en la clínica
Parborell, Fernanda

115 Expresión génica del sistema kisspeptidérgico durante el período de diferenciación sexual en el pejerrey, *Odontesthes bonariensis*.

*Tovar, M. Oswaldo[1 *]; Mechaly, Alejandro S.[1]; Canosa, Luis F.[1]; Somoza, Gustavo M.[1]*
[*1] IIB-INTECH (CONICET-UNSAM)

En vertebrados, el sistema kisspeptidérgico es un importante regulador central de la pubertad y la reproducción. Al menos en aves y mamíferos el efecto más conocido es la estimulación de la secreción de GnRH. Pero, poco se sabe sobre su expresión temprana y su posible rol en la diferenciación sexual. Así, nuestro objetivo fue estudiar su papel en el proceso de diferenciación sexual del pejerrey que depende de la temperatura. Se mantuvieron larvas a temperaturas formadoras de hembras, 17ºC (FPT), y machos, 29ºC (MPT). Se analizó por qRT-PCR la expresión de kisspeptina 1 (*kiss1*), kisspeptina 2 (*kiss2*) y el receptor tipo 2b (*kr2b*) en las cabezas desde la semana 1 (W1) hasta la 8 (W8) post-eclosión. En FPT se encontraron niveles altos de *kiss1* desde W1 y decrecieron rápidamente, mientras que a MPT se observó expresión prácticamente constante entre W1 y W4 para luego decrecer. En FPT, la expresión de *kiss2*, se presentó significativamente elevada en W2, mientras que a MPT se observó un perfil similar al de *kiss2*. La expresión de *kr2b* a FPT mostró niveles elevados a W3 para luego disminuir. En MPT, *kr2b* mostró altos niveles en W1, para luego disminuir gradualmente hasta ser prácticamente indetectable luego de la W6. La expresión temprana y el perfil de expresión diferencial del sistema kisspeptidérgico durante el período de diferenciación sexual en el pejerrey abre una nueva tarea de investigación sobre los posibles roles de kisspeptina en este proceso.

378 Estrategias reproductivas en peces anuales

*Berois, Nibia[1 *]; Arezo, Maria Jose[1]; Papa, Nicolas[1]; Chalar, Cora[1]; Clivio, Graciela [1]; Montagne, Jimena[1]*
[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los peces anuales (Cyprinodontiformes: Rivulidae) son teleósteos de agua dulce que en su ambiente natural están expuestos a condiciones extremas. Habitan en charcos temporales de América del Sur y África. Durante la estación lluviosa los adultos se reproducen generando embriones resistentes a la desecación que permanecen en el fondo de los charcos. Al iniciarse la estación seca las masas de agua gradualmente desaparecen llevando a la muerte de la población de adultos. Por lo tanto, la sobrevida de estas especies depende totalmente de los embriones enterrados en el substrato. Los peces anuales comparten, con otros modelos de teleósteos, varias características ventajosas para la investigación en biología reproductiva y del desarrollo: oviparidad, transparencia de los huevos y embriones, prolongados períodos de reproducción así como facilidad de mantenimiento en condiciones de laboratorio. No obstante, presentan algunos atributos únicos relacionados con su peculiar ciclo de vida: durante el desarrollo temprano la epibolia está desacoplada de la organogénesis en las dimensiones temporal y espacial y los embriones pueden entrar en detenciones reversibles del desarrollo (diapausas) en tres etapas diferentes. Se presentan los principales puntos de interés que el grupo de investigación está analizando en peces anuales: aportes a la comprensión de los mecanismos de determinación y diferenciación sexual; expresión génica en relación a las proteínas de la cubierta ovocitaria; diapausas y factores intrínsecos y ambientales involucrados en la regulación del desarrollo. Finalmente se plantean las perspectivas de investigación en la era de las tecnologías ómicas.

150 Identificación del período de diferenciación sexual molecular del esturión siberiano, Acipenser baerii

*Vizziano-Cantonnet, Denise [1 *]; Di Landro, Santiago[1]; Lasalle, André[1]*

[* 1] Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Introducción Los factores que desencadenan la diferenciación sexual de esturiones no están dilucidados. Nuestra hipótesis es que los esturiones comparten con los teleósteos los genes que dirigen la diferenciación gonadal. En este trabajo se identificó el período de diferenciación sexual de la especie a nivel morfológico y se estudió la expresión de genes masculinos (dmrt1, sox9, amh), femeninos foxl2, cyp19, yy1) o relacionados a los esteroides (cyp17, ar) durante dicho período. Métodos Los genes se amplificaron a partir de testículos inmaduros y ovarios vitelogénicos usando cebadores diseñados en zonas conservadas. Las secuencias fueron validadas en trabajos previos. El análisis histológico y de expresión fue realizado en gónadas colectadas a distintas edades: 3, 4, 8, 9, 10, 11 y 14 meses (M). Resultados Los peces estaban indiferenciados a los 3 y 4 meses y ya diferenciados a los 8 meses. Los genes mostraron dos niveles de expresión: los altamente expresados (AE) correspondieron a marcadores masculinos (amh, sox9, dmrt1) y los poco expresados (PE) a los marcadores femeninos (foxl2, cyp19, yy1) y esteroideos (ar, cyp17a1). Los dos grupos mostraron una expresión bi-modal con un pico de expresión durante el período indiferenciado y otro durante el período post-diferenciado. Conclusiones El período de diferenciación sexual del esturión siberiano en Uruguay comienza por lo menos a los 8 meses. Los resultados de expresión génica sugieren que el período de diferenciación sexual molecular ocurre a los 3 y 4 meses.

380 Efecto de la subnutrición durante la gestación y lactación sobre la abundancia relativa de receptor de andrógenos a nivel testicular en ratas macho neonatos, prepúberes y adultos

*Herrera, Emiliano[1 *]; Riaño, Victoria[1]; Genovese, Patricia[1]; Bielli, Alejandro[1]*

[* 1] Área de Histología y Embriología, Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

La subnutrición materna puede afectar al feto, programando el desarrollo de órganos, alterando la cantidad de células, o la expresión de receptores hormonales. Cinco hembras Sprague-Dawley (grupo C,control) fueron mantenidas con agua y alimento ad libitum y camada en lactación de 8 crías; 5 hembras (grupo T: tratado en gestación y lactación) fueron mantenidas a 40% del consumo de alimento ad libitum de gestación y camada de 14 crías durante la lactación (alimentación materna postparto ad libitum). A los 2, 25 y 100 días de edad, 10 crías macho/grupo fueron sacrificados, sus testículos fueron fijados y procesados histológicamente. Los cortes obtenidos fueron tratados con anticuerpo primario contra receptor de andrógenos (AR). Se evaluó la positividad de AR (escala semicuantitativa de 0 a 3 puntos) en 300 células de Sertoli, Leydig y mioides. Se calculó el índice de positividad de AR para cada tipo celular; las diferencias entre grupos experimentales (media±ds) se determinaron por ANOVA (P=0.05). Los índices de positividad (grupos T y C de 2, 25 y 100 días de vida respectivamente) fueron: en células de Sertoli, 1,65±0,17vs1,27±0,22**; 1,96±0,13vs2,07±0,11; 1,15±0,14vs1,46±0,27; en células de Leydig, 2,28±0,079vs2,07±0,21; 26,92±3,58vs28,86±3,75; 1,24±0,16vs1,25±0,08 y en células mioides, 2,8±0,05vs2,69±0,04**; 1,34±0,09vs1,56±0,1***; 2,28±0,025vs2,28±0,28. La subnutrición durante la vida intrauterina y la lactancia afectó la abundancia relativa de AR testicular, pero dicho efecto desapareció en la vida adulta de los animales.

351 Señales eléctricas de cortejo: desde la conducta a la neurona

*Quintana, Laura[1 *]*

[* 1] Unidad Bases Neurales de la Conducta, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Las señales comunicativas producidas por los peces eléctricos sudamericanos, constituyen una oportunidad ideal para analizar los mecanismos que subyacen la conducta sexualmente dimórfica del periodo reproductivo. Los gimnotiformes producen descargas del órgano eléctrico (DOE) controladas por un núcleo bulbar (NEB) con actividad espontánea, que es modulado por centros superiores. En *Brachyhypopomus gauderio* se ha demostrado que durante el cortejo los peces modulan transitoriamente su ritmo de DOE para producir señales de comunicación: los machos producen *chirps*, mientras que las hembras interrumpen su descarga. Estudios en una preparación electrofisiológica *in vivo* han mostrado que el NEB adquiere estacionalmente la capacidad de producir chirps, exclusivamente en los machos, mediante la modificación de su sistema glutamatérgico. Hipotetizamos que el dimorfismo sexual estacional es causado por diferencias sexuales en distintos tipos de receptores de glutamato. Para poner a prueba esta hipótesis analizamos la respuesta del NEB a agonistas glutamatérgicos en una preparación *in vitro* y además cuantificamos un transcripto del receptor glutamatérgico AMPA en machos y hembras. La hibridización in situ no mostró diferencias sexuales cuantitativas en la subunidad AMPA, sin embargo en la respuesta funcional se evidenció un claro dimorfismo sexual. En machos reproductores, pero no en hembras, el NEB respondió al AMPA con una actividad rítmica, cuyo patrón temporal remeda el del chirp. En estos estudios hemos logrado identificar las bases celulares del dimorfismo sexual estacional de señales comunicativas que son indispensables para una reproducción exitosa.

292 Cambios afectivos que acompañan la maternidad en la rata y la mujer

*Agrati, Daniella[1 *]; Browne, Dillon[2]; Zuluaga, María José [1]; Jones, Wibke[2]; Uriarte, Natalia[1]; Fleming, Alison[2]; Ferreira, Annabel[1]*

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] University of Toronto

Durante la maternidad, las hembras no solo aumentan su sensibilidad y cambian su emocionalidad hacia sus hijos sino que también modifican sus respuestas afectivas frente a otros estímulos del entorno. Así, durante el posparto, la rata exhibe una reducción de sus respuestas de temor y ansiedad frente a múltiples estímulos adversos. En este marco, mostramos que la condición maternal per se, independientemente del perfil endócrino de la gestación y del parto, induce ansiólisis maternal y ésta, a su vez, es modulada por las crías. De forma similar, observamos que en las mujeres, la ansiedad disminuye durante los primeros meses posparto, para luego ascender en el segundo año de vida del hijo. Este patrón general de ansiedad en la mujer es modulado por su experiencia de vida temprana, así como por el temperamento de su hijo, asociándose las experiencias de vida adversas y la afectividad negativa de los hijos con niveles elevados de ansiedad posparto. En conjunto, estos estudios muestran que la experiencia de la maternidad y la interacción con los hijos modulan la ansiedad tanto de la rata como de la mujer más allá de la influencia de factores internos como las hormonas. A su vez, el efecto similar de las experiencias de vida sobre el estado emocional de la rata y de la mujer sugiere que ambas especies comparten mecanismos que median el control de estos procesos.

123 Desarrollo de un modelo de membrana corionalantoide (CAM) en codorniz: diferentes aplicaciones en la clínica

*Scotti, Leopoldina[1 *]; Pascuali, Natalia[1]; Abramovich, Dalhia [1]; De Zúñiga, Ignacio[2]; Bisioli, Carlos[2]; Tesone, Marta[1]; Parborell, Fernanda[1]*

[* 1] Instituto de Biología y Medicina Experimental; [2] Pregna Medicina Reproductiva

El modelo CAM, descripto por embriologos con el objetivo de evaluar el desarrollo embrionario, se utiliza para realizar xenotrasplantes con tejidos de diferentes especies y evaluar angiogenesis. Sus ventajas son: disponibilidad, bajo costo y rápido desarrollo del embrión. En nuestro laboratorio, hemos desarrollado este ensayo en embriones de codorniz con el objetivo de evaluar el potencial angiogenico de fluidos foliculares (FF) de pacientes con el Sindrome de Hiperestimulacion Ovarica (OHSS), el cual se caracteriza por tener una angiogenesis alterada. Los embriones se incubaron “in ovo” 48hs y “ex ovo” 5 días a 37ºC. Luego se colocaron los FF como estimulo y 48hs después, se sacrificaron los embriones y las CAM fueron fijadas. Los resultados mostraron que los FF de OHSS causan un mayor numero de ramificaciones vasculares y aumento en el calibre vascular, comparado a FF normales. En cambio, cuando a los FF de OHSS se agregó el anticuerpo anti angiopoyetina-1 (Ac. ANGPT1, inhibidor angiogenico), disminuyeron estos parametros. Por IF, se observo que FF de OHSS producían un aumento en las areas endotelial y peri-endotelial, que el inhibidor angiogenico fue capaz de revertir. Por ELISA, observamos un aumento de la integrina avß3 en CAM incubadas con FF de OHSS, mientras que el inhibidor angiogenico disminuyo sus niveles. En conclusión, mediante este ensayo CAM, se muestra que ANGPT1 participa en el desarrollo de OHSS. Ademas, este modelo desarrollado en codorniz puede aplicarse para evaluar angiogenesis en distintas patologías (cancer, endometriosis) mediante la utilización de suero, liquido peritoneal y biopsias de tejidos.

Domingo 7 - 14:00 a 15:45 **Fontana**

Virología en Uruguay: batallando con el enemigo invisible

Coordinan: *Adriana Delfraro*
Santiago Mirazo

Diversidad genética de Rotavirus detectados en niños hospitalizados con diarrea y en el ambiente, en el Litoral Noroeste y Este de Uruguay
López Tort, Fernando

Análisis filodinámico del virus de la bronquitis infecciosa aviar en la industria avícola regional: dos genotipos predominantes con diferente origen.
Marandino, Ana

Identificación y análisis de la variabilidad genética de virus porcinos emergentes en Uruguay
Ramos, Natalia

Epidemiología molecular del virus Papiloma humano en mujeres viviendo con VIH.
Ramas, Viviana

Biologia Estructural de la Formación de la Cápside Retroviral
Obal, Gonzalo

Implementación de un sistema de infección natural por Coxsackie virus B3.
Comas, Victoria

077 Diversidad genética de Rotavirus detectados en niños hospitalizados con diarrea y en el ambiente, en el Litoral Noroeste y Este de Uruguay

*López Tort, Fernando[1 *]; Victoria, Matías[1]; Lizasoain, Andrés[1]; García, Mariana[1]; Castells, Matías[1]; Maya, Leticia[1]; Arreseigor, Edith[2]; López, Patricia[3]; Miagostovich, Marize[4]; Gagliardi Leite, Jose Paulo[4]; Cristina, Juan[5]; Colina, Rodney[1]*

[*1] Laboratorio de Virología Molecular, CENUR del Noroeste, Sede Salto, Universidad de la República; [2] Pediatría, Centro Medico-Quirurgico de Salto, CAM, FEMI; [3] Pediatría, Hospital Departamental de Salto, ASSE, MSP; [4] Laboratorio de Virología Comparada y Ambiental, Fundación Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Ministerio de la Salud; [5] Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares (CIN), Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los Rotavirus del grupo A (RVA), son los agentes etiológicos más importantes de Gastroenteritis Aguda (GA) en niños menores de 5 años de edad en todo el mundo. La transmisión de RVA a través de aguas superficiales contaminadas con agua residual urbana (ARU) es un problema serio de salud en todo el planeta. El objetivo de este estudio fue detectar y caracterizar por métodos moleculares RVA en muestras clínicas de niños pequeños hospitalizados con GA en la ciudad de Salto (n=175, colectadas entre 01/2011 y 12/2012), y en ARU de seis ciudades localizadas en las regiones Noroeste (Bella Unión, Salto, Paysandú y Fray Bentos; colectadas quincenalmente; n=96; 03/2011-02/2012) y Este (Melo y Treinta y Tres, colectadas bimestralmente, n=45, 09/2011-12/2012) de Uruguay. Fueron colectados 42mL de ARU y posteriormente se realizó la concentración viral mediante ultracentrifugación. Se realizó la extracción del ARN viral a partir de las muestras, y luego fue obtenido su ADNc mediante retrotranscripción (RT). A partir del ADNc se realizó la PCR, secuenciación y análisis filogenético para obtención de los genotipos G y P de RVA. La prevalencia observada por RT-PCR fue la siguiente: 1) ARU-Noroeste: 36%, 2) ARU-Este: 27%, y 3) Muestras clínicas: 37%. Fue observada una gran diversidad genética, detectándose genotipos comunes (G1, G2, G3, P[4] y P[8]), emergentes (G12) y raros (G12P[9] y P[3]). Estos resultados representan la primera evidencia de la alta prevalencia de RVA en niños hospitalizados con GA en Salto, y la gran diseminación ambiental de este virus en el país.

353 Análisis filodinámico del virus de la bronquitis infecciosa aviar en la industria avícola regional: dos genotipos predominantes con diferente origen.

*Marandino, Ana[1 *]; Tomás, Gonzalo[1]; Iraola, Gregorio[1]; Hernández, Martín[1]; Hernández, Diego[1]; Techera, Claudia[1]; Panzera, Yanina[1]; Pérez, Ruben[1]*

[*1] Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El virus de la Bronquitis Infecciosa Aviar (IBV) es responsable de la Bronquitis Infecciosa, una de las patologías más problemáticas de la avicultura industrial mundial. IBV (familia *Coronaviridae*) es un virus envuelto con genoma de ARN simple hebra de polaridad positiva. Desde su descripción en los años 30 se han identificado, mediante el análisis de la porción S1 de la Glicoproteína de Superficie, decenas de genotipos circulando en el mundo. En el presente trabajo se diagnosticó y caracterizó genéticamente cepas de campo de IBV que circulan en la industria avícola regional, amplificando y secuenciando la región completa de S1 y el gen N. Los estudios filogenéticos de S1 permitieron identificar dos genotipos circulantes en la región con distintos origen, distribución y prevalencia, que denominamos Sudamérica I (SAI) y Asia Sudamérica II (A/SAII). El genotipo SAI agrupa cepas sudamericanas que circulan en Argentina, Brasil y Uruguay, mientras que el genotipo A/SAII está constituido por cepas argentinas y uruguayas, y variantes asiáticas. El análisis de secuencias parciales de S1 reveló que cepas del genotipo A/SAII podrían estar también circulando en Colombia y Chile. Los análisis de coalescencia sugieren que el genotipo SAI emergió en Sudamérica alrededor de 1964, mientras que el genotipo A/SAII se habría originado en Asia alrededor de 1996. La circulación del genotipo A/SAII en Sudamérica sería consecuencia de un evento de invasión intercontinental y un posterior evento de recombinación entre una variante asiática y una del genotipo SAI. Los diferentes orígenes de estos genotipos también se manifiestan en la presencia de relevantes diferencias nucleotídicas y aminoacídicas. Ambos genotipos son además muy divergentes con respecto a la cepa incluida en las vacunas que se utilizan en Uruguay y en la mayoría de los países sudamericanos, sustentando la necesidad de evaluar la utilización de otras cepas vacunales. En base a las diferencias entre los genotipos SA1 y A/SAII se diseñó, estandarizó y validó en nuestro laboratorio un ensayo de PCR en tiempo real que permite identificar de forma rápida y certera los genotipos circulantes para analizar su distribución y dinámica temporal. Es importante destacar que las aves con bronquitis fueron en varios casos, también positivas para otros virus que se investigan en el laboratorio (Gumboro, metaneumovirus aviar y anemia infecciosa), lo que indica la importancia de los eventos de co-infección en la sanidad avícola.

354 Identificación y análisis de la variabilidad genética de virus porcinos emergentes en Uruguay

*Ramos, Natalia[1 *]; Mirazo, Santiago [1]; D` Albora, Cecilia[1]; Cancela, Florencia[1]; Castro, Gustavo[2]; Arbiza, Juan[1]*

[*1] Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] División Sanidad Animal, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca

El Circovirus Porcino Tipo 2 (PCV2) es un virus emergente de gran impacto económico que provoca serias patologías en cerdos. En cambio, virus como el Torque Teno Virus Porcino (TTSuV) y el Virus de la Hepatitis E (HEV) Porcino revisten considerable interés por su posible impacto zoonótico y su eventual riesgo en potenciar el desarrollo de otras enfermedades del cerdo.El objetivo principal de este trabajo fue identificar por primera vez en Uruguay la circulación de PCV2, TTSuVs y HEV en cerdos pertenecientes a diferentes criaderos.Para ello, muestras de animales asintomáticos y con sintomatología compatible con PCV2, recolectadas durante los años 2011-2014, fueron testeadas mediante técnicas moleculares para evidenciar la presencia de estos virus. A su vez, fueron amplificadas otras regiones del genoma viral que permitieron la caracterización molecular de las cepas identificadas, incluyendo el análisis de secuencias y la construcción de árboles filogenéticos. Se han constatado casos de PCV2 durante los tres años de estudio y se pudo evidenciar una gran circulación de cepas recombinantes nunca antes reportadas en Sudamérica. Asimismo, se observó la presencia ubicua de TTSuV en criaderos Uruguayos y una alta frecuencia de coinfección de PCV2 y TTSuV. Paralelamente, se identificaron las primeras cepas de HEV en cerdos, hecho sumamente importante debido a la identificación en Uruguay de HEV en humanos desde el 2010. La investigación de estos virus, promueve el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento tanto para la salud animal como humana y aporta valiosísima información sobre su situación epidemiológica regional.

376 Biologia Estructural de la Formación de la Cápside Retroviral

*Obal, Gonzalo[1 *]; Carrión, Federico[1]; Trajtenberg, Felipe[1]; Tome, Lorena[1]; Larrieux, Nicole[1]; Bianchi, Sergio[1]; Addiego, Andrés[1]; Buschiazzo, Alejandro[1]; Pritsch, Otto[1]*

[*1] Institut Pasteur de Montevideo

La Cápside de los Retrovirus es una estructura supramolecular que encierra y protege el genoma viral, y el éxito de su formación determina que los nuevos viriones adquieran capacidad infectiva, por lo cual constituye un evento de crucial importancia. En este trabajo, estudiamos las bases biofísicas y estructurales de la formación de la cápside del Virus de la Leucemia Bovina, un onco-retrovirus de células B bovinas, similar al HTLV humano. Por un lado, identificamos y caracterizamos los factores que gatillan y modulan la reacción de auto-ensamblado de la proteína de cápside (CAvlb). En particular, elucidamos de que manera la combinacion de factores fisicoquímicos determina la correcta formación de la cápside así como su morfología supramolecular. Asimismo, encontramos que son únicamente las condiciones específicas del interior de la partícula retroviral las que permiten la formación de la cápside en un contexto fisiológico.Por otro lado, elucidamos la estructura 3D de CAvlb mediante cristalografía de rayos X. En particular, logramos resolver la estructura atómica del capsómero hexagonal, bloque basico de contrucción de la cápside, formado una red 2D que mimetiza la malla de capsómeros que conforman la cápside nativa, algo que no ha sido posible aún en otros retrovirus. Globalmente nuestros resultados constituyen un aporte valioso a la comprensión de la formación de la cápside del VLB y retrovirus en general.

356 Epidemiología molecular del virus Papiloma humano en mujeres viviendo con VIH.

*Ramas, Viviana[1 *]; Nogueira, Karina[2]; Mansilla, Mariela[2]; Ruchansky, Dora[3]; Bonilla, Sylvia[4]; Dutra, Aníbal[2]; Arbiza, Juan[5]*

[*1] Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Servicio de Enfermedades Infecto Contagiosas, Hospital Pasteur; [3] Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [4] Laboratorio de Citología, Servicio de Atención a la Salud, Intendecia de Montevideo; [5] Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El cáncer cervical es una de las causas principales de muerte en países en vías de desarrollo, en Uruguay ocupa el segundo lugar en incidencia y mortalidad en mujeres entre 14 y 44 años. En éstos países también es de gran impacto los casos de VIH/SIDA, Uruguay tiene un total de casos registrados de infección por VIH, desde 1983 a octubre de 2013 de 12.422 y se estima que anualmente se infectan 1000 nuevas personas. En población de mujeres viviendo con VIH, la detección de ADN de VPH mediante técnicas de biología molecular, es de dos a cinco veces más frecuente, que en muestras de mujeres VIH negativas, presentando una complicación mayor por infecciones persistentes, recurrentes y lesiones que se desarrollan en menor tiempo. Sin embargo, la introducción de los tratamientos antirretrovirales de gran actividad (TARGA) resultó en la mejora de la expectativa de vida de personas viviendo con VIH, tal es así que disminuyeron las complicaciones por infecciones oportunistas y algunas neoplasias como el sarcoma de Kaposi, aunque no es concluyente la información de estudios sobre neoplasias producidas por VPH. En nuestro país no hay publicaciones sobre mujeres con irritaciones a nivel del tracto genital que sean producidas por VPH en una población VIH positiva, ni genotipos circulantes, es así, que en éste trabajo nos planteamos establecer la frecuencia de VPH en ésta población, determinar qué genotipos circulan, y realizar un seguimiento de los pacientes durante 18 meses para determinar el posible efecto del TARGA en la coinfección. Para ello se colectaron 91 cepillados de cérvix de mujeres viviendo con VIH, se extrajeron los ácidos nucléicos y se amplificó un fragmento de 450 pares de bases del gen L1 del genoma de VPH. Se determinó que el VPH 16 fue el genotipo más frecuente tanto en infecciones simples como múltiples, en cuanto al efecto del TARGA se observó en 6 pacientes una remoción de la infección, no siendo concluyente en el resto de las pacientes estudiadas. Los resultados de la detección y tipificación temprana de la infección, podrían conducir a un mejor control de las pacientes con anomalías causadas por este virus y a la implementación de tratamientos preventivos para las pacientes, además de orientar al ginecólogo tratante en la toma de decisiones. Financiación: Proyecto de Iniciación a la Investigación, CSIC-Convocatoria 2011.

359 Implementación de un sistema de infección natural por Coxsackie virus B3.

*Comas, Victoria[1 *]; Borderia, A[2]; Cristina, Juan[1]; Vignuzzi, Marco[2]; Moratorio, Gonzalo[3]*

[*1] Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Poblaciones virales y patogénesis, Departamento de Virología, Institut Pasteur; [3] Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República- Laboratorio de Poblaciones virales y patogénesis, Departamento de Virología, Institut Pasteur

Los enterovirus son un grupo de agentes virales responsables de importantes y frecuentes enfermedades humanas. A pesar de ser transmitidos por vía fecal-oral, la mayoría de los estudios in-vivo son realizados mediante infecciones vía intraperitoneal o intramuscular. Es por este motivo que surge la necesidad de implementar una metodología que simule lo que ocurre en la naturaleza. En el marco de un proyecto en el cual se está trabajando con Coxsackie Virus B3 (CVB3) para estudiar el rol de la robustez genética en la evolución de virus ARN, el objetivo de este trabajo fue implementar una metodología de infección natural. Siendo ésta una valiosa herramienta para el estudio de aspectos relacionados con la patogenia y evolución y para comparar resultados obtenidos por una vía de infección no natural. Se utilizó un sistema de genética reversa para la generación de stocks virales de CVB3. Asimismo, se emplearon diferentes cepas de ratones, como Balb/c y C3H, así como diferentes edades y títulos virales (5.105, a 1.107 TCID50 /ml), llevándose a cabo la infección oral (gavage) mediante la utilización de una sonda. Finalmente, se recolectaron muestras de distintos órganos para los análisis cuantitativos de genomas virales por RT-PCR en tiempo real. A partir de los virus obtenidos se realizaron ensayos de plaqueo y de dilución límite. Como conclusión, podemos decir que se logro poner a punto una metodología para la infección natural por CVB3. El aumento en el título, así como el uso de ratones más jóvenes permitió efectivamente recrear una infección natural

MESAS TEMÁTICAS

Domingo 7 - 14:00 a 15:45 **Pasillo Planta Baja**

Productos Naturales

Coordina: *Eduardo Dellacassa*

Bioactivity studies from extracts of native Uruguayan plants and their immunological role
Ferragut, Gabriela

Análisis de los efectos radioprotectores y moduladores de la reparación genómica por derivados de la yerba mate
Bracesco, Nelson

Estudios preliminares de genotipado de variedades de cannabis presentes en el Uruguay
Azambuja, Carlos

***Cannabis sativa*: Una aproximación fitoquímica.**
García Carnelli, Carlos

Posibles sinergismos entre canabinoides y otros terpenos volátiles presentes en Cannabis sativa: posibilidades o dificultades para su uso?
Dellacassa, Eduardo

135 Bioactivity studies from extracts of native Uruguayan plants and their immunological role

*Ferragut, Gabriela [1] *; Lombardo, Pamela [2]; Severi, María Angélica[1]; Vignalle, Beatriz[3]; Cedano, Juan[4]; Dellacassa, Eduardo[5]; Pérez, Elena [6]*

[*1] Laboratorio de Inmunología "Dr. Alberto Nieto", Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Inmunología "Dr. Alberto Nieto", Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República- Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [3] Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República- Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [4] Departamento de Biotecnología, Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República; [5] Farmacognosia y Productos naturales, Facultad de Química, Universidad de la República; [6] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Salto Grande

In Uruguay there are a lot of native species that produce eatable fruits,which have been described by different researchers throughout the years. A variety of subtropical species of our country inluding Mirtáceae family , such as Eugenia uniflora L., Myrcianthes pungens (Berg.) Legr., Acca sellowiana (Berg.) Burret, Psidium cattleianum Sab. y el (Hexachlamis edulis (Berg.) Legr. Et Kaus are studied. Considering the valuable gene pool posing Uruguay, the urgency for safe products for human health and environment, the aim of this piece of work is to study the anti- inflammatory and anticancerigenous capacity of the different extracts of our native plants, in order to start to evaluate its inmmunological potential.For this reason, extracts of the different plants organs were prepared in different solvents, aqueous, hexane, etil acetate,methanol. Antifungical studies were carried out and they were also analyzed by thin layer chromatography. Of these, diferent plant extracts showed varied levels of antifungal activity and chromatography results. Anti-inflammatory and the immune stimulatory activities are studied from different extracts through the cytoquines production (TNF - alfa, IL-6, IL-4, IL-5) of macrophages and inhibition of cancer cells. At this moment we have obtained preliminary results.

391 Análisis de los efectos radioprotectores y moduladores de la reparación genómica por derivados de la yerba mate

*Sánchez, Ana[1] *; Sosa, Verónica[1]; Blanc, Lourdes[1]; Contreras, Valeria[1]; Nunes, Elia[1]; Bracesco, Nelson[1]*

[*1] Laboratorio de Radiobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La ingesta de polifenoles en la dieta es importante para impedir el estrés oxidativo generado cuando la producción de especies reactivas del oxígeno está más allá de la capacidad antioxidante de un sistema biológico. El consumo de Ilex paraguariensis como infusión de yerba mate supone mayor ingesta diaria de antioxidantes. Algunos efectos biológicos de los flavonoides han sido relacionados con acciones moduladoras en las células, influenciando los procesos celulares de transducción de señales mediados por oxidantes.El balance entre oxidación y reducción a nivel molecular, celular y de sistemas puede alterarse en forma reversible o irreversible pudiendo dar lugar a estrés oxidativo, envejecimiento, mutaciones y cáncer. En este trabajo se utilizaron como modelos, poblaciones celulares de Saccharomyces cerevisiae, de tipo salvaje y mutantes isogénicas deficientes en el puntos nodales de control del ciclo celular y de la reparación de ADN. Las cepas fueron tratadas en fase exponencial con radiación y agentes químicos capaces de dañar el ADN (radiación gamma, ultravioleta, Bleomicina y Benzo[a]pireno). Se utilizaron extractos acuosos de Yerba Mate y derivados bioactivos de esta en concentraciones similares a las encontradas en el producto. En presencia de los mismos se observó en todos los casos aumento significativo de la fracción sobreviviente correspondiente frente a los agentes utilizados, indicando distintos mecanismos de radioprotección. Se plantean modelos de la interacción de los compuestos utilizados a nivel de cascadas redox y de transducción de señales de daño genómico.

392 Estudios preliminares de genotipado de variedades de cannabis presentes en el Uruguay

Azambuja, Carlos[1 *]; *Fossati, Rosina*[1]; *Mechoso, Búrix*[2]

[* 1] Laboratorio Genia; [2] Laboratorio de Radiobiología, Biofísica, Facultad de Medicina-UdelaR

El cannabis como producto biológico se ha usado desde épocas remotas por la humanidad para fines múltiples: fuente de fibra, comida, aceite, medicinas y como embriagante. Extendido desde Asia hacia el resto del planeta de manera amplia y a pesar del estatus ilegal en el siglo XX ha cobrado a partir del descubrimiento de unos de sus componentes psicoactivos principales y de los primeros receptores cannabinoideos un especial interés por las potencialidades recreacionales, medicinales como industriales.Hemos iniciado el estudio de identificación varietal de las plantas de cannabis que se han introducido en Uruguay. Para dicho estudio utilizamos marcadores moleculares del tipo STRs (Small of Tandem Repeats). Estos marcadores permiten determinar perfiles de ADN de cada una de las variedades que usuarios expertos han cultivado para uso recreativo y medicinal empírico. Elaboramos una base de datos que permite establecer la distribución varietal en términos descriptivos. Esta información obtenida a partir de la tipificación individual de cada variedad podrá utilizarse para investigación básica y aplicada. Nuestro trabajo del estudio genético molecular constituye la primera aproximación que se está haciendo en el país como base para estudios científicos en el contexto de un Grupo Interdisciplinario de estudios del cannabis en sistemas biológicos de Udelar, colaborando Genia Uruguay. La alta sensibilidad y especificidad de la metodología utilizada para la obtención de los perfiles genéticos permitirá establecer vínculos biológicos de parentesco entre las muestras recibidas de diferentes fuentes como también el análisis de la trazabilidad de variedades utilizadas en principio con fines comerciales.

387 *Cannabis sativa*: Una aproximación fitoquímica.

García Carnelli, Carlos[1 *]

[* 1] Facultad de Química, Universidad de la República

El cannabis (*Cannabis sativa* L.) es una planta ampliamente distribuida en el planeta, que ha proporcionado al hombre una fuente de fibra, alimentos, aceite, medicinas y estupefaciente desde tiempos del neolítico. En la misma se han identificado a la fecha más de 480 compuestos, entre los que se destacan los canabinoides. A esta familia pertenecen los compuestos responsables de la psicoactividad de la marihuana, siendo el principal y casi exclusivo el delta-9-tetrahidrocannabinol. Pero no menos interesantes por sus potenciales aplicaciones resultan otros como el cannabidiol (CBD), o los terpenoides del aceite esencial.Desde hace décadas, cultivadores de cannabis de varias partes del mundo han estado trabajando para obtener híbridos con diferentes concentraciones y perfiles cannabinoideos. Uruguay no es ajeno a esta realidad, existiendo desde hace años cultivadores organizados que han desarrollado de manera empírica decenas de variedades, las que presentan diferentes genotipos, fenotipos y efectos biológicos. Sin embargo la investigación científica sobre el cannabis autóctono es prácticamente nula, no hallándose datos publicados al respecto. La nueva Ley de regulación del cannabis (Ley 19.172) otorga un marco legal que facilita la investigación sobre los canabinoides y otros derivados de la marihuana con aplicaciones terapéuticas.En este contexto, en el presente trabajo se presentan los resultados preliminares de la determinación de los principales cannabinoides en variedades cultivadas en el país y su comparación con muestras procedentes del mercado ilegal.

414 Posibles sinergismos entre canabinoides y otros terpenos volátiles presentes en Cannabis sativa: posibilidades o dificultades para su uso?

Dellacassa, Eduardo[1 *]

[* 1] Cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la República

Sin resumen

MESAS TEMÁTICAS

Domingo 7 - 14:00 a 15:45 **La Concepción**

Mesa Redonda de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay, Dr Luis Colom

Coordina: *Sociedad de Neurociencias del Uruguay y Sub-área Neurociencias PEDECIBA*

Homenaje a Luis Colom
Borde, Michel; Pereda, Alberto; Caputi, Angel

Acción de la vasotocina sobre dos tipos de agresión en peces eléctricos autóctonos
Perrone, Rossana

Estudio de la neuroprotección por agonismo nicotinico en un modelo experimental de enfermedad de Parkinson
Mouhape, Camila

Análisis del transcriptoma de axones mielínicos mediante secuenciación masiva
Farías, Joaquina

Efecto de la fluoxetina sobre la actividad de neuronas MCHérgicas y no MCHérgicas del hipotálamo posterolateral
Pascovich, Claudia

Efecto motivacional de Pasta Base de Cocaína evaluado por autoadministración intravenosa en ratas: datos preliminares
Prieto, José Pedro

413 Acción de la vasotocina sobre dos tipos de agresión en peces eléctricos autóctonos

Perrone, Rossana[1 *]
[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Se postula que el comportamiento social en vertebrados sería el resultado del patrón de activación de las áreas cerebrales que forman la Red del Cerebro Social. La actividad de estas áreas es modulada por neuropéptidos hipotalámicos como vasotocina (AVT) y su homólogo en mamíferos, vasopresina, entre otros. Para comprobar la hipótesis de que AVT modula distintivamente dos tipos de agresión diferentes en especies emparentadas, trabajamos con dos especies de peces eléctricos autóctonos: el gregario Brachyhypopomus gauderio, sexualmente dimórfico, que despliega agresión ligada a la reproducción; y el solitario y sexualmente monomórfico Gymnotus omarorum que despliega agresión territorial no reproductiva.Los peces eléctricos son valiosos modelos en Neuroetología porque sus comportamientos incluyen despliegues eléctricos, de los que se conocen los mecanismos de generación. El Núcleo Electromotor Bulbar (NEB) controla la frecuencia de la Descarga del Órgano Eléctrico, y es el responsable de los despliegues eléctricos sociales. El comportamiento agonístico de B. gauderio y G. omarorum, estudiado en los dos tipos de agresión, presenta despliegues eléctricos y locomotores diferentes.El efecto de la administración de AVT en el comportamiento agonístico de las dos especies es diferente: en G. omarorum aumenta la agresión física, y en B. gauderio el principal efecto es sobre las señales eléctricas sociales. Asimismo, AVT modula la interacción social en sí misma. Se encontraron fibras AVTérgicas en las inmediaciones del NEB de ambas especies, apoyando los resultados comportamentales que sugieren una acción neuromoduladora de AVT sobre el NEB, el cual actuaría como un integrador del comportamiento social eléctrico.

423 Estudio de la neuroprotección por agonismo nicotinico en un modelo experimental de enfermedad de Parkinson

Mouhape, Camila[1 *]; *Costa, Gustavo*[1]; *Abin-Carriquiry, Juan Andrés*[1]; *Dajas, Federico*[1]; *Prunell, Giselle*[1]
[*1] Departamento de Neuroquimica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La Enfermedad de Parkinson (EP) es una patología neurodegenerativa que afecta un 2% de la población mundial mayor de 60 años. Se caracteriza por alteraciones motoras debidas a un deterioro extrapiramidal asociado a la pérdida selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la Sustancia Nigra-compacta (SNc) y una disminución concomitante de dopamina (DA) a nivel de sus terminales en el Cuerpo Estriado (CE). No existe hasta el momento una terapia efectiva para esta enfermedad; los tratamientos disponibles son sintomáticos y no detienen el proceso neurodegenerativo. Estudios epidemiológicos indican que los fumadores de tabaco tienen menor incidencia de EP, lo que podría ser consecuencia de la acción de la nicotina sobre los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR). Para estudiar los efectos del agonísmo nicotínico en un modelo de EP, se indujo la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la SNc de ratas inyectando la toxina rotenona unilateralmente en el haz medial del cerebr o anterior, mientras que se administró nicotina desde 5-días antes y hasta 30-días post-lesión. Los resultados muestran que los animales tratados con nicotina tienen más células dopaminérgicas remanentes en la SNc analizadas por inmunohistoquímica y mayores niveles de DA medidos por HPLC en el CE 30 días-post-lesión en comparación a los animales no tratados, lo que se asocia con un mejor desempeño motor en el test del cilindro. Los resultados evidencian un efecto neuroprotector inducido por agonísmo nicotínico en un modelo de EP in-vivo, apoyando la hipótesis de que los nAChR podrían ser un blanco terapéutico para la EP.

424 Análisis del transcriptoma de axones mielínicos mediante secuenciación masiva

*Farías, Joaquina[1 *]; Di Paolo, Andrés[1]; Canclini, Lucía[1]; Sotelo-Silveira, José[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Estudios recientes realizados en neuronas en cultivo caracterizaron por primera vez el transcriptoma de axones inmaduros in vitro, revelando la presencia de una gran diversidad de ARNm en dichos axones. Sin embargo, cuáles ARNm están presentes en axones mielinicos maduros es todavía una gran incógnita. Para contribuir a responder dichas interrogantes se aislaron axoplasmas de axones maduros y mielinizados de raíces ventrales de ratas mediante micro-disección de axones in toto. Luego de evaluar la pureza de la muestra se procedió a la secuenciación y caracterización de las secuencias obtenidas. Como punto de referencia de composición molecular se utilizó la raíz ventral completa. Las muestras de axoplasmas fueron exitosamente aisladas; los marcadores gliales (mensajeros de Mbp, Mag y Pmp22) disminuyeron considerablemente con respecto a raíces ventrales, en cambio, los marcadores neuronales (mensajeros de neurofilamentos) aumentaron. Luego de la secuenciació n, se mapearon las lecturas y se identificaron 629 transcriptos diferentes, muchos de ellos no reportados en este compartimiento celular previamente. Este conjunto de transcriptos está particularmente enriquecido en mensajeros asociados a proteínas de unión al ARN, como ZBP1 y Stau2, así como también al motor molecular MyoVa. Luego de analizar la expresión, se constató que los mensajeros más expresados codifican proteínas mitocondriales (codificadas tanto por el genoma mitocondrial como el nuclear), así como también proteínas asociadas al citoesqueleto, entre otras. Este trabajo es el primero en iniciar la caracterización masiva de transcriptos provenientes de axones maduros, contribuyendo de esta manera al conocimiento de los procesos involucrados en el mantenimiento axonal.

425 Efecto de la fluoxetina sobre la actividad de neuronas MCHérgicas y no MCHérgicas del hipotálamo posterolateral

*Pascovich, Claudia[1 *]; Rivas, Mayda[1]; Schwarkopf, Natalia[1]; Deutsch, Helena[1]; Vollono, Patricia[1]; Lagos, Patricia[2]; Falconi, Atilio[1]; Torterolo, Pablo[1]*

[*1] Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La depresión mayor (DM) es una enfermedad frecuente, cuyos mecanismos fisiopatológicos no son claramente conocidos. En el hipotálamo postero-lateral (HPL), sitio importante de control homeostático, es donde se localizan las neuronas que sintetizan el neuromodulador hormona concentradora de melanina (MCH). El sistema MCHérgico está involucrado en la DM destacándose que antagonistas del receptor-1 de MCH tienen un efecto antidepresivo en modelos animales, y el tratamiento con fluoxetina (antidepresivo inhibidor de la recaptación de serotonina) disminuye las concentraciones de MCH en el LCR. Por lo tanto, nuestra hipótesis es que la fluoxetina produciría una inhibición la descarga de las neuronas MCHérgicas. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la fluoxetina sobre neuronas MCHérgicas del HPL. En ratas anestesiadas, se realizaron registros neuronales extracelulares en el HPL mediante micropipetas dobles y se administró fluoxetina yuxtacelularmente. Las neuronas registradas fueron marcadas con neurobiotina e identificadas mediante doble inmunohistoquímica para neurobiotina y MCH. La aplicación de fluoxetina (1,25 $\mu g/\mu l$) disminuyó la frecuencia de descarga de las neuronas del HPL (8 en 9) desde una frecuencia de 5,4 $\pm$ 5,7 a 2,5 $\pm$ 3,2 Hz con una latencia de 12,3 $\pm$ 16,3 s y una duración del efecto de 86 $\pm$ 60 s. De 4 neuronas marcadas con neurobiotina, una resultó ser MCHérgica y las otras 3 no-MCHérgicas. El vehículo no provocó efecto significativo. Concluimos que la fluoxetina disminuye la actividad tanto de neuronas MCHérgicas como no MCHérgicas del HPL. Financiado por ANII (FCE-1-2011-1-5997) y PEDECIBA.

426 Efecto motivacional de Pasta Base de Cocaína evaluado por autoadministración intravenosa en ratas: datos preliminares

*Prieto, José Pedro[1 *]; Serra, Gian Pietro[2]; Galvalisi, Martín[1]; Perra, Valentina[2]; Pirri, Sara[2]; Valentini, Valentina[2]; Scorza, Cecilia[1]*

[*1] Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de Ciencias Biomédicas, Universidad de Estudios de Cagliari

El fenómeno del consumo de Pasta Base de Cocaína (PBC) y su alto poder adictivo continúan bajo estudio. Sabemos que sus principales componentes psicoactivos son cocaína (base) y cafeína (adulterante), y que son éstos quienes median sus acciones farmacológicas evaluadas hasta el momento. Hemos demostrado que PBC induce un efecto estimulante agudo y el fenómeno de sensibilización locomotora (SL), vinculado al desarrollo y persistencia de la adicción. También observamos que cafeína puede actuar de forma aditiva con cocaína y acelerar la expresión de la SL. Con el fin de profundizar en el estudio de las propiedades adictivas de la PBC y el rol de la cafeína en este fenómeno, se evaluó la propiedad motivacional de la co-administración de cocaína y cafeína (sucedáneo de PBC) en comparación con cocaína, mediante la técnica de autoadministración intravenosa. Este modelo permite la cuantificación del comportamiento de búsqueda de droga, su valor reforzador y motivacional. Ratas mach o adultas, Sprague-Dawley, implantadas quirúrgicamente con un catéter intravenoso de administración crónica, se les permitió autoadministrarse cocaína (0,25 mg/kg/inyección), cafeína (0,125 mg/kg/inyección) y cocaína+cafeína (0,25 + 0,125 mg/kg/inyección) en un régimen de radio fijo durante 21 días en sesiones de 1 hora, seguido de un régimen progresivo durante 7 días. Resultados preliminares sugieren que los animales expuestos a cocaína+cafeína presentan una mayor motivación por la búsqueda y obtención de la droga que los animales expuestos a cocaína. Estos resultados colaboran en la comprensión de la rápida dependencia e intenso craving inducido por PBC en relación a la cocaína.

Domingo 7 - 14:00 a 15:45 **Pasillo Spa**

Taller: Educación Científica y Motivación Académica

Coordina: *Virginia Comas*
Dirige: *Ana Corbacho*

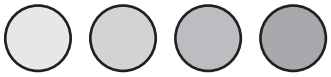
La taxonomía de Bloom aplicada a las Biociencias y bases prácticas para incrementar la motivación académica
Corbacho, Ana M.

397 **La taxonomía de Bloom aplicada a las Biociencias y bases prácticas para incrementar la motivación académica**

Corbacho, Ana M.[1] *
*[1] Hub Interdisciplinario iAMSTEM, Universidad de California Davis

La mayoría de los docentes estaría de acuerdo en que el éxito de un estudiante debería ser medido no sólo en términos de lo que el estudiante puede recordar, sino en lo que es capaz de hacer con el conocimiento. En general, se acepta que la memorización del material demanda habilidades cognitivas de bajo nivel que sólo requiere un nivel de compresión mínima, en cambio la aplicación del conocimiento y el pensamiento crítico son habilidades cognitivas de alto nivel que requieren de una comprensión conceptual más profunda. En las últimas décadas se han realizado esfuerzos dirigidos al desarrollo de las habilidades de pensamiento crítico involucrando a los estudiantes universitarios en el proceso de aprendizaje. Parte de este esfuerzo es el desarrollo de herramientas que permiten la aplicación y evaluación de las estrategias de aprendizaje. Los objetivos de este taller es que los participantes se familiaricen con metodologías que permiten:-mejorar el aprendizaje -mejorar el sistema de evaluación del aprendizaje-aumentar la motivación académica de los estudiantes. Durante el taller se discutirán dos metodologías complementarias de educación científica. En primera instancia se presentará la Taxonomía de Bloom aplicada a la educación de Biociencias a nivel universitario. En segunda instancia se presentará un modelo de trabajo integrado que estimula la motivación académica de los estudiantes universitarios. En ambos casos se mostrarán ejemplos y resultados concretos de la aplicación de las metodologías. Se discutirá en grupos las ventajas y limitantes de aplicar dichas metodologías en la educación científica universitaria en el contexto uruguayo.

Posters



POSTERS

Sesión 1 - Viernes 5 de Setiembre 15:45-18:30.

	# de Posters S1_001-080	(Salón Dorado)
	# de Posters S1_093-120	(Sala Génova)
Horarios de presentación:	Posters con número impar:	16:00-17:15
	Posters con número par:	17:15-18:30

Los posters deberán ser colocados a primera hora del día de su presentación y deberán ser retirados al finalizar esa jornada.

Sesión 2 - Sábado 6 de Setiembre 15:45-18:30.

	# de Posters S2_001-079	(Salón Dorado)
	# de Posters S2_093-122	(Sala Génova)
Horarios de presentación:	Posters con número impar:	16:00-17:15
	Posters con número par:	17:15-18:30

Los posters deberán ser colocados a primera hora del día de su presentación y deberán ser retirados al finalizar esa jornada.

Sesión 3 - Domingo 7 de Setiembre 11:00-12:30.

	# de Posters S3_001-091	(Salón Dorado)
Horarios de presentación:	Todos los posters:	de 11:00-12:30

Los posters deberán ser colocados a primera hora del día de su presentación y deberán ser retirados al finalizar esa jornada.

Área	Sesión	Pág
Biofísica	Sesión 1	69
Bioinformática	Sesión 2	97
Biología Molecular	Sesión 2	99
Biología Reproductiva	Sesión 1	72
Biología Vegetal	Sesión 1	76
Bioquímica	Sesión 3	123
Biotecnología	Sesión 2	104
Cáncer	Sesión 2	107
Ciencias Cognitivas	Sesión 2	110
Cronobiología	Sesión 2	111
Desarrollo de fármacos y farmacología	Sesión 1	78
Divulgación y Educación Científica	Sesión 2	111
Ecología	Sesión 3	134
Genética	Sesión 2	111
Investigaciones Antárticas	Sesión 2	115
Microbiología	Sesión 2	118
Microscopía e Imagenología	Sesión 2	123
Neurociencias: General	Sesión 1	83
Neurociencias: Plasticidad	Sesión 1	93
Organismos Modelo	Sesión 2	124
Parasitología	Sesión 1	94
Terapia Génica y Celular	Sesión 2	125
Virología	Sesión 3	136
Presentaciones orales	Sesión 3	137

Biofísica - Sesión 1

S1_001 Efectos de agentes oxidantes (Chloramine-T), sobre corazones aislados.

*Costa, Carlos[1 *]; Impagliazzo, Juan[1]; Torres, Hugo[1]; Ferreira, Gonzalo[1]*

[*1] Laboratorio de Canales Iónicos, Departamento de Biofisica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Cloramina-T (CT) es un poderoso agente oxidante de diversos compuestos, como aminoácidos R, H, M, T, W y C. Cloramina o derivados son usados como agentes desinfectantes. Durante la isquemia e injuria de isquemia por reperfusión se producen numerosas especies reactivas de oxígeno (ROS), pudiendo actuar como CT. Estudiamos la respuesta cardíaca general al stress oxidativo generado por exposición aguda a cloramina-T (contractilidad y actividad eléctrica). CT tiene un efecto inotrópico negativo, IC50∼70 uM. La tensión diastólica cardíaca aumenta con aumento de la dosis de CT. La tolerancia a dinámica de calcio intracelular, valorada por la frecuencia máxima de estimulación capaz de originar una contracción por estímulo, disminuyó con la droga. CT produce también arritmias con IC50∼20 uM. A CT > 100 uM, se observa un efecto cronotrópico negativo. En corazones sometidos a isquemias globales y reperfusión, se observa que CT acelera la pérdida de contractilidad y disminuye la recuperación de la misma ante reperfusión, respecto a isquemias control, sugiriendo que es capaz de potenciar el stress oxidativo producido por la isquemia e injuria por reperfusión. Los resultados indican que el stress oxidativo provocado por medios químicos (CT), afectan la funcionalidad cardíaca, observándose alteraciones eléctricas con dosis menores que las que provocan alteraciones contráctiles. Dado la exposición al agente oxidante es desde el medio extracelular, en estos casos hay sensibilidad temprana de canales iónicos y transportadores de membrana al stress oxidativo, en comparación con respuestas intracelulares, por difusión del agente oxidante desde el exterior al interior celular.

S1_002 Glifosato afecta motilidad de espermatozoides humanos maduros.

*Torres, Hugo[1 *]; Impagliazzo, Juan[1]; Costa, Carlos[1]; Sapiro, Rossana [2]; Silveira, Patricia[2]; Ferreira, Gonzalo[1]*

[*1] Laboratorio de Canales Iónicos, Departamento de Biofisica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El uso de agroquímicos, compuestos químicos o biológicos usados para aumentar el rendimiento de productos agropecuarios deseados y/o el control de plagas, se ha incrementado enormemente en los últimos años en nuestro país y en el mundo. La enorme mayoría de los mismos afecta a canales iónicos de manera directa/indirecta. Uno de los más usados en nuestro país comprende el herbicida Glifosato. De acuerdo a OMS, se clasifica de categoría III (baja peligrosidad), aunque se reportan casos de intoxicación por el mismo, con un 3 a 4 % de mortalidad. Los espermatozoides son bastante dependientes en su funcionalidad de canales iónicos y señalización intracelular. Se han descrito efectos de Glifosato en espermatozoides de varias especies (Ackha et al., 2012, Dellagrave et al., 2007). Teniendo en cuenta estos antecedentes decidimos investigar con Computer Assisted Sperm Analysis, el efecto de glifosato en la motilidad de espermatozoides humanos maduros. A bajas concentraciones (10 a 20 uM), glifosato produce un incremento de espermatozoides estáticos (20% aprox). Para dosis altas (mayores a 250 uM), este porcentaje aumenta (50 % aprox). Interesantemente, 10-20 uM Glifosato produce un aumento de 20% de la motilidad global de los espermatozoides móviles, medidos como velocidad curvilínea, rectilínea y su promedio. A dosis mayores a 250 uM, decae a 10% del control, teniendo un IC50 de 150 uM. Los resultados indican que glifosato afecta la motilidad de espermatozoides humanos y muestran una diversidad de respuestas en los espermatozoides afectados, indicando la heterogeneidad de la funcionalidad espermática en semen eyaculado.

S1_003 Efecto de alto Ca^{2+} intracelular sobre el Acoplamiento Excitación-Contracción (AEC) en el músculo esquelético de rana

*Olivera, Fernando [1 *]; Pizarro, Gonzalo[1]*

[*1] Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

En células sin membrana se describió una pérdida de AEC por alta [Ca^{2+}] citoplasmática (Ca_{cito}) (Lamb et al 1995, JPhysiol 489) que llamaremos desacople excitación-contracción (DEC). Estudiamos el fenómeno en células de rana bajo control de voltaje. Se aumentó Ca_{cito} mediante: a) movilización farmacológica desde el retículo sarcoplasmático (RS); b) aplicación intracelular desde los compartimientos laterales. a) 200 μM de 4 Cl m-cresol elevó Ca_{cito} desde 43 ± 12 nM a 247 ± 39 nM (n=7). Al lavar Ca_{cito} retornó a su valor basal. La carga por unidad de capacidad (Q) se redujo un 40 % y el flujo de liberación de Ca^{2+} desde el RS (F) fue reducido 90 %. Al lavar Q se recuperó al 75% y F al 30 % del nivel previo a la droga. Una segunda aplicación de 4 Cl m-cresol aumentó Ca_{cito} a 154 ± 51 nM. b) Se aplicó [Ca^{2+}] libre 1 o 2 μM. El aumento medido de Ca_{cito} fue 20 a 30 % del aplicado. Se observó una disminución de Q (47%±6% del valor previo a alto Ca^{2+}, n=5), de F (23% ± 2%) y del cociente F/Q. El efecto no fue reversible al disminuir Ca_{cito} por la aplicación de 50 mM de EGTA a los compartimientos laterales. Los experimentos descritos permiten concluir que la exposición prolongada a Ca_{cito} superior a la de reposo disminuye la carga por unidad de capacidad y el flujo de liberación de forma consistente con DEC. Financiado por CSIC (659 i+d2012 a GP).

S1_004 La nitration de Prx2 aumenta su actividad peroxidasa y su resistencia a la sobreoxidación

*Randall, Lía[1 *]; Manta, Bruno[2]; Hugo, Martín[3]; Gil, Magdalena[2]; Nelson, Kimberly[4]; Battthyany, Carlos[2]; Trujillo, Madia[3]; Poole, Leslie B[4]; Denicola, Ana[1]*

[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo; [3] Facultad de Medicina, Universidad de la República; [4] Wake Forest School of Medicine

Las peroxirredoxinas (Prx) son una amplia familia de peroxidasas que reducenperóxidos mediante un mecanismo dependiente de tioles a expensas de tiorredoxina u otras disulfuro reductasas. La Prx2, una Prx típica de 2 cisteínas (2-Cys Prx), es un homodímero con un centro redox activo para la reducción de peróxidos que forma un disulfuro intermolecular, y que se encuentra, por lo menos, en dos estados oligoméricos: homodímeros cabeza-cola o decámeros. La oxidación de la Cys reactiva en la proteína reducida decamérica resulta en cambios conformacionales en el sitio activo necesarios para el ataque de la Cys resolutiva para formar el disulfuro. Esta transición conformacional necesaria para la catálisis impone una pausa cinética que puede resultar en la sobreoxidación de la Cys peroxidática previo a la formación del disulfuro1, modificación que ha sido vinculada a vías de señalización redox. Recientemente, demostramos que la Prx2 humana es una peroxidasa crítica para el eritrocito que reduce eficientemente tanto H2O2 como peroxinitrito2. Ambos oxidantes pueden sobreoxidar a la enzima, inactivándola, y el peroxinitrito puede además nitrar algunas de sus tirosinas. En base a estudios cinéticos, estructurales, y a experimentos con inmunodetección, nuestro trabajo sugiere que la nitración proteje a la Prx2 de la sobreoxidación favoreciendo el ataque de la Cys resolutiva al ácido cisteinsulfénico de la Cys peroxidática.

S1_005 Teoría de grupos, modelos de McCulloch-Pitts y memorias asociativas

*Pomi, Andrés[1 *]; Mizraji, Eduardo[1]*

[* 1] Grupo de Modelización de Sistemas Cognitivos, Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La estructura matemática denominada *grupo* es central el álgebra abstracta ya que sirve como pilar para la construcción de estructuras algebraicas más complejas. Además, aparece en las más diversas teorías físicas vinculadas al concepto de simetría. El vínculo entre lógica y cognición ha sido explorado desde la antigüedad clásica y sigue siendo objeto de investigaciones y debates. En particular, las operaciones cognitivas usualmente denominadas Identidad, Negación, Reciprocidad y Correlatividad están vinculadas entre sí conformando un grupo de Klein. La posibilidad de representar este grupo de operaciones mediante la lógica booleana fue señalada tempranamente por Piaget, quien le dio la denominación de grupo INRC. La utilización de modelos neurales para proponer posibles formas en que nuestros cerebros son capaces de manejar diversas estructuras matemáticas es una línea de investigación que ha venido siendo trabajada en nuestro grupo. Se presenta en primer lugar una formalización del grupo INRC utilizando neuronas de McCulloch-Pitts, lo cual permite pasar naturalmente al formalismo más verosímil de las memorias asociativas matriciales. La búsqueda de un álgebra de la cognición está hoy natural y fuertemente apoyada en representaciones vectoriales-matriciales de la actividad de grupos extensos y distribuidos de neuronas. Se muestran exploraciones en curso vinculadas a posibles formas en que nuestro cerebro, representado por estos modelos, podría estar mapeando las estructuras de grupo y en particular el grupo INRC. En base a estos modelos se plantean posibles vías de adquisición de esta estructura de grupo con el desarrollo cognitivo.

S1_006 El bloqueante del canal de cloro ácido 9-antraceno-carboxílico impide la acumulación de fosfato inorgánico en el retículo sarcoplasmático y sus efectos sobre la liberación de calcio en el músculo esquelético de rana.

*Ferreira Gregorio, Juan[1 *]; Pequera, Germán[2]; Launikonis, Bradley[3]; Ríos, Eduardo[4]; Brum, Gustavo[1]*

[* 1] Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Montevideo; [3] School of Biomedical Sciences, University of Queensland; [4] Department of Molecular Biophysics and Physiology Section of Cellular Signaling, Rush University

La actividad muscular intensa causante de fatiga muscular se acompaña de acumulación intracelular de fosfato inorgánico (Pi). Este anión difunde al retículo sarcoplasmático (RS) donde precipita como sal de Ca2+ disminuyendo la liberación del mismo . Se propuso que la entrada de Pi al RS es a través de canales de Cl-. En trabajos previos mostramos que bloqueantes del canal de Cl- aplicados en fibras musculares permeabilizadas de rana presentan efectos complejos ya que estimulan los canales de liberación de Ca2+ del RS(RyR). El 9-antraceno-carboxílico es de los bloqueantes estudiados, el que presenta efectos más discretos sobre el RyR por lo que es posible utilizarlo para bloquear en forma completa los canales de Cl-. Con este objetivo se incubaron fibras permeabilizadas en presencia de 2 mM de 9-antraceno-carboxílico en alto Mg2+. Al reducir el Mg2+ a 0.3 mM para promover la ocurrencia de chispas, altas concentraciones de Pi (10-55mM) a nivel citoplásmico no produjeron la disminución característica de la frecuencia de chispas obervada en ausencia de bloqueante ni alteraron la morfología de los eventos. Concentraciones en el rango de 5-10 mM determinaron por el contrario un aumento de la frecuencia. El monitoreo de la [Ca2+] en el RS en las mismas condiciones no mostró cambios, indicando que el Pi no entró al RS. Los resultados confirman que la vía de entrada principal del Pi al RS es a través de canales de Cl-. Financiado por CSIC

S1_007 Efecto del sevoflurano sobre las propiedades hidrodinámicas del surfactante pulmonar nativo: Una aproximación a través del uso de fasores espectrales.

*Toledo Gallo, Rosina[1 *]; Briva, Arturo[1]; Denicola, Ana[2]; Malacrida, Leonel[3]*

[* 1] Área de Investigación Respiratoria (AIR), Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Área de Investigación Respiratoria (AIR), Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo

Los efectos de los anestésicos inhalatorios sobre la mecánica pulmonar y el surfactante pulmonar han sido revisados recientemente (Malacrida et al-2014a). Sin embargo, los aspectos moleculares vinculados a la interacción directa de los anestésicos modernos como el sevoflurano todavía no son del todo comprendidos. Basados en las propiedades solvatocromicas del PRODAN y LAURDAN, pensamos estudiar aspectos hidrodinámicos y estructurales de membranas de surfactante pulmonar nativo expuestas al sevoflurano (mezcla lipoproteica con los componentes polares y apolares del surfactante). Desde su introducción en 1979, el PRODAN ha mostrado la potencialidad de censar polaridad e hidratación en entornos macromoleculares, la aplicación reciente de nuevos abordajes para el procesamiento y análisis de los datos espectrales basados en la transformación de los mismos en los componentes reales (G,coseno) e imaginario (S,seno) de la función de Fourier entrega nuevas potencialidades para la descripción de sistemas biológicos (Malacrida-2014b). Particularmente, basado en las propiedades de combinación lineal entre diferentes estados discretos, es posible descombinar dichas proporciones y hacer estimaciones cuantitativas de los efectos de los anestésicos. Hemos identificado alteración de las coexistencias de fase, con alteración de las transiciones de fase aparente, que indican fluidificación del sistema de membranas (Liquido ordenado/liquido desordenado). Esto permite explicar con claridad los efectos funcionales antes descriptos por nuestro grupo. Las implicancias en el contexto supramolecular del perfil de presión lateral de las membranas serán discutidas en detalle. Malacrida et al., Pulmonary Pharmacology&Therapeutics-2014a Malacrida et al., Biophysical Journal-2014b

S1_008 Reproduciendo los efectos del sevoflurano en el surfactante pulmonar en una interfase aire/agua: Abordaje desde una Balanza de Langmuir-Blodgett.

*García, María José[1 *]; Pereira, Claudio[1]; Briva, Arturo[1]; Denicola, Ana[2]; Malacrida, Leonel[3]*

[* 1] Área de Investigación Respiratoria (AIR), Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Área de Investigación Respiratoria (AIR), Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analiticas, Institut Pasteur de Montevideo

Los anestésicos inhalatorios han mostrado la potencialidad de generar hipooxemias en el posoperatorio que complican la evolución de los pacientes. La afectación del surfactante pulmonar permitiría explicar estos efectos no deseados de la anestesia (Malacrida et al-2012, 2014). En este trabajo estudiamos los efectos del sevoflurano en la actividad tensoactiva, reológica y estructural del surfactante pulmonar y un modelo de membrana (dipalmitoilfosfatidilcolina) por una aproximación con Balanza de Langmuir-Bludgett y microscopía de epifluorescencia. A partir de montar los lípidos cargados con Dil_{C18}(0.1% mol) en la interfase aire/agua es posible estudiar cómo responden a la compresión dinámica y/o quasi-estática, así como cambios estructurales a partir de la transferencia de monocapas sobre vidrio, identificando las transiciones de fase: gas, liquido expandida (L_E), liquido condensada (L_C) y sólida ordenada (S_O). Los resultados muestran que el sevoflurano anula completamente la transición de fase L_E/L_C para ambas membranas modificando la tensión basal y máxima, e incrementando el área de las membranas en equilibrio. Esto permite estimar los valores reales de anestésico en la interfase alveolar para las dosis de inducción y mantenimiento de la anestesia (3 y 1 % respectivamente). Sin lugar a dudas esta aproximación experimental remeda las condiciones del espacio alveolar y permitirá entonces comprender mejor los mecanismos biofísicos de la disfunción del surfactante pulmonar durante la anestesia. Malacrida et al., Biophysical Journal-2012 Malacrida et al., Pulmonary Pharmacology&Therapeutics-2014

S1_009 Estudio del mecanismo de inhibición de la activación de caspasa-3 por nitronas

Cancela, Saira[1 *]; *Sabina, Victoria*[2]; *Bollati, Mariela*[3]; *Porcal, Williams*[4]; *Hernández, Paola*[5]; *Merlino, Alicia*[1]

[*1] Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Laboratorio de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo; [4] Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [5] Laboratorio de Epigenética, Instituto de Investiaciones Biológicas Clemente Estable

La enfermedad del Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo de gran incidencia a nivel mundial. Si bien las causas de esta enfermedad son objeto de controversia, se ha propuesto que el aumento en la actividad caspasa-3 en las etapas iniciales de la enfermedad está vinculado al desarrollo de alteraciones en la transmisión sináptica. Estudios recientes en modelos murinos de EA describen una interesante correlación entre la activación local de la enzima caspasa-3 a nivel de espinas dendríticas y la aparición de los primeros signos de pérdida de memoria. Asimismo, se ha observado que la inhibición de caspasa-3 es capaz de restaurar la trasmisión sináptica en ratones con síntomas iniciales de EA. La participación de caspasa-3 en las etapas iniciales de EA así como los resultados positivos obtenidos tras su inhibición convierten a esta enzima en un interesante blanco terapéutico para el tratamiento o prevención de esta enfermedad. En el presente trabajo se ha determinado la capacidad de una serie de hidroxifenil nitronas de inhibir la inducción de apoptosis mediada por caspasa-3 en células neuronales HT22 observándose que su mecanismo de acción resulta independiente de la capacidad de estas moléculas de atrapar radicales libres. Estudios de docking y dinámica molecular han permitido analizar a nivel atómico detallado el modo de unión de dichas nitronas frente a caspasa-3 activa, mostrando que las mismas se unen en una región próxima al sitio activo interaccionando con residuos que no se encuentran conservados en otras caspasas y provocando cambios conformacionales a nivel del sitio catalítico.

S1_010 NANOANTICUERPOS CONTRA CA_{BLV}: GENERACIÓN, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE DOMINIOS VHH DE LLAMA CONTRA LA PROTEÍNA DE CÁPSIDE DEL VIRUS DE LA LEUCEMIA BOVINA.

Carrión, Federico[1 *]; *Obal, Gonzalo*[1]; *Tomé, Lorena*[1]; *Addiego, Andrés*[1]; *Bianchi, Sergio*[1]; *Pritsch, Otto*[1]

[*1] Unidad de Biofísica de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo

El virus de la leucemia bovina (BLV) es un deltaretrovirus linfotrópico, oncogénico, homólogo al virus T-linfotrópico humano (HTLV) y es el agente causal de la leucosis bovina enzoótica, una patología infecciosa que afecta a bovinos en general, particularmente en tambos, con un impacto económico significativo debido al descenso de la productividad y pérdida de mercados. Al igual que otros retrovirus, los viriones poseen una estructura cerrada denominada cápside conformada por unidades de la proteína CA, la cual encierra y contiene al genoma viral.Nuestro laboratorio viene trabajando en la expresión y purificación de diversas proteínas del VLB con el propósito de estudiar en detalle diversos aspectos de su biología. En particular el auto-ensamblado de CA en solución ha sido estudiado detalladamente, para el cual se conocen diversos factores que inducen o potencian dicho fenómeno. Con el propósito de obtener *"binders"* contra CA_{BLV} se inmunizaron llamas con dicha proteína y se generó una biblioteca de fagos capaces de expresar en su superficie dominios variables de anticuerpos de cadena pesada (VHH). Aquellos clones con especificidad de unión contra CA fueron seleccionados para su posterior clonado en pET28a y su expresión en un sistema bacteriano. Algunos VHH vienen siendo sometidos a estudios biofísicos con el objetivo de caracterizar su capacidad de unión a CA y su efecto sobre el autoensamblado de la misma, con el propósito de generar un panel de nanoanticuerpos con diversas aplicaciones potenciales tanto en el estudio *in vitro* del virus como en el estudio y tratamiento de la enfermedad

S1_011 Caracterización elástica de tejido blando mediante ondas de superficie

Grinspan, Gustavo[1 *]; *Aguiar, Sofía*[2]; *Benech, Nicolás*[3]

[*1] Sección Biofísica, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Biomecánica, Instituto de Ensayo de Materiales, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República; [3] Laboratorio de Acústica Ultrasonora, Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El presente trabajo expone un método de bajo costo que permite cuantificar de un modo no destructivo la elasticidad (módulo de Young) de los sólidos blandos. Entre los exponentes más importantes de este tipo de medios se encuentran los tejidos biológicos blandos. Se propone un método de elastografía basado en el registro de ondas de baja frecuencia que se propagan por la superficie del tejido. Mediante cuatro sensores piezoeléctricos dispuestos linealmente y un vibrador mecánico alineado con los mismos, se obtiene la velocidad de propagación de la onda de superficie, la cual está íntimamente relacionada con la elasticidad del medio. De esta manera, aplicamos dicho método a efectos de determinar la elasticidad en geles de simulación de tejido biológico (agar-gelatina) y músculo esquelético in vivo. Los geles de agar-gelatina fueron utilizados para el testeo del método ya que su elasticidad es conocida. Por su parte, las medidas in vivo se realizaron sometiendo al músculo bíceps braquial a tres situaciones de carga estática (0, 1 y 2 Kg), observando un aumento de la elasticidad del mismo conforme el aumento de la carga. El método de elastografía por ondas de superficie tiene algunas características que pueden ser sumamente ventajosas desde el punto de vista aplicado, como su carácter no destructivo, aplicabilidad in vivo y fácil manejo.

Biología Reproductiva - Sesión 1

S1_012 EXPRESIÓN DE 3 BETA HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA EN EL DESARROLLO TESTICULAR EN OVINOS TRATADOS IN UTERO CON GLUCOCORTICOIDES

*Pedrana, Graciela[1 *]; Viotti, María Helen[1]; Sanguinetti, Guillermo[1]; Pino, Cecilia[1]; Sloboda, Deborah[2]; Martin, Graeme Bruce[3]*

[*1] Facultad de Veterinaria, Universidad de la República; [2] Universidad de Canada; [3] University of Western Australia

Los glucocorticoides disminuyen los niveles de testosterona en testículos de animales adultos, sin embargo se desconoce su efecto durante el desarrollo. Por lo tanto testeamos si la administración prenatal de betametasona afecta la expresión de la enzima esteroidogénica 3ß hidroxiesteroide deshidrogenasa (3ß-HSD) en células de Leydig durante el desarrollo testicular pre y posnatal. Se utilizaron ovejas Merino preñadas (n=42) que recibieron betametasona (grupo tratado) o solución salina (grupo de control) a los 104, 111 y 118 días de gestación (DG). Los testículos de las crías sacrificadas se fijaron y procesaron para inmunohistoquímica a los 121 y 132 DG, 45 y 90 PD. Se cuantificó el área e intensidad de inmunomarcación en células de Leydig. El área de 3ß-HSD en Leydig tiende a aumentar en tratados frente a controles (P = 0,09) a los 121 DG. En tratados el área de 3ß-HSD disminuyó a los 45 y 90 PD (P= 0,07, P=0,04) frente a los tratados de 121 DG. Entre controles no hubo diferencias entre fechas. La intensidad de 3ß-HSD en células de Leydig fue mayor en los tratados frente a los controles a los 90 PD (P = 0,03). Entre tratados se detectó una mayor intensidad de 3ß-HSD a los 90 PD en comparación con tratados a los 121DG (P=0,04), 132 DG (P=0,04) y 45 PD (P=0,03). Concluimos que los glucocorticoides tienen un efecto bifásico aumentando a corto plazo y disminuyendo a largo plazo la expresión en células de Leydig durante el desarrollo postnatal previo a la pubertad.

S1_013 Determinación de la expresión de la proteína de shock térmico HSP90 en tumores mamarios en perras

*Pedrana, Graciela[1 *]; Lombide, Paula[1]; Viotti, María Helen[1]; Alsina, Laura[1]; Izquierdo, Daniela[1]; Pérez, William[1]; Pessina, Paula[1]; Bausero, María[2]*

[*1] Facultad de Veterinaria, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los tumores mamarios en caninos representan un elevado número en la casuística del Centro Hospital de Facultad de Veterinaria. Las células tumorales despliegan mecanismos de evasión de apoptosis mediados por proteínas de shock térmico (HSPs), siendo sobreexpresadas en tumores mamarios con aumentada actividad proliferativa, agresividad y resistencia. Dada la expresión de las HSPs en tumores mamarios y su importancia según la tipología celular, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la localización de la expresión de la Hsp90 en los diferentes tipos celulares de la glándula mamaria tumoral. Se obtuvieron muestras de tumores mamarios de hembras caninas intervenidas en block quirúrgico. Las muestras fueron fijadas en solución de Bouin y procesadas para inmunohistoquímica utilizando anticuerpo anti-Hsp90. Los resultados evidenciaron la localización y marcada expresión de Hsp90 a nivel citoplasmático en el lactocito, escasa expresión a nivel d e células epiteliales de conductos intralobulillares e interlobulillares, siendo negativas las células mioepiteliales, fibroblastos y linfocitos del tejido conjuntivo inter e intralobulillar. Concluimos que el presente trabajo estableció la localización de la expresión de Hsp90 en células de origen epitelial. Este trabajo sienta las bases para una evaluación detallada por tipología celular de otras proteínas de shock térmico y su correlación con procesos de proliferación y apoptosis celular, así como su vinculación con datos clínicos.

S1_014 Reproducción en peces anuales del género Austrolebias: histología gonadal y ultraestructura de las superficies gaméticas

*Montagne, Jimena[1 *]; Gutiérrez, Verónica[2]; Berois, Nibia[1]*

[*1] Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Con el objetivo de conocer el ciclo de vida y manejo de peces anuales en el laboratorio, se realizó el mantenimiento de ejemplares adultos de Austrolebias affinis y Austrolebias charrua, provenientes de Mercedes (33°07´17.2S 58°02´11.55O) y La Coronilla (33°53´49.46S 53°30´43.86O) respectivamente, y la obtención de embriones. Mediante microscopía fotónica se identificaron los estadios embrionarios. Con el objetivo de profundizar en la morfología de los gametos y su relación durante la fecundación, se estudiaron los gametos mediante microscopía electrónica de barrido. Se describió la superficie de la envoltura vitelina y la morfología de los espermatozoides de ambas especies, y el micropilo ovocitario de A. charrua. En teleósteos, el micropilo es el único sitio de acceso de los espermatozoides a la membrana del ovocito. Se destaca el interés de incorporar más especies del género Austrolebias con este abordaje a fin de dilucidar si las dimensiones del micropilo y de la cabeza espermática de cada especie tienen relación con la especie-especificidad. En una aproximación a la caracterización de la senescencia, se analizaron las gónadas de ejemplares adultos y seniles de A. charrua mediante histología. Se identificaron folículos atrésicos y lipofuscinas, marcadores asociados al envejecimiento. Las lipofuscinas son frecuentes en los ovarios (asociadas a los folículos atrésicos) y escasas en los testículos. No se observaron diferencias significativas en la organización tisular ni en las células germinales entre adultos y seniles. El presente trabajo constituyó la pasantía final de la Licenciatura en Biología apoyada por una beca de iniciación a la investigación (ANII).

S1_015 Estudio de la espermatogénesis y purificación de células testiculares mediante citometría de flujo utilizando un colorante vital excitable con láser azul

*Souza, Elisa[1 *]; Santiñaque, Federico[2]; Geisinger, Adriana[3]; Rodríguez-Casuriaga, Rosana[1]*

[*1] Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Servicio de Citometría de Flujo y Clasificación Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [3] Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La heterogeneidada del testículo de mamíferos (>30 tipos celulares diferentes), ausencia de cultivos in vitro y poca representación de algunos estadios espermatogénicos son las principales dificultades para la purificación de células para posteriores estudios moleculares. Nuestro grupo se ha caracterizado por el desarrollo de métodos de citometría de flujo (CMF) para estudio/purificación de estadios espermatogénicos. Suspensiones celulares testiculares son analizadas según su contenido de ADN (C, 2C, 4C), tamaño y granularidad. Nuestro objetivo es evaluar el potencial de un nuevo fluorocromo (Vybrant DyeCycle Green) para distinguir poblaciones celulares testiculares de ratón por CMF. Este fluorocromo tiene como ventajas ser vital, no citotóxico, es, específico para ADN y excitable con láser azul (no requiere ultravioleta; por ende no dañaría ácidos nucleicos, esencial para estudios de transcriptómica). Nuestros estudios han rendido interesantes perfiles citométricos. En la fracción 4C, purificamos espermatocitos primarios (profase meiótica-I) en estadios tempranos (leptoteno-cigoteno) separadamente de estadios tardíos (paquiteno). Esto nos está permitiendo realizar análisis moleculares de profase temprana, donde ocurren eventos meióticos fundamentales, no estudiados previamente por no disponerse de métodos de purificación. Estamos también estudiando la fracción 2C (espermatogonias y diversas células somáticas) mediante anticuerpos específicos, para intentar obtener células en forma pura. Como resultado de estos estudios estamos efectuando análisis de RNAseq en poblaciones celulares con un nivel de pureza sin precedentes.

S1_016 ALTERACIONES DEL CRECIMIENTO FOLICULAR Y LA INERVACIÓN SIMPÁTICA DEL OVARIO INDUCIDOS POR LA EXPOSICIÓN NEONATAL A ANDRÓGENOS

Anesetti, Gabriel[1 *]*; Chávez Genaro, Rebeca*[1]

[* 1] Depto. Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los andrógenos son hormonas clave en la regulación del crecimiento folicular, su exceso durante la etapa prenatal ha sido postulado como responsable en la etiopatogenia del síndrome de ovario poliquístico. En este estudio evaluamos la hipótesis de que alteraciones en el ambiente hormonal esteroideo subyacen a cambios en la inervación simpática del ovario. Para ello ratas Wistar hembras neonatas fueron tratadas con testosterona, dihidrotestosterona (DHT) o vehículo por vía subcutánea diariamente desde el día postnatal (DPN) 1 al 5. Los animales fueron sacrificados a los DPN 40, 90 y 180. Los ovarios fueron fijados para su análisis histológico e inmunohistoquímico, o procesados para imnmunoblot. Los niveles séricos de testosterona y estradiol se determinaron por radioinmunoensayo. Las ratas tratadas con testosterona mostraron ausencia de apertura vaginal o apertura incompleta, numerosos quistes foliculares, ausencia de cuerpos lúteos y aumento significativo de la densidad de inervación catecolaminérgica en comparación con los controles. En los animales tratados con DHT, los ovarios mostraron coexistencia de cuerpos lúteos y estructuras quísticas sin diferencias significativas en la densidad de inervación catecolaminérgica respecto al control. En conclusión, las ratas tratadas con testosterona mostraron un crecimiento folicular alterado, fundamentalmente en las etapas finales del desarrollo del folículo, asociado a un aumento de inervación simpática, efectos que podrían ser explicados por su aromatización a estrógenos, apoyando nuestra hipótesis de trabajo.

S1_017 ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE amh DURANTE EL PERIODO DE DIFERENCIACIÓN DEL SEXO EN EL ESTURION SIBERIANO: Acipenser baerii

Di Landro, S.[1 *]*; Brunet, JN* [2]*; Volff , JN* [2]*; Vizziano Cantonnet , D.*[1]

[* 1] Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces, Facultad de Ciencias, Universidad de la República ; [2] Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon, UMR5242 CNRS/INRA/Université Claude Bernard Lyon/ENS, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46, allée d`Italie, 69364 Lyon Cedex 07, France

Introducción: En peces el rol de la hormona anti-Mülleriana (AMH/amh) en el proceso de diferenciación sexual del macho no es bien comprendido. Para determinar si AMH puede estar involucrada en el proceso de diferenciación del sexo del Acipenser baerii se amplificó y caracterizó el transcripto para poder estudiar la expresión antes y después del período de diferenciación. Métodos: Se amplifico amh de testículos inmaduros utilizando primers heterólogos diseñados sobre la secuencia de una especie cercana (Acipenser fulvescens). La secuencia nucleotídica obtenida fue verificada mediante blastX, del NCBI y el análisis filogenético se realizó usando secuencias proteicas de amh de peces y tetrápodos encontradas en Ensembl. Para la caracterización tisular se determinó la expresión de amh en gónada, y en 10 tejidos más. El análisis histológico y de expresión fue realizado en gónadas de 3, 4, 8, 9, 10, 11, y 14 meses. Resultados y discusión: Caracterizada a nivel filogenético, se demostró que además de la gónada amh es bien expresada en Branquia, Hígado y Cerebro. Durante el desarrollo gonadal, amh experimenta un patrón de expresión bimodal presentando los mayores niveles durante el periodo indiferenciado y posteriormente tras un decremento y aumento, expresión diferencial respecto al sexo ($p<0.05$) que más tarde se pierde. Conclusión Los resultados sugieren que la vía de diferenciación masculina es precedida por un aumento en la expresión de amh al igual que se describe en peces teleósteos, con una posible implicación en la regulación de la gónada ya diferenciada.

S1_018 Análisis de polimorfismos de genes de la vía del receptor tipo Toll4 con significancia funcional en el Síndrome de Ovario Poliquístico

Ford, Mariana[1 *]*; Pereyra, Silvana*[2]*; Mas de Ayala, Jimena* [1]*; Chaquiriand, Virginia*[3]*; Close, María Laura*[4]*; Sapiro, Rossana*[1]

[* 1] Depto. de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Depto. de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Depto. de Ginecología, Hospital de Clínicas; [4] Depto. de Endocrinología, Centro Hopitalario Pereira Rossell,

El Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) es la causa más común de infertilidad anovulatoria, afectando cerca del 10% de las mujeres en edad reproductiva. Contribuyen al SOP factores genéticos y ambientales pero se desconocen los genes involucrados. SOP se asocia a alteraciones hormonales e inmunitarias considerándose un estado pro-inflamatorio. Los receptores de tipo Toll4 (TLR) se involucran en esta respuesta. TLR4 presenta dos polimorfismos (SNPs), Asp299Gly y Thr399Ile, que se asocian a variaciones en la respuesta inflamatoria y secreción de citoquinas como TNF-a. En este trabajo analizamos la distribución de Asp299Gly y Thr399Ile de TLR4 en mujeres con y sin SOP. Se analizó si estos SNPs cosegregan en nuestra población ya que se han reportado distribuciones poblacionales específicas. Además se analizó un polimorfismo del promotor de TNF-a que ha sido vinculado a mayor susceptibilidad a infecciones y enfermedades inflamatorias en otros sistemas (TNF-a-308G/A). Para esto, utilizamos muestras de ADN de pacientes provenientes del Centro de Esterilidad Montevideo y de policlínicas del Hospital de Clínicas y Centro Hospitalario Pereira Rossell. Se utilizó la Desnaturalización en Alta Resolución (HRM, siglas en inglés) para genotipear los tres polimorfismos. Asp299Gly de TLR4 se analizó mediante un análisis multiplex junto con otros tres SNPs cuyos resultados no se incluyen en este estudio. Se logró estandarizar una PCR en tiempo real dúplex para genotipar simultáneamente TNF-a-308G/A y Thr399Ile de manera rápida, económica y eficiente. No se encontró asociación entre los SNPs y SOP. En la población analizada ambos SNPs de TLR4 cosegregan en un 70%.

S1_019 Expresión de la aromatasa gonadal durante el período de diferenciación sexual del esturión siberiano Acipenser baerii

Lasalle, André[1 *]*; Di Landro, Santiago*[1]*; Vizziano, Denise*[1]

[* 1] Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Introducción En los peces teleósteos está aceptado que los estrógenos actúan como mediadores de la diferenciación sexual, siendo claves en el desarrollo ovárico. Nuestra hipótesis es que los estrógenos aparecen como mediadores de la diferenciación en los peces basales como los esturiones. Para verificar esta idea se estudió la expresión del gen de la aromatasa gonadal (cyp19a1a)(convertidora de andrógenos en estrógenos) durante el período de diferenciación sexual del esturión siberiano, Acipenser baerii. Métodos Se amplificó la aromatasa a partir de ovarios usando cebadores heterólogos diseñados en base zonas conservadas de este gen en otras especies de peces y tetrápodos. La secuencia nucleotídica obtenida fue verificada mediante blastX, del NCBI. El análisis de expresión fue realizado con qPCR en gónadas de 3, 4, 8, 9, 10, 11, y 14 meses de edad. Resultados La aromatasa presenta dos momentos de mayor expresión: antes de la diferenciación sexual (3 y 4 meses) y luego de la diferenciación sexual (9 a 11 meses). Durante el período indiferenciado la aromatasa se expresa en todos los individuos de 3 meses ($n=4$), pero solamente el 43% de los individuos de 4 meses ($n=14$). Entre los 9 y 11 meses la expresión aumenta y es sexo dimórfica ($p<0,05$), decayendo nuevamente a los 14 meses. Conclusiones La expresión de la aromatasa gonadal en estadíos indiferenciados y la posterior expresión dimórfica en el período diferenciado sugieren que los estrógenos podrían actuar como mediadores de la diferenciación sexual de esta especie.

S1_020 Nuevas implicancias clínicas de los esfingolípidos en la fisiopatología del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (OHSS)

*Scotti, Leopoldina[1 *]; Pascuali, Natalia[1]; De Zúñiga, Ignacio[2]; Bisioli, Claudio[2]; Di Pietro, Mariana[1]; Irusta, Griselda[1]; Tesone, Marta[1]; Abramovich, Dalhia[1]; Parborell, Fernanda[1]*

[*1] Instituto de Biología y Medicina Experimental; [2] Pregna Medicina Reproductiva

OHSS es una complicación iatrogénica en tratamientos de fertilización asistida. Se caracteriza por angiogénesis alterada, alta permeabilidad vascular y niveles elevados de VEGF en suero y fluido folicular (FF). La esfingosina-1-fosfato (S1P) es un agente protector y estabilizante del desarrollo vascular frente a señales angiogénicas aberrantes. En base a esto, se analizó el efecto que produce el agregado de S1P en FF de pacientes con OHSS sobre la expresión del receptor S1P1, de la enzima que lo degrada, SP-liasa, y de proteínas de uniones intercelulares, VE-caderina y N-caderina, en células endoteliales (CE). Además, se evaluó el efecto del S1P en FF sobre la migración celular. La expresión del receptor S1P1 en CE incubadas con FF OHSS fue menor respecto a FF control ($p<0,01$). El agregado de S1P en FF OHSS revirtió estos valores ($p<0,05$). La expresión de la SP-liasa en CE incubadas con FF OHSS fue mayor respecto a CE incubadas con FF control ($p<0,01$). El agregado de S1P a FF OHSS disminuyó su expresión ($p<0,05$). Se observó una disminución en la expresión de VE-caderina y N-caderina en CE incubadas con FF OHSS ($p<0,01$). El S1P revirtió este efecto ($p<0,05$). En presencia de S1P los FF OHSS disminuyeron la migración de CE respecto a FF OHSS sin tratar ($p<0,05$). Sugerimos que el S1P en FF de pacientes OHSS normaliza la angiogénesis regulando la expresión de su receptor y de la enzima que lo degrada, y disminuye la permeabilidad vascular a través de proteínas de uniones intercelulares endoteliales.

S1_021 Efecto de la oferta de pastoreo de la oveja gestante sobre el desarrollo testicular neonatal en corderos Corriedale (Ovis aries)

*Montaldo , Sebastian[1 *]; Torres, Maximilano [1]; Genovese, Patricia [1]; Riaño, Victoria [1]; Abud, Maria [2]; Alvarez, Andrea [2]; Lopez, Alvaro [2]; Pérez, Raquel [2]; Bielli, Alejandro[1]*

[*1] Facultad de Veterinaria, Universidad de la República; [2] Facultad de Agronomía, Universidad de la República

La subnutrición materna puede afectar al feto, programando el desarrollo de órganos (programación fetal), alterando la cantidad de células, o la expresión de receptores hormonales. Anteriormente, nuestro equipo demostró disminución del número de células de Sertoli en corderos neonatos por subnutrición intrauterina, en condiciones altamente controladas. Con el objetivo de evaluar el efecto dos ofertas de forraje de campo natural (condiciones extensivas) durante la gestación, sobre el crecimiento y desarrollo testiculares se pesaron corderos neonatos y sus testículos, los cuales fueron evaluados por histología cuantitativa, a partir de 140 ovejas preñadas que pastorearon dos ofertas de forraje: alta, 10% peso vivo (AOF), y baja, 5% peso vivo (BOF) de campo natural (Estación Experimental Bernardo Rosengurtt, Facultad de Agronomía, Cerro Largo). Las muestras testiculares (n=16, AOF n=7, BOF n=9) fueron procesadas histológicamente: deshidratación en etanol, inclusión en parafina, microtomía (6 μm) y coloración con hematoxilina-eosina. Se determinó diámetro de cordones testiculares, volumen porcentual ocupado por cordones testiculares e intersticio, número de células de Sértoli inmaduras, gonocitos y mioides/corte transversal de cordón testicular. Se calculó volumen absoluto de cordones testiculares y número total de células de Sertoli, gonocitos y mioides/testículo. Los datos obtenidos fueron analizados por anova (diseño de bloques al azar). La BOF de la madre gestante en condiciones extensivas disminuyó peso testicular (0,943±0,008 vs 0,800±0,007g***), número de células de Sertoli (29,8±0,6x108 vs 25,8±0,5x108***), de gonocitos (1,5±0,1 vs 1,1±0,1x108 **) y mioides (7,6±0,2 vs 6,3±0,2x108***) en el cordero neonato, lo que sugiere fuertemente efectos duraderos sobre la capacidad espermatogénica.

S1_022 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE COCAÍNA EN LA MOTIVACIÓN SEXUAL DE RATAS ADOLESCENTES Y ADULTAS

*Machado, Luna[1 *]; Delgado, Hernán [1]; Agrati, Daniella[1]; Scorza, Cecilia[2]; Ferreira, Annabel[1]*

[*1] Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

Durante la adolescencia aumenta la vulnerabilidad a los efectos de la cocaína, probablemente como consecuencia del impacto de ésta en el sistema de neurotransmisión dopaminérgico, que se encuentra hiperactivado y en desarrollo durante este período. Este sistema de neurotransmisión regula aspectos motivacionales del comportamiento sexual de la rata, pero aún no se ha estudiado si la activación del mismo afecta la motivación sexual durante la adolescencia. Nos propusimos comparar el efecto de la exposición crónica a cocaína sobre la motivación sexual de ratas adolescentes y adultas. Con este fin evaluamos el valor de incentivo del macho en una prueba de preferencia (macho vs hembra receptiva) 4-7 días luego de finalizar un tratamiento crónico con cocaína (0,0 o 15,0 mg/kg. i.p durante 10 días) en hembras adolescentes y adultas. A su vez, registramos la expresión de estereotipias durante el tratamiento y la actividad locomotora en los días 1 y 10. La administración de cocaína aumentó las estereotipias y la actividad locomotora de las hembras y esta sensibilización comportamental ocurrió antes en ratas adolescentes que en adultas. Tanto las hembras adolescentes como las adultas mostraron una clara preferencia por el macho durante el proestro tardío, que no fue afectada por la administración de cocaína. En conjunto, estos resultados indican que: 1. la sensibilización del sistema dopaminérgico mediante este tratamiento no modifica el valor de incentivo sexual del macho independientemente de la edad, y 2. la mayor sensibilidad de las hembras adolescentes a este droga no se manifiesta en su preferencia sexual.

S1_023 Señales estrogénicas y reproducción en poliquetos

*García-Alonso, Javier[1 *]*

[*1] Laboratorio de Biodiversidad, Centro Universitario Regional Este (CURE) Maldonado, Universidad de la República

En metazoos, los estrógenos (E2) y receptores esteroideos (ERs) se encuentran asociados con diversos procesos fisiológicos incluyendo los reproductivos. Tanto en el desarrollo de órganos y células reproductivas, gametogénesis y comportamiento reproductivo. En los últimos años se han descripto nuevas variantes de ER en metazoos, como también la presencia de esteroides tanto en Protostomados como Deuterostomados, desconociéndose en algunos casos los mecanismos de acción de los estrógenos. Los poliquetos de la familia Nereididae son fósiles vivientes y debido a características genéticas, se los consideran ancestros de los animales con simetría bilateral. *Platynereis dumerilii* es un nereidido modelo de estudio que nos permite conocer más sobre la evolución de los esteroides y la reproducción en animales. Los esteroides están presentes en estos organismos y lo mismo se han descripto variantes de ERs y receptores. La síntesis y liberación de vitelogenina por parte de los elocitos se incrementó en ensayos in vitro con E2. La proliferación de células germinales primordiales (PGCs) es regulada por los estrógenos, aunque estrictamente ocurre en estadíos tempranos de desarrollo cuando los niveles de expresión de ERs son mayores. Ejemplares de *P. dumerilii* incrementaron los PGCs de manera dependientes al E2. De la misma manera compuestos antrópicos con capacidad estrogénica afectan la vitelogénesis en hembras de estos organismos. La epitoquía o metamorfosis de maduración sexual en nereididos, se vio afectada particularmente en machos de *P. dumerilii* expuestos a estrógenos. Estos resultados confirman una aparición evolutiva temprana de las señales estrogénicas en la reproducción de organismos con simetría bilateral.

S1_024 La multiplicación y apoptosis de las células de Sertoli y de Leydig en testículos de rata disminuye desde los 2 a los 100 días de vida y no es afectada por la subnutrición intrauterina o durante la lactancia.

*Herrera, Emiliano[1 *]; Riaño, Victoria[1]; Genovese, Patricia [1]; Bielli, Alejandro[1]*

[*1] Área de Histología y Embriología, Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

La subnutrición materna puede afectar al feto, programando el desarrollo de órganos, alterando la multiplicación y muerte celulares. Con el objetivo de determinar la expresión de caspasa y PCNA a nivel testicular, así como la influencia de la subnutrición temprana, cinco hembras Sprague-Dawley(grupo C, control) fueron mantenidas con agua y alimento *ad libitum* y camada en lactación de 8 crías; 5 hembras (grupo T: tratado en gestación y lactación) a 40% del consumo de alimento *ad libitum* de gestación, y camada de 14 crías durante la lactación (alimentación materna postparto *ad libitum*). A los 2, 25 y 100 días de edad, 10 crías macho/grupo fueron sacrificados, sus testículos fueron fijados y procesados histológicamente. Los cortes obtenidos fueron tratados con anticuerpo primario contra las proteínas caspasa3 y nuclear de células en proliferación (PCNA) en láminas separadas. Se determinó el porcentaje de positividad a cada anticuerpo en 300 células de Sertoli y Leydig en cada edad. Las diferencias entre grupos experimentales (media±ds) se evaluaron por ANOVA(P=0.05). Los porcentajes de positividad (grupos T vs C,2 ,25 y 100 días respectivamente) fueron: en células de Sertoli, PCNA: 86,40±7,15 vs 88,52±10,23 (2 días de edad); caspasa3: 85,83±6,04 vs 85,22±8,67; 58,46±8,02 vs 50,7±10,84; 0,14±0,13 vs 0,06±0,082. En células de Leydig, PCNA: 58,72±9,3 vs 62,02±1,82; 20,57±8,8 vs 21,13±5,79; 4,13±1,34 vs 3,86±2,13; caspasa3: 88,22±1,3 vs 87,02±3,87; 20,57±0,8 vs 21,13±5,79; 10,78±4,61 vs 5,78±1,62. Por lo tanto el número de células en multiplicación como en apoptosis disminuyó con la edad, pero el tratamiento no provocó diferencias.

S1_025 Efecto de la suplementación con selenio sobre la calidad espermática y fertilidad de semen fresco y congelado, de carneros Merino Australiano

*Irabuena, Oscar [1 *]; Sterla, Silvia[1]; Robaina, Felipe [2]; Silva, Matías[3]; Vigil, Maximiliano[3]; Fernández Abella, Daniel[2]*

[*1] Laboratorio de Inmunología; [2] Polo Producción y Reproducción en Rumiantes; [3] Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Con el objetivo de evaluar el efecto del Selenio sobre la fertilidad y preservación del semen de carnero se administró una dosis de 1,5 mL de Selfos plus® (selenito de sodio con glicerofosfato de sodio y vitaminas A, D y E) por vía subcutánea a cuatro carneros Merino Australiano, 70 días antes de la inseminación. Se evaluaron las características seminales individuales al momento de la selección de los carneros, de la congelación y de la inseminación. Se realizó inseminación artificial (IA) intrauterina con semen congelado e IA cervical con semen fresco, y con una mezcla de los eyaculados pos evaluación en ambos casos en lotes de 50 ovejas para cada caso. Mediante ultrasonografía se evaluó la fertilidad obtenida en las ovejas inseminadas vía cervical e intrauterina en el grupo testigo y en grupo suplementado con Selenio. Los resultados muestran diferencias en el volumen seminal del grupo tratado así como un aumento de la concentración espermática promedio lo que significa que hubo mayor producción espermática (concentración x volumen). En cuanto a los porcentajes de preñez obtenidos se observa una clara diferencia a favor de los grupos de carneros suplementados con Selenio, tanto en IA cervical como intrauterina, con semen fresco y congelado-descongelado respectivamente.

S1_026 Efecto del solapamiento de camadas en ratas madres con o sin programación fetal por subnutrición sobre la ganancia de peso materna y el desarrollo corporal y testicular de las crías: datos preliminares

*Genovese, Patricia[1 *]; Riaño, Victoria[1]; Herrera, Emiliano[1]; Madrigal, Sabina[1]; Alzugaray, Stefanía[1]; Bielli, Alejandro[1]*

[*1] Área de Histología y Embriología, Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Para comparar los efectos del solapamiento de gestación y lactación de una primera camada sobre una segunda, con o sin programación fetal por subnutrición de la rata madre, sobre el peso corporal y testicular de las crías, se generaron 3 grupos experimentales de madres Sprague-Dawley (edad=3 meses): 1) grupo S (solapado, n=5); 2) grupo CSS (control sin solapar, n=5); 3) grupo PFSC (madres subnutridas cuando eran fetos y lactantes, con solapamiento de camadas, n=7). Inmediatamente post parto, los grupos PFSC y S fueron copuladas por el mismo macho.Ambas camadas fueron destetadas a los 20 días de edad (día 20 de gestación de las 2as camadas en los grupos PFSC y S). El grupo CSS gestó la segunda camada 45 días postparto. A los 20 días de edad, se pesó cuerpo (PC) y testículo (PT) de un cachorro macho/camada. Los datos (media±sem) analizados por anova ($p<0.05$) fueron (Scamada1, Scamada2, CSScamada1, CSScamada2, PFSCcamada1, PFSCcamada2): días de gestación= 22,6±0,2ab, 22,6±0,2ab, 22,0±0,0b, 22,0±0,0b, 22,75±0,3ab, 23,0±0,7a; PC=53,53±1,70b, 57,96±1,57ab, 58,00±0,94ab, 62,22±3,09a, 43,24±1,54d, 48,50±0,99c; PT=0,109±0,002b, 0,112±0,002ab, 0,099±0,002c, 0,121±0,006a, 0,089±0,005c, 0,099±0,004c. % aumento peso madre=17,7±1,4%a, 14,9±1,4%ab, 12,0±1,5%b. El peso de camada no fue diferente entre grupos. La interacción del solapamiento de camadas más la programación fetal materna prolongó el tiempo de gestación de la segunda camada y redujo el peso corporal y testicular de la cría al destete. La programación fetal determinó que el peso de la cría en la primera camada fuera menor que en la segunda, y que la ganancia de peso materna fuera menor.

S1_027 UTILIZACION DE ARRAYS DE HIBRIDACION GENOMICA COMPARADA PARA EL DIAGNOSTICO PRE-IMPLANTACIONAL DE TRASLOCACIONES EN EMBRIONES HUMANOS BIOPSIADOS CON TECNOLOGIA LASER

*Curti, Gianni[1 *]; Ahumada, Ariel[2]; Suárez, Roberto [1]*

[*1] Clínica Suizo Americana; [2] PROCREARTE Red de Medicina Reproductiva

La infertilidad es una patología que afecta a una de cada diez parejas en edad reproductiva. Distintas técnicas de reproducción asistida (TRA) están ya consolidadas para el tratamiento de dicha patología. Estas técnicas, sin embargo y pese a su constante revisión y a la permanente introducción de tecnologías y procedimientos, tienen una tasa de éxito que dista aún del 100%. Anomalías cromosómicas tanto numéricas como estructurales en los embriones, son responsables de la inmensa mayoría de las fallas en la implantación y abortos espontáneos, y por ende contribuyen en enorme medida al resultado sub-optimo de las TRA. Es por esto que su diagnóstico en los embriones pre-implantatorios es una herramienta de gran utilidad, sobre todo en casos con antecedentes familiares, abortos recurrentes, o repetidas fallas en TRA. El diagnóstico genético pre-implantacional (PGD) para la detección de anomalías cromosómicas avanzó notoriamente desde la reciente introducción de los microarrays de hibridación genómica comparada (aCGH), que ofrecen el análisis de todos los cromosomas desplazando así a la ahora antigua, hibridación in situ (FISH). Nuestro grupo ha incorporado la técnica de aCGH en combinación con la biopsia láser de embriones (que permite biopsiar en estadio de blastocisto) para la detección de traslocaciones recíprocas habiendo ya diagnosticado con éxito más de 100 embriones, aumentando sensiblemente la tasa de embarazo, y teniendo actualmente varios embarazos en curso.

Biología Vegetal - Sesión 1

S1_028 Evaluación de la sobreexpresión de un posible factor de transcripción con dominio AP2 en el desarrollo y la resistencia a patógenos en *Physcomitrella patens* y *Arabidopsis thaliana*

Reboledo, Guillermo[1 *]; *Ponce de León, Inés*[1]

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El musgo *Physcomitrella patens* (*P. patens*) ha surgido como una fuente de genes para aumentar la tolerancia a diferentes tipos de estrés mediante la transferencia de sus genes a diversos cultivos de interés agrícola. Mediante la generación de una biblioteca de expresión diferencial obtenida por "Supression Subtractive Hybridization" (SSH), se identificaron 400 ADNc de *P. patens* inducidos por el filtrado de cultivo (CF) de la bacteria fitopatógena *Pectobacterium carotovorum.* Uno de los genes identificados (nombrado PpAP2) codifica para una proteína de unión al ADN, con un dominio AP2, perteneciente a la familia de factores de transcripción de unión de elementos de respuesta al etileno (AP2/EREBP). La expresión de PpAP2 aumenta en respuesta al CF de dos cepas de *Pectobacterium* y al tratamiento con esporas del hongo *Botrytis cinerea.* En el presente trabajo se sobreexpresó el gen PpAP2 en *P. patens* y *Arabidopsis thaliana* (planta vascular) con el fin de estudiar la posible función de este gen en el desarrollo y en la respuesta a patógenos. Se obtuvieron varios transformantes en *Physcomitrella* y *Arabidopsis*. Los resultados muestran que las plantas que sobreexpresan PpAP2 en *P. patens* presentan una alteración en el desarrollo en comparación con las plantas salvajes, evidenciado por un crecimiento alterado del protonema y amarronamiento de las yemas. Se discute el efecto de la sobreexpresión de PpAP2 en el desarrollo y el aumento de resistencia a patógenos en las plantas en estudio.

S1_029 Modelado de la Interacción Genotipo por Ambiente en Selección Genómica

Lado, Bettina[1 *]; *Quincke, Martín*[2]; *Silva, Paula*[2]; *Poland, Jesse*[3]; *Gutiérrez, Lucía*[1]

[* 1] Departamento de Biometría, Estadística y Computación, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Programa de Cultivo de Secano, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, E.Exp. La Estanzuela; [3] Hard Winter Wheat Genetics Research Unit, USDA-ARS and Department of Agronomy, Kansas State University

La Selección Genómica (SG) consiste en la predicción del comportamiento fenotípico basándose en información genotípica. La SG al igual que la selección convencional se ve afectada por la interacción genotipo-por-ambiente (IGA) y es necesario definir como entrenar los modelos de predicción para su aplicación en el contexto de IGA. En este trabajo se propone comparar modelos de predicción genómica mediante el cálculo de la precisión de la predicciones y tomando en cuenta la IGA. Para esto se cuenta con una población base de 1050 líneas experimentales del programa nacional de mejoramiento de trigo evaluadas para rendimiento entre los años 2010-2012 en cinco localidades y cuatro épocas en INIA-LaEstanzuela. Se utilizaron dos estrategias: predicciones promedio de ambientes (Mod1), y para cada ambiente(Mod2, combinación de año-localidad-fecha de siembra). La IGA se estudió mediante Biplots y se definieron Mega-Ambientes. El estudio de la IGA nos permitió definir 3 Mega-Ambientes. La precisión en las predicciones siempre es mayor cuando se predice cada genotipo en cada ambiente, con correlaciones entre 0.520 y 0,662, en comparación con los modelos que utilizan los promedios cuyas precisiones oscilan entre 0,335 y 0,573. A su vez, la mayor precisión se logra en el Mega-Ambiente 1 con 0,503 y 0,588 para los Mod1 y Mod2, respectivamente. La inclusión de correlaciones entre ambientes en la matriz de varianza-covarianza incrementa la precisión de las predicciones en todos los casos y son mayores cuando se entrena y predice dentro de Mega-Ambientes.

S1_030 Respuesta de defensa en soja frente a la roya asiática (*Phakopsora pachyrhizi*): identificación y validación de marcadores moleculares.

Alvarez, Alfonso[1 *]; *Montesano , Marcos*[1]; *Ponce de León , Inés*[2]; *Bonnecarrère, Victoria*[3]; *Quero, Gastón*[4]; *Gilli, Javier*[5]

[* 1] Laboratorio de Fisiología Vegetal, CIN-Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable ; [3] Unidad Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria - Las Brujas; [4] Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [5] Laboratorio Biotecnología, EEA INTA-Marcos Juárez

La soja es el principal cultivo a nivel económico de nuestro país. La enfermedad provocada por el hongo *Phakopsora pachyrhizi* (*P.pachyrhizi*), denominada Roya Asiática, es una de las enfermedades foliares más destructivas en plantas de soja. En Uruguay, la presencia de *P.pachyrhizi* fue oficialmente reconocida a partir del 2004. El control de esta enfermedad se basa esencialmente en el uso de pesticidas, los cuales son perjudiciales para el medio ambiente y aumentan los costos de producción. El uso de cultivares resistentes a *P.pachyrhizi* representa una alternativa para combatir la enfermedad, por lo cual resulta muy importante la búsqueda de fuentes de resistencia frente a este patógeno. El uso de marcadores moleculares, incluidos los repetidos de secuencia simple (SSR), representa una herramienta interesante para individualizar genotipos resistentes en programas de mejoramiento para diferentes tipos de cultivos. En este trabajo, nos propusimos identificar y validar marcadores moleculares SSR asociados a la resistencia frente a la Roya Asiática en una población de mapeo, compuesta de familias F2:3 obtenidas a partir del cruzamiento de un cultivar resistente y otro susceptible a *P.pachyrhizi.* Para ello, se analizaron, mediante PCR y secuenciación, SSRs que mostraron ser polimórficos y se determinó la asociación de estos posibles marcadores con los fenotipos observados en el campo en la población estudiada. Se logró identificar 6 marcadores SSR estadísticamente asociados a fenotipos de resistencia a la Roya Asiática observados en el campo para la población de mapeo.

S1_031 Evaluación de Métodos de Inoculación para Fenotipado de Resistencia a Sclerotium oryzae y Rhizoctonia oryzae-sativae en Arroz (Oryza sativa L.)

Rosas, Juan[1 *]; *Martínez, Sebastián*[1]; *Bonnecarrère, Victoria*[2]; *Gutiérrez, Lucía*[3]

[* 1] Programa Arroz, INIA Treinta y Tres; [2] Unidad Biotecnología, INIA Las Brujas; [3] DBEC, Facultad de Agronomía

Las enfermedades del tallo y la vaina del arroz causadas por los hongos Sclerotium oryzae y Rhizoctonia oryzae-sativae afectan el rendimiento y la calidad de la producción arrocera nacional. La resistencia genética es la mejor estrategia de mejoramiento desde los puntos de vista ambiental y económico. Sin embargo, la selección de líneas resistentes en ensayos de campo es difícil por la alta variabilidad en la presencia de inóculo en el suelo. Para lograr una mayor precisión en la selección es necesario desarrollar métodos de inoculación en condiciones controladas. Existe una amplia diversidad de métodos de inoculación reportados para Rhizoctonia solani, un patógeno tropical de ciclo similar pero de mayor invasividad. Este trabajo tiene como objetivo la adecuación de métodos de inoculación a los patógenos relevantes en Uruguay con el fin de identificar el de mayor poder discriminante entre genotipos. Se evaluaron cinco métodos aplicados a 6 variedades representativas del germoplasma local con un diseño de bloques completos al azar. Se utilizó el estadístico F como indicador de la capacidad discriminante de los métodos, encontrándose los valores óptimos para ambos patógenos en el método de disco de agar con micelio. El método determinado como óptimo será el utilizado para un adecuado fenotipado en el marco del mapeo asociativo para identificación de QTL de resistencia a estas enfermedades en germoplasma local.

S1_032 PLD y PA: participación en las respuestas a sequía en el mutante *dry2/sqe1*

*Sena, Florencia[1 *]; Sotelo, Mariana[1]; Borsani, Omar[1]*

[*1] Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

Los fosfolípidos que componen las membranas plasmáticas, Fosfatidilcolina y Fosfatidiletiolamina principalmente, constituyen un sistema dinámico que genera una variedad de moléculas señalizadoras. Un ejemplo son las derivadas de acción de la Fosfolipasa D (PLD) que hidroliza lípidos de membrana para generar Ácido Fosfatídico (PA) y a través de su actividad se regulan múltiples procesos en planta. El mutante *dry2/sqe1* de Arabidopsis *thaliana* tiene alterado la composición de esteroles por presentar una mutación a nivel de la SQE1 (Escualeno epoxidasa 1) y esta mutación genera un fenotipo hipersensible a sequía. El estudio analiza si la alteración en el metabolismo de esteroles influye sobre las respuestas a sequía mediada por PA. El mutante presenta altos contenido de lípidos a nivel de raíz en *dry2/sqe1*, y a su vez una mayor cantidad de PLDa en raíces detectada por inmunodetección. Dado que el PA es el producto de la PLDa es esperable que exista una acumulación de esta molécula en el mutante. Esto explicaría la alteración en algunas de las respuestas que se desencadenan por su acción tanto a nivel genético como bioquímico. Aquí mostramos que la alteración el perfil de esteroles puede modificar las respuestas a sequía generando un fenotipo sensible, lo que permite especular que los esteroles podrían participar en el control de las respuestas de tolerancia en plantas.

S1_033 Daño oxidativo y defensas antioxidantes enzimáticas en biotipos de capín frente a la aplicación del herbicida quinclorac.

*Diez Vignola, Manuel[1 *]; Saldain, Néstor[2]; Marchesi, Claudia[3]; Diaz, Pedro[1]*

[*1] Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Treinta y Tres; [3] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Tacuarembó

Uno de los factores que afectan la productividad, sostenibilidad y calidad de la producción arrocera es la aparición de malezas asociadas al cultivo y el capín (Echinochloa crus-galli) es la que tiene mayor presencia en arrozales del Uruguay. Uno de los herbicidas más utilizados para controlar el capín es la auxina sintética quinclorac y, recientemente en el este del país se detectaron biotipos de capín resistentes, lo que ha sido confirmado a través de ensayos in vitro de dosis - respuesta. La aplicación de quinclorac se caracteriza por una activación de vías metabólicas, seguido de la reducción en el crecimiento de raíces y tallo y de la asimilación de carbono, con incrementos en especies reactivas de oxígeno. El objetivo de este trabajo fue evaluar el daño oxidativo, así como las defensas antioxidantes enzimáticas en respuesta a la aplicación de quinclorac en biotipos sensibles y resistentes. La aplicación de quinclorac incrementó la peroxidación de lípidos en el biotipo sensible, además este biotipo mostró mayor contenido de peróxido de hidrogeno. La actividad de enzimas antioxidantes catalasa y ascorbato peroxidasa se incrementaron tanto en el biotipo sensible como en el tolerante. Por otro lado, la actividad superóxido dismutasa se incrementó solo en el biotipo sensible, mientras que el biotipo tolerante fue el único que mostró incremento en la actividad peroxidasa. Estos resultados muestran que los biotipos evaluados emplearían diferentes estrategias bioquímicas frente a la aplicación del quinclorac.

S1_034 Parámetros de calidad *in vitro* en relación a sistemas antioxidantes en semillas de soja regionales.

*Viera, Ines[1 *]; Cardoso, Josefina[1]; Machado, Ignacio[2]; Irigoyen, Juan Octavio[3]; Pistón, Mariela [2]; Torre, María H.[1]*

[*1] Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de la República; [3] Agropecuaria Valdense S.R.L., Colonia

La reciente importancia de incluir soja en la dieta diaria se debe a su rol protector frente a arterosclerosis, diabetes y cáncer. En nuestro país se ha transformado en el principal cultivo de verano. Condiciones adversas durante la cosecha y almacenamiento de las semillas de soja (en relación con la humedad, la temperatura, los microorganismos, el suelo y la salinidad del agua y los niveles de metales traza), pueden provocar una reducción de la calidad de las mismas y afectar desfavorablemente el valor de mercado del cultivo siguiente. Con el objetivo de observar una posible correlación, en este estudio se evaluaron semillas de soja de viabilidad mala (SMV) y buena (SBV), en cuanto al nivel de superóxido basal por métodos espectrofotométricos (reducción de NBT, A560), la actividad tipo superóxido dismutasa (SOD) mediante el método de inhibir la reducción del NBT por el radical superóxido generado por el sistema xantina/xantina oxidasa y los niveles de los metales relacionados a sistemas antioxidantes Mn, Cu y Zn por EAAS en los diferentes lotes. Los valores promedios de superóxido basal fueron 0,043 ± 0,012 U/g para las SBV y 0,089 ± 0,028 para las SMV, mientras que la actividad SOD promedio y las concentraciones de metales no mostraron diferencias significativas entre las semillas de distinta viabilidad. Estos estudios apuntan a minimizar los riesgos potenciales que puedan existir al momento de tomar decisiones sobre un insumo estratégico como es la calidad física, fisiológica o genética de la semilla que se va a sembrar.

Desarrollo de fármacos y farmacología - Sesión 1

S1_035 Complejos heterolépticos Pd-bisfosfonato-intercalante como potenciales agentes antichagásicos

*Cipriani, Micaella[1 *]; Firpo, Griselda[1]; Malayil, Leena[2]; Docampo, Roberto[2]; Galizzi, Melina[2]; Gambino, Dinorah[1]; Otero, Lucía[1]*

[*1] Facultad de Química, Universidad de la República; [2] University of Georgia

La Enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria cuyo agente etiológico es el parásito flagelado Trypanosoma cruzi. En busca de una farmacoterapia eficaz y segura para esta enfermedad que aún no tiene cura, nuestro grupo ha trabajado en el desarrollo de complejos metálicos con ligandos activos contra T. cruzi con el fin de mejorar su actividad y sus propiedades farmacológicas. En particular, en este trabajo desarrollamos cuatro nuevos compuestos de coordinación de Paladio con los bisfosfonatos (BP) pamidronato y alendronato como ligandos bioactivos frente a T. cruzi y los intercalantes de ADN fenantrolina (phen) y bipiridina (bipy) como coligandos. Los complejos obtenidos, de fórmula general [Pd(BP)2(bipy)].2NaCl y [Pd(BP)2(phen)].2NaCl, resultaron significativamente más activos que los correspondientes ligandos libres sobre amastigotas intracelulares de T. cruzi. Los complejos con el ligando fenantrolina fueron los más activos, resultando más activos aún que el fármaco de referencia Benznidazol. Se estudió la capacidad de los complejos de inhibir a las enzimas farnesil y solanesil difosfato sintasa (FPPS y SPPS) obteniéndose niveles de inhibición similares a los de los ligandos bisfosfonato libres. De acuerdo con estos resultados, se propone que el aumento de la actividad anti T. cruzi de los complejos con respecto a los ligandos libres no se deba a una mayor inhibición enzimática sino a un mecanismo de acción diferente que podría estar relacionado con la capacidad de interactuar con ADN mediada por los ligandos intercalantes. Los estudios de interacción con ADN para estos complejos están en marcha.

S1_036 Nuevos compuestos metálicos de N-óxido de 2-mercaptopiridina con actividad in vitro contra Trypanosoma cruzi y Mycobacterium tuberculosis

*Rodríguez, Esteban[1 *]; Machado, Ignacio[1]; Mosquillo, Florencia[2]; Biancolo Marino, Leonardo[3]; Maríngolo Ribeiro, Camila[3]; Pérez, Leticia[2]; Q. F. Leite, Clarice[3]; Pavan, Fernando R.[3]; Otero, Lucía[1]; Gambino, Dinorah[1]*

[*1] Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Facultade de Ciencias Farmaceuticas, Unesp

La tuberculosis es una enfermedad reemergente, producida por Mycobacterium tuberculosis, que constituye un problema global de salud pública. La enfermedad de Chagas, producida por el parásito Trypanosoma cruzi, afecta intensamente a la región latinoamericana desde la época precolombina. La quimioterapia actual de ambas enfermedades infecciosas es inadecuada y son necesarias nuevas estrategias para el descubrimiento de nuevos fármacos. Hemos enfocado nuestros esfuerzos en el desarrollo de potenciales metalofármacos. En ese marco, hemos desarrollado previamente complejos de Pd(II), Pt(II) y Au(I) con N-óxido de 2-mercaptopiridina (Hmpo). Este ligando bloquea el crecimiento de T. cruzi en todas las fases de su ciclo de vida, mostrando bajos valores de IC50. Los complejos metálicos mostraron mayor actividad tripanosomicida y selectividad hacia el parásito. Su actividad se relacionó con su poder inhibitorio de la enzima parasitaria NADH fumarato reductasa, principal blanco de acción del Hmpo. En la búsqueda de nuevas herramientas terapéuticas contra la tuberculosis y la enfermedad de Chagas y para establecer el potencial terapéutico de nuevos derivados de Hmpo, se sintetizaron y caracterizaron en estado sólido y en disolución complejos [MIII(mpo)3], donde M es Ga, Fe o Bi, y compuestos heterobimetálicos de Pd(II) y Pt(II) [MII(L)(mpo)](PF6), donde L es 1,1´-bis(difenilfosfino)ferroceno, que mostraron excelente actividad tanto en M. tuberculosis cepa H37Rv ATCC 27294 como en cinco aislados clínicos resistentes a los fármacos de primera línea isoniazida y rifampicina. Además, los complejos mostraron un incremento de la actividad contra T. cruzi respecto al Hmpo. Estos compuestos resultan especialmente promisorios para el tratamiento de tuberculosis resistente.

S1_037 Actividad en Líneas de Células Tumorales y Parásitos Trypanosomátidos de un Compuesto Organometálico Rutenio Clotrimazol

*Rodriguez Arce, Esteban[1 *]; Sarniguet, Cynthia[1]; Moraes , Tania[2]; Tomaz, Isabel[2]; Medeiros, Andrea[3]; Comini, Marcelo[3]; Varela, Javier [4]; González, Mercedes[4]; Cerecetto, Hugo [4]; Marques, Fernanda[5]; García, M. Elena[2]; Otero, Lucía[1]; Gambino, Dinorah[1]*

[*1] Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] CCMM, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa; [3] Group Redox Biology of Trypanosomes, Institut Pasteur de Montevideo; [4] Grupo de Química Medicinal, Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Ciencias y Facultad de Química, Universidad de la República; [5] Centro de Ciências e Tecnologias Nucleares (C2TN), Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa

Las tripanosomiasis africana y americana (causadas por los parásitos Trypanosoma brucei y Trypanosoma cruzi, respectivamente) y el cáncer constituyen problemas de salud acuciantes a nivel mundial. En busca de potenciales fármacos metálicos, la Química Inorgánica Medicinal ha desarrollado compuestos de rutenio con actividad antiparasitaria y/o antitumoral. La combinación en una única molécula de un ligando con actividad farmacológica y rutenio ha conducido en muchos casos a especies metálicas con perfil farmacológico mejorado y que actúan a nivel de múltiples blancos celulares. Utilizando esta estrategia, en este trabajo se desarrolló un nuevo compuesto organometálico, [Ru(η5-C5H5)(PPh3)2CTZ]CF3SO3, donde CTZ = clotrimazol. Clotrimazol es un agente antifúngico que actúa por inhibición de la biosíntesis de esteroles de membrana y presenta moderada actividad contra T. cruzi. , [Ru(η5-C5H5)(PPh3)2CTZ]CF3SO3 fue obtenido por reacción de CTZ con [Ru(η5-C5H5)(PPh3)2Cl] en diclorometano bajo nitrógeno, y fue caracterizado en estado sólido y en solución. El compuesto mostró alta citotoxicidad in vitro en epimastigotas de T. cruzi (cepa Y), en T. brucei brucei (cepa 427) y en líneas celulares de tumores de ovario, mama y útero (A2780, MCF7 y HeLa) y baja citotoxicidad inespecífica en células mamíferas modelo (macrófagos J774). Además, se estudió un posible mecanismo de acción dual del compuesto resultante de la presencia de CTZ y rutenio en la misma molécula. Por un lado, se constató su efecto inhibidor de la biosíntesis de esteroles de membrana en T. cruzi (mecanismo propio del ligando) y, por otro lado, se analizó su interacción con ADN (debido a la presencia del metal)

S1_038 Estudio de sinergismo entre Benznidazol y arililidencetonas como forma de mejorar su actividad anti-*Trypanosoma cruzi*.

*Aguilera, Elena[1 *]; Varela, Javier[1]; Birriel, Estenía[1]; Cerecetto, Hugo[1]; Alvarez, Guzman[1]; Gonzalez, Mercedes[1]*

[*1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La enfermedad de Chagas es una enfermedad endémica que afecta a dieciocho millones de personas en el continente americano y desafortunadamente no existe un tratamiento adecuado. En la actualidad se buscan productos tanto sean naturales como sintéticos con capacidad de inhibir el crecimiento del parásito que puedan interferir en su metabolismo. Se ha observado que asociando dos fármacos es posible mejorar la actividad farmacológica tanto in vitro como in vivo1.De nuestro trabajo previo identificamos 2 arililidencetonas simétricas (1 y 2) con muy buena actividad anti-Trypanosoma cruzi (T. cruzi) in vitro (IC50=5,0 μM y 0,04 μM respectivamente) y con muy buenos índice de selectividad hacia células mamíferas (12 y 375 respectivamente) 2. En busca de sinergismo entre estos compuestos se ensayó en la forma epimastigota de T. cruzi posibles interacciones de ambos fármacos con Benznidazol (Bnz) mediante el uso de isobologramas en donde se combinan los dos agentes en distintas concentraciones y se determina la capacidad de inhibir el crecimiento de T. cruzi. A partir de estos estudios se concluye que existe sinergismo entre el compuesto 1 y Bnz, no siendo así para el compuesto 2, observándose antagonismo entre ambos. Agradecimientos:-PEDECIBA-CSIC No 610. REFERENCIAS: [1]Veiga-Santosa P., Barriasa S., Santosa J., Moreira T., Ulisses T., Urbina J., de Souza W. International Journal of Antimicrobial Agents. 2012, 40:61-71. [2]Aguilera E. Síntesis y evaluación biológica de productos activos frente a Trypanosoma cruzi con capacidad de inhibición de TcTIM. Tesina de grado, Universidad de la Republica, Facultad de Ciencias, 2014.

S1_039 Fraccionamiento bioguiado y estudio de la actividad sinérgica *in vitro* entre los componentes del veneno de abeja.

*Borba, Alejandra[1 *]; Afonso, Joaquín[1]; Arbildi, Erika[1]; Ortiz, Federico[1]; Vacca, Agustina[1]; Cabral, Pablo[2]; Hernández, Paola[3]; Lavaggi, María Laura[1]*

[*1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Área Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Universidad de la República; [3] Laboratorio de Epigenética e Inestabilidad Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La apitoxina, extracto de veneno de abeja (VA), es comúnmente utilizada como terapia complementaria por su conocida propiedad anti-inflamatoria. Los componentes del veneno de abeja, han sido aislados e identificados y muestran una variedad de actividades biológicas. La mayoría de los compuestos incluyen péptidos, proteínas y enzimas, de los cuales cabe resaltar al péptido melitina, que es uno de los que se encuentra en mayores concentraciones (40-50% del veneno seco), y la fosfolipasa A2 (10-12% del veneno seco). Actualmente, es de gran interés la búsqueda de terapias antitumorales más eficientes y con menos efectos secundarios. En tal sentido, ha sido descrito que algunos de los componentes del VA poseen actividad anti-tumoral in vitro. Sin embargo, no existe información de sinergismo o antagonismo entre los componentes de la apitoxina que permita determinar su potencial uso en terapias antitumorales. De esta manera, el objetivo del presente trabajo es la determinación de la actividad sinérgica antitumoral entre los componentes del VA de cepas nacionales. En primera instancia se realizó un fraccionamiento bioguiado para obtener separadamente los distintos componentes del VA, obteniéndose compuestos solubles en disolventes orgánicos y compuestos solubles en agua. Posteriormente se estudió la citotoxicidad en células mamíferas (V79) y la actividad antitumoral en células (T24) y el sinergismo entre algunos componentes del VA a partir de las fracciones obtenidas por el fraccionamiento bioguiado. Agradecimientos a CSIC y Apifarma.

S1_040 Síntesis de nuevas chalconas potenciales inhibidoras de la fosfatasa en tirosina PtpB de *Mycobacterium tuberculosis.*

*Ravel, Florencia[1 *]; Maidana, Matías[2]; Villarino, Andrea [2]; Herrera, Fernando[3]; Seoane, Gustavo[1]; Sagrera, Gabriel[1]*

[*1] Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Laboratorio de Modelado Molecular, Universidad Nacional del Litoral

PtpB es un factor de virulencia de Mycobacterium tuberculosis, liberado durante la infección dentro de las células que infecta. PtpB, pertenece a la familia de fosfatasas lipídicas atípicas, presentando elementos estructurales adicionales a los observados en las fosfatasas de doble especificidad humanas. En humanos no existe homólogo de PtpB por lo cual es considerada como un blanco atractivo para el diseño de nuevos fármacos contra la Tuberculosis. Las chalconas son un tipo de flavonoides que poseen la estructura básica de 1,3-difenil-2-propen-1-ona (PhA- CO-CH=CH-PhB, donde Ph representa grupos fenilo). Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal. Muchas chalconas naturales y sintéticas poseen actividad biológica en animales y el hombre, o son utilizadas en la industria. Recientemente se ha reportado que diversas chalconas poseen actividades como inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis (PtpA y PtpB). En particular, el ácido 4-[3-(2-naftalenil)-3-oxo-1-propen-1-il]-benzoico resultó ser el compuesto más activo de entre un conjunto de 100 chalconas evaluadas contra PtpB. En nuestro estudio sintetizamos una serie de chalconas, para las cuales la posición de los sustituyentes fue definida teniendo en cuenta los parámetros del acoplamiento molecular de cada chalcona con los sustituyentes en diferente posición con la fosfatasa en estudio. Las chalconas seleccionadas, poseen grupos no polares en el anillo A (halógenos) y grupos polares en el anillo B (COOH). Las mismas fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (acetofenonas y benzaldehídos) por condensación aldólica, con buenos rendimientos y caracterizados por RMN y MS y su actividad biológica evaluada contra PtpB.

S1_041 Identificación de nuevos quimiotipos con actividad inhibitoria de la enzima triosafosfato isomerasa de *Trypanosoma cruzi*: hacia la búsqueda de nuevos fármacos anti-T. cruzi

*Couto, Marcos[1 *]; Varela, Javier[1]; Álvarez, Guzmán[1]; González, Mercedes[1]; Cerecetto, Hugo[1]*

[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La enfermedad de Chagas es una enfermedad que afecta a dieciocho millones de personas en el continente americano y desafortunadamente no existe un tratamiento adecuado. En la actualidad se buscan productos tanto naturales como sintéticos con capacidad de inhibir el crecimiento del parásito. Éstos pueden interferir selectivamente en la actividad de alguna enzima esencial del parásito como ser la Triosafosfato isomerasa de Trypasoma cruzi (TcTIM) [1]. El presente trabajo se basó en los resultados obtenidos en un estudio de cribado masivo de más de 300 moléculas de nuestra quimioteca, donde se identificó una nueva serie de compuestos heterocíclicos derivados del sistema ditioltiona. Estos compuestos inhibieron a la enzima TcTIM a una dosis de 25 micromolar. Por estos resultados se decidió realizar un cribado in vitro, sobre parásito entero, de derivados de este sistema heterocíclico. Dentro de la serie de las ditioltionas, 15 compuestos fueron evaluados y 3 de ellos presentaron un IC50 (concentración a la cual se inhibe en un 50 % el crecimiento de los parásitos) en el orden de los fármacos utilizados como referencia en la actualidad. Estos resultados permiten considerar a estos compuestos como nuevos cabezas de serie. [1]. Alvarez, G. et al. Massive screening yields novel and selective Trypanosoma cruzi triosephosphate isomerase dimer-interface-irreversible inhibitors with anti-trypanosomal activity. Eur. J. Med. Chem. 2010. 45, 5767.

S1_042 Diseño, syntesis y evaluación biológica de agentes híbridos para su potencial uso en terapia antitumoral de glioblastoma multiforme

*Couto, Marcos[1 *]; Mastandrea, Ignacio[1]; Cabrera, Mauricio[1]; González, Mercedes[1]; Cabral, Pablo[2]; Cerecetto, Hugo[2]*

[*1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Área Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El glioblastoma multiforme es el tumor cerebral primario más frecuente y la variante de mayor malignidad. Las opciones actuales de tratamiento ofrecen una limitada expectativa de vida. El tratamiento tradicional consiste en la resección quirúrgica del tumor, seguida de radioterapia/quimioterapia para eliminar las células tumorales que hayan quedado infiltradas en el parénquima cerebral. Debido a la agresividad y a la dificultad de eliminar todas las células tumorales, la efectividad terapéutica es limitada. Dentro de las aproximaciones actuales se estudia la BNCT (Boron Neutron Capture Therapy), como estrategia quimio-radioterapéutica (1). En este sentido, se presenta la estrategia para el desarrollo de agentes híbridos, usando entidades que posean per se afinidad hacia el blanco oncológico, por ejemplo el inhibidor de tirosinquinasa erlotinib, o derivados del ácido d-aminolevulínico, un precursor de porfirinas, que se sintetizan y acumulan diferencialmente en gliomas malignos. Dichas entidades son modificadas químicamente para incorporar en su estructura fragmentos portadores de 10B-estable capaz de capturar neutrones térmicos y luego de la reacción nuclear decaer por emisión de partículas alfa, con alta transferencia lineal de energía depositando una gran dosis en un corto camino, lo que conlleva a una alta radiotoxicidad celular. Los agentes desarrollados son evaluados frente a células C6, derivadas de glioma de ratas. 1- Barth RF, et al. Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer. Radiat Oncol. 2012;7:146. Agradecimiento: ANII, CSIC

S1_043 Variabilidad de la actividad anti-*Trypanosoma cruzi* en plantas del Uruguay con respecto al sitio y época del año de colecta

*Varela, Javier[1 *]; Birriel, Estefania [1]; González, Mercedes[1]; Cerecetto, Hugo[1]*

[*, 1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La Enfermedad de Chagas, causada por el parásito Trypanosoma cruzi, es una enfermedad que no posee aún cura [1]. Dado que numerosos agentes antifúngicos han sido descritos como potentes inhibidores del crecimiento de Trypanosoma cruzi [2], se piensa que plantas de nuestra región con actividad antibacterial y antifúngica ya descritas podrían ser fuente de nuevos agentes para inhibir el crecimiento de este parásito. En este trabajo se prepararon extractos hidro-etanólicos de siete plantas diferentes recolectadas en distintos tipos de suelo y en distintas épocas del año, durante dos años. Se realizó la evaluación biológica anti-Trypanosoma cruzi de todos los extractos y se observó actividad relevante en muestras de tallos y rizomas y en las de flores de Hydrocotyle bonariensis. Las plantas colectadas del género Baccharis también presentaron relevante actividad antiprotozoaria. Al mismo tiempo se evaluó la actividad citotóxica en células mamíferas de los extractos que presentaron actividad biológica relevante. Actualmente se realizan los fraccionamientos bioguiados de los extractos de mejores índices de selectividad frente al parásito y se estudia la variabilidad de los perfiles metabólicos de las plantas colectadas mediante metabolómica por resonancia magnética nuclear de forma de inferir la naturaleza química de los principios activos sin previa purificación de los mismos. [1] González M, Cerecetto H. Expert Opin Ther Pat. 2011, 21, 699-745. [2] Varela J, Lavaggi ML, Cabrera M, Rodríguez A, Miño P, Chiriboga X, Cerecetto H, González M. Nat Prod Commun. 2012, 7(9), 1139-1142. Agradecimientos: ANII, CSIC

S1_044 Incorporación de funcionalidades fluorescentes a un agente activo frente a T. cruzi para su estudio de distribución subcelular

*Rodríguez, Gonzalo[1 *]; Álvarez, Javier Guzman [2]; Gonzalez, Mercedes [2]; Cerecetto, Hugo[1]; Osorio, Carlos[1]*

[*, 1] Área de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Grupo de Química Médica-CSIC, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La amida (2E,2Z)-3-alil-4-[((E)-4-cinamilpiperazin-1-il)carbonil]-2-[2-((E)-3-(2-furanil) propeniliden)hidrazono]-2,3-dihidrotiazol (I), desarrollada en el Grupo de Química Médica de la CSIC-UdelaR, ha demostrado ser un excelente agente anti-T. cruzi sin efectos tóxicos ni mutagénicos. Actualmente, nos encontramos realizando estudios que permitan caracterizarlo como fármaco. Uno de los estudios en marcha se relaciona con el conocimiento de la biodistribución de este agente tanto in vitro como in vivo. Las estrategias habituales para realizar este tipo de estudio involucran, entre otras posibilidades, marcar la molécula para poder determinar, externamente, su presencia en los distintos compartimentos y fluidos. En este sentido, en este trabajo se presentarán los resultados obtenidos en la síntesis de análogos del compuesto (I), que portan en su estructura diferentes agrupamientos fluorescentes. Una de las estrategias sintéticas diseñada converge en un intermediario sintético común, un alquino terminal, que permite la aplicación de una "click reaction" para interconectar el farmacóforo anti-T. cruzi y el fluoróforo. Los fluoróforos seleccionados, cumarinilos, benzofurazanilo y boro-dipirrometenos, poseen diferentes espectros de emisión como forma de generar diferentes posibilidades de visualización externa. Así por ejemplo, el fluoróforo boro-dipirrometeno, por su emisión en el infrarrojo cercano, convertirá a la sonda obtenida en un excelente agente para estudios in vivo. De los análogos desarrollados se estudia la conservación de la actividad anti-T.cruzi in vitro y el comportamiento espectroscópico Agradecimientos: ANII

S1_045 Investigación y desarrollo de agentes de imagen para músculo cardíaco. Estudios preliminares.

*González, Joel[1 *]; Cabrera, Mirel[1]; Cabral, Pablo [1]; Calzada, Victoria [1]; Cerecetto, Hugo[1]*

[*, 1] Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Las cardiopatías son las principales causas de muerte a nivel mundial y las proyecciones muestran su tendencia a seguir aumentando con el tiempo. Es por esto que existe la necesidad de desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico capaces de detectarlas lo más tempranamente posible. Las alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos a menudo reflejan el daño miocárdico. En consecuencia, análogos de ácidos grasos radiomarcados se han utilizado para el diagnóstico de la isquemia de miocardio y otras enfermedades del corazón utilizando SPECT o PET. Con el fin de generar nuevos agentes que presenten mejores características imagenológicas se diseñaron análogos de ácidos grasos utilizando el ácido hidrazinonicotínico (HYNIC), el cual es un eficiente agente quelante utilizado para la marcación de biomoléculas para imagenología y que no ha sido descrito para el marcado de ácidos grasos o moléculas estructuralmente relacionadas en imagen cardíaca. El 99mTc es el radionucleido más utilizado en nuestro país para diagnóstico por imagen y debido a sus características fisicoquímicas es adecuado para este tipo de aplicaciones. En este trabajo se muestra la síntesis del ácido 6-(6-aminohexilcarbonilamino)hexanoico (molécula relacionada estructuralmente con ácidos grasos), su caracterización espectroscópica, derivatización con HYNIC y marcado con ^{99m}Tc con tricina como co-ligando.

S1_046 Estudio de la toxicidad de agentes anti-Trypanosoma cruzi utilizando como modelo pez cebra

*Cruces, María Eugenia[1 *]; Aguilera, Elena[1]; Aparicio, Gonzalo[2]; Álvarez, Guzmán[1]; Cerecetto, Hugo[1]; González, Mercedes[1]; Zolessi, Flavio[2]*

[*, 1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Instituto Pasteur Montevideo

Uno de los mayores objetivos en el desarrollo de un fármaco, es que el mismo carezca de efectos adversos. Para llevar a cabo los estudios de toxicidad existen ensayos pre-clínicos tanto in vitro como in vivo para observar efectos tales como toxicidad aguda, toxicidad crónica, mutagenicidad, clastogenicidad y teratogenicidad. En nuestro Grupo de Química Medicinal se han desarrollado más de 2000 compuestos con potencial actividad anti-Trypanosoma cruzi. Recientemente, se han obtenido una serie de arilidencetonas simétricas con destacada actividad tanto in vitro como in vivo, selectividad hacia el parásito, así como ausencia de mutagenicidad. Para continuar el desarrollo, hacia candidatos a fármacos, de estos productos se plantea el estudio de la teratogenicidad de dos arilidencetonas. Para ello, se llevará a cabo el estudio de toxicidad en embriones de pez cebra (Danio rerio) indicado por la guía de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (O.E.C.D.): FET (Fish Embryo Toxicity). El FET, permite el estudio de la toxicidad aguda producida por un compuesto en un embrión. En el mismo, se expone el embrión al producto de estudio y se observa si hay anomalías en etapas muy tempranas del desarrollo, 96 horas de exposición, determinando así la letalidad del producto y potenciales efectos teratogénicos. 1. Aguilera E. Síntesis y evaluación biológica de productos activos frente a Trypanosoma cruzi con capacidad de inhibición de TcTIM. Tesina de grado, Facultad de Ciencias-UdelaR. 2014.2. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Fish Embryo Acute Aquatic Toxicity (FET) Test. Agradecimientos: ANII

S1_047 Aislamiento y caracterización de principios activos anti-*T.cruzi* de *Baccharis trímera* "carqueja".

*Birriel, Estefania[1 *]; Cerecetto, Hugo[1]; Varela, Javier[1]; González, Mercedes[1]*

[* 1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La enfermedad de Chagas es provocada por el protozoario flagelado Trypanosoma cruzi (T. cruzi). Dado que los actuales tratamientos farmacológicos para esta patología presentan una gran cantidad de efectos no deseados, es importante la búsqueda de fármacos para tratar esta enfermedad. La Baccharis trimera comúnmente conocida como "carqueja" se caracteriza por presentar metabolitos secundarios derivados de lactonas sesquiterpénicas que han demostrado ser inhibidores del crecimiento de T. cruzi [1]. Recientemente hemos realizado un estudio en donde se evaluó la actividad anti-T. cruzi de las partes aéreas de carqueja recolectada en distintas épocas del año. Para ello se realizó un fraccionamiento bioguiado utilizando disolventes con gradiente de polaridad creciente obteniéndose tres fracciones (hexano, acetato de etilo y metanol) donde se observó que las fracciones de hexano y acetato de etilo correspondientes a la colecta del mes de febrero presentaron la mayor actividad [2]. Como forma de profundizar en este trabajo se plantea el aislamiento y caracterización de los principios activos de las fracciones que resultaron ser las más activas para lo cual se realiza el fraccionamiento de las mismas por cromatografía en columna. Se obtienen así los componentes aislados que son caracterizados por 1H-RMN, 13C-RMN y masas, y evaluados frente a T. cruzi para identificar los principios activos responsables de la actividad biológica. [1] D.A Giuliano. Clasificación infragenérica de las espécies Argentinas de Baccharis (Asteraceae). Darwiniana. 2001, 39, 131-154.[2] E Birriel. Fraccionamiento bioguiado de Baccharis trimera en búsqueda de agentes anti-T. cruzi. Tesina de grado, Universidad de la República, Facultad de Ciencias 2014.

S1_048 Búsqueda de compuestos citotóxicos selectivos en células gliales tumorales. Aproximaciones *in vitro* e *in vivo*.

*Mastandrea, Ignacio [1 *]; Lavaggi, María Laura[2]; González, Mercedes [2]; Cerecetto, Hugo[2]; Díaz Amarilla, Pablo[3]; Cabrera, Mauricio[2]*

[* 1] Grupo de Química Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Grupo de Química Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los gliomas son el principal tipo de tumor del sistema nervioso central (SNC) presentando una alta incidencia de muerte dependiendo de las características del tumor y del estadio de su diagnóstico. Tratamientos estándar incluyen cirugía, radioterapia y quimioterapia, pero en general en lo que refiere a fármacos, la propuesta no es variada ni asegura una recuperación del paciente. Por eso en el marco de la búsqueda de nuevos agentes antineoplásicos frente a gliomas, se seleccionaron a partir de una quimioteca propia 21 compuestos que habían mostrado actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares en estudios previos de nuestro grupo. Con el fin de realizar un tamizaje, los mismos fueron evaluados a dosis fija de 25 μM en la línea celular C6, clonada a partir de un glioma inducido en ratas por N-metilnitrosourea (NMU). Se determinó para los compuestos de actividad prometedora su perfil dosis-respuesta y su correspondiente IC50. La selectividad de los mismos fue evaluada utilizando un cultivo primario de astrocitos, permitiendo determinar así un índice de selectividad citotóxica. Debido a antecedentes donde agentes alquilantes inducen eficientemente transformaciones tumorales en el SNC, se pretende desarrollar también un modelo in vivo de tumorogénesis glial inducido por dichos agentes. Se incluye en este trabajo resultados preliminares de un modelo de carcinogénesis química por inyección intracraneana de NMU. Los resultados iniciales resultan interesantes como herramienta para la investigación biomédica, diagnóstica y terapéutica, con creciente actividad en nuestro país.

S1_049 Estudios preclínicos de CH38 como potencial fármaco de uso en el tratamiento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA).

*Otero, Gabriel[1 *]; Gonzalez, Mercedes [2]; Cerecetto, Hugo[2]; Diaz-Amarilla, Pablo[3]; Cabrera, Mauricio[2]*

[* 1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Recientemente se ha demostrado que los astrocitos juegan un papel importante en la muerte de motoneuronas espinales que tiene lugar en la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA). Por lo que, una estrategia terapéutica propuesta para esta patología puede ser la eliminación selectiva de estas células especialmente del tipo de astrocitos aberrantes (AbA) que han sido identificados en ciertos estadíos de la enfermedad. Con esta idea, hemos identificado un nuevo prototipo molecular, CH38, con actividad anti-proliferativa selectiva frente a AbA. Estudios posteriores demostraron que CH38 no resulta mutagénico en ninguna de las condiciones exigidas por la O.E.C.D utilizando el test de Ames. Esto junto a resultados farmacológicos in vivo preliminares convierten a este compuesto en un nuevo líder molecular y amerita seguir su desarrollo preclínico en búsqueda de un nuevo candidato a fármaco. En este trabajo se presentan estudios preclínicos de CH38, involucrando estudios de propiedades fisicoquímicas, de permeabilidad, estabilidad plasmática, estudios de inhibición de CYP, entre otros.

S1_050 Búsqueda de inhibidores de cisteína proteasas esenciales del parásito *Fasciola hepatica* como potenciales fármacos antihelmínticos.

*Ferraro, Florencia[1 *]; Álvarez, Guzmán[2]; Dell Oca, Nicolás[3]; González, Mercedes [4]; Cerecetto, Hugo[4]; Tort, José Francisco[3]; Cabrera, Mauricio[2]; Corvo, Ileana[3]*

[* 1] Departamento de Genética, Facultad de Medicina - Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias - Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Moléculas Bioactivas, Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República; [3] Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [4] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La infección del ganado con el parásito trematodo Fasciola hepatica (saguaypé) es causante de importantes pérdidas económicas en la producción de nuestro país y a nivel mundial. El tratamiento disponible se basa en el uso de agentes antihelmínticos, siendo solo el triclabendazol efectivo contra el estadio invasivo del parásito, lo que sumado a la aparición de resistencia, evidencia la necesidad de desarrollar nuevos fármacos y estrategias de control parasitario. En todos sus estadios, F. hepatica secreta en gran cantidad diferentes cisteína proteasas (catepsinas). La catepsina L secretada por el estadio invasivo (CL3) es esencial para que la larva atraviese la pared del duodeno del hospedero y migre hacia el hígado, mientras que las secretadas por el adulto (principalmente CL1) son claves en la alimentación del parásito y la evasión de la respuesta inmunitaria del hospedero. Los inhibidores de estas proteasas esenciales para el ciclo de vida del parásito son potenciales agentes para el control de la fasciolasis. Utilizando las enzimas recombinantes CL1 y CL3, nos planteamos realizar un screening de cien compuestos obtenidos a partir de una quimioteca propia en búsqueda de nuevas entidades inhibidoras de catepsinas. Se hallaron tres compuestos con actividad inhibitoria cercana al 100%, y otros doce exhibieron inhibición superior al 60 % cuando se evaluaron a 10 μM. Pruebas in vitro mostraron una reducción notoria en la motilidad y vitalidad de los parásitos juveniles en presencia de inhibidor, lo que podría in vivo impedir que estos individuos atraviesen la pared del duodeno evitando así la infección.

S1_051 Síntesis de nuevos derivados azólicos de chalconas y su actividad antifúngica

Amaro, Matias[1] *; *Bertucci, Ana*[1]; *Sagrera, Gabriel*[1]

[*1] Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

La terapia antifúngica actual se sostiene en cinco grandes grupos de compuestos y algunas estructuras novedosas. Poseen diferentes mecanismos de acción en la célula fúngica y variaciones en su espectro de acción, toxicidad y resistencia; estas características limitan su utilización y hacen compleja la propuesta terapéutica. Entre ellos se destacan los azoles, que actúan por inhibición de biosíntesis del ergosterol necesario en la membrana celular fúngica. Las chalconas poseen la estructura básica de 1,3-difenil-2-propen-1-ona (PhA-CO-CH=CH-PhB, donde PhA y PhB representan grupos fenilo). Entre los productos naturales y sintéticos cuya capacidad antifúngica se investiga, diferentes chalconas han sido reportadas por su bioactividad, aunque pocos trabajos se refieren al estudio sistemático de su actividad antifúngica que involucre relaciones estructura-actividad o estudios de su mecanismo de acción. En el presente trabajo, se propone preparar una biblioteca de chalconas azólicas, esto es, chalconas con grupos azolilos como sustituyentes en diferentes posiciones de PhA o PhB y evaluar su capacidad antifúngica. Se preparó una serie de 12 chalconas azólicas (algunas de ellas no descritas aun en la literatura). Fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (acetofenonas y benzaldehídos azolil-sustituidos) por condensación aldólica, con buenos rendimientos y caracterizados espectroscópicamente. Su actividad biológica será evaluada contra un panel extendido de hongos patógenos de importancia médica humana y veterinaria por su mortalidad o morbilidad, utilizando cepas de colección internacional. Se determinará su Concentración Mínima Inhibitoria, su Concentración Fungicida Mínima y se realizarán ensayos secundarios para determinar su posible modo de acción.

S1_052 Síntesis de amidas polihidroxiladas como potenciales como activadores de sirtuinas

Caballero, Nicolas[1] *; *Sagrera, Gabriel*[1]; *Seoane, Gustavo*[1]

[*1] Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

Recientemente se ha reportado que algunos tipos de moléculas pequeñas como estilbenos, flavonoides y amidas, funcionan como activadoras de sirtuinas. Estas enzimas, que catalizan la desacetilación de residuos de lisina de distintas proteínas, han sido relacionadas con síndromes metabólicos importantes en humanos como ser obesidad y diabetes. Si bien no hay ensayos clínicos en humanos, estudios en modelos animales demuestran que el resveratrol (un estilbeno polihidroxilado) actúa como activador de las sirtuinas: prolonga la vida de ratones obesos (alimentados con dieta rica en grasas) y disminuye la resistencia a la insulina, normalizando los niveles de glucosa e insulina. En el marco de nuestro trabajo de síntesis de compuestos polifenólicos bioactivos decidimos preparar amidas polihidroxiladas para su posterior evaluación. Estos compuestos pueden actuar como bioisósteros del resveratrol y son mucho más fáciles de sintetizar. En este trabajo se describe la síntesis de una pequeña biblioteca de amidas, del tipo PhA-CO-NH-PhB (donde PhA y PhB representan grupos fenilo sustituidos con diferentes grupos, principalmente hidroxilados), algunas de ellas no descritas aún en la literatura, que luego serán evaluadas como activadores de las sirtuinas. Las mismas fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (ácidos carboxílicos y aminas) con buenos rendimientos y caracterizadas por RMN y MS.

S1_053 Nitrocompuestos aromaticos como agentes antioxidantes

Cataldo, Nicolás[1] *; *Celano, Laura*[2]; *Cerecetto, Hugo*[3]; *Gonzalez, Mercedes*[4]; *Thomson, Leonor* [2]

[*1] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias- Grupo de Química Medicinal, Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias - Center for Free Radical Research, Universidad de la República; [3] Grupo de Química Medicinal, Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Ciencias - Área de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Grupo de Química Medicinal, Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En las enfermedades cardiovasculares una importante participación de la inflamación y el estrés oxidativo ha sido descripta, siendo la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) un evento clave. Antecedentes previos del grupo, demostraron importantes propiedades antioxidantes de una serie de nitrocompuestos aromáticos (Celano et al 2014). En este trabajo, se sintetizaron y evaluaron hasta el momento nueve aril-nitroalquenos y sus nitroalcanos correspondientes, , los cuales fueron caracterizados por 1H y 13C RMN y por su capacidad antioxidante. Empleando la técnica de ORAC, los derivados metiltio mostraron una capacidad antioxidante 50% mayor que el compuesto de referencia (1.5 $\pm$ 0.2 y 1.6 $\pm$ 0.3 Trolox eq.mol^{-1}), mientras el efecto de los derivados dimetilamina fue al menos 8 veces mayor (8 $\pm$ 1 y 13 $\pm$ 2 Trolox eq.mol^{-1}). A su vez, la constante aparente de reacción de las moléculas con radicales peroxilo generados por la descomposición térmica de AAPH determinada mediante espectrofotometría UV/Vis fue de $\sim$140 M^{-1}s^{-1}. Por último, se estudió la prevención de la oxidación de LDL mediante HPLC. La lipoperoxidación desencadenada con 30 mM ABAP por 30 min a 37°C, llevó a la generación de malondialdehído de 13.6 μM, mientras que en presencia de compuestos dicho valor se redujo en un 50 %. Ensayos de oximetría, mostraron una disminución en la velocidad de consumo de oxígeno durante la fase de propagación de la lipoperoxidación en presencia del derivado dimetilamina. Por otro lado, estamos analizando la capacidad de las moléculas de prevenir la formación de células espumosas.

Neurociencias: General - Sesión 1

S1_054 Corriente migratoria rostral: evidencias en el teleósteo *Gymnotus omarorum*

Lasserre, Moira[1 *]; *Castelló, María E.*[1]

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La neurogénesis posnatal es una característica conservada, presentando similitudes entre los vertebrados estudiados, aunque hay una reducción de la extensión y capacidad neurogénica de los nichos proliferativos en la evolución. En mamíferos, quedan prácticamente restringidos a la zona subventricular del ventrículo lateral y la zona subgranular del giro dentado. Contrariamente, en teleósteos se ha evidenciado neurogénesis en todo el SNC. Las similitudes en la neurogénesis posnatal en el bulbo olfatorio (BO) entre zebrafish y mamíferos sugieren la generalidad del fenómeno. En este trabajo se cuestiona esta hipótesis mediante el análisis de la distribución de células proliferantes en el BO y el subpallium rostral (SR) y de la diferenciación neuronal de células derivadas en el teleósteo Gymnotus omarorum. Se describió la distribución de células ciclantes por administración de 5-cloro-deoxiuridina (CldU) seguido de una sobrevida de 1 día. No se observó un nicho proliferativo en el BO rostral, pero sí en el BO caudal y en la zona subventricular del SR. La capacidad neurogénica de estos nichos proliferativos se estudió por retención de larga duración de CldU (7-180d) y co-expresión de marcadores neuronales doblecortina, HuC/HuD y tirosina hidroxilasa. Las células CldU+ aumentaron en BO en función de la sobrevida post-CldU, sugiriendo una migración tangencial desde el SR hacia BO, seguida por una migración radial. Expresaron primero marcadores de diferenciación neuronal temprana (7-90d) seguido de marcadores de neuronas maduras catecolaminérgicas (90-180d). Esto representaría la primer evidencia de neurogénesis posnatal en BO de G. omarorum, reafirmando el carácter conservado de la corriente migratoria rostral.

S1_055 Beneficios preventivos de un extracto hidro-alcohólico de Achyrocline satureioides lam (d.c.) (marcela) frente a una isquemia cerebral experimental.

Stancov, Matias[1 *]; *Rivera, Felicia*[1]; *Dajas, Federico*[1]

[* 1] Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Achyroclines satureioides (AS) es una planta de extendido uso popular en Suramérica. Estudios experimentales confirman sus efectos antioxidantes y anti-inflamatorios atribuibles a su composición en flavonoides, como la quercetina. Su potencial preventivo neuroprotector ha sido estudiado en nuestro laboratorio utilizando una decocción (2%) y también una fracción enriquecida con los principales flavonoides constitutivos de AS (quercetina, luteolina, 3-O-metil quercetina), mostrando en ambos preparados significativos efectos neuroprotectores. En este estudio pretendemos comprobar el efecto neuroprotector de un extracto hidro-alcohólico de AS realizado mediante un procedimiento biotecnológico, (concentración de quercetina: 3 mg/ml cuantificada por HPLC). Se estudian los efectos del pre-tratamiento oral crónico a ratas, durante 7, 14 y 21 días previos a la oclusión permanente de la Arteria Cerebral Media (opACM) durante 24 horas. Se realiza una prueba de comportamiento motor y el volumen del infarto cerebral es evaluado utilizando una sal de tetrazolio. Los resultados preliminares obtenidos hasta el presente muestran una mejoría en las deficiencias motoras causadas por la isquemia en los animales pre-tratados durante 7 y 14 días, no así en el grupo de 21 días. En relación a la disminución del volumen del infarto se observó hasta el presente una disminución significativa del tamaño del infarto en los grupos pre-tratados durante 7 y 14 días. Estos resultados apuntan al posible beneficio de este preparado en un tratamiento preventivo en los accidentes cerebro-vasculares.

S1_056 ¿Posee Gymnotus carapo un mecanismo mixto (neuro-miogénico) de electrogeneración?

Nuesch, Melanie[1 *]; *Pannunzio, Bruno*[1]; *Aguilera, Pedro*[2]; *Caputi, Ángel*[2]; *Rodríguez-Cattaneo, Alejo*[2]

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los peces eléctricos poseen dos estrategias para la electrogeneración. En la mayoría de las familias, los electrocitos (las unidades electrogénicas) son sincitios miogénicos que perdieron su maquinaria contráctil. En adultos de la familia *Apteronotidae*, el órgano eléctrico (OE) consiste en paquetes de axones electromotores, paralelos entre sí, con dos engrosamientos (electrocitos neurales). *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) emite un pulso con 6 deflexiones en el registro cabeza-cola. Como otras especies, cinco de estas deflexiones resultan ya sea de la activación (vía neural) de membranas de electrocitos orientadas de forma perpendicular al eje principal, o de la propagación de potenciales de acción hacia la membrana en posición paralela y enfrentada. La primera fase positiva de la forma de onda (V1ct) es característica de un clado incluido en el género. El objetivo de este trabajo fue revelar el origen de V1ct por medio de la combinación de análisis anatómico, electrofisiológico y computacional. Datos electrofisiológicos muestran que V1ct es originada tempranamente en la descarga del órgano eléctrico (DOE), en la zona de transición entre la región medial y caudal del pez. En dicha región del pez, usando técnicas fotográficas de Cajal, se evidenciaron engrosamientos a lo largo de nervios electromotores, inervando la porción caudal del órgano eléctrico. Estos engrosamientos pueden estar actuando como "electrocitos neurales", sugiriendo que el clado al que pertenece carapo puede tener una forma mixta de electrogeneración. El análisis computacional confirma que V1ct puede ser explicada mediante la activación de estas estructuras.

S1_057 Caracterización de la histoarquitectura de retina del pez *Austrolebia charrua*

Berrosteguieta, Ines[1 *]; *Rosillo, Juan Carlos*[1]; *Fernandez, Anabel*[2]

[* 1] Division Neurociencias, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Division neurociencias, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable - Neuroanatomía comparada, Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En los peces del género Austrolebias la visión es una modalidad sensorial predominante. Los ojos están permanentemente expuestos a las variaciones del hábitat. La respuesta a estas variaciones tiene como consecuencia cambios en la citoarquitectura de la retina, ocurridos en la vida postnatal gracias a la neurogénesis. Los estudios comparativos de especies cercanas, muestran que existe una gran variabilidad en la retina de los peces. No existen estudios previos de retina de los peces de este género. En este trabajo hemos estudiado la histoarquitectura de la retina neural y de la zona marginal ciliar (ZMC), sitio portador de las células madre responsable de la neurogénesis de la retina. Peces Austrolebias charrua de distintas edades fueron fijados para la realización de múltiples técnicas histológicas: impregnación de Cajal de Castro; impregnación de Golgi; NADPH-diaforasa; Azul de Metileno Boráxico en cortes semifinos y microscopía electrónica de transmisión (MET) . En todos los casos se realizaron cortes seriados que abarcaron todo el ojo, con excepción de la MET. Estos abordajes permitieron determinar que durante el desarrollo postnatal del ojo existen variaciones importantes en el grosor de las capas de la retina neural. Se observó una distribución bastante homogénea de la población de conos y bastones, no pudiendo evidenciarse una fóvea. La detección de la NADPH-diaforasa reveló que algunas células amácrinas son positivas. Con la técnica de Golgi se pudieron identificar células amácrinas y glías de Müller. La MET permitió observar que la ZMC está constituida por diferentes tipos celulares con aspecto indiferenciado.

POSTERS

S1_058 Estudio de la neuroprotección por agonismo nicotinico en un modelo experimental de enfermedad de Parkinson

*Mouhape, Camila[1 *]; Costa, Gustavo [1]; Abin-Carriquiry, Juan Andrés [1]; Dajas, Federico [1]; Prunell, Giselle [1]*

[* 1] Departamento de Neuroquimica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La Enfermedad de Parkinson (EP) es una patología neurodegenerativa que afecta un 2% de la población mundial mayor de 60 años. Se caracteriza por alteraciones motoras debidas a un deterioro extrapiramidal asociado a la pérdida selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la Sustancia Nigra-compacta (SNc) y una disminución concomitante de dopamina (DA) a nivel de sus terminales en el Cuerpo Estriado (CE). No existe hasta el momento una terapia efectiva para esta enfermedad; los tratamientos disponibles son sintomáticos y no detienen el proceso neurodegenerativo. Estudios epidemiológicos indican que los fumadores de tabaco tienen menor incidencia de EP, lo que podría ser consecuencia de la acción de la nicotina sobre los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR). Para estudiar los efectos del agonísmo nicotínico en un modelo de EP, se indujo la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la SNc de ratas inyectando la toxina rotenona unilateralmente en el haz medial del cerebro anterior, mientras que se administró nicotina desde 5-días antes y hasta 30-días post-lesión. Los resultados muestran que los animales tratados con nicotina tienen más células dopaminérgicas remanentes en la SNc analizadas por inmunohistoquímica y mayores niveles de DA medidos por HPLC en el CE 30 días-post-lesión en comparación a los animales no tratados, lo que se asocia con un mejor desempeño motor en el test del cilindro. Los resultados evidencian un efecto neuroprotector inducido por agonísmo nicotínico en un modelo de EP in-vivo, apoyando la hipótesis de que los nAChR podrían ser un blanco terapéutico para la EP.

S1_059 Caracterización macroscópica, química y farmacológica de muestras de Pasta Base de Cocaína (PBC) incautadas en Uruguay.

*Galvalisi, Martín[1 *]; Prieto, Jose Pedro[1]; Martinez, Marcela[2]; Abin-Carriquiry, Juan Andres[2]; Scorza, Cecilia[1]*

[* 1] Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

PBC es una droga psicoestimulante de abuso instalada en el mercado ilegal de nuestro país desde el 2002, aunque aún existen escasos datos publicados sobre su trazabilidad, composición química y efectos farmacológicos inducidos a través de su vía de administración (inhalación pulmonar). En este trabajo realizamos una caracterización macroscópica y química de 21 muestras de PBC incautadas y evaluamos el efecto estimulante en ratas inducido por algunas muestras representativas. El análisis químico se determinó por cromatografía líquida de alta resolución con detección de arreglo de diodos. El efecto estimulante se evaluó en ratas macho (Wistar) expuestas en forma aguda (10 min.) a diferentes muestras de PBC volatilizadas mediante el registro de la actividad locomotora (distancia recorrida; 30 min) utilizando el Campo Abierto asociado al software de video-seguimiento Ethovision. Las muestras de PBC analizadas mostraron diferentes colores y formas de presentación. La mayoría posee un color amarillento (95 %), encontrándose en forma de tiza, gota, roca u otras. El análisis químico demostró un contenido variable de cocaína (13-70 %) y el único adulterante activo detectado fue cafeína (76.2 % de las muestras). No se encontró una relación directa entre las características macroscópicas y el contenido químico. Todas las muestras ensayadas indujeron un efecto estimulante agudo dependiente de la cocaína aunque la presencia de cafeína lo potenció. No obstante, otros factores podrían estar colaborando en el efecto estimulante observado. Estos resultados aportan información relevante para el conocimiento sobre la dinámica del tráfico y su potencial impacto en la salud de los consumidores.

S1_060 La administración perinatal de ácido glutárico produce aumento de la permeabilidad de la BHE y afectación de los astrocitos perivasculares y pericitos

*Isasi, Eugenia[1 *]; Barbeito, Luis[2]; Olivera-Bravo, Silvia[1]*

[* 1] Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Institut Pasteur de Montevideo

La disfunción vascular es un hallazgo patológico temprano y frecuente en pacientes con Acidemia Glutárica I (AGI), enfermedad neurometabólica/neurodegenerativa de la niñez temprana. Para conocer si la disfunción vascular cerebral es inducida por el principal metabolito de AGI (ácido glutárico, AG), se administró 1 μmol/g de AG en el IV ventrículo de ratas recién nacidas. A los 14 y 30 días post-inyección (DPI) se evaluó permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) analizando extravasación del azul de Evans (AE) e inmunoglobulinas G. Utilizando el marcaje con lectina de tomate se midió la densidad de vasos sanguíneos <10 μm. Mediante inmunohistoquímica contra los marcadores: NeuN, anexina V, acuaporina 4 (AQP4), receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFRbeta) y laminina, se identificaron las células que internalizaron AE, las células apoptóticas, los podocitos astrocitarios, los pericitos y la lámina basal. Por Western blotting se evaluó la expresión de ocludina y zonula occludens 1 (ZO1). En los animales inyectados con AG, el AE extravasó significativamente al parénquima estriatal y se internalizó en neuronas (NeuN positivas). A los 30 DPI, aumentaron las neuronas Anexina V positivas y se redujo significativamente el área inmunopositiva para AQP4, PDGFRß y laminina asociados a los microvasos. La expresión de ocludina y ZO1 estriatal permaneció sin cambios. Este trabajo muestra que una única inyección intracerebral de AG en ratas neonatas aumenta la permeabilidad de la BHE y afecta componentes claves de la unidad neurovascular, sugiriendo que puede ser un mecanismo patogénico y blanco terapéutico potencial en AGI.

S1_061 La modulación de la corriente catiónica activada por hiperpolarización (I_H) aumenta la eficacia de la transmisión sináptica eléctrica entre neuronas del núcleo mesencefálico del trigémino

*Davoine, Federico[1 *]; Curti, Sebastián[2]*

[* 1] Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República; [2] Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las neuronas del núcleo mesencefálico del trigémino (MesV) son aferentes primarias que inervan receptores de estiramiento del músculo masetero y mecanorreceptores del ligamento periodontal en los mamíferos. Las mismas se encuentran acopladas eléctricamente mediante uniones gap formadas por la conexina36, hecho que determina la sincronización y la capacidad de estas redes de detectar entradas sinápticas temporalmente coincidentes (detección de coincidencia). Estas neuronas reciben inervación de múltiples regiones, mediante neurotransmisores que actúan modificando la concentración intracelular de segundos mensajeros tales como cAMP o cGMP, sugiriendo la posibilidad de fenómenos de neuromodulación. En efecto, la aplicación del análogo del cGMP permeable a membranas, 8-Bromo-cGMP, aumenta en forma drástica la eficacia de la transmisión eléctrica promoviendo el incremento de la sincronización y la detección de coincidencia. Sin embargo, estos efectos no se acompañan de modificaciones del coeficiente de acoplamiento o de la conductancia de los contactos intercelulares, sino que los mismos resultan de un incremento de la excitabilidad celular como consecuencia de la modulación de las propiedades biofísicas de la corriente I_H de estas neuronas. Dicha modulación consiste en un desplazamiento de su curva de activación hacia valores más positivos, el incremento de la conductancia máxima y el aumento de la cinética de activación. Los resultados experimentales junto con simulaciones computacionales indican que la corriente I_H de las neuronas del MesV se presenta como un mecanismo latente, que tras su modulación por nucleótidos cíclicos incrementa en forma drástica la excitabilidad celular y la eficacia de la transmisión eléctrica con importantes consecuencias funcionales

S1_062 El daño a los astrocitos producido por etanol repercute en la sobrevida neuronal

Perata, Mariana[1 *]; *Isasi, Eugenia*[1]; *Olivera, Silvia* [1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Aunque una abundante evidencia epidemiológica y experimental muestra que la exposición prenatal al alcohol altera el neurodesarrollo afectando el comportamiento y las habilidades cognitivas durante toda la vida, no existe consenso sobre cuáles son los blancos celulares más afectados por el alcohol. Dado que los astrocitos son especialmente vulnerables durante el desarrollo, hemos propuesto que el etanol puede dañar significativamente a los astrocitos afectando indirectamente la sobrevida neuronal. Para validar esta hipótesis se expusieron cultivos confluentes de astrocitos de corteza de rata de 1-2 días de vida a 130 mM de EtOH (equivalente a la dosis teratogénica reportada). Luego de 24 horas se analizó la expresión de GFAP y S100ß, las tasas de proliferación y muerte celular mediante incorporación de bromodeoxiuridina y presencia de caspasa 3 clivada y los niveles de expresión de marcadores de estrés oxidativo (iNOS) y de retículo endoplasmático (GRP78). En otros experimentos, se sembraron neuronas de hipocampo sobre las monocapas de astrocitos previamente tratados y se evaluó sobrevida neuronal 3 días después. Los astrocitos tratados con etanol mostraron un aumento significativo en la inmunoreactividad para GFAP y la expresión de GRP78, un aumento moderado en la expresión de iNOS y causaron una reducción de ~20% en la viabilidad neuronal. Estos resultados indican que la exposición a una concentración muy elevada de etanol aumenta la reactividad, el estrés oxidativo y de retículo endoplasmático en astrocitos y que el daño astrocitario desencadenado afecta la sobrevida de neuronas que no fueron expuestas directamente al etanol.

S1_063 Coactivación antagonista y su modulación reaferente durante los esfuerzos tónicos plantiflexores

Cervetto, Sabrina[1 *]; *Caputi, Angel*[1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

En este trabajo se estudió la coactivación antagonista, un programa motor básico involucrado en el control del torque y movimiento. La primera serie de experimentos exploró la relación entre los electromiogramas de superficie del soleo y el tibial anterior durante el control de una serie de torques estables en condiciones isogónicas a -10º y 5º antes y después de realizar una maniobra de estiramiento sostenido del triceps sural durante 5 minutos. Los electromiogramas del sóleo y del tibial fueron proporcionales con una constante dependiente del ángulo (significativamente mayor a 5º que a -10º) pero no del estiramiento. Dicha constante (de coactivación) permite caracterizar y cuantificar la relación y sugiere la presencia de un comando común de intensidad variable con el torque. La segunda serie de experimentos verificó que el torque del tobillo se puede mantener constante aunque la actividad muscular se modifique ampliamente de manera voluntaria. En este caso, los electromiogramas de ambos músculos estuvieron relacionados por funciones lineales de similar pendiente pero con ordenadas en el origen dependientes del torque ("líneas isotorque"). Concluimos que: a) existe un comando común sobre las motoneuronas del sóleo y del tibial cuya intensidad determina el grado de activación de ambos músculos (punto de intersección con cada línea isotorque); b) la constante de coactivación depende del ángulo del tobillo, esto indica que las aferencias propioceptivas modulan los efectos de dicho comando común sobre las motoneuronas de ambos músculos.

S1_064 Efecto motivacional de Pasta Base de Cocaína evaluado por autoadministración intravenosa en ratas: datos preliminares

Prieto, José Pedro[1 *]; *Serra, Gian Pietro*[2]; *Galvalisi, Martín*[1]; *Perra, Valentina*[2]; *Pirri, Sara*[2]; *Valentini, Valentina*[2]; *Scorza, Cecilia*[1]

[*1] Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de Ciencias Biomédicas, Universidad de Estudios de Cagliari

El fenómeno del consumo de Pasta Base de Cocaína (PBC) y su alto poder adictivo continúan bajo estudio. Sabemos que sus principales componentes psicoactivos son cocaína (base) y cafeína (adulterante), y que son éstos quienes median sus acciones farmacológicas evaluadas hasta el momento. Hemos demostrado que PBC induce un efecto estimulante agudo y el fenómeno de sensibilización locomotora (SL), vinculado al desarrollo y persistencia de la adicción. También observamos que cafeína puede actuar de forma aditiva con cocaína y acelerar la expresión de la SL. Con el fin de profundizar en el estudio de las propiedades adictivas de la PBC y el rol de la cafeína en este fenómeno, se evaluó la propiedad motivacional de la co-administración de cocaína y cafeína (sucedáneo de PBC) en comparación con cocaína, mediante la técnica de autoadministración intravenosa. Este modelo permite la cuantificación del comportamiento de búsqueda de droga, su valor reforzador y motivacional. Ratas macho adultas, Sprague-Dawley, implantadas quirúrgicamente con un catéter intravenoso de administración crónica, se les permitió autoadministrarse cocaína (0,25 mg/kg/inyección), cafeína (0,125 mg/kg/inyección) y cocaína+cafeína (0,25 + 0,125 mg/kg/inyección) en un régimen de radio fijo durante 21 días en sesiones de 1 hora, seguido de un régimen progresivo durante 7 días. Resultados preliminares sugieren que los animales expuestos a cocaína+cafeína presentan una mayor motivación por la búsqueda y obtención de la droga que los animales expuestos a cocaína. Estos resultados colaboran en la comprensión de la rápida dependencia e intenso craving inducido por PBC en relación a la cocaína.

S1_065 Evidencia Electroencefalográfica de Mecanismos Corticales Predictivos en la Percepción del Movimiento

González Ramos, Helena[1 *]; *Gómez-Sena, Leonel*[1]

[*1] Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La percepción es un proceso activo que implica un aprendizaje filo y ontogenético de las regularidades estadísticas espacio-temporales del medio con el cual los organismos habitualmente interactúan. Este conocimiento a priori confiere cierta capacidad predictiva que permite entre otras cosas, lidiar con los retardos neurales que podrían dificultar una interacción efectiva con realidades rápidamente cambiantes, en particular objetos en movimiento. Una posible realización de este conocimiento previo incorporado en la estructura del sistema son las conexiones horizontales de largo alcance que vinculan módulos que procesan características similares del estímulo en la corteza visual primaria (V1). En este trabajo investigamos la participación de mecanismos de facilitación cortical en V1, probablemente mediados por tales conexiones, en la percepción del movimiento. Registramos la actividad electroencefalográfica (EEG) y los tiempos de reacción (TR) de participantes mientras realizan tareas psicofísicas en las que perciben distintas configuraciones diseñadas para evidenciar características del mecanismo neuronal subyacente. El análisis de TR, de potenciales evocados (PE) y de tiempo frecuencia mediante wavelets reveló cambios consistentes frente a las distintas configuraciones: a) los PE en derivaciones occipitales revelan latencias diferenciales dependientes de las condiciones experimentales; b) se observan efectos relacionados con la orientación del estímulo consistentes con la ocurrencia en V1; c) la fase en las bandas Δ, Θ y α en derivaciones occipitales muestran una mayor sincronización en los casos de presunta mayor facilitación. Esto sugiere que habría una ventana de comunicación favorecida por la sincronización en regiones occipitales durante la percepción de movimiento y es consistente con la hipótesis.

S1_066 Estudio en motoneuronas de la expresión de receptores para glicina y de la modulación de la neurotransmisión glicinérgica por protein quinasas.

*Fló, Emilia[1 *]; Silveira, Valentina[1]; Morales, Francisco R.[1]; Pose, Inés[1]*

[*, 1] Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las sinapsis glicinérgicas son consideradas actualmente más complejas que lo aceptado anteriormente. Su estudio ha adquirido relevancia tanto en situaciones fisiológicas como patológicas. Las motoneuronas son blanco de acciones inhibidoras glicinérgicas esenciales en la regulación de su excitabilidad. Aquí estudiamos aspectos poco conocidos de las sinapsis glicinérgicas en motoneuronas, como son los subtipos de receptores que presentan y la posible modulación de la transmisión por protein-quinasa C (PKC).En estudios inmunohistoquímicos se evidenció la expresión de las subunidades alfa1 y beta en motoneuronas trigeminales de ratas neonatas y adultas. En experimentos electrofisiológicos en rebanadas de tronco de ratas se registraron las respuestas glicinérgicas de motoneuronas trigeminales y se exploraron los efectos de la activación y/o bloqueo de la PKC. El activador, forbol 12-13 diacetato (PDA), provocó un aumento de la amplitud de las corrientes postsinápticas glicinérgicas provocadas por estimulación de aferentes (132%). El efecto persistió al incluir un bloqueante de PKC en el medio intracelular. Frente al PDA se observó un aumento de la amplitud de las corrientes postsinápticas glicinérgicas espontáneas sin cambios consistentes en su frecuencia. El PDA provocó un aumento de la amplitud de las respuestas a la aplicación localizada de glicina en un 25% de las neuronas; en las restantes no se observaron cambios significativos. Los datos indican que la neurotransmsión glicinérgica en estas motoneuronas resulta aumentada por PKC. Postulamos que ese aumento depende, al menos parcialmente, de una modulación presináptica y que en un conjunto de células existe también una modulación positiva de los receptores postsinápticos.

S1_067 Efecto amnésico inducido en ratas por MK-801, un antagonista del receptor NMDA, evaluado en el laberinto elevado en cruz modificado: asociación con comportamientos de ansiedad y niveles de BDNF en el hipocampo y corteza retrosplenial

*López Hill, Ximena[1 *]; Richeri, Analía[1]; Scorza, María Cecilia[1]*

[*, 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El antagonismo NMDA constituye un modelo farmacológico para el estudio del déficit cognitivo en la esquizofrenia y su tratamiento. Se demostró que MK-801 induce un déficit en la memoria espacial en ratas evaluado en el Laberinto en Cruz Elevado modificado (LCEm) mediante el parámetro de latencia de transferencia (LT). Sin embargo, este efecto podría confundirse con alteraciones en conductas de ansiedad. Además, no se ha evidenciado aún si dicha alteración cognitiva se relaciona con cambios en la expresión de BDNF, un indicador prototípico molecular de aprendizaje/memoria. Investigamos entonces, si el déficit cognitivo inducido por MK-801 en LCEm se relacionaba con cambios de ansiedad y los niveles de BDNF en el hipocampo y en la corteza retrosplenial (RSC), dos estructuras cerebrales vinculadas a la memoria espacial. Ratas macho adultas fueron administradas con MK-801 (0.05 mg/kg) o vehículo y 30 min. después se registró la LT1 (sesión de adquisición). LT2 se registró (sin droga) 24 hs. después (sesión de evocación). A este tiempo y en grupos independientes, se evaluaron parámetros de ansiedad mediante el LCE clásico y los niveles de BDNF por ELISA. A las 48 hs. se evaluó el efecto a largo plazo (LT3). MK-801 no indujo cambios en LT1 aunque aumentó significativamente LT2 respecto al control indicando un efecto amnésico. Dichos cambios retornaron a valores control (LT3). MK-801 no modificó la ansiedad mientras que redujo significativamente los niveles de BDNF en el hipocampo sin reclutar a la RSC. Nuestros resultados confirman el efecto amnésico de MK-801 evaluado en el LCEm.

S1_068 Caracterización farmacológica del efecto pro-depresivo inducido por la Hormona Concentradora de Melanina (MCH) en el Núcleo Dorsal del Rafe (NDR) y su vinculación con la respuesta de ansiedad

*Urbanavicius, Jessika[1 *]; Lagos, Patricia[2]; Torterolo, Pablo[2]; Scorza, Cecilia[3]*

[*, 1] Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC; [2] Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

La MCH es un neuropéptido hipotalámico vinculado a la regulación de estados emocionales, desconociéndose aún los mecanismos neurobiológicos subyacentes. En estudios previos demostramos que inmediatamente luego de microinyectar MCH en el NDR de rata aparece un efecto pro-depresivo evaluado en el test de nado forzado (TNF), sensible al antidepresivo serotoninérgico fluoxetina. Sin embargo, una caracterización farmacológica de tal efecto no había sido realizada hasta ahora. Por otra parte, los efectos de MCH sobre conductas de ansiedad son contradictorios y sus efectos en el NDR no habían sido estudiados. En este trabajo profundizamos en la caracterización farmacológica del efecto pro-depresivo inducido por MCH en el TNF y evaluamos su relación con la aparición de conductas de ansiedad utilizando el laberinto en cruz elevado (LCE). Ratas macho implantadas con cánulas guía fueron microinyectadas con MCH intra-NDR a distintas dosis (25, 50 y 100 ng) y evaluadas a los 30 (T30) y 60 min (T60) en el TNF. Investigamos la acción del antagonista del receptor 1 de MCH (MCHR-1), ATC-0175 (1 mM, intra-NDR) y nortriptilina, un antidepresivo noradrenérgico (20 mg/kg/i.p.) sobre el efecto pro-depresivo de MCH. Observamos que el efecto pro-depresivo fue únicamente inducido por MCH 50 ng a T30 el cual fue bloqueado por ATC-0175, demostrando que participa el MCHR-1, y nortriptilina, indicando la participación del sistema noradrenérgico. MCH no modificó ningún parámetro del LCE. Confirmamos que el sistema MCHérgico, actuando a nivel del NDR, induce estados comportamentales tipo-depresivos los cuales no se acompañan de cambios en la ansiedad. Financiación: PEDECIBA, ANII.

S1_069 Efectos de la administración de ácido nitro oleico en un modelo murino de Esclerosis Lateral Amiotrófica.

*Rodríguez-Bottero, Sebastián[1 *]; Martínez-Palma, Laura[1]; Miquel, Ernesto[1]; Freeman, Bruce[2]; Trotchanski, Andrés[3]; Rubbo, Homero[3]; Cassina, Patricia[1]*

[*, 1] Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Farmacología y Química Biológica, Universidad de Pittsburgh; [3] Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El estrés nitro oxidativo contribuye a la a la degeneración de las motoneuronas en la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), una enfermedad mortal caracterizada por la perdida progresiva de estas neuronas. Los astrocitos cumplen una función de soporte de la supervivencia neuronal, sin embargo, al expresar una mutación en el gen de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD1) ligada a formas familiares de la enfermedad resultan neurotóxicos para motoneuronas en co-cultivos por mecanismos que dependen del estrés nitro oxidativo. Los nitro alquenos son compuestos con potente actividad antiinflamatoria mediada entre otros mecanismos por la activación del factor de transcripción Nrf2 que induce la expresión de enzimas antioxidantes. En el presente trabajo nos proponemos determinar el potencial farmacológico del acido nitro oleico en el modelo murino de ELA analizando los efectos de la administración de OANO2 sobre los síntomas motores y la expresión de marcadores tisulares en la medula espinal de los animales. La administración subcutánea de nitro oleico (16 mg/kg) tres veces por semana a partir de los 90 días de edad (cercano al inicio de los síntomas) determino un retardo en la edad de inicio de los síntomas y un aumento significativo en la fuerza de agarre de los animales comparado con los animales tratados con el vehículo. Estos síntomas se acompañaron de un aumento en la expresión de hemooxigenasa en la médula espinal de los animales. Estos resultados indican que los nitro alquenos pueden constituir una nueva estrategia farmacológica para el tratamiento de la ELA.

S1_070 Efecto de la hipocretina-1 en el área preóptica medial sobre el comportamiento maternal de la rata

*Rivas, Mayda[1 *]; Benedetto, Luciana[1]; Ferreira, Annabel[2]; Torterolo, Pablo[1]*

[*1] Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Introducción. Durante la lactancia, aumenta la actividad de las neuronas que sintetizan hipocretinas 1 y 2 (HCRT). Asimismo, la administración intracerebroventricular de HCRT modula el comportamiento maternal (CM). Sin embargo, aún se desconoce si las HCRT actúan específicamente en el área preóptica medial (mPOA), área clave en el control del CM. Objetivo. Evaluar el efecto de la microinyección de HCRT-1 en el mPOA en el CM durante el postparto temprano (PPtemprano) y tardío (PPtardío) de ratas lactantes. Métodos. El día 2 u 11 las hembras lactantes fueron implantadas con cánulas guías bilaterales dirigida en el mPOA; tres días luego se evaluó el CM y la actividad locomotora luego de la microinyección de HCRT-1 (100 μM, 0,3 μl) o vehículo en el mPOA en PPtemprano o PPtardío. Resultados. Mientras que en el PPtemprano no se observaron cambios en el CM, en el PPtardío la HCRT-1 aumentó el número de lamidos corporales hacia las crías en comparación con vehículo ($T=2,36$, $p=0,02$), no teniendo efecto en el resto de los componentes maternales, ni en la actividad locomotora. A su vez, la HCRT-1 también aumentó el acicalamiento de la madre ($T=2,52$, $p=0,01$). Conclusiones. El aumento de los lamidos hacia las crías podría indicar un rol facilitador de la HCRT-1 en un componente clave del CM. Sin embargo, el aumento del acicalamiento de la madre podría sugerir que el incremento de los lamidos hacia las crías sea un efecto inespecífico relacionado al estrés. Financiado por PEDECIBA

S1_071 Oligómeros de la proteína alfa-sinucleína inducen disfunción mitocondrial en cultivos primarios de astrocitos corticales

*Chavarría, Cecilia[1 *]; Rodríguez-Bottero, Sebastián [2]; Quijano, Celia[1]; Cassina, Patricia[2]; Souza, José M. [1]*

[*1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La proteína alfa-sinucleína (AS) es el principal componente de los cuerpos de Lewy y la agregación de esta proteína representa un evento clave en un grupo de trastornos, denominados alfa-sinucleinopatías. AS sufre un proceso de fibrilización en el cual participan distintas especies: monómeros, dímeros, oligómeros y fibras tipo amiloide. Recientemente, se ha demostrado que los oligómeros son responsables de la toxicidad de AS. Existen evidencias de que los astrocitos pueden adoptar fenotipos neurotóxicos que inducen la muerte neuronal en enfermedades neurodegenerativas y que estas modificaciones fenotípicas se acompañan de disfunción mitocondrial. Los oligómeros de AS fueron purificados y caracterizados estructuralmente. Los astrocitos corticales expuestos a oligómeros de AS, mostraron modificaciones en la distribución de la inmunoreactividad para la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), fenómeno asociado a la activación astrocitaria. Esto no sucede cuando el cultivo celular es tratado con el monómero y las fibras de AS. A fin de explorar el mecanismo que conduce a dicha activación, evaluamos la función mitocondrial, midiendo el consumo de oxígeno de células intactas tratadas con las diferentes formas de AS, en presencia de inhibidores y desacoplantes de la fosforliación oxidativa. Los oligómeros disminuyen la velocidad máxima de consumo de oxígeno (obtenida en presencia de un desacoplante). El tratamiento con oligómeros también induce la acidificación del medio extracelular, probablemente estimulando la formación de lactato por glucólisis. La activación astrocitaria inducida por los oligómeros de AS, podría ser unos de los mecanismos que desencadena la muerte neuronal presente en las sinucleinopatías. Apoyo beca ANII y ANII-FCE-6260

S1_072 Distribución de fibras MCHérgicas en el tronco encefálico del gato

*Costa, Alicia[1 *]; Castro, Santiago[1]; Torterolo, Pablo[1]*

[*1] Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La hormona concentradora de melanina (MCH) es un neuropéptido sintetizado en neuronas localizadas en el hipotálamo lateral y el área incerto-hipotalámica. Sus funciones biológicas son mediadas por receptores acoplados a proteínas G: MCHR1 y MCHR2. Este último está presente únicamente en carnívoros, primates y el ser humano, haciendo al gato un excelente modelo animal para el estudio de este sistema. Estudios previos han sugerido que la MCH participa en la regulación de funciones tales como la homeostasis energética, el ciclo sueño-vigilia y el control central de la actividad cardiovascular. Las neuronas MCHérgicas constituyen un sistema de inervación difusa a nivel del sistema nervioso central. En el presente trabajo caracterizamos la distribución de la inmunoreactividad MCHérgica en el tronco encefálico del gato, región donde se encuentran varios núcleos vinculados con la regulación del ciclo sueño-vigilia. Se detectaron fibras MCH positivas con sus varicosidades características en varias regiones. Sin embargo, su distribución no es uniforme, presentando zonas con diferentes densidades de inervación. Los mayores niveles de inervación MCHérgica se encontraron en el núcleo dorsal del raphe (DR), el núcleo láterodorsal del tegmento (LDT) y el núcleo pedúnculo pontino (PPT). Nuestros datos ponen en evidencia que, a nivel del tronco encefálico, la principal inervación MCHérgica se encuentra en zonas vinculadas con la regulación del ciclo sueño-vigilia, apoyando la hipótesis de que este neuropéptido ejerce un rol en la regulación del ciclo sueño-vigilia y que nuestro modelo experimental es adecuado para la caracterización de sus funciones en este comportamiento. Financiación: ANII (FCE 2-2011-1-7030); PEDECIBA.

S1_073 Sueño y vigilia durante la lactancia en la rata

*Benedetto, Luciana[1 *]; Pereira, Mariana[2]; Ferreira, Annabel[3]; Torterolo, Pablo[1]*

[*1] Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Center for Molecular and Behavioral Neuroscience, Rutgers University; [3] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Introducción. El sueño es crítico para la lactancia, puesto que solo durante el sueño no-REM (NREM) ocurre la eyección láctea en la rata. Sin embargo, el comportamiento de amamantamiento consiste en una serie de posturas no necesariamente asociadas a la eyección láctea. No se han descrito aún las características del sueño durante esas posturas a lo largo de la lactancia. Objetivo. Caracterizar el sueño y la vigilia durante las distintas posturas de amamantamiento en el postparto temprano (PPtemprano) y tardío (PPtardío). Materiales. Se implantaron electrodos en hembras lactantes para registro polisomnográfico. Se analizó el porcentaje de vigilia, sueño NREM y REM respecto al tiempo total en cada postura de amamantamiento (supina, SUP; low y high kyphosis, LKP y HKP) y fuera del nido en PPtemprano y PPtardío. Resultados. En el PPtemprano, las madres permanecieron principalmente durmiendo mientras amamantaban (NREM: LKP= 70.5 ± 2.6%, HKP= 78.2 ± 6.7%, SUP= 64.0 ± 5.3%; REM: LKP= 8.6 ± 1.4%, HKP= 4.1 ± 2.5%, SUP= 25.8 ± 5.5%) y fuera del nido estuvieron principalmente en vigilia (85.9 ± 8.8%). En el PPtardío disminuyó significativamente el sueño durante el amamantamiento (NREM: HKP= 53.1 ± 16.6%; REM: LKP= 4.7 ± 3.4 %, SUP= 6.9 ± 5.4%) y se redujo la vigilia fuera del nido (63.0 ± 10.3%) en comparación al PPtemprano, sin cambios significativos en los demás parámetros de sueño estudiados respecto al PPtemprano. Conclusiones. El sueño varía de acuerdo a la postura de amamantamiento, al período del postparto, acompasando posiblemente las necesidades de las crías.

POSTERS

S1_074 Variabilidad de la frecuencia cardíaca durante el sueño REM y la cataplejía inducidas por carbacol

*Velásquez, Noelia[1 *]; Brando, Victoria[1]; Castro, Santiago[1]; Cavelli, Matías[1]; Rodriguez, Zulma[1]; Falconi, Atilio[1]; Torterolo, Pablo[1]; Migliaro, Eduardo[1]*

[* 1] Facultad de Medicina, Universidad de la República

La modulación de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) ejercida por el SNC durante el sueño no está totalmente comprendida. Recientemente encontramos en el gato que la representación en el tiempo de los intervalos entre latidos cardíacos (tacograma) se modifica al comparar la vigilia (W) y el sueño. Este muestra un patrón acoplado al ritmo respiratorio durante el sueño no-REM (NREM), mientras que se desorganiza durante el sueño REM (Brando et al, 2014).Las microinyecciones de carbacol en el nucleus pontis oralis (NPO) genera un estado con características fisiológicas indistinguibles a las del sueño REM (REM-carb). También se puede generar un estado disociado de vigilia que se caracteriza por su desincronización del EEG y atonía muscular en un animal alerta (cataplejía).El objetivo de este trabajo fue comparar la VFC y su correlación con la frecuencia respiratoria en: W, sueño natural, REM-carb y cataplejía. Para esto realizamos registros polisomnográficos y electrocardiográficos en gatos preparados crónicamente y registrados en condiciones semirestringidas.Encontramos que la VFC del sueño REM-carb muestra un patrón rítmico, acoplado al ritmo respiratorio, mientras que la de la cataplejía presenta un patrón similar a la W. El análisis en el dominio frecuencias del tacograma muestra que la banda frequencias baja (LF) es significativamente mayor durante el sueño REM natural que en los estados inducidos por carbacol.

S1_075 Caracterización de neuronas serotoninérgicas obtenidas a partir de un cultivo primario de romboencéfalo de embriones de rata

*Saiz, Eugenia[1 *]; Prunell, Giselle[2]; Lagos, Patricia[1]*

[* 1] Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Diversas evidencias han mostrado que una disminución en los niveles de serotonina (5-HT) se relacionan con comportamientos depresivos, por lo que resulta de relevancia poseer un sistema *in vitro* para estudiar la fisiología de las neuronas serotoninérgicas de forma aislada y determinar los efectos de drogas moduladoras sobre la liberación de este neurotransmisor. El objetivo del trabajo fue caracterizar un cultivo primario de neuronas romboencefálicas, enriquecido en neuronas serotoninérgicas. Los cultivos primarios se obtuvieron a partir del romboencéfalo de embriones de ratas (E14) y fueron mantenidos a 37ºC y $CO_2$5% durante 7 o 14 días. Un grupo de células fue fijado y procesado para detectar neuronas serotoninérgicas (5-HT-positivas) y catecolaminérgicas (tirosina hidroxilasa (TH) positivas) por inmunofluorescencia. Se incluyó Hoechst para la visualización de núcleos celulares. Otro grupo de células se procesó para determinar por HPLC-ED los niveles de 5-HT celulares y los liberados al medio en condiciones basales y tratados con KCl. Los resultados muestran que el cultivo presentó células positivas para 5-HT. El promedio de neuronas serotoninérgicas fue de 1,46% y el de TH-positivas fue de 0,17% sobre el número total de células. Por otra parte, fue posible detectar niveles basales de 5-HT tanto en células como en el medio extracelular. Al evaluar la capacidad del sistema a responder a KCl, se detectó un aumento significativo en los niveles de 5-HT liberado pero no intracelularmente. Se necesitan realizar nuevos experimentos para confirmar estos resultados y para identificar otros tipos de fenotipos neuronales presentes en los cultivos.

S1_076 Efecto de la atropina sobre el EEG: ondas lentas y oscilaciones gamma (30-45 Hz) coherentes

*Castro, Santiago[1 *]; Vollono, Patricia[1]; Cavelli, Matias[1]; Velásquez, Noelia[1]; Migliaro, Eduardo[2]; Falconi, Atilio[1]; Torterolo, Pablo[1]*

[* 1] Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Fisiología Cardiovascular, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las oscilaciones en la banda gamma de frecuencia (30-45 Hz) generadas por interacciones entre áreas corticales y subcorticales juegan un rol preponderante en las funciones cognitivas. Recientemente analizamos estas interacciones por medio del análisis cuantitativo del electroencefalograma (EEG), utilizando el algoritmo matemático llamado "coherencia" (Castro et al., European J Neuroscience, 37:1330). Observamos que la coherencia gamma es muy alta durante la vigilia alerta (AW), disminuye en vigilia tranquila (QW) y en sueño no-REM (NREM), desapareciendo durante el sueño REM. Dado que para la generación y mantenimiento de la vigilia es critica la actividad de neuronas colinérgicas que forman parte de los sistemas activadores, estudiamos la coherencia gamma bajo el efecto de la atropina, antagonista colinérgico muscarínico. Cuatro gatos fueron implantados con macroelectrodos en varias regiones corticales para registros polisomnográficos en condiciones semirestringidas. Se administró atropina (0.4 mg/kg i.m.) durante la vigilia y registró durante 4 horas y se analizó la coherencia del EEG entre pares de regiones corticales. Dosis de atropina que aumentan la frecuencia cardíaca y eliminan su variabilidad, generaron un comportamiento de vigilia en presencia de un EEG con ondas lentas similares al sueño NREM. Sin embargo, la atropina generó oscilaciones gamma coherentes, similares a AW. La coherencia gamma fue significativamente mayor a la observada durante QW, NREM y REM ($P<0.0001$). El aumento de la coherencia gamma producida por atropina explicaría la disociación en que un comportamiento de vigilia coexiste con la presencia de ondas lentas características de sueño NREM. Financiado por ANII (FCE 2-2011-1-7030) y PEDECIBA.

S1_077 Bases neurales del comportamiento social en vertebrados anamniotas: peces eléctricos y anuros

*Pouso, Paula[1 *]; Silva, Ana[2]*

[* 1] Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República - Unidad Bases Neurales de la Conducta, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Unidad Bases Neurales de la Conducta, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable - Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La enorme diversidad interespecífica que exhibe el comportamiento social ha dificultado la comprensión de las reglas generales que gobiernan sus bases neurales. En vertebrados se postula que el comportamiento social es controlado por una red altamente conservada, la red del comportamiento social (RCS). A cada situación conductual corresponde un patrón de actividad en dicha red, modulado por factores endógenos (hormonas esteroideas, neuropéptidos) y exógenos (ambiente y contexto social).Planteamos buscar diferencias anatómicas y funcionales en el patrón de actividad de la RCS en especies filogenéticamente emparentadas pero con distinto grado de asociación (peces eléctricos: B. gauderio versus G. omarorum). Asimismo exploraremos el patrón de actividad de la RCS en dos especies de vertebrados no emparentadas que poseen similar grado de asociación esperando encontrar similitudes (B. gauderio versus el anuro H. pulchellus).Nos enfocamos en el Área Preóptica (APO) del cerebro de machos de las tres especies y realizamos su descripción neuroanatómica, reconstrucción tridimensional e inmunoidentificación de neuronas que contienen vasotocina (AVT), isotocina (IST) y receptores androgénicos. Para medir activación neuronal del APO desarrollamos la técnica de inmunohistoquímica para FOS. En B. gauderio, desarrollamos protocolos conductuales para la técnica de FOS. Los resultados muestran que el APO de machos que reciben estímulo social posee mayor expresión de FOS respecto a los que no reciben estímulo. Asimismo el sector caudal del APO expresa menos FOS que el sector rostral. También realizamos doble y triple inmunomarcados de neuronas (AVT/FOS, IST/FOS, AVT/IST/FOS). Actualmente estamos diseñando protocolos conductuales para las otras especies. Financiado por PEDECIBA.

S1_078 Relación entre la estructura molecular de flavonas naturales y algunos mecanismos implicados en la protección neuronal frente a un daño oxidativo

*Echeverry, Carolina[1 *]; Arredondo, Florencia[1]; Martinez, Marcela[1]; Abin Carriquiry, Juan Andres[1]; Midiwo, Jacob[2]; Dajas, Federico[1]*

[*1] Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Department of Chemistry, University of Nairobi

Existen pocos estudios focalizados en el análisis de la relación entre la estructura de las flavonas y la neuroprotección. Esto sería de suma importancia para el desarrollo de nuevas moléculas para el tratamiento de neuropatologías. Previamente hemos descripto los determinantes estructurales necesarios para la neuroprotección de algunas flavonas naturales en cultivo primario de neuronas granulares del cerebelo contra un estímulo oxidativo (H2O2). En el presente trabajo se evaluó la actividad antioxidante, los niveles de calcio intracelular, el pool de hierro lábil celular y la biodisponibilidad celular de flavonas neuroprotectoras y no-neuroprotectoras en el paradigma experimental utilizado previamente. Los resultados mostraron que el daño oxidativo celular producido por H2O2 fue prevenido por todas las flavonas estudiadas. El pool de hierro lábil no fue modificado por ninguna de las flavonas. Las flavonas neuroprotectoras no alteran la homeostasis del Ca2+, y solo la fisetina, flavona no protectora, produce una disminución del Ca2+ intracelular. Por último, los estudios de biodisponibilidad celular muestran que las flavonas metiladas en el grupo catecol del anillo B son más estables. Si bien estas moléculas presentan una menor actividad antioxidante igual mantienen la capacidad neuroprotectora. Su estabilidad y su menor toxicidad identifican a estas flavonas metiladas como modelos moleculares de posible uso clínico.

S1_079 Efecto de la fluoxetina sobre la actividad de neuronas MCHérgicas y no MCHérgicas del hipotálamo posterolateral

*Pascovich, Claudia[1 *]; Rivas, Mayda[1]; Schwarkopf, Natalia[1]; Deutsch, Helena[1]; Vollono, Patricia[1]; Lagos, Patricia[2]; Falconi, Atilio[1]; Torterolo, Pablo[1]*

[*1] Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La depresión mayor (DM) es una enfermedad frecuente, cuyos mecanismos fisiopatológicos no son claramente conocidos. En el hipotálamo postero-lateral (HPL), sitio importante de control homeostático, es donde se localizan las neuronas que sintetizan el neuromodulador hormona concentradora de melanina (MCH). El sistema MCHérgico está involucrado en la DM destacándose que antagonistas del receptor-1 de MCH tienen un efecto antidepresivo en modelos animales, y el tratamiento con fluoxetina (antidepresivo inhibidor de la recaptación de serotonina) disminuye las concentraciones de MCH en el LCR. Por lo tanto, nuestra hipótesis es que la fluoxetina produciría una inhibición la descarga de las neuronas MCHérgicas. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la fluoxetina sobre neuronas MCHérgicas del HPL. En ratas anestesiadas, se realizaron registros neuronales extracelulares en el HPL mediante micropipetas dobles y se administró fluoxetina yuxtacelularmente. Las neuronas registradas fueron marcadas con neurobiotina e identificadas mediante doble inmunohistoquímica para neurobiotina y MCH. La aplicación de fluoxetina (1,25 $\mu g/\mu l$) disminuyó la frecuencia de descarga de las neuronas del HPL (8 en 9) desde una frecuencia de 5,4 $\pm$ 5,7 a 2,5 $\pm$ 3,2 Hz con una latencia de 12,3 $\pm$ 16,3 s y una duración del efecto de 86 $\pm$ 60 s. De 4 neuronas marcadas con neurobiotina, una resultó ser MCHérgica y las otras 3 no-MCHérgicas. El vehículo no provocó efecto significativo. Concluimos que la fluoxetina disminuye la actividad tanto de neuronas MCHérgicas como no MCHérgicas del HPL. Financiado por ANII (FCE-1-2011-1-5997) y PEDECIBA.

S1_080 Activación de la vía Nrf2-ARE por flavonoides: estudio de su papel en el efecto neuroprotector y de los requerimientos estructurales necesarios para su activación

*Arredondo, Florencia[1 *]; Echeverry, Carolina[1]; Prunell, Giselle[1]; Abin-Carriquiry, Juan Andrés[1]; Carvalho, Diego[2]; Antunez, Karina[3]; Dajas, Federico[1]*

[*1] Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de experimentación y teoría de la estructura de la materia y sus aplicaciones (DETEMA), Facultad de Química, Universidad de la República; [3] Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Previamente describimos el efecto neuroprotector del flavonoide quercetina frente a estrés oxidativo en cultivos neuronales primarios. En este modelo, quercetina produjo la activación de la vía Nrf2-ARE, y aumentó la expresión de genes ARE que codifican para las enzimas gama-GCL y HO-1, así como también los niveles totales de GSH y de HO-1. En este trabajo, mediante la inhibición farmacológica de gama-GCL y HO-1, evaluamos si el efecto neuroprotector de quercetina involucra la activación de estos sistemas de defensa dependientes de la vía Nrf2-ARE. Asimismo, estudiamos los requerimientos estructurales para la activación de Nrf2-ARE, analizando la relación estructura-actividad para la inducción de luciferasa por flavonoides similares a quercetina en células PC12 ARE4-LUC. Por último analizamos la relación entre el efecto inductor de estos flavonoides y su capacidad citoprotectora frente a un daño oxidativo. Los ensayos de inhibición farmacológica mostraron que el efecto neuroprotector de la quercetina involucra en parte la activación de la vía Nrf2, donde el sistema antioxidante del GSH sería relevante en este efecto. El análisis de relación estructura-actividad mostró que en estos compuestos la planaridad sería un componente estructural importante para la activación de esta vía, mientras que el anillo A no lo sería. Resultados preliminares muestran una relación directa entre el efecto inductor de la vía y la capacidad citoprotectora de estos flavonoides. Estos hallazgos presentan a la modulación de sistemas de defensa endógena dependientes de Nrf2-ARE por parte de flavonoides, como un interesante blanco de estudio con potencial papel protector frente a procesos neurodegenerativos.

S1_093 El modulador metabólico dicloroacetato reduce la hiperalgesia y la reactividad glial en un modelo de dolor inflamatorio crónico.

*Lagos, Valentina[1 *]; Martínez-Palma, Laura[1]; Lago, Natalia[2]; Cassina, Patricia[1]*

[*1] Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo

La reactividad glial en la médula espinal ha sido detectada en modelos de dolor crónico. Nuestro grupo ha reportado que la reactividad glial que presentan los modelos animales de la enfermedad humana Esclerosis Lateral Amiotrófica se asocia a disfunción mitocondrial. La modulación metabólica mitocondrial por la administración de dicloroacetato (DCA) redujo la reactividad glial y prolongó la supervivencia de los animales afectados. En el presente trabajo evaluamos la eficacia del tratamiento con DCA en el modelo de dolor crónico por inyección intraplantar de adyuvante completo de Freund (ACF) en ratas adultas macho. Luego de la inyección se les administró DCA (500 mg / L) en el agua de beber. Se evaluó la sensibilidad mecánica mediante la aplicación de fibras de von Frey a la superficie plantar y luego de 14 días los animales se sacrificaron y se procesó la médula espinal para inmunofluorescencia contra GFAP (astrocitos) e Iba-1 (microglía). La inyección intraplantar de ACF generó la hiperalgesia mecánica ipsilateral esperada, en comparación con las respuestas de la pata posterior contralateral. El tratamiento con DCA redujo significativamente la hiperalgesia ipsilateral en comparación con el grupo no tratado, sin afectar la sensibilidad contralateral. El análisis de la médula espinal, mostró disminución de la inmunoreactividad para GFAP y Iba-1 en el asta dorsal ipsilateral de los animales tratados con DCA. Estos resultados sugieren que la administración de DCA puede ofrecer una alternativa terapéutica para contribuir al tratamiento de dolor crónico.

S1_094 Estudio *in vitro* de las bases neurales del repertorio electromotor en *Gymnotus omarorum.*

Comas, Virginia[1 *]; *Borde, Michel*[1]

[* 1] Laboratorio de Neurofisiología Celular&Sináptica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

En Gymnotiformes, diversos contextos comportamentales asocian modulaciones específicas de la descarga de su órgano eléctrico (DOE). El repertorio de modulaciones que exhibe cada especie resulta del patrón de inervación del núcleo electromotor bulbar (NEB), origen del comando rítmico para la DOE. En esta etapa, analizamos in vitro las características de la inervación glutamatérgica de las células marcapaso (cMP) y de relevo (cR) que componen el NEB en Gymnotus omarorum utilizando técnicas electrofisiológicas y farmacológicas. Las respuestas a la aplicación yuxtacelular de microvolúmenes de glutamato (10mM) y de sus agonistas específicos para los diversos subtipos de receptores (100-500μM), indican la presencia de receptores funcionales de tipo NMDA, AMPA y metabotrópicos en las cMP, y no en las cR. La estimulación eléctrica de aferentes al NEB provocó aceleraciones transitorias de la descarga espontánea que se bloquearon parcialmente por CNQX (20μM) y AP5 (50μM), antagonistas no-NMDA y NMDA, respectivamente. El cociente entre los componentes NMDA y AMPA de las respuestas a la estimulación de aferentes (0.84 ± 0.24, $n=12$) y a la aplicación de glutamato (0.73 ± 0.24, $n=14$) difiere marcadamente del de los contactos glutamatérgicos clásicos (AMPA-NMDA) de mamíferos adultos ($\sim$0.25), sugiriendo la coexistencia de contactos clásicos y solo-NMDA sobre las cMP. La presencia de receptores glutamatérgicos exclusivamente en las cMP del NEB acota el repertorio de modulaciones de la DOE en esta especie. Estos receptores pueden ser activados a través de contactos tanto AMPA-NMDA como sólo-NMDA ofreciendo un eventual sustrato para la segregación funcional de aferentes al NEB y para el desarrollo de fenómenos plásticos.

S1_095 Estudio de internalización de la hormona concentradora de melanina (MCH) y su receptor MCHR-1 en ratas: puesta a punto de un protocolo de microinyección

Ruiz-Viroga, Vicente[1 *]; *Urbanavicius, Jessika*[2]; *Torterolo, Pablo*[3]; *Lagos, Patricia*[1]

[* 1] Laboratorio de Neurotransmisión Peptídica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [3] Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Introducción: La MCH es un neuropéptido sintetizado por neuronas del hipotálamo que proyectan a numerosos núcleos, entre ellos el núcleo dorsal del rafe (NDR). Hemos puesto en evidencia que la MCH a nivel del NDR regula funciones como el sueño y el estado de ánimo, a través de mecanismos serotoninérgicos. Estos efectos estarían mediados por el receptor MCHR-1, aunque aún se desconoce qué fenotipos neuronales del NDR lo expresan. Objetivo: Debido a que la MCH es internalizada con su receptor al activarlo, este trabajo consistió en el desarrollo de una metodología in vivo para estudiar la dinámica de internalización e identificar si las neuronas serotoninérgicas expresan el MCHR-1, utilizando como herramienta la MCH marcada con rodamina (MCH-ROD). Metodología: La MCH-ROD se microinyectó en el NDR (0.1 μl) o intracerebroventricular (i.c.v., 10 μl) en ratas macho anestesiadas y colocadas en un estereotáxico. Los animales fueron perfundidos (NaCl 0,9% y paraformaldehído 4%) 10, 20 y 60 minutos luego de la microinyección. Luego los cerebros fueron cortados en crióstato y procesados para inmunohistoquímica contra serotonina. Resultados y conclusiones: Sesenta minutos luego de la administración intra-NDR se observó señal positiva de ROD en células no-serotoninérgicas; a los otros tiempos no se observó marca. Luego de 10 y 20 minutos de la microinyección i.c.v. se observó señal positiva principalmente en el epéndimo y en elementos celulares del NDR. Basados en los resultados obtenidos hasta ahora, ajustes en los protocolos son necesarios para determinar si las neuronas serotoninérgicas expresan el MCHR-1 y su dinámica de internalización. Financiación: ANII (FCE-2011-5997, Beca Maestría V. R-V), PEDECIBA, Universidad de la República.

S1_096 La inducción farmacológica de estrés de retículo causa neurodegeneración estriatal: validación de un modelo de Enfermedad de Huntington

Barreto, Romina[1 *]; *Díaz-Amarilla, Pablo*[2]; *Ibarburu, Sofía*[1]; *Trias, Emiliano*[1]; *Olivera-Bravo, Silvia*[2]; *Barbeito, Luis*[3]

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable - Institut Pasteur de Montevideo; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [3] Institut Pasteur de Montevideo

La Enfermedad de Huntington (EH) es un desorden neurodegenerativo genético hereditario progresivo y fatal, causado por una expansión de poliglutamina en la proteína huntingtina. Se caracteriza por la neurodegeneración selectiva de neuronas los ganglios basales y reactividad glial. La patogenia de la EH es no-autónoma celular, lo que implica que la expresión de la mutación en las células gliales contribuye a la muerte neuronal. Por otro lado, se cree que el daño celular causado por las mutaciones en la huntingtina está relacionado con la inducción de "estrés" de retículo endoplásmico (Estrés ER). En el presente trabajo desafiamos la hipótesis que la inducción farmacológia de estrés ER es suficiente para provocar una degeneración estriatal. Para esto, ratas adultas fueron inyectadas por vía intra-cerebro-ventricular con Tunicamicina, una toxina que induce estrés ER. El tratamiento con Tunicamicina no provocó ningún síntoma hasta 4-6 días luego de la inyección. Sin embargo, a partir de ese tiempo, las ratas desarrollaron un síndrome neurológico progresivo caracterizado por espasticidad, mioclonía y disminución de fuerzas en miembros delanteros. El análisis patológico, mostró una atrofia estriatal (y de otros ganglios basales) y aumento del volumen ventricular. A nivel neuronal, se observó un aumento de la expresión de BIP, una proteína que se sobreexpresa en el estrés ER. Por fin, se detectó una fuerte activación de astrocitos y microglias. Es conclusión, la inducción de estrés ER por tunicamicina aparece como un modelo novedoso para estudiar degeneración estriatal.

S1_097 Modulación por quimioterapia anti-mitótica de la reactividad glial asociada a la neurodegeneración en un modelo animal de ELA

Ibarburu, Sofía[1 *]; *Trias, Emiliano*[1]; *Barreto, Romina*[1]; *Díaz-Amarilla, Pablo*[1]; *Olivera-Bravo, Silvia*[1]; *Barbeito, Luis*[2]

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Institut Pasteur de Montevideo

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa, caracterizada por parálisis muscular progresiva, como resultado de la muerte selectiva de motoneuronas. Nuestro grupo ha logrado aislar una sub-población de glias con fenotipo aberrante, denominadas AbAs, que contribuyen a la muerte de motoneuronas en un modelo de ELA, en ratas que expresan la mutación hSOD1G93A. Las células AbAs se caracterizan por una alta tasa proliferativa en ratas sintomáticas e inducir factores neurotóxicos. El objetivo del presente trabajo fue determinar si la quimioterapia con el agente anti-neoplásico alquilante Busulfan, puede disminuir el número de células AbAs en la médula espinal degenerante de ratas SOD1. El Bulsulfan fue inyectado por vía intraperitoneal (25mg/Kg) durante 4 días, en ratas con síntomas de parálisis muscular. Luego, las ratas fueron sacrificadas y analizadas por inmmunohistoquímica. El tratamiento con Busulfan causó una eliminación del 75% de células AbAs, así como una disminución significativa de la microgliosis y la proliferación celular en el asta ventral. En otro experimento, se realizó el tratamiento con Busulfan para depletar las células AbAs en la médula espinal y a las 24 horas se realizó el cultivo para obtener células AbAs in vitro. El tratamiento con busulfan disminuyó significativamente el número de células aisladas, y no se pudieron obtener células AbAs. Estos resultados permiten concluir que las células AbAs son sensibles a la quimioterapia anti-neoplásica y que su eliminación modula negativamente algunos marcadores neuroinflamatorios. En futuros experimentos se estudiará la posible adaptación de este tratamiento para modificar el curso de la enfermedad.

S1_098 Máximo desacoplamiento de la actividad gamma (30-100 Hz) del EEG durante el sueño REM. Un rasgo conservado del sueño REM en los mamíferos.

*Cavelli, Matías[1 *]; Castro, Santiago[1]; Falconi, Atilio[1]; Igarzabal, Horacio[1]; Schwarzkopf, Natalia[1]; Torterolo, Pablo[1]*

[*1] Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las funciones cognitivas como la percepción, las memorias y actos motores complejos requieren la coordinación e integración de grandes poblaciones de neuronas en regiones corticales y subcorticales. Las oscilaciones de alta frecuencia (30-100 Hz) del electroencefalograma, se postula son producto de estas interacciones y están involucrados en la integración temporal de los eventos neurales distribuidos, lo que resulta en una experiencia perceptual unificada. El alcance de estas interacciones puede ser examinada mediante el algoritmo matemático llamado "coherencia", que refleja la "fuerza" de las interacciones funcionales entre diferentes áreas. El presente estudio se realizó para analizar la coherencia de EEG de la banda gamma durante la vigilia (W), el sueño no-REM (NREM) y el sueño REM. Ratas fueron implantadas con electrodos en diferentes cortezas para monitorear la actividad del EEG. La coherencia de la banda gamma fue analizada dentro de los rangos 30-48 y 52-100 Hz. Los valores mínimos de coherencia en la banda gamma del EEG para todas las combinaciones de cortezas analizadas, siempre fueron encontrados durante el sueño REM. Concluimos que las interacciones funcionales de alta frecuencia entre áreas corticales son radicalmente distintas entre la vigilia y el sueño. La reducción de la coherencia gamma durante el sueño REM puede ser la base del procesamiento cognitivo característico durante los ensueños. Dado que esta característica se conserva en otros mamíferos, incluidos los humanos, consideramos que este desacoplamiento de la actividad gamma durante el sueño REM es un rasgo definitorio del sueño REM en los mamíferos. Financiamiento: PEDECIBA y ANII

S1_099 Caracterización primaria de un oscilador neural del SNC en vertebrados: El núcleo electromotor bulbar de *Gymnotus omarorum*.

*Vitar, Magdalena[1 *]; Comas, Virginia[1]; Borde, Michel[1]*

[*1] Laboratorio de Neurofisiología Celular&Sináptica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

En los Gymnotiformes, el comando neural para la descarga del órgano eléctrico (DOE), eferencia del sistema electromotor, se origina en el núcleo electromotor bulbar (NEB). El NEB es considerado un oscilador endógeno circuital cuyo desempeño depende tanto de las propiedades electrofisiológicas intrínsecas de las neuronas que lo componen -marcapaso y de relevo- como de la conectividad intranuclear. En *Gymnotus omarorum*, se analizó la configuración temporal de las señales producidas por la actividad rítmica del sistema electromotor a dos niveles: la DOE y los potenciales generados por la actividad del NEB, utilizando herramientas estadísticas básicas para la caracterización de series temporales periódicas. A temperatura ambiente (19-22ºC), durante 1min se obtuvieron registros de la DOE (cabeza-cola) de ejemplares juveniles (12-17cm, n=25) en condiciones de reposo sin actividad motora detectable y de la descarga del NEB (dNEB) en rodajas de tronco encefálico (n=28) en diversas circunstancias experimentales. Los intervalos de la DOE y de la dNEB (38.22±8.39ms y 48.19±6.51ms, respectivamente) mostraron diferencias significativas ($p<0.0001$). El coeficiente de variación de la DOE fue significativamente mayor (2.77x10-2 vs 0.35x10-2, $p<0.0001$). La distribución de intervalos de ambas señales mostró un sesgo a la izquierda con un coeficiente de asimetría de Fisher de -0.414 y -0.019, para la DOE y la dNEB, respectivamente ($p=0.0024$). La dispersión de la distribución de intervalos de la dNEB y su asimetría se redujeron en presencia de bloqueantes glutamatérgicos sugiriendo que las entradas sinápticas glutamatérgicas al NEB contribuyen a la variabilidad de la estructura temporal de la descarga en el sistema electromotor.

S1_100 Procesamiento cognitivo de operaciones lógicas simples en seres humanos

*Piffaretti, Marcela[1 *]; Caputi, Angel[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Objetivos: 1) explorar los tiempos de procesamiento de operaciones lógicas simples (Y,OY,XOR) 2) explorar si existe una actividad electroencefalográfica común asociada con el procesamiento lógico o si ésta es específica de cada operación. Métodos: en 5 sujetos se registró el tiempo de reacción en un experimento "go/no go" (48 vs 48 ensayos), frente a la presentación de un estímulo consistente en un círculo con 6 sectores iguales, 3 de los cuales presentaban un color homogéneo y se intercalaban con una distribución al azar de colores, pixel a pixel. Se solicitó identificar la presencia de los colores amarillo, azul. El sujeto decidió sobre el valor de verdad de las consignas: "azul o amarillo están presentes", "azul y amarillo están presentes", "azul y/o amarillo están presentes". Durante el mismo experimento se registró la actividad electroencefalográfica utilizando el sistema 10-20. Resultados: 1) los tiempos de reacción se correlacionaron bien con la complejidad de la operación (minimum description length) 2) existe una diferencia significativa entre las respuestas provocadas por el estímulo durante la realización de cada tarea y los controles resultantes de la observación pasiva de la misma serie de estìmulos3) entre 200 y 300 ms se observan diferencias tarea- específicas en las respuestas de las regiones posteriores de ambos hemisferios. Conclusiones: hemos puesto en evidencia diferencias en la capacidad de procesamiento de las operaciones lógicas más simples e identificado signos electroencefalográficos específicos de las mismas.

S1_101 Exosomas derivados de astrocitos: Nuevo mecanismo que media la neurotoxicidad glial

*Miquel, Ernesto[1 *]; Cassina, Patricia[1]*

[*1] Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Estudios en modelos animales de Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) (ratas y ratones con la mutación SOD1G93A) han mostrado que los astrocitos presentan un fenotipo tóxico para motoneuronas. Esto ha sido vinculado a diversos procesos como estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. Sin embargo se desconocen los mecanismos exactos de la neurotoxicidad. Recientemente se han descrito alteraciones en las vías secretoras de los astrocitos SOD1G93A y específicamente cambios en la liberación y contendido de microvesículas extracelulares, los exosomas, con efectos nocivos para motoneuronas. En este trabajo exploramos las propiedades de los exosomas liberados por astrocitos SOD1G93A y los efectos de la modulación de la actividad mitocondrial sobre esta vía de secreción. Purificamos exosomas a partir del medio de cultivo de astrocitos SOD1G93A y no transgénicos y los caracterizamos por su morfología utilizando microscopía electrónica de transmisión y por su contenido de proteínas específicas. El medio de cultivo de astrocitos SOD1G93A resulta tóxico para motoneuronas aisladas, pero dicha toxicidad se perdió al remover los exosomas del medio. Además, los exosomas obtenidos de astrocitos SOD1G93A son suficientes para inducir la muerte de motoneuronas. Previamente hemos demostrado que estimular la actividad mitocondrial de los astrocitos presenta efectos beneficiosos en este modelo. La estimulación de la actividad mitocondrial alteró la expresión de proteínas vinculadas a la vía exosomal y los exosomas de astrocitos con actividad mitocondrial inhibida resultaron tóxicos para motoneuronas. En conjunto, estos resultados destacan la modulación de la vía exosomal como un blanco promisorio para futuras terapias para la ELA.

POSTERS

S1_102 Caracterización del par CD200-CD200R en lesión de médula espinal

*Silva Santisteban, Alejandra[1 *]; Peluffo, Hugo[1]; Lago, Natalia[1]*

[*1] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo

La modulación de la inflamación tras lesiones agudas del Sistema Nervioso Central puede ser relevante para estimular neuroprotección. En este sentido, estamos evaluando el potencial terapéutico de diferentes receptores inmunes con capacidad de regular microglía/macrófago, neutrófilos, mastocitos, entre otros. En concreto, el par CD200-CD200R está involucrado en el mantenimiento del estado de reposo de células microgliales; la ausencia de CD200 exacerba la respuesta inflamatoria en situaciones neuropatológicas, por lo que la modulación del par puede ser una estrategia para reducir el daño. El objetivo del presente trabajo es caracterizar la expresión del par CD200-CD200R y evaluar el efecto de su modulación en un modelo animal de lesión traumática medular por hemisección lateral. Se caracterizó la expresión del par CD200-CD200R a diferentes tiempos post-lesión mediante inmunohistoquímica y RT-PCR. Observamos un incremento en el marcaje de CD200R correlacionado con el aumento de microglía/macrófagos, así como expresión de CD200 en el neuropilo de la sustancia gris. Luego evaluamos si el bloqueo de la unión CD200-CD200R, mediante la administración intraquirúrgica de antiCD200R tras la lesión medular, variaba la respuesta inflamatoria. Mediante pruebas comportamentales observamos que la recuperación funcional, luego de 7 días post-lesión, fue inferior en el grupo antiCD200R con respecto al grupo control, estando correlacionado con una mayor área de cicatriz glial (GFAP). En conclusión, el bloqueo del par CD200-CD200R exacerba la inflamación aumentando la extensión lesional, por lo que su modulación puede contribuir en la disminución del daño.

S1_103 Efecto del ambiente social temprano en la organización del comportamiento maternal en la rata.

*Uriarte, Natalia[1 *]; Fernández, María Victoria[1]; Ferreira, Annabel[2]*

[*1] Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En la rata, la cópula durante el estro posparto origina una composición familiar compleja que consiste en la madre conviviendo con dos camadas de diferentes edades temporalmente superpuestas en el nido. Como consecuencia, las crías neonatas reciben estimulación no solo a través de la interacción con su madre y hermanos de la misma camada, sino también de los juveniles de la camada anterior, que desarrollan comportamiento maternal (CM). De esta forma, los neonatos criados en camadas superpuestas (CSP) reciben un patrón de estimulación maternal diferente de aquellos criados en camadas simples (CS). Basándonos en estos antecedentes y en evidencias que indican que las variaciones en el CM se transmiten entre generaciones, el objetivo de este trabajo fue comparar las características de las camadas y el CM de madres criadas en CSP y CS. No encontramos diferencias en la tasa de preñez, el tamaño y composición de las camadas al parto entre ambos grupos. La frecuencia total de los diferentes componentes del CM tampoco difirió, sin embargo detectamos una reorganización del patrón temporal de algunos de sus componentes -lamido anogenital, tiempo en contacto con crías- en las madres CSP. Estos resultados, junto a resultados previos donde variaciones en el comportamiento afectivo de individuos de CSP, indican que a partir de la diversidad de ambientes sociales tempranos pueden originarse perfiles comportamentales diferentes sin comprometer el éxito reproductivo de los individuos. Este fenómeno, producto de diferentes tipos de apareamiento (estro posparto vs. regular), podría contribuir a la variabilidad comportamental observada en poblaciones naturales.

S1_104 Análisis del transcriptoma de axones mielínicos mediante secuenciación masiva

*Farias, Joaquina[1 *]; Di Paolo, Andrés[1]; Canclini, Lucía[1]; Sotelo-Silveira, José[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Estudios recientes realizados en neuronas en cultivo caracterizaron por primera vez el transcriptoma de axones inmaduros *in vitro*, revelando la presencia de una gran diversidad de ARNm en dichos axones. Sin embargo, cuáles ARNm están presentes en axones mielinicos maduros es todavía una gran incógnita. Para contribuir a responder dichas interrogantes se aislaron axoplasmas de axones maduros y mielinizados de raíces ventrales de ratas mediante micro-disección de axones *in toto*. Luego de evaluar la pureza de la muestra se procedió a la secuenciación y caracterización de las secuencias obtenidas. Como punto de referencia de composición molecular se utilizó la raíz ventral completa. Las muestras de axoplasmas fueron exitosamente aisladas; los marcadores gliales (mensajeros de Mbp, Mag y Pmp22) disminuyeron considerablemente con respecto a raíces ventrales, en cambio, los marcadores neuronales (mensajeros de neurofilamentos) aumentaron. Luego de la secuenciación, se mapearon las lecturas y se identificaron 629 transcriptos diferentes, muchos de ellos no reportados en este compartimiento celular previamente. Este conjunto de transcriptos está particularmente enriquecido en mensajeros asociados a proteínas de unión al ARN, como ZBP1 y Stau2, así como también al motor molecular MyoVa. Luego de analizar la expresión, se constató que los mensajeros más expresados codifican proteínas mitocondriales (codificadas tanto por el genoma mitocondrial como el nuclear), así como también proteínas asociadas al citoesqueleto, entre otras. Este trabajo es el primero en iniciar la caracterización masiva de transcriptos provenientes de axones maduros, contribuyendo de esta manera al conocimiento de los procesos involucrados en el mantenimiento axonal.

Neurociencias: Plasticidad - Sesión 1

S1_105 Analysis of histone variants and postranslational modifications in plasticity models of the mouse visual cortex

*Bornia, Natalia[1 *]; Vierci, Gabriela[1]; Ruiz Perera, Lucia M.[1]; Muniz, Mariana[1]; Rossi, Francesco Mattia[1]*

[*1] Laboratorio de Neurociencia- Neuroplasticity group, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Epigenetic control of gene expression has been shown to have a role in determining the level of plasticity in the visual cortex (VC). The aim of this work is to identify key players in the epigenetic control of plasticity comparing the amount of histone variants and posttranslational modifications (PTMs) in the VC of juvenile mice with high plasticity, adults with low plasticity and adults with high plasticity restored by fluoxetine treatment. Histone enriched samples were obtained from the mouse VC by acid extraction. The presence of histones was confirmed by the banding pattern on SDS gel, western blot and mass spectrometry. Acid-extracted samples were run on 2D-PAGE systems employing combinations of acetic acid/urea (AU), acetic acid/urea/Triton X-100 (AUT) and SDS gel formulations. This method allowed the effective resolution of approximately 200 spots in AUT/SDS gels and 100 spots in AUT/AU gels. Preliminary analysis by mass spectrometry identified the major histone variants and possible PTMs, and also other proteins already known to play a role in plastic processes (cofilin-1, ciclophylin A, Myelin Basic Protein, NADH dehydrogenase). Image analysis of the gels allowed the identification of a dynamic regulation of the level of these proteins in the different plasticity conditions. Further experiments are needed to confirm these proteins as potential candidates in the control of cortical plasticity.

S1_106 RECEPTORES PARA SEMAFORINAS: NEUROPILINAS-1 Y -2 EN LA DENERVACIÓN SIMPÁTICA DEL ÚTERO EN RESPUESTA AL ESTRÓGENO

*Richeri, Analía[1 *]; Martínez, Gaby[1]; Brauer, Mónica[1]*

[*1] Lab.de Biología Celular-Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable-MEC

En estudios previos demostramos que en el útero, el estrógeno induce la expresión de varias semaforinas con efectos inhibitorios para los nervios simpáticos, incluyendo Sema3F, Sema3G y Sema3A. Para explorar si estas señales están involucradas en la neurodegeneración simpática provocada por el estrógeno, evaluamos por inmunohistoquímica si las fibras nerviosas intrauterinas y los somas de las neuronas que proyectan al útero expresan receptores para estas semaforinas, las neuropilinas-1 y -2 (NRP1 y NRP2). Se utilizó como modelo el tratamiento crónico con estrógeno a ratas prepúberes y las neuronas de proyección uterina fueron trazadas retrógradamente. A nivel del útero, demostramos que en los animales tratados con estrógeno, una población de fibras nerviosas terminales adquiere inmunoreactividad para NRP2, lo que las haría receptivas a las acciones inhibitorias iniciadas por Sema3F y Sema3G. No se visualizó inmunoreactividad para NRP2 en los somas neuronales. Contrariamente, observamos inmunoreactividad para NRP1 en los somas neuronales de los animales control y tratados con estrógeno, no detectándose variaciones en respuesta al tratamiento. A nivel uterino, no se observaron fibras nerviosas positivas para NRP1. Sin embargo, se detectó inmunoreactividad asociada a los vasos sanguíneos, lo que sugiere que la vía Sema3A/NRP1 podría estar involucrada además con procesos de angiogénesis. Los patrones de expresión revelados son consistentes con un potencial rol de las vías Sema3F-3G/NRP2 y Sema3A/NRP1 en la plasticidad de los nervios simpáticos uterinos. Complementariamente, la detección preliminar de inmunoreactividad para NRP1 en neuronas sensoriales de proyección uterina podría explicar el desbalance simpático-sensorial que ocurre en el útero estrogenizado.

S1_107 Análisis de la proliferación celular y la neurogenesis en la Zona Ventricular Telencefalica de Austrolebias charrua adultos

*Torres, Maximiliano[1 *]; Rosillo, Juan Carlos[1]; Olivera, Silvia [1]; Casanova, Gabriela[2]; Fernández, Anabel[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Unidad de Microscopía ELectrónica, Facultad de Ciencias

En el cerebro de Austrolebias charrua existen múltiples lugares con actividad proliferativa y neurogénica. Uno de ellos es la zona ventricular telencefalica (ZVT) donde hay una marcada proliferación celular en las paredes ventriculares. Con el objetivo de identificar y cuantificar las células proliferantes de la ZVT, seis machos adultos de A. charrua, fueron inyectados intraperitonealmente con análogos halogenados de la timidina: iododesoxiuridina (IdU: día 1) y clorodesoxiuridina (CldU: día 30). Estos marcadores de proliferación celular se combinaron con anticuerpos neuronales específicos (HUC/D) y gliales (vimentina, BLBP) empleando inmunohistoquímica y microscopía confocal. Otros dos ejemplares adultos fueron procesados para observación de la ZVT con microscopía electrónica de trasmisión. El análisis de las células proliferativas IdU/CldU+ mostró tres tipos de poblaciones celulares: a) células migrantes IdU+ (58% del total proliferante), b) células CldU+ (30%) y c) células doble marcadas IdU+/CldU+ (13%). La permanencia de estas últimas en las zonas proliferativas lindantes con los ventrículos y su doble marcado, indican su reentrada al ciclo celular y permiten proponerlas como candidatas a células madre neurales. Algunas de estas células doble marcadas mostraron ser además positivas a Vimentina y a BLBP. En esta zona también se constató neurogénesis mediante el uso del HuC/BrdU. El análisis al microscopio electrónico de transmisión revela que muchas de estas células tienen morfología de glía radial, provistas de un único cilio y con uniones intercelulares propias de las células de las paredes ventriculares.

S1_108 Señalización purinérgica en un nicho de células madre de la médula espinal: ondas de Ca^{+2} y su implicancia para la reparación endógena.

*Marichal, Nicolás[1 *]; Fabbiani, Gabriela [1]; Trujillo-Cenóz, Omar [1]; Russo, Raúl[1]*

[*1] Departamento de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El canal central (CC) de la médula espinal conserva distintos tipos de células progenitoras organizadas en dominios mediales y laterales. En los cuadrantes laterales, las células combinan características de ependimocitos y glías radiales (GRs) mientras que en los polos dorsal y ventral persisten GRs con propiedades activas de membrana. Estás células reaccionan frente a la injuria proliferando y migrando hacia el sitio de lesión. Sin embargo, los mecanismos que regulan el comportamiento de estos progenitores permanecen desconocidos. Durante el desarrollo, la señalización purinérgica regula la proliferación, migración y diferenciación de células progenitoras. El objetivo de este trabajo fue explorar la señalización mediada por adenosina trifosfato (ATP) en los progenitores del epéndimo de ratas neonatales (P1-P6). Realizamos inmunohistoquímica, registros de patch en modo "whole-cell" e imagenología de Ca^{+2} en rodajas transversales de médula espinal. Encontramos que las células ependimarias expresan el receptor purinérgico $P2X_7$. La aplicación local del agonista específico BzATP, generó corrientes entrantes en la mayoría de las GRs y ependimocitos. Estas corrientes fueron mayores que las inducidas por ATP, se revirtieron a 0mV y fueron bloqueadas por Brillant Blue G, un antagonista de P2X7. El BzATP generó ondas de Ca^{+2} en las GRs, capaces de propagarse por toda la célula. Concluimos que las células progenitoras en el epéndimo de la médula espinal de la rata tienen receptores ionotrópicos $P2X_7$ funcionales. El aumento de Ca^{+2} intracelular desencadenado por activación de $P2X_7$ podría ser un mecanismo epigenético para regular estos progenitores en respuesta al ATP liberado por una lesión.

POSTERS

S1_109 Estudio de procesos de acetilación en modelos de plasticidad en la corteza visual

Vierci, Gabriela [1 *]; *Rossi, Francesco Mattia*[1]

[* 1] Lab. de Neurociencias, "Neuroplasticity Unit", Facultad de Ciencias, UdelaR

Los mecanismos epigenéticos que controlan la remodelación de la cromatina y la accesibilidad de la maquinaría transcripcional a los genes, son fundamentales en el control de los principales tipos de plasticidad, incluyendo el aprendizaje y la memoria. Uno de los mecanismos más caracterizado es la acetilación de las histonas nucleosomales la cual generalmente se asocia a una regulación positiva del nivel de transcripción génica. La corteza visual es un modelo clásico para el estudio de los procesos de plasticidad. El objetivo de este trabajo es caracterizar en mayor detalle, mediante "western blot", el proceso de acetilación de las histonas H3 y H4 en algunos modelos experimentales de plasticidad en la corteza visual: animales con alto nivel de plasticidad, jóvenes durante el periodo crítico; bajo nivel, adultos; y con la plasticidad potenciada farmacologicamente, adultos tratados con fluoxetina. Trabajos anteriores han demostrado que las modificaciones postraduccionales de las histonas ocurren de modo agudo luego de una estimulación, por lo tanto aquí se estudia también, los efectos de la exposición aguda a la luz en la acetilación de las histonas en las tres condiciones experimentales. Los resultados indican que durante el periodo crítico de plasticidad los niveles de acetilación de las histonas son más altos que en el adulto y que también son inducibles por la exposición aguda a la luz, mientras que en animales adultos tratados con fluoxetina no se han detectados dichas modificaciones. Estos resultados sugieren que los procesos de plasticidad fisiológicos juveniles ocurren a través de la acetilación de histonas.

S1_110 Búsqueda de proteínas responsables de la reactivación de la plasticidad en la corteza visual de ratón adulto.

Muniz, Mariana [1 *]; *Ruiz, Lucia* [1]; *Rossi, Francesco* [1]

[* 1] Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias

La capacidad del Sistema Nervioso (SN) de modificar su organización anatómico-estructural en función de la experiencia es alta en fases precoces del desarrollo (Períodos Críticos) y disminuye con la edad. A esta disminución se le atribuye la escasa capacidad de recuperación en función del SN adulto luego de una lesión o de una patología neuronal. En los últimos años, estudios pioneros de la corteza visual han identificado estrategias no invasivas que potencian la plasticidad del adulto y permiten la recuperación de la función visual (ambliopía). Uno de los más relevantes desde el punto de vista clínico es el tratamiento con el antidepresivo fluoxetina. No obstante los mecanismos subyacentes a esta modulación de la plasticidad permanecen poco conocidos.En este trabajo utilizamos geles bidimensionales seguidos por análisis de espectrometría de masa para identificar potenciales nuevos candidatos a la regulación de la plasticidad de la corteza visual en tres condiciones experimentales: ratones en período crítico de plasticidad (P28), adultos con plasticidad reducida, y adultos con plasticidad restaurada farmacológicamente a través de un tratamiento crónico con fluoxetina.El análisis comparativo entre animales tratados con fluoxetina y controles ha permitido la identificación de 24 proteínas que presentan expresión diferencial entre las dos condiciones y que tienen relevancia en procesoso biológicos como el control del citoesqueleto, endocitosis, exocitosis, transporte molecular, señalización intracelular, degradación. El estudio de jóvenes vs adultos se encuentra en fase preliminar.A través de esta aproximación esperamos contribuir a la identificación de proteínas relevantes en el control de la plasticidad cortical.

Parasitología - Sesión 1

S1_111 Análisis cuanti-cualitativo del perfil isotípico de la respuesta de anticuerpos en individuos potencialmente resistentes a la infección por *Echinococcus granulosus*.

Miles, Sebastián [1 *]; *Dematteis, Sylvia*[1]; *Mourglia-Ettlin, Gustavo*[1]

[* 1] Cátedra de Inmunología - DEPBIO - Facultad de Químicas - Universidad de la República

El éxito de la respuesta inmune contra agentes infecciosos resulta de la compleja interacción entre el patógeno y la capacidad del hospedero de responder al mismo. En la equinococosis quística (parasitosis causada por Echinococcus granulosus) se ha sugerido que los anticuerpos específicos inducidos en hospederos intermediarios infectados tendrían un papel importante en determinar el éxito o fracaso del establecimiento de la infección. En el presente trabajo se caracterizó el perfil de la respuesta de anticuerpos específicos contra E. granulosus en individuos potencialmente resistentes a la infección. Para ello, se trabajó con una seroteca compuesta de cuatro grupos de individuos: (i) seropositivos sin resultados imagenológicos compatibles con equinococosis quística, residentes en zona endémica (individuos "potencialmente resistentes"); (ii) seropositivos con resultados imagenológicos compatibles con equinococosis quística, residentes en zona endémica (in diviuos susceptibles); (iii) seronegativos sin resultados imagenológicos compatibles con equinococosis quística, residentes en zona endémica (individuos control) y (iv) seronegativos residentes en zona no-endémica (individuos control). En dichas muestras se analizó la concentración de anticuerpos totales, el título de anticuerpos específicos contra E. granulosus y sus índices de avidez (en todos los casos discriminando IgG, IgA e IgM). Los resultados obtenidos sugieren que los individuos "potencialmente resistentes" desarrollarían respuestas humorales específicas polarizadas hacia el isotipo IgG con índices de avidez medios, complementadas con bajos títulos de IgA específicas pero de alta avidez. Así, nuestros resultados apoyarían la hipótesis sobre la relevancia que la respuesta de anticuerpos específicos contra E. granulosus tendría en la resistencia o susceptibilidad de individuos residentes en zonas endémicas.

S1_112 Glutatión transferasa heterodimérica de Echinococcus granulosus: Estudios de estabilidad y actividad.

López, Verónica [1 *]; *Arbildi, Paula*[1]; *Fernández, Verónica*[1]

[* 1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Las glutation transferasas (GSTs, EC-2.5.1.18) constituyen una superfamilia de proteínas multifuncionales involucradas en la detoxificación celular de componentes citotóxicos y genotóxicos, principalmente conjugándolos al tripéptido glutatión. Además de esta conjugación, las GSTs suelen exhibir otras actividades como peroxidasa, síntesis de prostaglandinas y actuar como proteínas ligandinas (detoxificación pasiva). En los helmintos parásitos, las GSTs representan una clase principal de las enzimas detoxificantes. Nuestro grupo ha estado enfocado en la caracterización de estas proteínas en el cestodo *Echinococcus granulosus* (EgGSTs) con el propósito de comprender su papel en la infección parasitaria. Identificamos tres diferentes GSTs citosólicas así como una forma heterodimérica, oligomerización aún no descrita en helmintos. Así, EgGST1 de clase Mu de mamíferos, estaría involucrada en la detoxificación de xenobióticos, incluyendo antihelmínticos. Paralelamente, el análisis de secuencias e inferencias filogenéticos reveló que EgGST2 es de clase Sigma, mientras EgGST3 muestra características de las clases tanto Sigma como Omega. Interesantemente, las GSTs Sigma parasitarias están implicadas en la modulación de la respuesta inmune del hospedero permitiendo la infección, mientras que las Omega están relacionadas con el aumento de la resistencia al estrés oxidativo. Asimismo, el heterodímero, compuesto por estas dos últimas proteínas (EgGST2-3), podría favorecer la utilización de un rango más amplio de sustratos y de ligandos. El presente trabajo propone avanzar con la caracterización de las EgGSTs, centrándose en la tipificación de la GST parasitaria heterodimérica. Específicamente, se detalla los estudios de estabilidad de EgGST2-3 y se describe algunas de sus actividades adicionales.

S1_113 LA CAPA LAMINAR DE LA LARVA DE *Echinococcus multilocularis* TIENE UN GLICOMA MUCHO MÁS SIMPLE QUE LA DE *E. granulosus*

del Puerto, Lucía[1 *]; *Rovetta, Romina*[1]; *Fontana, Carolina*[2]; *Lin, Gerardo*[1]; *Moyna, Guillermo*[2]; *Brehm, Klaus*[3]; *Ferreira, Fernando*[4]; *Díaz, Alvaro*[1]

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Química del Litoral, CENUR Noroeste, Universidad de la República; [3] Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Universität Würzburg; [4] Laboratorio de Carbohidratos y Glicoconjugados, Facultad de Química y Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las larvas de los parásitos cestodes del género *Echinococcus* causan equinococosis quística (*E. granulosus*) y alveolar (*E. multilocularis*). Estas larvas están protegidas por una gruesa capa de matriz extracelular, llamada capa laminar (CL), formada principalmente por mucinas. Previamente elucidamos los glicanos que decoran estas mucinas para *E. granulosus*, detectando decenas de estructuras relacionadas, que alcanzan hasta 18 residuos monosacarídicos, principalmente gracias a un esqueleto de unidades de Galß(1-3), que puede terminar en un *cap* de Gala(1-4). Ahora encaramos un trabajo similar para *E. multilocularis*, liberando los glicanos de la CL cruda por ß-eliminación reductiva, para luego fraccionarlos en columna de grafito e identificarlos por tiempo de elución (en comparación con patrones), MALDI-TOF-TOF y/o RMN. Llamativamente, el 93% de la masa es explicado por las estructuras Galß(1-3)GalNAc, Galß(1-3)[GlcNAcß(1-6)]GalNAc y Galß(1-3)[Gala(1-4)Galß(1-4)GlcNAcß(1-6)]GalNAc, presentes en relación molar 21:3:2 entre ellas. Resulta interesante que *E. multilocularis* sintetice niveles importantes del glicano mucínico más simple que porta el motivo del antígeno sanguíneo P_1 (Gala(1-4)Galß(1-4)GlcNAc), motivo que en *E. granulosus* aparece en diversas estructuras, individualmente poco abundantes. Las diferencias entre el glicoma de la CL de las dos especies se pueden explicar simplemente por una baja actividad, en *E. multiculocularis*, de la enzima que agrega unidades repetidas de Galß(1-3). En cambio, no se explicarían por una alta actividad *E. multilocularis* de la enzima que coloca el *cap* de Gala(1-4), motivo que aparece en niveles muy bajos. De todos modos, dicho motivo no está ausente, como indican las estructuras Gala(1-4)Galß(1-3)[GlcNAcß(1-6)]GalNAc (elucidada) y Gala(1-4)Galß(1-3)[Gala(1-4)Galß(1-4)GlcNAcß(1-6)]GalNAc (probable), detectadas en baja proporción.

S1_114 INHIBICIÓN DE LA PROLIFERACIÓN DE MACRÓFAGOS POR PARTÍCULAS DE LA CAPA LAMINAR DE *Echinococcus granulosus*

Seoane, Paula I.[1 *]; *Rückerl, Dominik*[2]; *Casaravilla, Cecilia*[1]; *Pittini, Álvaro*[1]; *Allen, Judith E.*[2]; *Díaz, Álvaro*[1]

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Institutes of Immunology and Infection Research, University of Edinburgh

La rama Th2 de la respuesta inmune, característica de las infecciones por helmintos, tiene por citoquina central a la IL-4. Recientemente se ha descubierto que esta citoquina induce un tipo diferencial de inflamación, caracterizado por la proliferación local de macrófagos, en lugar del reclutamiento de monocitos. Esta proliferación depende de la vía de PI3K y su efector Akt. Contrariamente a otras infecciones helmínticas, en la hidatidosis, causada por la larva de *Echinococcus granulosus* (hidátide), no hay evidencia de proliferación de macrófagos, y por el contrario suele haber completa resolución inflamatoria. La hidátide está protegida por la gruesa capa acelular llamada capa laminar (CL). El crecimiento de la hidátide implica el desprendimiento de partículas de la CL. Previamente observamos que una preparación particulada del componente mucínico principal de la CL (llamada pLL) inhibe en células dendríticas la fosforilación de Akt en respuesta a IL-4. Concebimos entonces la hipótesis que pLL podría inhibir la proliferación de macrófagos *in vivo*. Efectivamente, la inyección de pLL (en ratones C57BL/6) inhibió la proliferación de macrófagos inducida tanto por IL-4 como por M-CSF, el factor de crecimiento para la proliferación basal de estas células. Mientras que IL-4 y M-CSF actuaron en el sitio de inyección (cavidad peritoneal) y un sitio distante (cavidad pleural), la inhibición se restringió a cavidad peritoneal, sugiriendo un efecto directo de pLL sobre las células. La inhibición afectó a los macrófagos residentes así como, más fuertemente, a monocitos-macrófagos reclutados por la propia inyección de pLL. Financiación: Fundación Wellcome, ANII (beca a PS).

S1_115 Estrategias complementarias en la búsqueda de agentes anti-tripanosomátidos

Medeiros, Andrea*[1 *]; *Benítez*, Diego*[2]; *Fiestas, Lucía*[2]; *Charquero, Diego*[2]; *Serra, Gloria*[3]; *Scarone, Laura*[3]; *Otero, Lucía*[4]; *Gambino, Dinorah*[4]; *Labadie, Guillermo*[5]; *Consorcio, Europeo*[6]; *Comini, Marcelo*[2]

[*1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República - Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Cátedra de Química Farmacéutica, Facultad de Química, Universidad de la República; [4] Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; [5] Universidad Nacional de Rosario; [6] COST CM0801

La familia Trypanosomatidae está constituida por parásitos protozoarios causantes de la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), del sueño (*Trypanosoma brucei*) y de las distintas manifestaciones de la Leishmaniasis (*Leishmania spp*). De acuerdo a datos de la OMS del 2012, el número de personas afectadas por estas enfermedades aumenta en ciento de miles cada año. Los fármacos disponibles para tratar estas infecciones presentan alta toxicidad y resistencia, y las vías de administración requieren de hospitalización. Por lo tanto, la quimioterapia basada en nuevos fármacos continúa siendo la principal alternativa para combatir estas enfermedades. Uno de nuestros objetivos es contribuir a la identificación de nuevas entidades químicas que reduzcan de manera específica y significativa la viabilidad de tripanosomátidos patógenos. Aplicando una estrategia de cribado blanco-específica y por fenotipo celular sobre una quimioteca de compuestos sintéticos y naturales hemos logrado identificar varios inhibidores de la tripanotión sintetasa (TryS) de *L. infantum* y *T. brucei* así también como moléculas con actividad selectiva y potente (EC50 nM e índice de selectividad >50) contra la forma infectiva de *T. brucei*. Estos estudios revelaron además una marcada especificidad de especie de los compuestos contra la TryS. Para alguno de estos compuestos pudo confirmarse que su mecanismo de acción implica una interferencia con el metabolismo del tripanotión. Actualmente estamos evaluando la potencial actividad biológica multi-especie de los compuestos más activos. *Ambos autores colaboraron de igual manera en el trabajo.

S1_116 El antígeno B de *Echinococcus granulosus*: una proteína de unión a lípidos en la interfaz hospedero-parásito

Folle, Maite[1 *]; *Silva, Valeria*[1]; *Iwai, Leo K*[2]; *Kitano, Eduardo*[2]; *Zamarreño, Fernando*[3]; *Costabel, Marcelo*[4]; *Batthyány, Carlos*[5]; *Córsico, Betina*[6]; *Ferreira, Ana María*[1]

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias y Facultad de Química, Universidad de la República ; [2] Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada (LETA) - Center of Toxins, Immune Response and Cell Signaling (CeTICS); [3] Departamento de Física, Universidad Nacional del Sur; [4] Departamento de Física, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina; [5] Institut Pasteur de Montevideo; [6] Laboratorio de Interacciones Lípido-Proteína, Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Universidad Nacional de La Plata

El antígeno B (EgAgB) es una lipoproteína abundante en el metacestodo de *Echinococcus granulosus*. A nivel proteico está formado por subunidades pertenecientes a cinco subfamilias (EgAgB8/1-EgAgB8/5) con expresión diferencial en distintas estructuras del metacestodo. Su componente lipídico comprende una amplia variedad de lípidos, muchos de los cuales no pueden ser sintetizados por el parásito. Esto sugirió la participación del EgAgB en la adquisición de lípidos esenciales del hospedero, lo que podría involucrar su interacción con distintos blancos moleculares, incluyendo células presentes en el entorno del metacestodo. En este trabajo encontramos que el EgAgB nativo y las subunidades EgAgB8/1 y EgAgB8/3 deslipidizadas se unen a monocitos/macrófagos. Determinamos que la fosfatidilcolina del EgAgB nativo participa en esta interacción, ya que el tratamiento con fosfolipasa D disminuye un 80% su capacidad de unión. No obstante, la unión del EgAgB a monocitos pre-incubados con vesículas de fosfatidilcolina fue inhibida sólo un 10%, sugiriendo que este fosfolípido participaría principalmente modificando la exposición de las subunidades proteicas en el EgAgB nativo. El modelado molecular de las subunidades de EgAgB sugiere que presentan motivos moleculares capaces de ser reconocidos por receptores de lipoproteínas plasmáticas. Realizamos ensayos de competencia utilizando ligandos de estos receptores y ensayos de unión empleando macrófagos de ratones deficientes en el receptor de LDL. Los resultados obtenidos indicarían que el EgAgB no emplea receptores compartidos con lipoproteínas plasmáticas. Otras estrategias experimentales serán necesarias para la identificación del receptor así como para elucidar el papel del EgAgB en el metabolismo lipídico de *E. granulosus*.

POSTERS

S1_117 Activación y control de la vía clásica del complemento sobre la capa laminar de la larva del parásito *Echinococcus granulosus*

Barrios, Anabella[1 *]; *Seoane, Paula*[1]; *Díaz, Alvaro*[1]

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química y Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La capa laminar (CL) es la estructura acelular que delimita la larva del cestode *Echinococcus granulosus*. La CL, constituida por mucinas y depósitos de *myo*-inositol-hexakisfosfato (Ins*P6*) cálcico, ofrece gran superficie de interacción al sistema complemento del hospedero. La supervivencia del parásito requiere de mecanismos de control a la activación del complemento. Sabemos que la CL activa pobremente el complemento globalmente considerado, y que recluta factor H, el inhibidor plasmático de la vía alternativa (VA). Sin embargo, y pese a la abundancia de anticuerpos unidos, no se había estudiado la iniciación y control de la vía clásica (VC) sobre la CL. En este trabajo observamos depósito covalente de C4, así como de C3 dependiente de C2. Mientras que el depósito de C4 pareció totalmente dependiente de C1q, el de C3 pareció totalmente independiente, aún en condiciones en que la VA no contribuye. Entonces hay iniciación, además de VC, de vía de las lectinas (VL), la cual contribuye mínimamente al depósito de C4, pero significativamente al de C3. La eliminación del Ins*P6* reveló una contribución del C1q al depósito de C3b. Entonces, los depósitos de Ins*P6*, de los que se sabe unen C1q y carecen de aceptores covalentes para C4/C3, deben promover una activación "no productiva" de VC, consumiendo componentes de la misma. Además, debe existir un mecanismo muy eficiente de inactivación del C4b depositado por VC, que no alcanza al C4b depositado por VL. Estamos estudiando si la activación de VL observada es biológicamente relevante o peculiar del sistema experimental empleado, como sugeriría este control relativamente ineficiente. *Financiación: CSIC, ANII*

S1_118 Caracterización de glicoproteínas presentes en una fracción antigénica de protoscoleces de *Echinococcus granulosus* enriquecida en carbohidratos

Navatta, Marco[1 *]; *Irazusta, Agustina* [1]; *Miles, Sebastián* [1]; *Rossotti, Martín* [1]; *Fernández, Verónica*[1]; *Mourglia-Ettlin, Gustavo* [1]; *Dematteis, Sylvia*[1]

[*1] Cátedra de Inmunología, Dpto. de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

Los glicoconjugados de Echinococcus granulosus (agente etiológico de la hidatidosis), parecerían tener un papel importante en la interacción hospedero experimental-parásito. Nuestro grupo ha reportado que una fracción enriquecida en carbohidratos obtenida a partir de antígenos somáticos de protoscoleces de E. granulosus (E4+), induce actividades biológicas relevantes. Sin embargo, es muy pobre la información disponible sobre los componentes presentes en E4+. El objetivo de este trabajo se centró en la identificación de los componentes glicoproteicos presentes en E4+. Primero, mediante ELISA se analizó el reconocimiento por parte de un set de lectinas de estructuras glucídicas existentes en E4+. Los resultados obtenidos mostraron que ConA y WGA reconocen componentes en forma específica, ya que inhibidores específicos de ambas lectinas redujeron su reconocimiento en un 82% y 60%, respectivamente. Un análisis similar se realizó sobre los componentes presentes en E4+ resueltos mediante SDS-PAGE y electrotransferidos a membranas de PVDF. Los resultados mostraron que ConA reconoce 3 glicoproteínas distintas (rango de PM aparentes: 45-66 kDa), y que dicho reconocimiento se reduce en un 100% en presencia del inhibidor específico de la lectina para 2 de los 3 componentes. En cuanto a WGA, los resultados mostraron que esta lectina reconoce 4 glicoproteínas distintas (rango de PM aparentes: 45-119 kDa) y que en presencia de su inhibidor específico el reconocimiento se reduce en un 100% para 2 de los 5 componentes. Finalmente, 8 bandas de E4+ resueltas por SDS-PAGE (rango de PM aparentes: 25-116 kDa) están siendo identificadas mediante mapeo peptídico por espectrometría de masas.

S1_119 Los neoblastos del cestodo *Mesocestoides corti* son depletados por radiación ?

Costábile, Alicia[1 *]; *Domínguez, María Fernanda* [1]; *Tort, José* [2]; *Castillo, Estela*[1]

[*1] Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los platelmintos son organismos caracterizados por una notoria capacidad proliferativa, ejemplificada por la regeneración en planarias y la capacidad de reproducción asexual demostrada en trematodos y cestodos. Las células somáticas diferenciadas no se dividen, y la renovación celular depende de células madre indiferenciadas denominadas neoblastos. El estudio de neoblastos de planarias ha avanzado significativamente, pero poco se sabe de sus equivalentes en platelmintos parásitos, existiendo pocos antecedentes de su identificación. En nuestro grupo identificamos y seguimos mediante marcadores moleculares los neoblastos del cestodo *Mesocestoides corti*. Además, logramos purificarlos mediante citometría de flujo. Uno de nuestros objetivos es la caracterización transcriptómica de estos neoblastos. Para cumplirlo, abordamos dos aproximaciones: purificación de neoblastos mediante citometría de flujo e irradiación para depletarlos. Para la optimización de la depleción de neoblastos, se irradiaron tetratiridios de *M. corti* con distintas dosis de radiación γ y se evaluó la expresión de genes marcadores de neoblastos. Los resultados muestran un cambio en los niveles de expresión en respuesta a la irradiación, cuyo comportamiento es gen específico. Se analizaron las poblaciones celulares en cada fase del ciclo celular mediante citometría de flujo, observándose una reducción de células proliferantes. En paralelo realizamos un marcado metabólico post-irradiación de células en fase S. Los resultados confirman la depleción de estas células, por tanto eliminando al menos una población de neoblastos.

S1_120 Hacia el rol biológico de la proteína bidominio tiorredoxina-glutarredoxina monotiólica 3 de *Trypanosoma brucei* (*Tb*1-C-Grx3)

Bonilla, Mariana[1 *]; *Manta, Bruno*[1]; *Bellanda, Mássimo*[2]; *Comini, Marcelo*[1]

[*1] Institut Pasteur de Montevideo; [2] Universidad de Padova

Los Tripanosomátidos causan enfermedades con altos índices de morbilidad y mortalidad en humanos y animales. El hierro es un nutriente esencial para la mayoría de los organismos y los mecanismos que median su tráfico intracelular recién comienzan a conocerse. Las glutarredoxinas monotiólicas (1-C-Grxs, sitio activo CGFS) son proteínas ubicuas que coordinan clusters hierro-azufre (Fe/S) empleando las Cys del centro activo de dos monómeros y dos moléculas de glutatión. *Trypanosoma brucei* expresa tres 1-C-Grxs. La *Tb*1-C-Grx3 se destaca por ser una proteína citosólica híbrida con un dominio tiorredoxina (Trx) N-terminal. Esta sublcase está conservada en eucariotas y cumpliría una función esencial en la homeostasis del hierro intracelular, no compartida con sus contrapartes monodominio mitocondriales involucradas en la biogénesis de proteínas ferrosulfuradas. La *Tb*1-C-Grx3 se expresa en ambas formas del parásito (procíclica y sanguínea), alcanzando niveles máximos en fase estacionaria. La forma recombinante se obtiene de *Escherichia coli* como mezcla de holoproteína dimérica y apoproteína monomérica, y esta última ensambla Fe/S en ensayos de reconstitución *in vitro* empleando distintos tioles de bajo peso molecular. Posee actividad disulfuro reductasa marcadamente inferior a las Trxs y comparable a una *Tb*Grx ditiólica. Recientemente hemos generado distintas herramientas para avanzar en su estudio: 1) mutantes para establecer el papel de sus dominios y diferentes residuos, 2) líneas sobrexpresantes de *Leishmania tarentolae* (hospedador de expresión de alto rendimiento) para estudiar específicamente en tripanosomátidos la unión de Fe/S e identificar interactores, 3) líneas RNAi para evaluar su relevancia en el metabolismo del hierro, crecimiento e infectividad del parásito.

Bioinformática - Sesión 2

S2_001 Identificación de blancos de acción molecular de quercetina mediante tamizaje reverso

Carvalho, Diego[1 *]; *Paulino, Margot*[1]; *Abin-Carriquiry, Andrés*[2]; *Arredondo, Florencia*[2]

[* 1] CeBioinfo-DETEMA, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Quercetina, uno de los flavonoides más frecuentes en la dieta occidental, es ampliamente reconocido por sus propiedades antioxidantes y citoprotectoras. Este y otros compuestos semejantes constituyen entonces un potencial tratamiento en patologías cuyo desarrollo involucra daño oxidativo, tales como las enfermedades neurodegenerativas (Bisht, Wagner,&Bulmer, 2010). Trabajos precedentes en el Dpto. de Neuroquímica del IIBCE evidenciaron la actividad citoprotectora del flavonoide sobre cultivos neuronales frente al daño oxidativo. Aunque su acción citoprotectora se ha atribuido clásicamente a propiedades antioxidantes directas, la evidencia acumulada indica que quercetina es capaz de interactuar con múltiples blancos y modular mecanismos de defensa celular entre otros (Dajas, Abin-Carriquiry, Arredondo,&Echeverry, 2013). Sin embargo, este mecanismo de acción no ha sido totalmente caracterizado. En el presente proyecto nos proponemos, realizar el tamizaje reverso basado en la similitud de ligando (SHAFTS) y en la estructura del blanco (idTarget) para quercetina y un set asociado de flavonoides 95 % similares (Gong et al., 2013; Wang, Chu, Chen,&Lin, 2012). Esta estrategia permite identificar un conjunto de proteínas blanco y con ello contribuir a la comprensión de los mecanismos de acción y los requerimientos estructurales asociados a la actividad biológica de quercetina y los flavonoides en general.

S2_002 Descripción estructural y funcional de tripanotiona reductasa mediante modificaciones de residuos claves del sitio catalítico y dinámica molecular.

Vera, Brenda[1 *]; *Villamil, Valentina*[1]; *Paulino, Margot*[1]

[* 1] Facultad de Química, Universidad de la República

La enfermedad de Chagas, causada por el *Tripanosoma cruzi*, es una de las parasitemias de mayor prevalencia en el mundo, actualmente endémica en América Latina y en expansión a otras zonas como América del Norte y Europa (Coura et al, 2010). Uno de los tratamientos farmacológicos se enfoca en drogas con estructuras quinonicas capaces de generar daño oxidativo en el parásito (Urbina et al, 2010). Este mecanismo no es especifico, por lo que actualmente se busca desarrollar fármacos dirigidos a blancos del metabolismo del *T.cruzi*, principalmente la enzima tripanotión reductasa (TR) (Flohé et al, 2012). En el presente nos concentramos en la descripción estructural y funcional de la TR mediante diversas herramientas de bioinformática estructural como estudio de sitios de interacción y dinámica molecular. La comparación de la enzima en su forma nativa y mutada, permite observar cambios estructurales relevantes para su actividad y destacar la importancia de ciertos residuos en el sitio activo. Como perspectivas nos proponemos identificar y considerar nuevos blancos con potencial en el tratamiento de la enfermedad implementando lo que se conoce como "tamizaje reverso" (del inglés reverse screening), tanto basado en la estructura del ligando como del blanco proteico. Esta estrategia será un aporte novedoso al diseño de compuestos bioactivos contra la enfermedad de Chagas.

S2_003 Meta-análisis de la expresión de gen para estudiar la progresión de los tumores y la paradoja de la administración de glucocorticoides

Cedano, Juan[1 *]

[* 1] Laboratorio de Inmunología, Regional Norte, Universidad de la República

Realizar análisis de los fenotipos celulares a partir de los datos de microarray puede ayudar a responder a preguntas complejas. Un ejemplo para verificar la utilidad de estas herramientas, se ha analizado la conveniencia de la administración de glucocorticoides en la terapia contra el cáncer. Este es un tema médico importante que todavía permanece abierto. Para abordar este tipo de problemas hemos desarrollado una nueva estrategia para el análisis de cambio de fenotipo más allá de la Infra o sobre-expresión de los genes de la microarray estudiando las interdependencias entre los fenotipos. Estas interdependencias se obtienen por la detección de relaciones de expresión no lineales donde cada fluctuación en la relación implica un cambio de fenotipo y cada tipología de relación implica una interdependencia de fenotipo específico. Como consecuencia, los cambios de fenotipo múltiples se identifican junto con los genes envueltos en la transición de fenotipo. Finalmente, cruzamos los resultados obtenidos con las bases de datos biomédicas para contextualizar los genes objetivo de estudio y su función celular. Usando estas herramientas, hemos buscado la razón oculta para los efectos opuestos en la progresión de tumor de ciertos agentes estresantes como la dexametasona. Esta razón oculta ha resultado estar asociada con el tipo de progresión del tumor dependiendo de su tejido originario. Como conclusión, hemos encontrado un primer tipo de progresión tumoral, en el que el tejido puede producir nuevas células mientras es sometido a estrés y por lo tanto los agentes estresantes pueden acentuar su proliferación. En el segundo tipo, el estrés celular y proliferación del tumor son antagonistas, por lo tanto, los agentes estresantes paran la proliferación del tumor.

S2_004 ta-TRIMs: una nueva familia de retrotransposones característica de taenidos

Radio, Santiago[1 *]; *Koziol, Uriel*[2]; *Smircich, Pablo*[1]; *Fernández, Cecilia*[3]

[* 1] Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias - Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Instituto de Higiene y Microbiología, Universidad de Wurzburgo - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República

Los elementos transponibles (TEs) han cumplido un rol primordial en la evolución de los genomas. Los cestodos taenidos (incluidos los parásitos humanos Echinococcus spp. y Taenia solium) tienen un número muy bajo de TEs con respecto a eucariotas de tamaño genómico similar. Estos elementos se encuentran virtualmente inexplorados, y se dispone de escasos datos acerca de su expresión y silenciamiento. El análisis del transcriptoma de E. granulosus mostró que los ESTs más abundantes en varios estadíos corresponden a ARNnc. En el presente trabajo, a partir del análisis bioinformático de estos datos, encontramos que estos transcriptos son producidos a partir de retrotransposones del tipo Terminal Repeat Retrotransposons in Miniature (TRIMs), siendo esta una nueva familia de TEs en taenidos (ta-TRIMs). Definimos y ubicamos a los ta-TRIMs en el genoma de varios cestodos. A su vez, realizamos la caracterización estructural y evolutiva de los mismos, y profundizamos en el estudio de su expresión en la larva de E. multilocularis. Los resultados muestran que estos elementos están expandidos en los taenidos. En E. multilocularis, observamos que los ta-TRIMs se expresan masiva y específicamente en las células germinativas (células somáticas pluripotenciales); y que existen repetidos terminales (LTRs) aislados que influyen en la expresión de genes cercanos, actuando como promotores alternativos. Aunque la ausencia de la maquinaria necesaria para la retrotransposición sugiere que hoy en día estos elementos están inactivos, los resultados indican que los ta-TRIMs han sido importantes en el moldeado de los genomas de estos parásitos.

S2_005 Análisis de patrones mutacionales en procariotas usando muestras metagenómicas

Graña, Lucía[1 *]; *Romero, Héctor*[1]

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Lograr discernir la selección natural de procesos neutrales es un problema central en el área de la evolución molecular, en este sentido, existe controversia sobre la causa de la variabilidad en la composición de bases de los genomas procariotas (17-75% G+C), atribuida históricamente a sesgos mutacionales diferentes entre procariotas con alto y bajo contenido en G+C.La composición nucleotídica de un genoma se relaciona con la composición de aminoácidos, el tipo de proteínas, el tamaño del genoma y muchos aspectos potencialmente relevantes a nivel fenotípico. Los procariotas tienen poco ADN intergénico, el contenido G+C afecta directamente la composición de genes y proteínas. Los datos metagenómicos permiten un nuevo punto de entrada para entender posibles factores ambientales operando a nivel de la composición de bases. La mutación no es un proceso estrictamente estocástico, sino que actúa de acuerdo a determinados sesgos y el producto de la evolución es entonces la combinación de estos con la selección natural. El clado bacteriano Sar11, es muy interesante para realizar estos estudios, es ubicuo en el océano y uno de los grupos más exitosos del planeta, siendo el más abundante en los ambientes oceánicos, y dominando en la composición de las comunidades bacterianas heterótrofas. Este trabajo presenta un estudio comparativo de los patrones sustitucionales en secuencias metagenómicas pertenecientes a Sar11 en gradientes latitudinales oceánicos y diferentes ecosistemas, como lagos de agua dulce y polares, intentando contribuir a la comprensión de los mecanismos que determinan la variación de la composición de bases en genomas procariotas.

S2_006 ANÁLISIS DEL TRANSCRIPTOMA DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS DEL RATÓN EMPLEANDO POBLACIONES CELULARES ALTAMENTE PURIFICADAS Y SECUENCIACIÓN MASIVA

da Cruz, I[1 *]; *Curti, G*[2]; *Rodríguez-Casuriaga, R*[2]; *Folle, G*[3]; *Santiñaque, F*[3]; *Benavente, R*[4]; *Sotelo-Silveira, J*[5]; *Geisinger, A*[6]

[* 1] Departamento de Biología Molecular -Departamento de Genómica, IIBCE; [2] Departamento de Biología Molecular, IIBCE; [3] Servicio de Citometría de Flujo y Clasificación Celular, IIBCE; [4] Department of Cell and Developmental Biology, Biocenter, University of Würzburg, Germany; [5] Departamento de Genómica, IIBCE -Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, UdelaR; [6] Departamento de Biología Molecular, IIBCE -Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, UdelaR

La espermatogénesis comprende la ejecución sucesiva y simultánea de tres programas de expresión génica en el testículo: proliferación mitótica, meiosis y espermiogénesis. Su estudio a nivel molecular se ve dificultado por la coexistencia de más de treinta tipos celulares diferentes. Mediante un método de clasificación celular basado en citometría de flujo desarrollado por nuestro grupo, hemos purificado poblaciones celulares correspondientes a las principales etapas de la espermatogénesis del ratón, con un nivel de pureza sin precedentes. Además, dicho método permitió la purificación por primera vez de células en profase meiótica temprana, que a pesar de ser la etapa principal de la meiosis había sido poco estudiada hasta ahora por la falta de métodos para su obtención. De estas poblaciones se realizaron estudios transcriptómicos por medio de RNA-seq (empleando Illumina), y detectándose en promedio 14.600 genes con un RPKM mayor a 2 para cada población. Utilizando estrategias bioinformáticas se identificó un importante número de ARNs expresados diferencialmente en cada etapa. Entre los resultados más relevantes, hallamos que la mayor parte de los genes correspondientes al programa meiótico se expresan al inicio de la profase I, en tanto las células en profase meiótica media transcriben muy tempranamente el programa posmeiótico (correspondiente a la maduración del espermio, o espermiogénesis). Esto refleja el importante desfasaje entre la transcripción y la traducción de los distintos programas de la espermatogénesis, donde la mayoría de los genes se "encienden" y "apagan" antes de lo esperado. (ªEstos autores contribuyeron en forma igualitaria).

S2_007 *Pipeline* semi-automático para realizar análisis taxonómicos y filogenéticos sobre familias de proteínas utilizando datos genómicos: aplicación en la familia proteica Old Yellow Enzyme

Díaz-Viraqué, Florencia[1 *]; *Iraola, Gregorio*[2]; *Robello , Carlos*[3]

[* 1] Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo - Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo - Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Comúnmente los miembros de una familia de proteínas comparten similar historia evolutiva y algunos aspectos funcionales. Sin embargo, algunas familias presentan una amplia distribución taxonómica y diversas funciones fisiológicas, dificultando el uso de herramientas de análisis de secuencias estándar para su estudio filogenético y taxonómico. Presentamos un *pipeline* semi-automático para facilitar el análisis exhaustivo en familias de proteínas con historias evolutivas complejas. Aplicamos este *pipeline* a la familia Old Yellow Enzyme (OYE), un amplio grupo de biocatalizadores redox dependientes de flavina cuyos sustratos biológicos y roles fisiológicos son diversos y mayoritariamente desconocidos. Conocer las relaciones evolutivas de la familia podría hacer aportes sobre su biología. Para esto se determinó un conjunto de secuencias OYE representativas en KEGG Orthology. En segundo lugar, se seleccionaron los genomas *query* para Blastx contra la base de datos OYE. El resultado de Blast se analizó utilizando funciones creadas en R que recuperan las secuencias e información asociada, como su localización en el genoma, entre otros. Pfam y CDD-Search fueron utilizados como herramientas incorporadas para filtrar secuencias carentes de los dominios característicos de la familia. Por último, se aplicaron funciones creadas en R para llevar a cabo análisis filogenéticos, taxonómicos, diversificación y selección, entre otros. Se identificaron más de 4.000 OYEs distribuidas entre archaeas, bacterias, protistas, hongos y plantas. Los análisis comparativos revelaron gran diversidad en la arquitectura proteica y en la distribución taxonómica de estas variantes. Estos resultados apoyan la utilidad de nuestro *pipeline* para el estudio de grandes familias de proteínas con evolución compleja.

S2_008 Comparación de estrategias de construcción de la población de entrenamiento de modelos de predicción genómica para el programa de mejoramiento genético de trigo.

Berro, Inés[1 *]; *Lado, Bettina*[1]; *Gutierrez, Lucia*[1]

[* 1] Facultad de Agronomía, Universidad de la República

La Selección Genómica (GS) que consiste en la utilización de marcadores moleculares para predecir los valores de cría de los individuos mediante un modelo estadístico, es una herramienta novedosa que permitiría lograr mayores ganancias genéticas. La efectividad de la SG en los programas de mejoramiento depende de las variables de interés, del modelo de predicción, del número y tipo de marcadores y de la estructura de la población de entrenamiento. Estos factores han sido escasamente estudiados en plantas, y no existen estudios a nivel nacional de estrategias óptimas de utilización de esta metodología. El objetivo de este trabajo es comparar en términos de precisión diferentes estrategias para la construcción de la población de entrenamiento de los modelos de predicción para el programa de mejoramiento genético del Uruguay de Trigo. La población consta de 1050 líneas avanzadas en las últimas etapas de evaluación, con 102000 SNP obtenidos mediante genotipado por secuenciación (GBS).Se entrenaron modelos Ridge Regression blup, utilizando la biblioteca rrBLUP en R. Por un lado, se entrenará un modelo general con todas las líneas y se comparará con modelos entrenados con grupos de líneas agrupados según sus distancias genéticas. Se espera que las predicciones de los modelos con líneas emparentadas sean más precisas que las del modelo general. Por otro lado, se comprará el modelo general con modelos entrenados según las generaciones de los cruzamientos del programa.Finalmente se discutirán otras estrategias de cómo construir la población de entrenamiento con el objetivo de obtener mayores precisiones para las predicciones.

S2_009 Estudio genómico de proteínas MASP en *Trypanosoma cruzi.*

Berná, Luisa[1 *]; *Alvarez-Valín, Fernando* [2]; *Robello, Carlos* [1]

[*1] Institut Pasteur de Montevideo; [2] Sección Biomatemáticas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los distintos estadios del parásito *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas, presentan variabilidad en la superficie como estrategia para protegerse del sistema inmune del hospedador, prevalecer y reproducirse. Éstas proteínas de superficie son mayoritariamente miembros de familias multigénicas. A partir de la secuenciación de *T.cruzi* en el 2005, un nuevo grupo fue identificado: Las proteínas de superficie asociadas a mucinas, MASP. Las proteínas MASP se caracterizan por tener regiones N- y C- terminales extremadamente conservados (que incluyen un peptido señal y un sitio de anclaje GPI), y una región central variable, tanto es secuencia como en largo, que puede contener motivos repetidos. En general se encuentran en regiones cromosómicas internas, que no corresponden a las regiones de sintenia con los otros tripanosomátidos ya que son exclusivas de *T.cruzi*. El presente estudio de la composición aminoacídica de las proteínas MASP revela que no solamente presentan un uso característico de aminoácidos distinto al resto de las proteínas del genoma, siendo más ricas en alanina, acído glutámico, glicina, lisina, prolina, serina y treonina, y con una frecuencia menor de fenilalanina, isoleucina, arginina, triptofano y tirosina, sino que además son homogéneas en el uso de aminoacidos. A su vez, las frecuencias aminoacídicas detalladas tienen relación con el contenido de GC y con la hidrofobicidad. Finalmente, a nivel estructural son proteínas altamente desordenadas. La falta de estructura les otorga mayor superficie, flexibilidad y sitios de modificación, facilitando la interacción con un amplio rango de proteínas/ligandos y permitiendo así poseer un rol preponderante en la regulación.

Biología Molecular - Sesión 2

S2_010 RECEPTORES NUCLEARES TIPO PPAR EN DANIO RERIO Y ECHINOCOCCUS GRANULOSUS

Suárez, Mariana[1 *]; *Silvarrey, Cecilia*[1]; *Alvite, Gabriela*[1]; *Esteves, Adriana*[1]

[*1] Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los ácidos grasos (AG) de cadena larga participan en diversos procesos celulares, incluyendo regulación de la transcripción. Varias hipótesis se han tejido sobre el mecanismo de transporte de AG al núcleo. Evidencias recientes llevan a postular a las proteínas transportadoras de ácidos grasos, FABPs, como candidatos para llevar adelante dicha función, así como para actuar como reguladores de la expresión génica a través de la interacción con los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs). Centrados en la estructura y función de las proteínas transportadoras de ácidos grasos, hemos tomado como organismos modelo el pez Danio rerio y los platelmintos Echinococcus granulosus y Mesocestoides vogae. Recientemente, hemos demostrado que las FABPs, en los modelos en estudio, colocalizan con un análogo de ácido graso a nivel nuclear. Con el objetivo de determinar si existe interacción FABPs-PPAR en estos organismos, comenzamos por rastrear en el genoma de D. rerio y de E. granulosus, la presencia de receptores nucleares tipo PPAR. Hemos clonado y expresado en E. coli, la región codificante de PPARalfa de Danio rerio desde el dominio de unión al ADN y clonado un fragmento de ADNc de E. granulosus. que corresponde al dominio más conservado de los PPARs. Actualmente intentamos extender esta región mediante la aplicación de la técnica de "RACE". Ensayos futuros permitirán determinar si la interacción FABPs-PPARs es posible en Danio rerio y Echinococcus granulosus.

S2_011 ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE LA MAQUINARIA DE IMPORTACIÓN NUCLEAR EN EL TRANSPORTE DE GLI2 A LA CILIA

Torrado, Belén[1 *]; *Graña, Martín* [2]; *Batthyany, Carlos*[3]; *Badano, José*[1]; *Irigoín, Florencia*[4]

[*1] Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Unidad de Bioquímica y Proteómica Analítica, Institut Pasteur de Montevideo/ Depto. de Bioquímica, Fac. Medicina, UdelaR; [4] Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo/ Depto. de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UdelaR

Los mecanismos de selección y transporte de las proteínas destinadas a la cilia no se conocen, pero varias evidencias sugieren similitudes con el transporte de proteínas al núcleo. En este contexto, este proyecto apunta investigar si proteínas que se localizan tanto en el núcleo como en la cilia, utilizan los mismos mecanismos de transporte para moverse hacia ambos compartimientos. Elegimos como modelo la proteína Gli2, factor de transcripción de la vía de Sonic Hedgehog (Shh), que se mueve a la cilia y luego al núcleo cuando la vía se activa. Analizamos el rol de las dos señales de localización nuclear (NLS) de Gli2 en su transporte al núcleo y a la cilia. Observamos que en ausencia de Shh, el mutante en el que eliminamos las dos NLS se acumula menos en el núcleo que Gli2wt, mientras que no vimos esta diferencia a nivel de la cilia. Por el contrario, observamos que la expresión de una forma mutante de Ran que permanece unida a GTP, y por lo tanto inhibe el transporte mediado por importinas, disminuye el número de cilias Gli2 positivas cuando la vía de Shh es activada. Por último, estamos estudiando el papel de las importinas ß1 y ß2 en el transporte de Gli2 a la cilia, utilizando inhibidores químicos o disminuyendo la expresión de ambas proteínas a través de ARNi. Nuestros resultados apuntan a que al menos parte de la maquinaria de importación de proteínas al núcleo podría estar involucrada en la entrada de Gli2 a la cilia.

POSTERS

S2_012 Caracterización de la interacción BBS4-FSTL1 y su implicancia en la patogénesis del síndrome de Bardet-Biedl

*Prieto-Echagüe, Victoria[1 *]; Badano, José L.[1]*

[*1] Institut Pasteur de Montevideo

El Síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es una enfermedad hereditaria categorizada como una ciliopatía. La cilia primaria es considerada un organelo "antena", central en la transducción de señales de proliferación y diferenciación. A la fecha se conocen 19 genes (BBS 1-19) causantes de BBS pero la función de muchas de las proteínas BBS es desconocida. Nuestro objetivo es entender la función de las proteínas BBS estudiando las proteínas con las que interactúan. En levaduras y por coinmunoprecipitación BBS4 interactúa con FSTL1 (follistatin like 1). Estudiamos la relación funcional entre BBS4 y FSTL1 y evaluamos la importancia de la cilia realizando experimentos de knock-down tanto de BBS4 como del componente del transporte intraflagelar IFT88. FSTL1 es un glicoproteína secretada y el knock-down de BBS4 o IFT88 en células produce una reducción de FSTL1 secretada. Sin embargo, en cada caso el defecto estaría dado a diferentes niveles. El knock-down de BBS4 afecta la localización intracelular de FSTL1, mientras que la depleción de IFT88 reduce los niveles intracelulares de FSTL1 y de su ARNm. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que BBS4 participa en el tráfico intracelular de FSTL1 y que la cilia regula su expresión. La obesidad es unos de los síntomas de BBS y durante la adipogénesis la cilia primaria desaparece transitoriamente y los niveles de FSTL1 y BBS4 disminuyen. En este contexto comenzamos a estudiar el rol de BBS4, FSTL1 y la cilia en un sistema de adipogénesis en cultivo que potencialmente brindará información sobre la base celular de la obesidad en BBS.

S2_013 Entendiendo el mecanismo por el cual la proteína asociada al síndrome de Bardet-Biedl CCDC28B regula ciliogénesis.

*Novas, Rossina[1 *]; Cárdenas, Magdalena [1]; Badano, José Luis[1]*

[*1] Institut Pasteur de Montevideo

CCDC28B ha sido descrito como un modificador del síndrome de Bardet-Biedl (BBS) ya que una mutación en este gen, en presencia de mutaciones en genes BBS, se correlaciona con una presentación más severa de la enfermedad. BBS es causada por defectos a nivel de las cilias primarias (ciliopatía) y los datos generados en nuestro laboratorio nos han permitido demostrar que CCDC28B juega un rol regulando la actividad de SIN1 tanto en el marco del complejo 2 de la vía de mTOR (mTORC2) como en el proceso de ciliogénesis. En este trabajo nos enfocamos en obtener información acerca del mecanismo por el cual CCDC28B regula ciliogenesis, tanto a través de SIN1 como potencialmente en forma independiente a esta proteína ya que CCDC28B también interactúa con un complejo de proteínas BBS (BBSoma) involucrado en este proceso. A su vez, hemos identificado una interacción entre CCDC28B y proteínas asociadas al transporte intracelular sobre microtúbulos que pensamos pueda aportar información relevante. Utilizaremos herramientas de biología molecular y celular para interrogar las consecuencias de modular la expresión de nuestros genes de interés en líneas celulares y utilizaremos el modelo de pez cebra (Danio rerio) para estudiar la relevancia fisiológica de estas interacciones in vivo. Pensamos que este proyecto aportará información valiosa para entender el mecanismo por el cual CCDC28B interactúa con estas proteínas y complejos durante el proceso de ciliogenesis.

S2_014 Efecto de la compatimentalización celular en la biotinización in vivo de nanobodies

*Alfaya, Lucía [1 *]; Rossotti, Martín [1]; González-Sapienza, Gualberto [1]*

[*1] Catedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Además de poseer anticuerpos convencionales, los camélidos y tiburones poseen anticuerpos carentes de cadena liviana; cuyo dominio variable (VHH o nanobody) de aproximadamente 15 kDa contiene el sitio de unión al antígeno. Su tamaño y capacidad de ser expresados en E. coli los convierte en una valiosa alternativa a los anticuerpos convencionales en diversas aplicaciones biotecnológicas. Su potencial aumenta más si estos se producen con un residuo de biotina que permita detectarlos o inmovilizarlos. La conjugación química requiere la purificación previa y modifica indiscriminadamente los residuos de lisina del mismo. Una alternativa es utilizar la biotin-ligasa de E. coli (BirA) y un péptido aceptor de biotina que contiene una lisina en un entorno que permite su reconocimiento como substrato de la BirA y por tanto resulte biotinilada. La expresión basal de E. coli no es suficiente cuando hay sobre-expresión de su blanco, por lo que es necesario co-expresarla. Dado que se trata de una enzima citoplasmática y los VHH son de expresión periplasmática, en este trabajo se exploró la co-expresión de BirA y VHHs modelo en distintos compartimientos. La co-expresión en el citoplasma disminuye notoriamente la producción de los VHH, mientras que la co-expresión periplasmática no resulta en una biotinilización significativa de los mismos. Los mejores resultados se obtuvieron expresando la BirA y los VHH en el citoplasma y periplasma respectivamente. Si bien este esquema no permite alcanzar el 100% de biotinización, este puede alcanzarse in vitro mediante la lisis (permitiendo el contacto BirA-VHH) e incubación en presencia de biotina.

S2_015 Expresión de fumarato reductasa de *Trypanosoma cruzi* como posible blanco de agentes antichagásicos

*Mosquillo, Florencia[1 *]; Pérez, Leticia[1]; Pastro, Lucía[1]; Bentancor, Marcel[2]; Gambino, Dinorah[3]*

[*1] Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

La enfermedad de Chagas es una zoonosis potencialmente letal que afecta principalmente a la población rural y marginal de Latinoamérica. Su agente etiológico es el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, un organismo unicelular digenético que se transmite al hospedero mamífero, en el que se desarrolla la patología, a través de insectos triatominos hematófagos que funcionan como vectores. Está clasificada como una enfermedad "descuidada" dado que no existen vacunas disponibles. Los tratamientos actuales se basan en dos fármacos de amplio espectro, Benznidazol y Nifurtimox, con severos efectos secundarios por su alta toxicidad. La enzima fumarato reductasa NADH-dependiente (FRD) resulta de gran interés como blanco terapéutico para el diseño de fármacos antichagásicos por ser una enzima de *T. cruzi* que no está presente en el hospedero mamífero y que además, cataliza un importante paso metabólico, imprescindible para la viabilidad del parásito. En este contexto, se sintetizaron complejos de paladio y platino que afectan la actividad FRD en extractos crudos de *T. cruzi*. La búsqueda en la base de datos TriTrypDB ha revelado la presencia de tres isoformas de la FRD, las cuales fueron clonadas en vectores de expresión. Como perspectiva se plantea expresar las tres isoformas de la proteína en *E. coli* y purificarla por cromatografía de afinidad. Una vez analizada su funcionalidad *in vitro*, utilizando la enzima recombinante purificada podrá evaluarse el efecto inhibitorio de los agentes antichagásicos previamente sintetizados, con el fin de determinar si efectivamente la FRD es su blanco de acción y las concentraciones inhibitorias de los mismos.

S2_016 Transferencia de micro-ARNs de las plantas a los mamíferos a través de la dieta: una hipótesis apasionante pero irreproducible, y que parecería ser un artefacto de las técnicas de secuenciación masiva

*Tosar, Juan Pablo[1 *]; Rovira, Carlos[2]; Naya, Hugo[1]; Cayota, Alfonso[1]*

[*1] Institut Pasteur de Montevideo; [2] Lund University

Un grupo chino reportó haber detectado micro-ARNs (miRs) vegetales en sangre humana. Al alimentar ratones con arroz, mostraron cómo los miRs pasaban del alimento al hígado del ratón sin ser degradados. Más aún, silenciaban genes murinos a nivel hepático. Propusieron, por tanto, que existe transferencia horizontal de material genético a través de la dieta de los mamíferos (Zhang et al. Cell Res. 2012). A pesar del enorme interés suscitado, varios autores intentaron reproducir estos resultados sin éxito. Realizando minería de datos en bases de secuenciado masivo (NGS), detectamos la presencia de miRs vegetales en varias muestras de tejidos humanos. Curiosamente, estos llegaban a niveles sumamente elevados en muestras de espermatozoides. En aquel momento, interpretamos que esto apoyaba los hallazgos de Zhang y colaboradores, con eventuales implicancias incluso a nivel reproductivo. Así lo presentamos en la SUB de 2012. Sin embargo, no encontramos trazas de miRs vegetales cuando comenzamos a secuenciar muestras nosotros mismos. Por el contrario, encontramos que en muchos casos la contaminación cruzada durante el armado de librerías para NGS es fuente de secuencias exógenas. Analizando datos publicados por el laboratorio de Zhang en cefalocordados, encontramos los mismos miRs vegetales que luego describirían en sangre humana - y en el mismo orden - lo que manifiesta que el fenómeno en cuestión se debe a un artefacto técnico (Tosar et al. RNA 2014). La contaminación en los datos de NGS es un fenómeno subestimado, que en no pocos casos ha conducido a sostener conclusiones erróneas. Aquí presentamos un ejemplo.

S2_017 Diseño, producción y purificación de péptidos recombinantes de coriogeninas de *Austrolebias charrua*.

*Papa, Nicolás[1 *]; Señorale, Mario[2]; Marín, Mónica[2]; Chalar, Cora[2]; Berois, Nibia[1]*

[*1] Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La envoltura vitelina del ovocito de teleósteos, está compuesta por glicoproteínas (coriogeninas, ZPs), cuya síntesis involucra dos tipos de genes zp identificados en este grupo. Estos se distinguen por su expresión en el ovario, en el hígado (regulada por estrógenos) o en ambos, dependiendo de la especie. La síntesis de ZPs así como la organización de la envoltura es afectada por contaminantes acuáticos (especialmente xenoestrógenos) en diferentes especies, habiendo sido señalado como un biomonitor de gran sensibilidad. En el marco de un proyecto de investigación y una Tesis de Maestría (N. Papa) hemos analizado la expresión de genes zp en peces anuales mediante RT-PCR y posteriormente qPRC. Hemos logrado identificar: dos fragmentos de ADNc en *Austrolebias charrua*, *achzpL* y *achzpH* (ambos expresados en el hígado), así como sus niveles de expresión en exposición a estrógenos. En este contexto y con el interés en profundizar este estudio a nivel de expresión y distribución de las coriogeninas de *A. charrua*. Se abordó la producción de péptidos recombinantes con el objetivo de generar anticuerpos que permitan detectar cambios en la organización, cantidad y/o distribución de estas proteínas bajo efectos de xenoestrógenos. En este trabajo se presentan datos de la pasantía realizada en la Sección Bioquímica de Facultad de Ciencias donde se diseñaron y generaron los vectores de expresión con un protocolo adaptado de Zhang y col. (2012) y se establecieron las condiciones de producción y purificación del péptido zpLGEX5 (péptido de achzpL unido a la Glutatión-transferasa de S.japonicum, oficiando de adaptador de purificación).

S2_018 Estrategias para la generación de mutantes *knock out*: aplicación al estudio funcional de genes efectores en *Ralstonia solanacearum*.

*Salvo, Matías[1 *]; Siri, María Inés[1]; Sanabria, Analía[1]; Cecchetto, Gianna[2]; Pianzzola, María Julia[1]*

[*1] Facultad de Química, Universidad de la República ; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Ralstonia solanacearum (Rs) es una de las bacterias fitopatógenas con mayor impacto económico en el mundo. Es capaz de enfermar varios cultivos de importancia económica y está presente en todos los continentes. La identificación de factores de virulencia es un prerequisito para comprender su patogénesis, con este fin nuestro grupo ha identificado un cluster génico de 33,7 kb que está ausente en cepas de agresividad reducida. El objetivo de este trabajo es realizar un análisis funcional de dos genes contenidos en esta región que codifican para proteínas potencialmente efectoras secretadas por el sistema de secreción de tipo III. Para ello, se construyeron cepas mutantes por sustitución de estos genes por un gen de resistencia a spectinomicina (Sp). Se muestran dos estrategias empleadas para la construcción de estas cepas: la primera y sin éxito consistió en un método clásico de clonado mediante restricción y ligación para la generación de un vector conteniendo el gen de resistencia a Sp flanqueado por las regiones *upstream* y *downstream* al gen de interés. La segunda estrategia, la cual fue exitosa, se basó en el método *Overlap Extension PCR* (OE-PCR), que permitió generar mediante dos amplificaciones sucesivas un producto de PCR conteniendo las construcciones buscadas. Estos productos luego se utilizaron para generar los mutantes *knock out* para cada gen por recombinación homóloga. Finalmente, los mutantes obtenidos fueron validados por *southern blot* y utilizados para ensayos de inoculación en plantas de papa para determinar la contribución de estos genes sobre la virulencia de *Rs*.

S2_019 Estudio de la actividad y especificidad del promotor CD11b humano en líneas celulares de origen mieloide.

*Fontes, Agustina[1 *]; Negro, Luciana[2]; Sayós, Joan[3]; Peluffo, Hugo[2]; Kramer, Gabriela[1]*

[*1] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene; [2] Laboratorio de Neurodegeneración, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Nanomedicine,Hospital Universitario Vall d´Hebron, Barcelona

La generación de animales transgénicos con sistemas de expresión inducible ha demostrado ser una excelente herramienta para el análisis del efecto de proteínas heterólogas *in vivo*. El objetivo final de este trabajo es generar un ratón que exprese de manera inducible receptores solubles en macrófagos a efectos de poder estudiar el fenotipo asociado a su expresión. Para idear el sistema inducible, escogimos el promotor CD11b humano de 1,7 kb, ya que ha demostrado tener actividad específica en células mieloides murinas (1,2). Este promotor se obtuvo de Dra. Niki Tsakiri (BSRC Alexander Fleming, Vari, Grecia). En primer lugar se digirió el fragmento de restricción conteniendo el promotor CD11b y se insertó en el plásmido pGL3basic (Promega) para dirigir la expresión de luciferasa. El plásmido resultante, pCD11b-luc, se amplificó en *E.coli* DH5alpha, se extrajo empleando un kit comercial libre de endotoxinas (Qiagen) y se transfirió mediante lipofección o nucleofección a células macrofágicas U93T y RAW 264.7 y células epiteliales HEK293T y HeLa. Como control positivo se utilizó el plásmido pCMV-luc que lleva el gen de luciferasa bajo el promotor CMV y como control negativo, pGL3basic. Los resultados indicaron que el promotor CD11b es específico para la línea mieloide ya que no se detectó expresión de luciferasa en las líneas epiteliales pero sí en las macrofágicas. Sin embargo, su actividad fue significativamente menor que la del promotor CMV en las células U937 y RAW 264.7. Pese a ello, los niveles de expresión específica podrían ser suficientes para activar el sistema de expresión inducible, constituyendo ésta la próxima interrogante a responder en este trabajo.(1). Hickstein et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992(2). Boillée et al., Science, 2006

S2_020 SEÑALIZACIÓN EN BACTERIAS: ESTUDIOS MOLECULARES DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES DESK-DESR

Imelio, Juan Andrés[1 *]; *Trajtenberg, Felipe*[1]; *Obal, Gonzalo*[2]; *Larrieux, Nicole*[1]; *Buschiazzo, Alejandro*[1]

[* 1] Unidad de Cristalografía de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Unidad de Biofísica de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo

Las bacterias enfrentan cambios ambientales permanentemente y requieren de diversos sistemas de señalización para montar respuestas adaptativas específicas. Los "sistemas de dos componentes" (SDC), constituídos canónicamente por un sensor, denominado histidina-quinasa (HQ), y como efector un regulador de respuesta (RR), frecuentemente factores de transcripción. La detección de la señal específica por la HQ controla su capacidad de autofosforilarse a expensas de ATP, para luego transferir el grupo fosforilo a su RR específico. La fosforilación del RR usualmente provoca su activación, promoviendo los procesos por los que las células se adaptan a las nuevas condiciones -frecuentemente, la regulación de la expresión de genes específicos-. El objetivo de nuestro trabajo consiste en dilucidar a nivel molecular las interacciones HQ-RR específicas, y cómo éstas varían de acuerdo al estado funcional de la HQ (quinasa, fosfotransferasa o fosfatasa). Como modelo de estudio usamos el SDC DesK-DesR de *Bacillus subtilis*, que permite a este grupo de bacterias Gram+ adaptarse al choque frío. Para explorar la asociación de DesK con DesR hemos realizado ensayos biofísicos (calorimetría), bioquímicos (asociación y efectos *in vivo* usando distintos mutantes puntuales de las proteínas) y bioinformáticos (modelización de la estructura 3D del complejo). Los resultados preliminares sugieren diferencias clave entre los distintos estados funcionales/conformacionales de la quinasa, determinando su asociación con las formas activas/inactivas del RR. Hemos recientemente cristalizado el complejo, y la determinación de su estructura 3D está en curso, lo que permitirá contribuir a la dilucidación del código de especificidad en la interacción HQ-RR de bacterias.

S2_021 Análisis de perfiles de expresión génica a lo largo del ciclo celular de *Trypanosoma cruzi*.

Chávez, Santiago[1 *]; *Eastman, Guillermo*[2]; *Smircich, Pablo*[1]; *Sotelo-Silveira, José*[2]; *Garat, Beatriz*[3]; *Duhagon, María Ana*[1]

[* 1] Laboratorio de Interacciones Moleculares - Facultad de Ciencias / Departamento de Genética - Facultad de Medicina, Universidad de la República.; [2] Departamento de Genómica - Instituto de Investigaciones Biológicas Celemente Estable; [3] Laboratorio de Interacciones Moleculares - Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

El parásito *Trypanosoma cruzi*, organismo responsable de la enfermedad de Chagas, regula la expresión génica fundamentalmente a nivel post-transcripcional, puesto que transcriben de forma casi constitutiva su genoma. Aunque se conoce poco sobre los mecanismos que regulan la progresión del ciclo celular en *T. cruzi*, se sabe que divergen respecto a los del hospedero, lo que los convierte en blancos farmacológicos interesantes. Nuestro proyecto se propone investigar el ciclo celular a través de la determinación del transcriptoma profundo de cada etapa del ciclo. Para esto, sincronizamos cultivos de epimastigotas de *T. cruzi* mediante privación del pool de desoxi-nucleótidos por incubación en presencia de Hidoxiurea (Galanti, *et al.* 1994). Obtuvimos un enriquecimiento cercano a 70% en cada una de las fases del ciclo, determinado por ensayos de citometría para contenido de ADN mediante tinción con loduro de Propidio. Se purificó ARN total, se determinó su calidad y se validaron mediante qRT-PCR genes diferencialmente expresados. Finalmente, se realizó RNA-seq de cada etapa del ciclo y las lecturas obtenidas se mapearon al genoma de *T. cruzi*. Se identificaron los genes diferencialmente expresados entre las diferentes etapas y se realizaron análisis de ontología génica para investigar posibles procesos o funciones especialmente moduladas. Los resultados preliminares se discuten en el contexto de la regulación de la expresión génica en estos particulares parásitos.

S2_022 Desarrollo de un ensayo robusto y de alta sensibilidad para la detección de microcistinas utilizando anticuerpos monodominio de llamas (nanobodies).

Pírez Schirmer, Macarena[1 *]; *Brena, Beatriz*[2]; *González Sapienza, Gualberto*[1]

[* 1] Cátedra de Inmunología; Facultad de Química; Universidad de le República; [2] Cátedra de Bioquímica; Facultad de Química; Universidad de le República

Los nanobodies (VHHs), la versión recombinante del dominio variable de los anticuerpos monodominio de camélidos, son muy atractivos como alternativa a los anticuerpos convencionales. Presentan elevados niveles de expresión en E. coli, estabilidad estructural para su derivatización con moléculas reporteras y son particularmente aptos para formar conjugados recombinantes bi-funcionales. Su excepcional estabilidad frente a la temperatura y solventes los hace particularmente valiosos en inmunodetección. Este trabajo describe la selección de nanobodies contra microcistina LR (MC-LR), la principal toxina encontrada en las floraciones cianobacterianas de nuestro país. Para la inmunización de llamas se purificó la MC-LR en gran escala a partir de una floración natural de *Microcystis sp* y se preparó un inmunógeno conjugándola a la ovoalbúmina. Se construyó una biblioteca de nanobodies expresados en fagos filamentosos, "phage display" de alta diversidad ($\sim 10^9$) y se realizaron tres rondas de selección (panning) con un conjugado MC-BSA inmovilizado. El pool de anticuerpos seleccionados fue clonado en un vector de expresión fuerte fusionado a la secuencia de un péptido aceptor de biotina. La co-expresión con la biotin-ligasa de *E. coli* permite la expresión soluble de VHHs biotinilados *in vivo*, facilitando su detección y el montaje de ensayos en diversos formatos. Aplicando una estrategia de selección competitiva con MC-LR libre sobre este pool se seleccionaron nanobodies que permiten montar inmunoensayos con límites de detección iguales a los ensayos disponibles basados en anticuerpos convencionales, y son adecuados para detectar la toxina por debajo del límite de 1 μg/L recomendado por la OMS para agua potable.

S2_023 Expresión de genes vinculados con la hipoxia y el daño oxidativo tras asfixia perinatal, y en respuesta a un tratamiento neuroprotector con quercetina

Cardozo, Viviana[1 *]; *Parodi, Adriana*[2]; *Blasina, Fernanda*[3]; *Vaamonde, Lucía*[3]; *Silveira, Fernando*[4]; *Martell, Miguel*[4]; *Dajas, Federico*[5]; *Bedó, Gabriela*[2]

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República / Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Depto. Neonatología, Hospital de Clínicas / Depto. Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [4] Depto. Neonatología, Hospital de Clínicas; [5] Depto. Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La encefalopatía hipóxico-isquémica causada por un aporte insuficiente de oxígeno y/o sangre, es una de las mayores causas de daño cerebral en el feto, resultando en una significativa morbilidad y mortalidad. La severidad de esta condición clínica hace necesaria la búsqueda de estrategias neuroprotectoras. La quercetina es un flavonoide conocido por sus propiedades antioxidantes, y con antecedentes de promover una mejoría significativa de los déficits neurológicos. Actualmente, se está trabajando en un modelo de hipoxia en cerdos recién nacidos, así como en los estudios preclínicos para evaluar la eficacia como neuroprotector de una preparación nanosomal de quercetina. En este marco nos proponemos caracterizar los cambios en expresión génica mediante PCR en tiempo real y electroforesis bidimensional/espectrometría de masa, en diferentes áreas del Sistema Nervioso Central. En particular, se detectó un aumento del ARNm de HO-1 en los cerdos sometidos a hipoxia y una disminución del mismo luego de la administración de quercetina. En cambio, para HIF-1a se observó una disminución de su expresión en los cerdos sometidos a hipoxia, y un aumento en los cerdos tratados con quercetina. La quercetina produjo un aumento del ARNm de Nrf2 en estriado. A su vez, mediante el enfoque proteómico en muestras de corteza cerebral, se lograron identificar 17 proteínas con diversas funciones, principalmente relacionadas con regulación del estado redox celular, glucólisis y apoptosis. En 10 de las proteínas analizadas el cambio observado tras la hipoxia en comparación con el grupo control, revierte con el tratamiento con quercetina.

S2_024 Caracterización de ARNm de origen nuclear asociado a mitocondria en *Trypanosoma cruzi*

*Becco, Lorena [1 *]; De Gaudenzi, Javier[2]; Pastro, Lucia [1]; Smircich, Pablo[1]; Garat, Beatriz[1]*

[* 1] Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús, UNSAM-CONICET

Trypanosoma cruzi y los tripanosomátidos en general, presentan características biológicas excepcionales. En particular posee una única mitocondria cuyo genoma codifica un número restringido de proteínas y ARNs de los necesarios para conservar la integridad física y funcional del organelo. El resto de las proteínas mitocondriales, así como la totalidad de los ARNts son codificados a nivel nuclear. Se conoce la existencia de señales canónicas a nivel peptídico para la localización mitocondrial de proteínas. Sin embargo, esta señal no se presenta de forma universal. Por lo tanto, nos planteamos buscar señales alternativas capaces de cumplir con este fin. En este contexto se llevó a cabo la búsqueda de señales conservadas a nivel de estructura primaria y secundaria en ARNm codificados a nivel nuclear cuyos productos tengan destino mitocondrial. Se pudo definir la existencia de una estructura consenso para un subgrupo de los mensajeros blancos que se encuentra representada significativamente. Como forma de verificar experimentalmente la distribución diferencial de ARNm asociada a mitocondria, nos planteamos realizar un fraccionamiento subcelular de la forma epimastigota del parásito. El fraccionamiento se controla a nivel de proteínas mediante western blot contra marcadores proteicos específicos de cada fracción. A nivel de ARN, se controla la presencia tanto de mensajeros codificados en mitocondria así como de marcadores de núcleo i.e. snoARN, mediante qRT-PCR. De la misma manera, se evalúa la distribución diferencial de los ARNm que contienen la señal identificada en las diferentes fracciones subcelulares

S2_025 Secuenciado masivo de pequeños ARNs secretados en distintas fracciones extracelulares (exosomas, ectosomas, ribonucleoproteínas) por líneas celulares y en sangre periférica.

*Tosar, Juan Pablo[1 *]; Sanguinetti, Julia[1]; Gámbaro, Fabiana[2]; Bonilla, Braulio[2]; Witwer, Kenneth[3]; Cayota, Alfonso[1]*

[* 1] Institut Pasteur de Montevideo / Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo; [3] Johns Hopkins University School of Medicine

Los ARNs pequeños reguladores (sARNs) regulan la expresión de >60% de los genes humanos, asistiendo en el silenciamiento de ARNs mensajeros parcialmente complementarios. Además de los micro-ARNs (miRs), nuestro grupo estudia otras familias de sARNs, tales como las mitades de tARNs. Además de su rol intracelular, las células empaquetan miRs dentro de vesículas extracelulares. Las mismas viajan por el torrente sanguíneo y pueden ser internalizadas por otras células. Mediante la secreción de estos sARNs, las células logran alterar la expresión génica de células incluso distantes. Además de su potencial diagnóstico, el estudio de estos mecanismos adquiere relevancia en la biología tumoral. Hemos purificado ectosomas, exosomas y la fracción extracelular libre de vesículas (ribonucleoproteica) a partir de las líneas celulares MCF-7 y MCF-10A. La pureza de cada fracción fue estudiada por MET, Wblot y análisis de seguimiento de nanopartículas. Realizamos secuenciado masivo de sARNs en 3 réplicas biológicas de cada fracción, en cada línea celular, además del contenido intracelular. Nuestros resultados, validados por qPCR y PCR digital, se ajustan a un modelo de secreción pasiva para la mayoría de los miRs, con algunos pocos candidatos para secreción diferencial. Por el contrario, los fragmentos de tARNs muestran enriquecimiento específico en la fracción ribonucleoproteica. Hemos comenzado a trabajar en la identificación de la contraparte proteica de estos complejos a los efectos de elucidar su rol biológico. En paralelo, estamos realizando secuenciado de sARNs en plasma de pacientes oncológicos pre y post- resección quirúrgica, con el fin de identificar ARNs circulantes con potencial biomarcador.

S2_026 Descifrando la función de HIG-1 (Hypoxia induced gene 1) mediante dos modelos biológicos diferentes.

*López, Lucía[1 *]; Sosa, Ileana[1]; Zuluaga, María José[2]; Agrati, Daniella[2]; Lagos, Patricia[3]; Zolessi, Flavio[4]; Bedó, Gabriela[1]*

[* 1] Sección Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Secc.Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Depto.Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [4] Secc.Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República / Institut Pasteur

El gen Hig-1 (hypoxia induced gene 1) codifica una proteína de la membrana mitocondrial interna y se expresa en varios tejidos en respuesta a diferentes condiciones fisiológicas y patológicas. Los antecedentes sugieren una vinculación con la señalización muerte celular/supervivencia, probablemente con función antiapoptótica. Con el fin de profundizar en su posible función utilizamos dos abordajes. Evaluamos el efecto del knockdown del gen en embriones de pez cebra. Los análisis preliminares utilizando microscopía confocal revelaron en embriones de 30 hpf un aumento de la muerte celular, principalmente en la zona del mesénquima cefálico derivado de la cresta neural. Puesto que el tejido cartilaginoso deriva de estas células, analizamos también el desarrollo de los cartílagos cráneo-faciales, observando alteraciones severas en dichos tejidos. Por otra parte, analizamos el patrón de expresión de HIG-1 en áreas del cerebro de rata durante las primeras semanas de vida, constatando cambios en su expresión de acuerdo a la edad, y particularidades según las regiones. Buscamos analizar especialmente áreas en relación a un posible rol citoprotector: así por ejemplo comparamos la expresión en el núcleo sexualmente dimórfico del área preóptica de machos y hembras, que sufre una intensa y rápida muerte de neuronas en las hembras en los primeros días de vida. Si bien observamos expresión en ambos sexos, nos proponemos cuantificarla para obtener resultados concluyentes. Los resultados preliminares apoyan un rol de HIG-1 durante la diferenciación y destino de las células de la cresta neural, así como en la maduración pos-natal del SNC.

S2_027 Modificación genética de Saccharomyces cerevisiae para lograr altos niveles de isoprenoides de interés como biocombustibles.

*Camesasca, Laura[1 *]; Minteguiaga, Manuel[2]; Fariña, Laura[3]; Salzman, Valentina[4]; Carrau, Francisco[5]; Aguilar, Pablo[4]; Gaggero, Carina[1]*

[* 1] Dpto Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Dpto Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Dpto. Farmacognosia y Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la República; [3] Dpto Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Sección Enología, Facultad de Química, Universidad de la República; [4] Laboratorio de Biología Celular de Membranas, Institut Pasteur de Montevideo; [5] Sección Enología, Facultad de Química, Universidad de la República

Los terpenos o isoprenoides son compuestos sintetizados a partir de precursores químicamente relacionados al isopreno. En plantas existe gran diversidad de isoprenoides utilizados para la producción de medicamentos, aditivos de alimentos, fragancias, pesticidas, desinfectantes y recientemente, aditivos de biocombustibles. Previamente demostramos que cepas nativas de Saccharomyces cerevisiae eran capaces de sintetizar terpenos de novo en un medio químicamente definido que simula un mosto de uva pero no contiene precursores vegetales. Propusimos que la sintetasa de hexaprenil pirofosfato Coq1p podría estar involucrada en la biosíntesis de isoprenoides aunque su función demostrada hasta el momento es en la biosíntesis de ubiquinona o coenzima Q. En este trabajo demostramos que la sobreexpresión de COQ1 a partir de un plásmido de alto número de copias aumenta los niveles del monoterpeno linalol en un 18%, mientras que los sesquiterpenos nerolidol y farnesol aumentan un 33% y 22%, respectivamente, en comparación con los niveles detectados con el vector vacío. La concentración de linalol llega a 14 μg/L, mientras que los niveles tanto de nerolidol como de farnesol alcanzan los 300 μg/L. Cuando COQ1 es sobreexpresado a partir de un plásmido de bajo número de copias o cuando el promotor de COQ1 en el cromosoma es reemplazado por el promotor constitutivo GPD1, los niveles de estos isoprenoides disminuyen. En presencia de un vector vacío, los niveles de isoprenoides son mayores que en ausencia de plásmido. Demostramos que es posible modular los niveles de isoprenoides que S. cerevisiae puede producir en ausencia de genes o precursores vegetales.

Biotecnología - Sesión 2

S2_027 Modificación genética de Saccharomyces cerevisiae para lograr altos niveles de isoprenoides de interés como biocombustibles.

*Camesasca, Laura[1 *]; Minteguiaga, Manuel[2]; Fariña, Laura[3]; Salzman, Valentina[4]; Carrau, Francisco[5]; Aguilar, Pablo[4]; Gaggero, Carina[1]*

[*1] Dpto Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Dpto Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Dpto. Farmacognosia y Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la República; [3] Dpto Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Sección Enología, Facultad de Química, Universidad de la República; [4] Laboratorio de Biología Celular de Membranas, Institut Pasteur de Montevideo; [5] Sección Enología, Facultad de Química, Universidad de la República

Los terpenos o isoprenoides son compuestos sintetizados a partir de precursores químicamente relacionados al isopreno. En plantas existe gran diversidad de isoprenoides utilizados para la producción de medicamentos, aditivos de alimentos, fragancias, pesticidas, desinfectantes y recientemente, aditivos de biocombustibles. Previamente demostramos que cepas nativas de Saccharomyces cerevisiae eran capaces de sintetizar terpenos de novo en un medio químicamente definido que simula un mosto de uva pero no contiene precursores vegetales. Propusimos que la sintetasa de hexaprenil pirofosfato Coq1p podría estar involucrada en la biosíntesis de isoprenoides aunque su función demostrada hasta el momento es en la biosíntesis de ubiquinona o coenzima Q. En este trabajo demostramos que la sobreexpresión de COQ1 a partir de un plásmido de alto número de copias aumenta los niveles del monoterpeno linalol en un 18%, mientras que los sesquiterpenos nerolidol y farnesol aumentan un 33% y 22%, respectivamente, en comparación con los niveles detectados con el vector vacío. La concentración de linalol llega a 14 μg/L, mientras que los niveles tanto de nerolidol como de farnesol alcanzan los 300 μg/L. Cuando COQ1 es sobreexpresado a partir de un plásmido de bajo número de copias o cuando el promotor de COQ1 en el cromosoma es reemplazado por el promotor constitutivo GPD1, los niveles de estos isoprenoides disminuyen. En presencia de un vector vacío, los niveles de isoprenoides son mayores que en ausencia de plásmido. Demostramos que es posible modular los niveles de isoprenoides que S. cerevisiae puede producir en ausencia de genes o precursores vegetales.

S2_029 Caracterización de una endoglucanasa derivada del metagenoma de rumen bovino

*Loaces, Inés[1 *]; Amarelle, Vanesa [1]; Fabiano, Elena [1]; Noya, Francisco [1]*

[*1] Dpto de Bioquímica y Genómicas Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Las celulasas son enzimas que participan en diversos procesos industriales, entre otros la producción de bioetanol a partir de lignocelulosa. Utilizando metagenómica funcional se tiene acceso a nuevas enzimas provenientes de microorganismos no cultivables, las cuales pueden optimizar los procesos y minimizar los insumos requeridos por las tecnologías actuales. A partir de un metagenoma de rumen bovino se aisló una endoglucanasa (EndoG) perteneciente a la familia GH5, la cual muestra homología con enzimas no caracterizadas provenientes de microoganismos no cultivables. El ORF (1166pb) que codifica a EndoG fue secuenciado y la enzima sobre-expresada en *Escherichia coli* BL21 (DE3), purificada y caracterizada. EndoG muestra un pH óptimo de 6,0 con al menos 82% de actividad a pH entre 5,5 y 7,5. Su temperatura óptima es de 50°C, manteniendo más del 60% de actividad a temperaturas entre 20 y 60°C. La enzima mostró ser estable luego de ser incubada durante u na hora a 50, 55 o 60°C y retiene el 81% de actividad en presencia de NaCl 4M. Ensayos de actividad en presencia de diversos solventes muestran que EndoG retiene más del 70% de su actividad en presencia de etanol, metanol, propanol, DMF, acetona, tolueno y EDTA, pero es inhibida en presencia de 15% de Tween20. Esta celulasa estable, tolerante a sales y solventes, activa en un amplio rango de pH y temperatura es ideal para aplicaciones industriales. Nos encontramos evaluando su potencial para desarrollar un microorganismo capaz de sacarificar y fermentar la lignocelulosa produciendo bioetanol en un único paso (CBP).

S2_030 Localización subcelular de metacaspasas del musgo Physcomitrella patens

*Gariazzo, Bruno[1 *]; Bentancor, Marcel[1]; Vidal, Sabina[1]*

[*1] Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Tanto las células animales como vegetales experimentan fenómenos de muerte celular programada. La apoptosis es el morfotipo más caracterizado de muerte celular programada en células animales, y varias de sus características morfológicas se deben a la acción de unas proteasas conocidas como caspasas. Por su parte, varios casos de muerte celular programada en células vegetales muestran similitudes morfológicas con la apoptosis pero careciendo sus genomas de secuencias altamente similares a las caspasas. Si se han identificado proteasas vegetales con similitud acotada con caspasas, denominadas metacaspasas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la localización subcelular de metacaspasas en plantas para así contribuir con la línea de investigación del laboratorio que busca identificar la función de metacaspasas en Physcomitrella patens. Este musgo es una planta modelo con ventajas particularmente útiles para efectuar estudios de genómica funcional, en este caso de metacaspasas. Estructuralmente las metacaspasas se clasifican en dos grupos y nuestro grupo ha encontrado seis diferentes metacaspasas en P. patens, dos de tipo I y cuatro de tipo II. En este trabajo se presentan los resultados de localización subcelular para tres de estas metacaspasas en plantas infiltradas de Nicotiana tabacum con cultivos de Agrobacterium tumefaciens. Las construcciones plasmídicas fueron realizadas con éxito y fue posible ver en el microscopio confocal y de epifluorescencia la señal de la proteína GFP fusionada al extremo carboxilo terminal de cada metacaspasa estudiada. Las señales obtenidas parecen ser mayoritariamente citoplasmáticas, pero variando en el grado de uniformidad de la señal contenida en el citoplasma.

S2_031 Nanobodies neutralizantes de PD-1 y PD-L1 para el tratamiento del cáncer

*Vanrell, Lucía[1 *]; Silva, Noelia [1]; González, Gualberto[1]*

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República

Los linfocitos T son células efectoras del sistema inmune esenciales en el control de enfermedades. Durante el desarrollo tumoral, los linfocitos T específicos de antígeno (tumoral) sufren un proceso denominado inactivación funcional, mediante el cual alcanzan un estado de disfuncionalidad que los hace incapaces de actuar eficazmente contra el tumor. Estudios en diversos modelos animales y en humanos han demostrado que la expresión alta y prolongada de receptores inhibidores (como el receptor de muerte programada-1 o PD-1) es una característica esencial de estos linfocitos disfuncionales. Los anticuerpos monoclonales convencionales neutralizantes de estas moléculas logran revertir ese estado, pero su administración sistémica provoca serios efectos secundarios relacionados con respuestas inmunes exacerbadas de carácter autoinmune, que limitan su uso en un considerable porcentaje de pacientes. El uso alternativo de anticuerpos monodominio de llama o "nanobodies" podría resultar ventajoso frente al de los anticuerpos convencionales tanto en la actividad anti-tumoral ejercida (por presentar mayor penetrabilidad en los tejidos), como en la seguridad toxicológica, ya que su excreción es muy rápida (vida media de algunas horas, en comparación con 2-3 semanas de los anticuerpos convencionales), por vía renal. En este trabajo se describe la generación de anticuerpos monodominio de llama (que no han sido aún evaluados clínicamente) neutralizantes de PD-1 y de su ligando PDL-1, para el tratamiento del cáncer, proponiéndose como buenos candidatos de ser utilizados en protocolos de terapia génica con el fin de dirigirlos específicamente al microambiente tumoral, consiguiendo su expresión localizada y regulada, evitando respuestas inmunes exacerbadas "off target".

S2_032 Inmunodetección de haptenos con nanopeptámeros recombinantes

Lassabe, Gabriel[1 *]; *Rossotti, Martín*[1]; *González-Techera, Andrés*[1]; *González-Sapienza, Gualberto*[1]

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República

En este trabajo presentamos una metodología para la inmunodetección directa de pequeñas moléculas (haptenos) como alternativa a los ensayos de competencia. En estos inmunoensayos se utilizan péptidos que reconocen de forma específica inmunocomplejos formados por un analito problema y su anticuerpo específico. Dichos péptidos (que fueron previamente seleccionados a partir de bibliotecas de fagos y la tecnología Phage display) son fusionados a subunidades de proteínas oligoméricas de forma de producir complejos multivalentes. Estos complejos, que denominamos nanopeptámeros, se expresan de forma recombinante a partir de sistemas de expresión en E. coli. En este trabajo presentamos la subunidad B de la toxina Verotoxina, una proteína homopentamérica de pequeño tamaño como plataforma para el diseño nuevos nanopeptámeros que presentaron el péptido ICx11 capaz de reconocer el inmunocomplejo formado por herbicida clomazone y su anticuerpo específico. En una segunda etapa, las posiciones no conservadas del péptido se diversificaron en forma aleatoria, y de estas bibliotecas de mutagénesis se aislaron nuevos péptidos que reconocían con mayor afinidad el inmuncomplejo. Así, se produjeron nuevos nanopeptámeros y se montaron ensayos no competitivos con valores de sensibilidad mejorada respecto a los obtenidos previamente. Se caracterizó el desempeño de los mismos mediante el análisis de muestras con aguas fortificadas. Asociados a carbón coloidal, los nanopeptámeros permitieron adaptar los ensayos en formatos de flujo lateral de muy buena sensibilidad que por su facilidad de uso y rapidez podrían ser aplicados in situ en el punto de control para el monitoreo de diversos compuestos químicos de bajo peso molecular.

S2_033 Aproximación biotecnológica para facilitar cirugía conservativa en cáncer mediante la detección de contornos de tumores

Severi, Maria[1 *]; *Ferragut, Gabriela* [1]; *Calvo, Alejandra*[1]; *Cedano, Juan*[1]

[*1] Laboratorio de Inmunología, Centro Regional Universitario, Universidad de la República

La cirugía oncológica continúa siendo uno de los abordajes claves en el manejo del cáncer, a pesar de las innovaciones en otros campos como la radioterapia, quimioterapia, terapias sistémicas, incluyendo las terapias dirigidas a blancos moleculares. Este trabajo se propone el uso de nuevas herramientas biotecnológicas dirigidas a la reducción de la agresividad de los tratamientos en cirugía oncológica sin comprometer su eficacia terapéutica. Para abordar este objetivo se propuso desarrollar un marcador fluorescente que se una a los márgenes del tumor, de forma tal que sirva de guía para que el cirujano pueda delimitar lo más exactamente posible donde acaba el tumor y donde empieza el tejido sano. Para ello se desarrolló un constructo a partir de modificaciones de la proteína presente en la matriz celular de los tejidos humanos, Nidógeno-1. Se ha elegido esta proteína por su capacidad de unirse a la matriz celular en formación. Esta proteína tiene además alta homología estructural con la proteína fluorescente verde (GFP), por lo que permitió llevar a cabo un diseño quimérico para el constructo que resulta mucho más elegante. Dicha proteína quimérica está constituida en la superficie por los aminoácidos de la proteína Nidógeno-1 humana, y en su interior por los aminoácidos correspondientes a una proteína de la familia de las GFP, de elevado nivel de fluorescencia. Debido al hecho de que el centro activo de estas proteínas fluorescentes compete a aminoácidos enterrados en el interior de la misma y un túnel que permite que desde el exterior llegue un flujo continuo de moléculas de agua al centro activo, finalmente se optó por trasplantar el interior completo de la proteína en bloque. A la vez al conservarse los aminoácidos que interaccionan con la matriz se está garantizando su afinidad por la misma. Además, se clonarán dos de sus dominios el correspondiente al dominio tipo GFP y el dominio de unión al perlecan y el colàgeno IV. Para verificar, su funcionalidad se probará en ratas a las se les generará tumores de colon.

S2_034 Optimización y validación de modelos *in vitro* para el estudio de perturbadores endócrinos

Harreguy, María Belén[1 *]; *Pagotto, Romina* [1]; *Bollati-Fogolín, Mariela*[1]

[*1] Institut Pasteur de Montevideo

Una diversidad de sustancias antropogénicas presentes en el ambiente, conocidas como perturbadores endócrinos (PE), son capaces de alterar la homeostasis del sistema endócrino de los organismos. El incremento de ciertas patologías ha sido asociado con la creciente exposición a PE, siendo necesario contar con sistemas para evaluar la capacidad de PE de compuestos utilizados por el hombre. Surgen así, los métodos in vitro para la evaluación de PE, los cuales son rápidos, económicos y reproducibles, convirtiéndolos en una valiosa herramienta. Uno de los ensayos más usados consiste en el empleo de líneas celulares reporteras donde la expresión del gen reportero está regulada por elementos de respuesta a hormonas. Dentro de los genes reporteros más comúnmente utilizados se encuentran la luciferasa y la proteína verde fluorescente (GFP). El objetivo del trabajo consistió en optimizar y validar un ensayo reportero para estudiar PE empleando luciferasa y comparar su sensibilidad luego de reemplazar el gen reportero por GFP. Se utilizó la línea celular T47D-KBLuc que contiene el gen de luciferasa bajo un promotor regulado por elementos de respuesta a estrógenos. Para obtener una máxima respuesta se optimizaron: condiciones de cultivo, densidad celular inicial y tiempo de estimulación. Se estableció 30000 células/pocillo y 24h de estimulación. Luego se evaluó la respuesta frente a diferentes estímulos (E2, EE2, BPA y 4-MBC). Finalmente, al vector plasmídico se le intercambió el gen de luciferasa por el de GFP, se transfectó la línea T47D y se comparó la respuesta de este nuevo sistema reportero frente a T47D-KBLuc.

S2_035 Anticuerpos específicos contra antígenos dietarios en calostro humano donado en banco de leche: efectos del procesamiento térmico sobre la reactividad inmunológica.

Rodríguez, Claudio [1 *]; *Puyol, Arturo*[2]; *Fazio, Laura*[1]; *Lemos, Mary*[2]; *Siré, Gabriela*[2]; *Castro, Mara*[2]; *Hernández, Ana*[3]

[*1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Banco de Leche Humana, Centro Hospitalario Pereira Rossell, ASSE; [3] Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Facultad de Química, Universidad de la República

El calostro aporta IgA secretoria además de IgM e IgG con efectos beneficiosos para el neonato que van más allá de la protección a infecciones, también aporta anticuerpos que participan en mecanismos de inmunoregulación frente a antígenos dietarios contribuyendo a la protección frente a alergias. Los anticuerpos IgG4 estarían particularmente implicados en estos mecanismos. La pasteurización de la leche puede modificar estas propiedades, por lo que se torna relevante disponer de una evaluación inmunológica de los efectos del tratamiento térmico de calostros suministrados a bebes prematuros vulnerables. En este trabajo se analizaron el contenido de IgA, IgM e IgG (total ysubclases) en 67 calostros, y su reactividad frente a los antígenos betalactoglobulina bovina (bLG), ovoalbúmina (OVA) y gliadina (GLD), antes y después del tratamiento térmico. Los calostros aportaron IgA, IgM e IgG total en concentraciones de 1.30, 0.043 y 0.015 mg/ml respectivamente (medianas). Las IgM fueron drásticamente afectadas por la pasteurización, mientras que la retencióndе IgG e IgA resultaron 64% y 78 % respectivamente. La distribución de subclases de IgG resultó IgG1>IgG2>IgG4>>IgG3, siendo la IgG4 la más resistente al tratamiento térmico. En cuanto al efecto sobre la reactividad específica de las IgG con la pasteurización, disminuyó frente a OVA ($p=0.0003$), no varió frente a GLD y aumentó contra bLG ($p<0.0001$,Wilcoxon test pareado). El perfil individual de subclases IgG anti-OVA fue variable, 14/20 muestras presentaron IgG4 como subclase mayoritaria con aumento de la reactividad post-pasteurización ($p=0.003$). Estos resultados son relevantes respecto al potencial inmunoregulador decalostros pasteurizados.

S2_036 Análisis comparativo entre el ensayo de tuberculina intradérmica y un kit comercial de ELISA para el diagnóstico de tuberculosis bovina en Uruguay.

*Rivera, Mariana[1 *]; Rossi, Andrea[1]; Chabalgoity, José Alejandro[1]*

[* 1] Departamento Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La tuberculosis es una zoonosis de incidencia mundial, que afecta a humanos, bovinos, y otras especies de mamíferos. Es considerada por la OMS como una de las principales causas de muerte debido a la infección por una única especie de microorganismo en adultos. Aunque la tuberculosis humana (TH) y la bovina (TB) son causadas por distintas especies de *Mycobacterium*, se ha podido establecer una correlación entre la erradicación de TB y la prevalencia de TH. Algunos países han aplicado rigurosos programas de control y eliminación de la TB logrando disminuir la incidencia esta enfermedad drásticamente. En Uruguay se han aplicado mecanismos de control con éxito, aunque esporádicamente surgen focos infecciosos, afectando la producción ganadera. A pesar de la importancia de esta enfermedad y pese a los avances biotecnológicos, el único método de diagnóstico oficial aún consiste en el ensayo de tuberculina intradérmica, desarrollado hace casi 100 años, poco preciso y con gran variabilidad. Dada la importancia de contar con un método de diagnóstico efectivo, se han desarrollado métodos alternativos que podrían aportar a la mejora del diagnóstico, aunque para ello deberían primero ser validados por los organismos competentes. En este trabajo nos planteamos aportar en esa dirección realizando un análisis comparativo del diagnóstico de 3000 bovinos realizado en paralelo por el test de tuberculina intradérmica y por un kit comercial de ELISA validado por la OIE (Laboratorios IDEXX) y su asociación con los resultados de confirmación clínica de presencia/ausencia de la infección.

S2_037 Generación de bibliotecas "focalizadas" para la selección de anticuerpos anti-haptenos.

*Tabares, Sofía[1 *]; Wilson, Dave[2]; González-Sapienza, Gualberto[1]*

[* 1] Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Department of Entomology and Cancer Research Center, University of California, Davis.

Los anticuerpos, componentes fundamentales del sistema inmune adaptativo, han sido ampliamente utilizados como herramientas biotecnológicos. Las bibliotecas de anticuerpos permiten aislar anticuerpos aun sin inmunización previa del animal a partir de la cual se generaron. En nuestro laboratorio trabajamos con bibliotecas de anticuerpos monodominio de llama (nanobodies) que presentan varias ventajas (fácil expresión, pequeño tamaño, estabilidad, etc). Al carecer de la interface entre cadenas, los nanobodies no son muy aptos para unir moléculas pequeñas como fármacos, drogas, pesticidas, toxinas, etc. que colectivamente denominamos como haptenos. Sin embargo, nuestro grupo ha aislado un nanobody de alta afinidad contra el bactericida triclocarban (TCC, 315 Da). La estructura cristalina del complejo TCC-nanobody muestra que el TCC se une en forma muy peculiar, en donde el CDR1, parte del CDR3 y el FR3 tienen mucha participación, generando una cavidad tipo túnel que acomoda al antígeno ("tunnel-like binding"). Basándonos en esta estructura hemos diseñado una estrategia de diversificación del scaffold de nuestro anticuerpo, para generar una biblioteca "focalizada" contra haptenos. Mediante la generación de oligonucleótidos sintéticos y randomizados en los puntos de contactos mostrados en la estructura cristalográfica, se generaron los genes de anticuerpos para construir la biblioteca "tunnel-like binding". El potencial de esta biblioteca para aislar nanobodies anti-haptenos está siendo ensayada con un panel de moléculas pequeñas incluyendo haptenos planares similares al TCC.

S2_038 ESTUDIO DE LOS COMPONENTES ANTIGÉNICOS DE *Mannheimia haemolytica* PARA LA MEJORA DE VACUNAS CONTRA EL SINDROME RESPIRATORIO BOVINO

*Lorena, Becco [1 *]; Cabrera, Florencia[2]; Reolon, Eduardo [3]; Tucci, Paula[4]; Marín, Mónica[2]*

[* 1] Laboratorios Celsius S.A; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Laboratorios Santa Elena S.A.; [4] Laboratorios Celsius S.A.

El síndrome respiratorio bovino (SRB) es una enfermedad multifactorial, causada por varios agentes etiológicos lo que dificulta su control. Constituye una de las principales patologías que afecta al ganado bovino, causando importantes pérdidas económicas en la producción agropecuaria de nuestro país. Laboratorios Santa Elena produce vacunas contra el SRB formuladas en base a cultivos inactivados de sus principales agentes etiológicos, uno de los cuales es *M. haemolytica*. Esta bacteria pertenece a la flora bacteriana usual del ganado pero se promueve su virulencia frente a situaciones de estrés y la co-infección por parte de otros agentes virales o bacterianos. Esto conlleva su pasaje desde a la región nasofaríngea a los alvéolos pulmonares, provocando la infección pulmonar y los síntomas típicos de la neumonía. Entre los principales factores de virulencia asociados a esta infección, se encuentra la leucotoxina secretada por *M. haemolytica* . En este contexto, nos propusimos caracterizar los principales componentes antigénicos de *M. haemolytica* presentes en el sobrenadante de cultivo inactivado, con especial interés en la leucotoxina. Se obtuvieron anticuerpos contra leucotoxina empleando como inmunogeno una porción de leucotoxina recombinante producida por nuestro grupo. Se confirmó la identidad de la bacteria mediante secuenciación del ARNr 16s. Se llevó a cabo un estudio de la cinética de cultivo de *M. haemolytica* con el fin de evaluar el perfil proteico de secreción a lo largo del cultivo.

S2_039 Optimización de herramientas para el monitoreo de componentes de la inmunidad innata del esturión (*Acipenser* spp).

*Castellano, Mauricio[1 *]; Fernández López, Elena[2]; Conijeski, Daniel[2]; Villarino, Andrea[1]; Ferreira, Ana María[1]*

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Empresa Esturiones del Río Negro

Los esturiones (Orden Acipenseriformes), peces de gran valor comercial, son criados actualmente en Uruguay en emprendimientos de acuicultura dedicados principalmente a la comercialización de caviar. Si bien estos emprendimientos han sido exitosos, en los meses cálidos del año hay aumento en la mortandad por una combinación de factores medioambientales que posiblemente afectan el sistema inmune innato de los peces. Por tanto, para contribuir a solucionar esta problemática, buscamos desarrollar metodologías que permitan evaluar la inmunidad innata del esturión. Hemos ajustado un ensayo hemolítico para monitorear la actividad funcional de la vía alternativa del complemento (VA) y estamos optimizando un ensayo enzimático para determinar actividad lisozima en suero. Hasta el momento los estudios realizados muestran que los niveles funcionales de la VA en suero tienden a ser menores cuando aumenta la temperatura del ambiente: los esturiones machos de 4 años de edad presentaron niveles de 151 +/- 52 UA/ml en octubre vs 105 +/- 58 UA/ml en febrero ($p=0.09$, t test). Además, observamos que las hembras adultas de 9 años de edad presentaron en verano los niveles de actividad más bajos (52 +/- 16 UA/ml). Esta disminución de la VA debilitaría las defensas innatas de los peces, lo cual podría contribuir al aumento en la mortandad registrada durante el verano. Como esta deficiencia parecería acentuarse en la población de hembras adultas, su impacto sobre la producción del caviar sería considerable. En conjunto, los resultados sugieren que el monitoreo de la actividad de la VA en suero puede ser un parámetro útil para monitorear el estado sanitario del esturión.

S2_040 Síntesis y escalado de la feromona sexual de *Argyrotaenia sphaleropa* para su uso en monitoreo y control de esta plaga en frutales de pepita.

Heguaburu, Viviana[1 *]; *Tacain, Jimena*[1]; *Parpal, Florencia*[1]

[*1] Departamento de Química del Litoral, Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República

Eliminando el uso de insecticidas en manzano y peral, se observó un aumento de las poblaciones de la lagartita de manzano, Argyrotaenia sphaleropa. Para implementar el método de confusión sexual para controlar esta plaga, nos planteamos la síntesis local de su feromona sexual y la evaluación a nivel de campo de su efectividad, ya que no se encuentra disponible comercialmente. Para esta lagartita, se han descrito los componentes de su feromona sexual, así como posibles métodos de síntesis para los mismos. En este trabajo se realizó la puesta a punto de técnicas de síntesis orgánica específicas para los componentes de feromona sexual de A. sphaleropa para su producción en escala masiva, para la futura realización de ensayos de campo tendientes a validar el método de control de estas plagas por confusión sexual. Se desarrollaron metodologías sintéticas empleando una estrategia divergente y selectiva con el fin de optimizar rendimientos de los productos biológicamente activos. Así mismo, se realizaron mezclas para formular las feromonas y se realizaron evaluaciones preliminares a nivel de campo. Este trabajo propone esquemas de síntesis orgánica que no solo permitan la producción de compuestos para su evaluación de campo, sino también su producción a gran escala para su uso por parte de los productores, a costos que sean viables económicamente a nivel local para habilitar la transferencia de esta herramienta tecnológica.

S2_041 Patrones genómicos de metilación y ancestría genética en pacientes con cáncer de mama esporádico de Uruguay

Cappetta, Mónica[1 *]; *Brignoni, Lucía*[1]; *Artagaveytia, Nora*[2]; *Stefansson, Olafur*[3]; *Esteller, Manel*[3]; *Bertoni, Bernardo*[1]; *Berdasco, María*[3]

[*1] Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento Básico de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Programa de Biología y Epigenética del Cáncer (PEBC), Instituto de Investigaciones Biomédicas de Bellvitge, Barcelona

Las alteraciones en los patrones de metilación del ADN han sido asociadas con diferentes tipos de tumores. Aunque estos patrones son tejido-específicos, datos recientes indican que cambios epigenéticos en leucocitos de sangre periférica son promisorios marcadores de riesgo para tumores sólidos. Para detectar marcadores de riesgo en cáncer de mama esporádico en la población uruguaya, determinamos el nivel global de metilación del ADN de leucocitos (gADNmet) en 86 pacientes y 92 controles mediante cuantificación relativa de 5mC por HPLC y medimos metilación sitio-específica utilizando HumanMethylation450 microarray. Encontramos una hipometilación gADNmet en pacientes con cáncer de mama en comparación a controles sanos, sugiriendo su potencial uso como marcador de riesgo. Dado que la población uruguaya es mestizada, estudiamos la correlación entre gADNmet y ancestría genética individual. Se detectó una correlación negativa entre ancestría africana y gADNmet en pacientes con cáncer, lo cual sugiere que la estructura ancestral del genoma podría modelar los patrones de metilación. Se identificaron 77 sitios CpG diferencialmente metilados en pacientes, que incluyen genes asociados a cáncer y nuevos candidatos con posibles implicancias en oncogénesis. Este panel fue caracterizado y validado en muestreo independiente de tejidos mamarios de pacientes europeos, diferenciando leucocitos de pacientes con cáncer de mama de controles, así como tejido mamario sano del tumoral incluso en casos de cáncer hereditario.Detectamos metilación diferencial del ADN a nivel global y sitio-específico en leucocitos de pacientes con cáncer de mama esporádico, sugiriendo la existencia de variación sistémica en la metilación del ADN asociada con riesgo a cáncer.

Cáncer - Sesión 2

S2_042 Estudos preliminares de citotoxicidade e atividades antibacteriana e antioxidante do complexo [RuCl(CO)(mctz)(PPh_3)$_2$]

Appelt, Patrícia[1 *]; *Y. Kagimura, Francini*[2]; *Kramer, María Gabriela*[3]; *Facchin, Gianella*[4]; *A.Alves Da Cunha, Mário*[2]; *Peres De Araújo, Márcio*[1]

[*1] Universidade Federal do Paraná; [2] Universidade Tecnológica Federal do Paraná; [3] Departamento de Biotecnología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR; [4] Facultad de Química, UdelaR

Os compostos inorgânicos têm sido amplamente estudados no tratamento de diversas enfermidades. A grande diversidade de complexos metálicos formados em função da facilidade de síntese associada à versatilidade destes em sistemas biológicos tornam tais compostos promissores para aplicações no diagnóstico e tratamento de doenças. Neste contexto, os complexos de rutênio possuem grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos e a utilização de ligantes carbonílicos pode ser uma importante ferramenta para atuação terapêutica de tais compostos. Neste trabalho foi sintetizado o complexo [RuCl(CO)(mctz)(PPh_3)$_2$], caracterizado (IV, RMN de ^1H e $^{31}P\{^1H\}$, VC e análise elementar) e realizado ensaios biológicos para avaliar seu potencial citotóxico, antimicrobiano e antioxidante. O complexo apresenta estrutura octaédrica, com os átomos de fósforo das trifenilfosfinas em trans e o ligante carbonil em posição cis ao Cl. O com plexo foi testado quanto a sua citotoxicidade para linhagens MCF-7 (IC_{50} 200 μmol.L^{-1}), HeLa (IC_{50} >200 μmol.L^{-1}) e A458 (IC^{50}150 μmol.L^{-1}). Atividade antibacteriana *in vitro* foi avaliada contra cepas de bactérias *E.Coli* (ATCC 10536) e *B.Subtilis* (ATCC 23858) pelo método de discos de difusão e determinação da concentração mínima inibitória (MIC) para B.Subtilis. O complexo demonstrou potencial antimicrobiano contra *B. subtilis* sendo verificado halos de inibição de 5mm (50μg.mL^{-1}) e 6,4 mm (100μg.mL^{-1}) e inibiu o crescimento de *B. subtilis* na concentração de 25μg.mL^{-1} (MIC). O complexo também demonstrou atividade antioxidante verificado pela capacidade de captura dos radicais DPPH (1,2%) e ABTS+ (4,3%) e poder redutor férrico (58,2 μM Sulfato Ferroso) ambos avaliados na concentração de 50 mg.L^{-1}.

S2_043 Genes Candidatos en Cáncer de Mama Esporádico en el Uruguay

Brignoni, Lucía[1 *]; *Rodríguez, Soledad*[1]; *Cappetta, Mónica*[1]; *Hidalgo, Pedro*[2]; *Sans, Mónica*[2]; *Bonilla, Carolina*[3]; *Artagaveytia, Nora*[4]; *Bertoni, Bernardo*[1]

[*1] Departamento de Genética. Facultad de Medicina. UDELAR; [2] Departamento de Antropología Biológica. Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación. UDELAR; [3] School of Social and Community Medicine, University of Bristol, United Kingdom; [4] Departamento Básico de Medicina, Facultad de Medicina, UDELAR

El cáncer de mama es la enfermedad de mayor relevancia entre las mujeres uruguayas. Los estudios nacionales se focalizan en identificar factores ambientales, hábitos de riesgo y mutaciones altamente penetrantes. Sin embargo, el cáncer de mama esporádico representa el 70 al 90% de los casos y los estudios son escasos. Se estudió la asociación de genes candidatos con cáncer de mama esporádico, en una muestra de 205 pacientes y 216 controles. Se analizaron 32 SNPs de 10 genes candidatos (AGO1, AGO4, BRCA1, BRCA2, ESR1, ESR2, FBXO31, TP53, TUBB3 y VDR) y las variables epidemiológicas: estatus de fumador, índice de masa corporal (IMC), edad de menarca y de comienzo de menopausia. Se compararon los datos de frecuencias alélicas con los disponibles en el HapMap. Se encontró asociación significativa entre IMC y cáncer de mama (p=0.0424). Dado que la población uruguaya es mestizada todos los análisis fueron corregidos para ancestría europea e IMC mediante regresión logística. Se detectó asociación significativa para: rs827423 (p=0.0135) del gen ESR1, rs4237855 del gen VDR únicamente al corregir por ancestría (p=0.0414) y rs2791966 del gen AGO4 (p=0.0351) que perdió significancia al corregir por regresión logísitica y para los haplotipos CAC de rs827423, rs6912184 y rs2992712 del gen ESR1 (p= 0.0361) y AC de rs4237855 y rs7299460 del gen VDR (p=0.019). La ancestralidad europea e IMC son cofactores a considerar en estudios de este tipo. La asociación de los genes ESR1 y VDR es concordante con lo descripto en la literatura para poblaciones de origen europeo.

S2_044 Síntesis, caracterización estructural y actividad antitumoral *in vitro* de compuestos de coordinación heterolépticos de Cu(I)

Alvarez, Natalia[1*]; *Noble, Carolina*[1]; *Appelt, Patricia*[2]; *Kramer, M. Gabriela*[3]; *Torre, María H.*[1]; *Kremer, Eduardo*[1]; *Ellena, Javier*[4]; *Peres de Araujo, Marcio*[2]; *Facchin, Gianella*[1]

[*1] Facultad de Química, UdelaR; [2] Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná; [3] Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR; [4] Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo

La química de coordinación ofrece diversas posibilidades para el diseño de nuevos agentes terapéuticos, con mecanismos de acción a veces únicos. El descubrimiento de la actividad antitumoral del compuesto de coordinación cis-$[PtCl_2(NH_3)_2]$, Cisplatino, inició una intensa búsqueda de compuestos de coordinación con actividad antitumoral, originando el área de la Química Inorgánica Medicinal. Algunos complejos se encuentran en uso clínico como, además del Cisplatino, el Carboplatino y el Oxalilplatino. Actualmente, una de las hipótesis de trabajo es que los compuestos de metales "esenciales" pueden presentar menor toxicidad por existir rutas metabólicas para los mismos. Bajo esa hipótesis se desarrollaron numerosos complejos de Cu(II) con actividad antitumoral *in vitro*. También se cuenta con ejemplos de compuestos de Cu(I) con excelente actividad antitumoral. Este trabajo presenta la síntesis, caracterización estructural y actividad citotóxica de tres nuevos complejos de Cu(I): $[CuCl(dimetilbipiridina)(PPh_3)]$, $[CuCl(fenantrolina)(PPh_3)]\bullet 0.25H_2O$ y $[CuCl(neocuproina)(PPh_3)]$. Los compuestos fueron sintetizados y caracterizados en estado sólido y en solución. En todos los compuestos, el Cu(I) se encuentra en un centro tetraédrico, coordinado a un átomo de P de la fosfina, a un Cl, y a dos N de la diamina aromática. En solución DMSO/agua los complejos se oxidan lentamente a Cu(II). Los complejos presentan buena actividad citotóxica en las líneas celulares estudiadas, siendo potenciales candidatos para estudios *in vivo*. Agradecimiento: CAPES/UdelaR (020/2010)

S2_045 Identificación de genes blancos de acción de hsa-miR-183-5p en Cáncer de Próstata

Ottati, Carolina[1*]; *Fort, Rafael*[1]; *Chávez, Santiago*[1]; *Sotelo, José*[2]; *Duhagon, María Ana*[1]

[*1] Facultad de Ciencias; [2] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los microRNAs (miRs) son ARNs pequeños que regulan la expresión génica hibridando con el 3'UTR de mRNAs complementarios. Participan en muchos procesos celulares, por lo que su expresión alterada tiene efecto patológico y en cáncer tienen valor diagnóstico, pronóstico, predictivo y de biomarcadores. Este trabajo indaga sobre la funcion de hsa-miR-183-5p en cáncer de próstata (PCa). Previamente encontramos que este miR estaba sobre-expresado en tejido tumoral vs. normal, lo que sugirió que funcione como un oncogen. Aquí extendemos el análisis en 250 muestras de PCa proveniente del Tumor Cancer Genome Atlas (TCGA), encontrando soporte a nuestro hallazgo previo. También determinamos que la expresión de hsa-miR-183-5p correlaciona con las de los otros dos miRs de su cluster, lo que indica que la causa de la desregulación de estos miRs yace en el incremento de la abundancia del transcripto primario policistronico. Mediante algoritmos de prediccion, metanálisis de expresión génica de PCa y microarreglos de Affymetrix al sobre-expresar y bloquear hsa-miR-183-5p en lineas celulares de PCa (LNCaP y Du145), identificamos 5 genes blancos directos potenciales: pdcd4 foxo1, itgb1, irs1 y fndc3b. Los niveles de expresión invertidos entre dichos ARNm y el miR fueron validados por qRT-PCR en experimentos independientes. El análisis de los datos de TCGA apoya algunos pares miR-blanco seleccionados. Por último, estudiamos las vias enriquecidas en los genes modulados por hsa-miR-183 en el microarreglo, identificando procesos celulares en los que podría participar este miR en PCa como la via de los andrógenos, la adhesión celular y la via de la insulina.

S2_046 Modelo murino de baja carga tumoral de Linfoma no Hodgkin a células B

Bascuas, Thais[1*]; *Grille, Sofía*[2]; *Moreno, María*[1]; *Chabalgoity, José Alejandro*[1]

[*1] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdeLaR; [2] Cátedra de Hematología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UdeLaR

Los Linfomas no-Hodgkin (LNH) constituyen las neoplasias hemato-oncológicas más frecuentes. A pesar de avances en el tratamiento lográndose elevadas tasas de remisión completa, la recaída de la enfermedad es frecuente y las tasas de curación continúan siendo insatisfactorias. Uno de los problemas que afecta la transferencia de resultados de modelos pre-clínicos a ensayos clínicos es que a nivel experimental las inmunoterapias se aplican sobre animales con alta carga tumoral y vírgenes de tratamiento quimioterápico, mientras que a nivel clínico las mismas se aplican en pacientes en remisión parcial o completa post-quimioterapia (momento en que se asume son más efectivas las inmunoterapias para prevenir futuras recaídas de la enfermedad). En el presente trabajo se estableció un modelo murino de LNH en el que se aplica quimioterapia, para obtener un período de baja carga tumoral donde poder evaluar diferentes inmunoterapias. Se probaron varias dosis de quimioterapia y se evaluó el estado de baja carga tumoral mediante necropsia y tomografía por emisión de positrones. Para dicho modelo se utilizaron dos ciclos de quimioterapia estándar (CHOP: Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina y Prednisona). Se logró la remisión tumoral, en forma completa o parcial observando posteriormente la recaída de la enfermedad. Por lo tanto, hemos conseguido la implementación de un modelo murino de baja carga tumoral de LNH, reproducible y bien caracterizado con la utilización de quimioterapia estándar similar a la utilizada en la clínica. Creemos que el mismo es un sistema experimental pre-clínico más adecuado para evaluar diferentes estrategias de inmunoterapia.

S2_047 Uso de reacciones bio-ortogonales con aplicación en imagenología molecular

García, María Fernanda[1*]; *Quinn, Thomas*[2]; *Cabral, Pablo*[1]; *Cerecetto, Hugo*[1]

[*1] Facultad de Ciencias; [2] University of Missouri

Un área de gran crecimiento de la química biológica y de la imagenología molecular se esfuerza en detectar biomoléculas en sistemas vivos mediante el uso de reacciones químicas bio-ortogonales. Las reacciones bio-ortogonales son un grupo de reacciones químicas que ni interactúan, ni interfieren con un sistema biológico. Los grupos funcionales que participan de la reacción deben ser inertes a la gran cantidad de funcionalidades encontrada en sistemas vivos. Además deben selectivamente reaccionar entre sí en condiciones biocompatibles, y para aplicaciones *in vivo*, deben ser no tóxicos para las células y presentar constantes de reacción rápidas bajo condiciones fisiológicas. Hasta la fecha sólo se han descrito algunas reacciones que cumplen con los requisitos de bio-ortogonalidad. Una de ellas es la cicloadición de derivados de tetrazina y *trans*-cicloocteno descripta por Fox y cols. La misma presenta una excelente cinética a concentraciones bajas de r eactivo y ha sido utilizada con aplicaciones en imagenología molecular. Recientemente se han descripto distintos derivados tetrazina para su marcación con ^{111}In y ^{177}Lu. El ^{99m}Tc ($t_{1/2}$=6.01h) es uno de los isótopos con mayor utilidad en medicina nuclear. En este trabajo se plantea el diseño y síntesis de derivados del sistema tetrazina adecuadamente sustituidos para la marcación con ^{99m}Tc con potencial aplicación en imagen molecular. Agradecimiento: ANII.

S2_048 Diseño in silico y síntesis de inhibidores del factor inducible por hipoxia (HIF-1) como agentes antitumorales.

De Negri, Maíra[1 *]; *Minini, Lucía*[2]; *Cerecetto, Hugo*[1]; *González, Mercedes*[1]; *Merlino, Alicia*[2]; *Lavaggi, María Laura*[1]

[*1] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias; [2] Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Facultad de Ciencias

Los tumores sólidos contienen regiones hipóxicas, lo cual confiere resistencia a la radiación y quimioterapia, pero a su vez ofrece una atractiva diferencia entre células normales y las tumorales que puede ser aprovechada para la obtención de fármacos selectivos, dirigidos a blancos específicos de células hipóxicas. La hipoxia induce cambios en el perfil de la expresión génica a través de la inducción de factores de transcripción llamados factores inducibles por hipoxia, HIF-1. Esta proteína activa la transcripción de genes relacionados con la supervivencia celular. Una interesante estrategia para el desarrollo de agentes antitumorales, es el uso de profármacos, los cuales luego de su bioreducción selectiva en condiciones de hipoxia, interaccionen con ADN afectando el sitio de unión de HIF-1. En este trabajo se han diseñado derivados metoxi y etoximetilamino de N,N dióxido de 2-aminofenazina como posibles pro-fármacos que se unan de forma selectiva a la región 5´-ATACGTG-3´ y de esta manera impidan la interacción con HIF-1. Para conocer el posible sitio de interacción se realizaron cálculos de docking y dinámica molecular de los derivados propuestos, observándose que éstos interaccionan en la región de interés y a su vez se intercalan en el ADN con buena afinidad. La síntesis de los compuestos que muestran un adecuado grado de afinidad con el blanco propuesto, se ha realizado, a través de la sustitución nucleofílica a formaldehido y posterior adición de alcoholes alifáticos al intermedio imina, generándose compuestos con diferente grado de ramificación lateral, con rendimientos de moderados a buenos.

S2_049 Aplicación de secuenciado masivo para la identificación de mutaciones de BRCA1 y BRCA2 en la predisposición hereditaria al cáncer mamario

Sanguinetti, Julia[1 *]; *Bonilla, Braulio*[1]; *Garcia-Silva, Maria Rosa*[1]; *Törngren, Therese* [2]; *Kvist, Anders* [2]; *Delgado, Lucia*[3]; *Cayota, Alfonso*[4]

[*1] Laboratorio de Genómica Funcional, Instituto Pasteur de Montevideo; [2] BRCA Lab, Facultad de Medicina, Universidad de Lund; [3] Servicio de Oncología Médica, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UdelaR; [4] Departamento Básico de Medicina, Facultad de Medicina, UdelaR

En Uruguay la primer causa de muerte en las mujeres por cáncer es el de mama. Aproximadamente el 30% de los casos se observan en familias con alta incidencia de cáncer mamario los cuales se asocian a mutaciones germinales de un número reducido de genes. BRCA1 y BRCA2 son los principales genes conocidos de susceptibilidad al cáncer mamario, explicando hasta un 10% de los casos de la enfermedad. Tanto BRCA1 como BRCA2 son genes supresores tumorales y tienen un papel clave en la reparación del ADN, regulación del ciclo celular y mantenimiento del genoma. La herencia de un alelo mutado en alguno de estos genes confiere un riesgo extremadamente elevado de padecer la enfermedad. Conocer la predisposición a padecer esta enfermedad se torna relevante es por esto que un diagnóstico precoz es de gran valor para la prevención, el tratamiento y cura. Este proyecto pretende implementar un test para la detección de mutaciones en los genes BRCA1 y 2. Se analizaron 7 muestras de pacientes, utilizando técnicas de enriquecimiento y de secuenciado masivo mediante un entrenamiento realizado en la Universidad de Lund, Suecia. Análisis preliminares de los resultados revelaron 2 inserciones y varios SNPs en estos pacientes. A partir de estos resultados nos plantearnos la posible implementación de este test en Uruguay de manera coordinada con la Unidad de Oncogenética del Hospital de Clínicas. La actividad conjunta es relevante para el seguimiento post-diagnóstico de los pacientes.

S2_050 Investigación de la interacción del complejo [Cu(Ala-Phe)(phen)] con ADN

Veiga, Nicolás[1 *]; *Álvarez, Natalia*[1]; *Kremer, Eduardo*[1]; *Torre, María H.*[1]; *Costa-Filho, Antonio J.*[2]; *Facchin, Gianella*[1]

[*1] Facultad de Química, General Flores 2124, UdelaR, Montevideo, Uruguay; [2] Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes, 14040-901, Ribeirão Preto (SP), Brasil

La interacción de complejos metálicos con ADN es sujeto de investigación por sus posibles aplicaciones en biología molecular, biotecnología y química medicinal. El ADN provee varios sitios de unión y distintos modos de interacciones covalentes y no covalentes con diferentes moléculas, incluyendo intercalación, unión a los surcos, interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno. En el caso de los compuestos metálicos, es posible además la coordinación del metal a las bases del ADN. La investigación del modo de unión de los diferentes compuestos de coordinación fue impulsada, además, por el desarrollo de nuevos agentes farmacológicos, entre ellos antitumorales, cuyo mecanismo de acción podría incluir la interacción con el ADN. Nuestro grupo previamente sintetizó y caracterizó una serie de complejos Cu-L-dipéptido-phenantrolina. Todos presentan actividad antitumoral destacándose la del complejo [Cu(Ala-Phe)(phen)] (Iglesias *et al.* JIB, 2014). Para profundizar en los mecanismos de acción de estos complejos, se presenta el estudio de la interacción con ADN por UV-vis, DC, EPR y docking del complejo [Cu(Ala-Phe)(phen)], así como la comparación con compuestos relacionados. Los resultados espectroscópicos muestran que el complejo es capaz de unirse al ADN (K_b =1,3 x 10^5) sin coordinar a las bases, posiblemente mediante intercalación. Los estudios de docking han permitido elucidar los distintos mecanismos de unión al ADN y su relación con las características estructurales de las especies.

Ciencias Cognitivas - Sesión 2

S2_051 Incidencia de la ansiedad en la captura atencional

Vignali, Gustavo [1 *]; *De León, Dinorah*[1]; *Carboni, Alejandra*[1]

[* 1] Facultad de Psicología, Universidad de la República

Los seres humanos contamos con un mecanismo automático de captura atencional, siendo los estímulos amenazantes aquellos que capturan más rápidamente nuestra atención, interrumpiendo la tarea en marcha. Esta ventaja de los estímulos negativos sobre los recursos de procesamiento y respuesta, se denomina sesgo de negatividad. El sesgo de negatividad es un patrón que nos permite reaccionar de forma adaptada ante los peligros y amenazas del entorno. La exageración de este patrón dejaría de ser adaptativo convirtiéndose en una conducta problemática, como lo sugieren ciertos estudios sobre ansiedad. La ansiedad se caracteriza por una atención y respuesta exagerada a los elementos negativos, donde se encontraría alterado el funcionamiento eficiente de la atención controlada y aumentando el grado en que el procesamiento es influenciado de manera exógena.El objetivo del presente trabajo es investigar la incidencia de la ansiedad en los mecanismos de atención exógena frente a estímulos con contenido emocional.Para tal objetivo 32 estudiantes de Facultad de Psicología (12 varones y 20mujeres), con edades comprendidas entre 18 y 32 años realizaron una tarea de atención visual, mientras se les presentaban como distractores imágenes con contenido emocional. Los estudiantes completaron el inventario de ansiedad, stai (TEA, 1982) a los efectos de conformar dos grupos integrados por individuos con puntuación de ansiedad rasgo alta y baja. La tarea experimental consistió en determinar si un numero de dos dígitos que aparecía centro de una imagen era congruente (las dos cifras pares o impares) o incongruente (una cifra par y la otra impar). Las imágenes podían ser de tres tipos, con contenido positivo,negativo o neutro. Los estímulos eran presentados en forma aleatoria, y cada condición experimental (positiva, negativa o neutra) tenía 20 estímulos. Por último se realizó una evaluación a través del instrumento SAM de las imágenes presentadas a los efectos de comprobar que los estímulos utilizados mantuvieran su valencia en nuestra muestra experimental. Un análisis preliminar de los datos demostró que el promedio de los tiempos de reacción en el grupo de ansiedad rasgo alta fue significativamente menor al grupo de ansiedad rasgo baja ($p = .008$). Esto podría evidenciar mayor impulsividad al momento de responder a la tarea atencional que de los integrantes del grupo ansiedad rasgo baja. Los tiempos de reacción en el grupo ansiedad rasgo naja no mostraron diferencias significativas en relación a la valencia, sin embargo los tiempos de reacción muestran una tendencia relacionada con la valencia del estímulo, más aciertos en los estímulos neutro, seguidos de los positivos y los negativos.

S2_053 Estudio normativo, comportamental y electrofisiológico sobre la organización del léxico

Chmiel, Leticia[1 *]; *Zugarramurdi, Camila* [1]; *Cabana, Álvaro*[2]; *Valle Lisboa, Juan C.*[2]

[* 1] Centro de Investigación Básica en Psicología (CIBPsi), Facultad de Psicología, Universidad de la República; [2] Centro de Investigación Básica en Psicología (CIBPsi), Facultad de Psicología, Universidad de la República / Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El lenguaje es una habilidad cognitiva característica de los humanos, y ha sido de fundamental importancia en su desarrollo cultural. Uno de sus componentes principales es el léxico, un "almacén" de información acerca de la forma, significado, sonido y rol sintáctico de las palabras. Recientemente se han encontrado dos fenómenos que ilustran acerca de la naturaleza del léxico. Por un lado, algunos estudios apuntan a la importancia de los eventos como estructuradores del léxico; por ejemplo, sustantivos que denotan eventos (*robo*) facilitan el procesamiento de instrumentos típicos del evento (*pistola*). Por otro lado, la existencia de palabras ambiguas con distinto grado de relacionamiento entre sus significados -polisemia y homonimia- permite estudiar aspectos sutiles del almacenamiento y recuperación del significado. En el presente trabajo se realizaron dos experimentos de facilitación semántica para estudiar estos dos fenómenos. En el primero, se utilizó un *prime* polisémico seguido de una palabra desambiguante, y un target asociado a uno u otro de los significados del *prime.* A través de un estudio normativo, se obtuvieron estimaciones de la frecuencia relativa de los significados de 200 palabras ambiguas, los cuales se correlacionaron a posteriori con los tiempos de reacción obtenidos. En el segundo, se utilizó un *prime* que nombra un evento y como *target* un objeto típico de ese *prime*; se registró la actividad eléctrica cerebral y se midió la modulación del componente N400. Los resultados muestran que los efectos comportamentales y neurofisiológicos son congruentes con modelos que supongan el acceso a información variada cuando se accede a una palabra.

S2_052 Autoestima: ¿Afecta cómo nos comportamos en un contexto social?

Paz, Valentina [1 *]; *Nicolaisen Sobesky, E.*[1]; *Horta, Stefany*[1]; *Collado, Ernestina*[1]; *Berriolo Bilbao, Patricia*[1]; *Rey, Claudio*[1]; *Díaz, Mauricio*[1]; *Otón, Marcelo*[1]; *Pérez, Alfonso*[1]; *Fernández Theoduloz, Gabriela*[1]; *Gradin, V.B.*[1]

[* 1] Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

La autoestima se define como la evaluación que realiza una persona sobre sí misma. Diferencias individuales en autoestima predicen múltiples consecuencias interpersonales y afectivas de importancia para el individuo. La baja autoestima es un factor de riesgo para diversos trastornos psiquiátricos y en particular, se asocia con dificultades sociales. Individuos con baja autoestima son más susceptibles al estrés interpersonal, experimentan más afecto negativo y subestiman el feedback social positivo. Estudiar estos aspectos es importante ya que las interacciones sociales satisfactorias son esenciales para la calidad de vida de las personas. No obstante, estudiar interacciones sociales sistemática y controladamente no es fácil debido a que son difíciles de cuantificar. En los últimos años,en el marco de la Neuroeconomía se han utilizado paradigmas comportamentales de Teoría de Juegos que han permitido estudiar controladamente las interacciones sociales. Este estudio investiga, mediante técnicas neuroeconómicas, si diferencias individuales en autoestima afectan la toma de decisiones en un contexto social. Hasta el momento se han convocado cuarenta participantes, a quienes se les evaluó su autoestima y se los invitó a realizar unatarea neuroeconómica ('Ultimatum Game', UG) que implica interacciones sociales. Nuestra hipótesis radica en que personas con baja autoestima podrían diferir de personas con alta autoestima en su comportamiento durante el UG debido a dificultades de asertividad y una tendencia a evitar el confrontamiento social. Esperamos contribuir al entendimiento de las dificultades sociales que experimentan tanto personas de baja autoestima como pacientes psiquiátricos, y a largo plazo aportar al tratamiento de las mismas.

Cronobiología - Sesión 2

S2_054 Dessincronização da ritmicidade circadiana e sua influência sobre o índice de massa corporal em crianças e adolescentes

*Dresch, Fabiane[1 *]; Carissimi, Alicia [1]; Castro Martins, Alessandra[1]; Levandovski, Rosa[2]; L.Hidalgo, Maria Paz[3]*

[*1] Pesquisadora do Laboratório de Cronobiologia- Hospital de Clínicas de Porto Alegre/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul; [2] Doutora e Pesquisadora do Laboratório de Cronobiologia- Hospital de Clínicas de Porto Alegre/Universidade Federal do Rio Grande do Sul ; [3] Professora Coordenadora do Laboratório de Cronobiologia- Hospital de Clínicas de Porto Alegre/Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: Crianças e adolescentes diferem quanto aos horários do sono e de alimentação. Essas diferenças devem-se parcialmente ao relógio biológico, que é o principal regulador do apetite, ciclo sono-vigília e do comportamento. Objetivo: Avaliar o efeito da diferença da ritmicidade entre os dias escolares e livres no sobrepeso e obesidade. Métodos: Estudo transversal, foram incluídos 670 alunos com idades entre 08-18 anos, 59% do sexo feminino, residentes no RS/Brasil. Os alunos responderam Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) e perguntas sobre horários de sono e alimentação nos dias escolares e dias livres. Foram realizadas medidas antropométricas: peso e altura para avaliar o IMC; e circunferência da cintura (CC), utilizado para avaliar a probabilidade de RDCV. Para a analise do IMC, utilizou-se as curvas da Organização Mundial da Saúde (OMS/2007). Para classificação do RDCV foi utilizada a tabela de Percentis de circunferência da cintura (PCC) considerando risco PCC>80 (Taylor e cols/2000). Resultados: Dentre os indivíduos incluídos, 2% foram classificados como baixo peso, 73% normais, 16% sobrepeso e 9% obeso. Do total da amostra, 19% (n=127) foram classificados com RDCV. Na análise de Correlação de Pearson, o IMC elevado foi correlacionado com vespertinidade (P=0,007) e maior diferença nos horários de despertar (P=0,021). O RDCV se correlacionou com menor diferença no tempo total de sono (P=0.015) do fim de semana para os dias escolares. Na regressão multivariada, controlando colinearidade, o RDCV foi associado com idade, gênero, diferença no tempo total do sono, horário de acordar e horário que dorme (F=3,45 p<0,001), explicando 17% de variância (r2=0,165).

Divulgación y Educación Científica - Sesión 2

S2_055 Ingeniería Inspirada por la Biología a través de una propuesta del Centro Universitario Regional Litoral Noroeste de la Universidad de la República

*Armentano, Ricardo[1 *]; Cardelino, Juan[1]; Olivera y Luna, Gabriela[1]*

[*1] Centro Universitario Regional Noroeste. Universidad de la República

Se propone una nueva oferta de formación en ingeniería, la Licenciatura en Ingeniería Biológica (LIB) [1]. La LIB incorpora conocimientos de los procesos biológicos y las ciencias de la vida para explotarlos industrialmente y desarrollar el equipamiento necesario para biomedicina y las industrias biotecnológicas y agroalimentarias. Esta propuesta curricular de cuatro años propone una formación de alto nivel, combinando las ciencias de la ingeniería y de la vida, con objetivos de investigación multidisciplinaria básica y aplicada, para lograr interacciones fuertes con la industria y la sociedad en las áreas de la salud y las ciencias de la vida. La LIB tiene cuatro especialidades con implicancias en el medio socio productivo regional: Biomédica, Biomecánica-Biomateriales, Bioproductos y Agroalimentaria con articulación intermedia con las Maestrías y Doctorados del PEDECIBA BIOLOGÍA contando para ello con laboratorios de investigación in vitro, in silico e in vivo a través de experimentación en animales crónicamente instrumentados. Las incumbencias profesionales se orientan a los biomateriales, biomecánica y medicina regenerativa, al procesamiento de señales y la exploración funcional no invasiva; al diseño e innovación de bioproductos, productos biológicos, procesos industriales e iniciativas de calidad en el área agroindustrial. En resumen, se propone formar profesionales en el marco de un centro científico y tecnológico multipolar y multidisciplinario, donde todos los actores son movilizados de manera amplia, bajo el leit motiv la ingeniería es el motor de la innovación [2].

Genética - Sesión 2

S2_056 Mapeo Asociativo multi-caracter en trigo con y sin irrigación para variables fisiológicas

*Brandariz, Sofía[1 *]; Lado, Bettina[2]; von Zitzewitz, Jarislav [3]; Castro, Marina[4]; Matus, Iván [5]; Quincke, Martín[4]; Gutiérrez, Lucía[1]*

[*1] Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Facultad de Agronomía, Universidad de la República - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela; [3] Secobra; [4] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela; [5] Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chile

El aumento en la población mundial que se estima para el 2050 llevaría a un incremento en la demanda alimenticia que se podría enfrentar con un aumento en la productividad de cultivos. El trigo es el tercer cultivo en importancia mundial según su producción, por tanto mejorar su productividad es crucial para la respuesta al incremento de dicha demanda. Una de las limitantes para la producción es la disponibilidad de agua. Desarrollar cultivares tolerantes a sequía sería por lo tanto muy beneficioso, así como incrementar el rendimiento mejorando genéticamente variables fisiológicas relacionadas al mismo. Una vía para lograr esto es utilizar selección Asistida por Marcadores mediante el mapeo de caracteres cuantitativos (QTL) a través del Mapeo Asociativo (GWAS). El objetivo de este trabajo consistió en detectar QTL específicos y generales para variables fisiológicas y para la tolerancia a sequía. Se utilizaron 384 líneas de trigo provenientes de los programas de mejoramiento de INIA-Uruguay, INIA-Chile y CIMMYT. Se evaluaron fenotípicamente en Santa Rosa-Chile (condiciones de estrés medio de déficit hídrico e irrigado) en 2011 y 2012, y en Cauquenes-Chile (región árida agrícola) en 2012. El diseño experimental fue un alfa-látice. Los SNPs se obtuvieron mediante el Tassel-GBS Pipeline, con datos provenientes del mapa SyntheticxOpata. Se hizo un GWAS multi-caracter con corrección de estructura por PCA. Se detectaron QTL específicos (pero no generales) por variable dentro de cada ambiente, y QTL para ambientes secos no detectados en los ambientes irrigados; lo cuales serán útiles para selección asistida por cada ambiente.

S2_057 Identificación de genotipos superiores en una colección de muestras uniclonales de *Paspalum dilatatum*.

*Posada, Pablo[1 *]; Quintans, Ignacio[1]; Gonzáles Barrios, Pablo[1]; Gutierrez, Lucía[1]; Speranza, Pablo[1]*

[*1] Facultad de Agronomía, Universidad de la República

Paspalum dilatatum es una gramínea estival nativa con alto potencial para su domesticación. Por tratarse de una especie apomíctica, las colecciones se organizaron en clones individuales identificados con marcadores moleculares. Estos clones fueron caracterizados morfológicamente y en esta etapa se están evaluando desde el punto de vista productivo. En este trabajo se evalúan 15 genotipos incluyendo nueve clones pentaploides apomícticos asignados a cuatro grupos genéticos en base a marcadores moleculares. Se incluyen también los biotipos hexaploides, Chirú y Uruguaiana y una línea pura del biotipo sexual *P. dilatatum* ssp. *flavescens*. Se instaló un ensayo en dos localidades utilizando un diseño experimental de bloques completos al azar con 3 repeticiones en ambas localidades. Se realizaron 4 cortes por dos años consecutivos. Para cada corte se determinó el peso de láminas verdes, vainas y tallos y láminas senescentes ya que estas variables se relacionan con la calidad nutricional de una pastura. Si bien se observa una importante variación entre años, en ambos años se destacan genotipos del grupo genético a y el biotipo Chirú. Estos clones destacados constituyen genotipos minoritarios en sus poblaciones de origen, por lo que sólo pudieron ser individualizados en las muestras originales a través de la caracterización molecular y posterior incremento de semilla clonal.

S2_058 Evaluación de la estructura genética de una muestra de centenarios mediante 19 marcadores informativos de ancestralidad

*Souto, Jorge[1 *]; Burgues, Sandra[2]; Velázquez, Tatiana[1]; Capetta, Mónica[1]; García, Virginia[3]; Bertoni, Bernardo[1]; Nieto, Clever[4]*

[*1] Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Geriatría, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Sociedad Uruguaya de Gerontología y Geriatría; [4] Sociedad Uruguaya de Gerontología y Geriatría - Área de Biología, Comité Latinoamericano y del Caribe, International Association of Gerontology and Geriatrics (COMLAT/IAGG)

La longevidad es un rasgo complejo en el cual los factores genéticos y ambientales se complementan e interrelacionan. Los estudios en gemelos han estimado la heredabilidad entre 25 y 32%; estos valores alcanzan cifras mayores en familias de personas centenarias. Esto indica que el componente genético representa una variable importante en su determinación. Los factores genéticos involucrados son muy variados y en general están relacionados entre sí, aportando al fenotipo final de forma sumatoria. Aproximadamente un 1% de las personas alcanzan los 100 años, aunque este porcentaje varía en las distintas poblaciones. Además, en poblaciones europeas y del este asiático se han encontrado asociaciones entre la ancestralidad y genes vinculados a la longevidad. Los datos del censo en el Uruguay indican la existencia de aproximadamente 500 personas mayores de 100 años. La Sociedad Uruguaya de Geriatría y Gerontología y el Departamento de Genética de Medicina colaboran para generar un Banco de ADN genómico de centenarios; siendo el objetivo principal contar con una muestra para evaluar desde el punto de vista genómico y epigenómico las características de los centenarios en el Uruguay. En este trabajo presentamos los datos de una muestra de 30 centenarios. Se analizaron 19 marcadores nucleares informativos de ancestralidad (AIMs), mediante SNaPshot Multiplex®. Los datos indican una ancestralidad general que consta de un 81,02% de contribución europea, 15,60% africana y 3,38% amerindia. Este resultado es comparable con el encontrado para una muestra control (promedio de edad 62 años) en la cual se halló un 87,60% de contribución europea. El estudio de la longevidad en el Uruguay ayudaría a comprender qué elementos están involucrados para alcanzar una vejez con una calidad de vida adecuada.

S2_059 Conservación del cromosoma Y heterocromático en la tibu Triatomini (Hemiptera, Triatominae)

*Pita, Sebastian[1 *]; Lorite, Pedro[2]; Baca, Antonio[2]; Palomeque, Teresa[2]; Panzera, Yanina[1]; Panzera, Francisco[1]*

[*1] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Biología Experimental, Universidad de Jaén

Los triatominos, vectores de la Enfermedad de Chagas, poseen cromosomas holocéntricos lo cual dificulta el análisis de su evolución cariotípica. A su vez, exhiben una gran homogeneidad en su número cromosómico, la mayoría de las especies presentan 20 autosomas, limitando la variación numérica a la existencia de tres sistemas sexuales: XY, X1X2Y, X1X2X3Y. Si bien análisis sobre la localización de la heterocromatina constitutiva y el ADNr 45S han revelado que los cromosomas de los triatominos presentan una gran dinámica, poco sabemos sobre la evolución de los cromosomas sexuales. En triatominos, los cromosomas sexuales son considerados asinápticos, sin recombinación, lo cual facilitaría su diferenciación mediante la acumulación de mutaciones, elementos transponibles y heterocromatina, fenómenos ampliamente descriptos en cromosomas Y de mamíferos, aves y distintos insectos. Mediante la técnica de hibridación in situ genómica (GISH) utilizando como sonda ADN genómico de Triatoma infestans, se analizó la evolución de las secuencias repetidas en 10 especies de triatominos. Los resultados revelaron que el cromosoma Y está constituido mayoritariamente por secuencias repetidas conservadas en todas las especies de la tribu Triatomini analizadas, por lo que representaría un carácter ancestral. Dado que el cromosoma Y es de evolución rápida debido a que no recombina y a su menor número efectivo, la conservación de sus secuencias es un hallazgo inusual y sorprendente, no descripto en otros grupos de insectos. Una posible explicación es que exista una presión selectiva actuando sobre genes que se encuentran el cromosoma Y, tales como aquellos implicados en el fitness de los machos.

S2_060 Bases genéticas de la dormición de semilla y la sensibilidad al agua del germoplasma de cebada relevante en Uruguay

*Manasliski, Santiago[1 *]; Locatelli, Andrés[1]; Viega, Luis[1]; Gutierrez, Lucía[1]; Castro, Ariel[1]*

[*1] Facultad de Agronomía, Universidad de la República

En Uruguay la producción de cebada (*Hordeum vulgare*) se destina principalmente a la elaboración de malta. Los ambientes productivos son de alta variabilidad, condicionando la obtención de lotes de cebada de alta calidad. La dormición de semillas (DS) y la sensibilidad al agua (SA) son variables de gran influencia en la calidad del grano para malteo. La DS es una barrera que impide la germinación en a planta previo a la cosecha frente a condiciones ambientales favorables, en cambio la SA es la caída en la germinación durante el proceso de malteo. En este trabajo se utilizaron 97 genotipos relevantes para Uruguay, con el objetivo de identificar regiones genéticas asociadas a dichas variables. Los experimentos se realizaron en el año 2012 en la EEMAC, Paysandú. La estimación de la DS se obtuvo del %germinación de las semillas en madurez fisiológica al día 7 y la SA se estimó como la diferencia en %germinación al día 3 entre 4 y 8 ml. La caracterización genotípica se realizó con el set BOPA1. Los cromosomas con mayor número de asociaciones marcador-carácter fueron el 3H, 5H y el 7H, con mayor número de desequilibrio de ligamiento (DL), donde la mayor parte no se explica por ligamiento físico entre gen/QTL sino por otra causa de DL. Los resultados de este estudio muestran que es posible lograr adecuadas combinaciones alélicas para la DS y la SA, mostrando claramente que es una variable determinada por un gran número de genes.

S2_061 Rol de los factores genéticos en la prevalencia de anemias en niños de Salto, Uruguay.

*Varela, Roberto[1 *]; González, Mónica [2]; da Luz, Julio[3]*

[*1] Departamento de Medicina Familiar y Comunitaria, Facultad de Medicina, CENUR Noroeste sede Salto, Universidad de la República; [2] Clínica Pediátrica A, Facultad de Medicina, CENUR Noroeste sede Salto, Universidad de la República; [3] Laboratorio de Genética Molecular Humana, CENUR Noroeste sede Salto, Universidad de la República

La anemia está definida como una disminución de la concentración de hemoglobina en los glóbulos rojos respecto a los valores normales por edad y sexo. A nivel mundial un 25% de la población mundial está afectada por esta condición. La anemia puede ser producida por causas ambientales, genética y la interacción entre ambas. Las principales causas de anemia son: 1) deficiencia de hierro; 2) enfermedades infecciosas como malaria, esquistosomiasis, infecciones por nematodos; 3) deficiencias en otros micronutrientes como folato, vitamina B12 y A; y 4) alfa y beta talasemias, etc. Aunque se realiza mucho esfuerzo por disminuir la prevalencia de anemia esta se mantiene en niveles elevados incluso en países o regiones donde las condiciones socio-económicas son elevadas. Esto puede explicarse por la naturaleza multifactorial de la anemia y de que la mayoría de los programas de prevención apuntan a una o algunas de las causas. Aunque se han y se están realizando distintos trabajos acerca de la prevalencia de anemia, la mayoría de ellos se concentra en Montevideo o sus alrededores. En este proyecto determinamos la prevalencia de anemia en una muestra de 151 niños de entre 6 meses y 4 años de edad que concurren al CAIF Karen de la ciudad de Salto. La prevalencia de anemia (Hb<11g/dl) en esta muestra fue de 17,8% (27/151) pero su distribución fue heterogénea de acuerdo a las edades. En niños menores de 2 años la prevalencia fue de 31,25% (15/48) mientras que en mayores de 2 años fue de 11,7% (12/103). Aunque no se pudo realizar el perfil férrico a todos los individuos se observo que el déficit de hierro presenta una mayor frecuencia que la anemia llegando al 41,6% de los individuos aunque solo el 8,8% de los individuos presento niveles de ferritina menores a 12 lo cual es indicativo de disminución de las reservas de hierro. Adicionalmente se determino la presencia de alfa y beta talasemias en la muestra. La frecuencia de talasemias fue de 3,3%, cuatro individuos con alfa talasemias y uno con beta talasemias. De estos 3 de los que presentaban alfa talasemia y el que presentaba beta talasemia también tenían anemia explicando aproximadamente el 14% de las anemias observadas. Los resultados observados muestran que la anemia presenta una prevalencia importante en esta población y que al menos una fracción de estas (aprox. 14%) puede ser explicada por factores genéticos. A futuro pretendemos analizar el papel de genes involucrados en el metabolismo del hierro (TMPRSS6, TF y RfT2) e intentar determinar su rol en la presencia de anemia y déficit de hierro.

S2_062 Estructura genética de poblaciones naturales de *Solanum commersonii*

*Silveira, María[1 *]; Gaiero, Paola[1]; Mazzella, Cristina[1]; Speranza, Pablo[1]*

[*1] Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

En la actualidad la papa cultivada, Solanum tuberosum ssp. tuberosum (2n=4x=48), presenta una estrecha base genética y por ello es importante ampliar esa variabilidad utilizando especies silvestres emparentadas. Las especies tuberosas de Solanum están ampliamente distribuidas en el continente americano. En Uruguay están descritas dos especies silvestres: S. commersonii (cmm) y S. chacoense. El programa de mejoramiento de papa de INIA utiliza cmm para el mejoramiento de la papa ya que presenta resistencia a factores bióticos y abióticos adversos. Estas especies muestran una combinación de reproducción sexual alógama por autoincompatibilidad y reproducción vegetativa por estolones. Se desconoce el efecto de estas formas de propagación sobre la estructura genética de la especie. En este trabajo se propuso conocer la estructura genética en poblaciones naturales de cmm de Uruguay. Se realizaron colectas georreferenciadas de plantas en 18 poblaciones naturales con un promedio de 15 individuos por población. Se determinó el nivel de ploidía de los individuos mediante citometría de flujo y se identificaron poblaciones con individuos diploides, triploides o ambos. Se utilizaron SSR desarrollados en S. tuberosum para identificar los genotipos. El número de genotipos por población varió entre 1 y 6 y un 30% de las poblaciones resultaron monoclonales. En las poblaciones multiclonales los individuos con el mismo genotipo multilocus siempre aparecieron agrupados. La mayor distancia entre dos individuos del mismo clon fue de 85m. El bajo número de clones por población determina que un muestro eficiente debería maximizar el número de sitios de colecta.

S2_063 Mapeo Asociativo de la Resistencia a Rhizoctonia oryzae-sativae en Líneas Avanzadas del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz (Oryza sativa L.) de INIA.

*Rosas, Juan[1 *]; Bonnecarrère, Victoria[2]; Martínez, Sebastián[1]; Pérez de Vida, Fernando[1]; Blanco, Pedro[1]; Fernández, Schubert[2]; Garaycochea, Silvia[2]; Berberián, Natalia[3]; Gutiérrez, Lucía[3]*

[*1] Programa Nacional de Arroz, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Treinta y Tres; [2] Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Las Brujas; [3] Departamento de Biometría, Estadística y Computación, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

En nuestro país actualmente se aplica funguicida en el 100% del área arrocera. Esto puede generar perjuicios ambientales y económicos. Para revertir esta situación son necesarios nuevos cultivares con resistencia genética a las enfermedades de mayor prevalencia. La mancha agregada de las vainas, causada por el hongo Rhizoctonia oryzae-sativae, es una de las enfermedades más frecuentes en nuestro territorio. Aunque se sabe que la herencia de la resistencia a esta enfermedad es cuantitativa, no existen reportes de QTL para este rasgo. Esto dificulta implementar programas de selección asistida o incorporar resistencia en materiales adaptados, impidiendo un rápido avance genético en esa característica. Este trabajo busca identificar QTL de resistencia a Rhizoctonia oryzae-sativae mediante la estrategia de mapeo asociativo genómico. Se utilizó una población de 635 líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético de arroz de INIA. El fenotipado se realizó en invernáculo con inoculación artificial, en dos ensayos independientes bajo un diseño de bloques completos aumentados. Los datos genotípicos se generaron por genotipeado por secuenciación, obteniéndose 57500 SNP. Para el análisis de mapeo se utilizó un modelo mixto que corrige la estructura de la población incorporando los componentes principales de varianza genotípica como efecto aleatorio. Se halló un QTL en el cromosoma 3. Este es el primer trabajo en reportar QTL para mancha agregada de las vainas del arroz, un insumo clave para implementar selección asistida para esta enfermedad.

S2_064 Primer reporte de una mutación en el dominio OAR del gen ARX

*Pastro, Lucia[1 *]; Tapie, Alejandra[1]; Pi-Denis, Natalia[1]; Vomero, Alejandra[2]; Peluffo, Gabriel[2]; Curbelo, Nicolás[1]; Boidi, María[1]; Souto, Jorge[1]; Raggio, Victor[1]; Roche, Leda[1]*

[*1] Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Clínica Pediátrica B, Centro Hospitalario Pereira Rossell

El gen ARX (Aristaless-relatedhomeobox) localizado en el brazo corto del cromosoma X codifica para un factor de transcripción cuyo rol es significativo durante el desarrollo del cerebro anterior y la diferenciación de neuronas habiendo sido implicado en diversos síndromes vinculados a retardo mental y epilepsia. Presentamos el caso de un varón que a los 21 días de vida presenta convulsiones neonatales, con RNM de cráneo y estudios metabólicos normales y un electroencefalograma con patrón de salvas-supresión, consistente con el síndrome de Ohtahara. Su hermano falleció a los 5 años, debido a una encefalopatía epileptógena, que debutó a los 19 días de vida presentando también estudios metabólicos normales y EEG compatibles con Ohtahara. La genealogía es compatible con un modo de herencia recesiva ligada al X. Con estos datos planteamos como posible etiología una mutación en el gen ARX. Realizamos el análisis molecular del gen ARX mediante amplificación por PCR y secuenciación, identificando una mutación no descrita en el exón 5 del gen ARX, c.1616C>A en el dominio OAR. Esta mutación determina un cambio de alanina por ácido aspártico (p.539A>D) con un efecto deletéreo para la función de la proteína con un score de 0.997 según PolyPhen. La madre del paciente y su hermana fueron analizadas resultando heterocigota y homocigota para el alelo normal, respectivamente. Esta mutación está localizada en un dominio evolutivamente conservado y genera un marcado cambio estructural en la proteína, lo cual nos permite plantear que es causante de la enfermedad en el paciente y, en sus familiares.

S2_065 Caracterización de Parvovirus canino en Uruguay

*Grecco, Sofía [1 *]; Calleros, Lucía[1]; Marandino, Ana [1]; Francia, Lourdes [1]; Panzera, Yanina[1]; Pérez, Ruben[1]*

[*1] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El Parvovirus canino de tipo 2 (CPV-2) es un virus autónomo de ADN simple hebra de polaridad negativa de 5.2 kb. Su genoma codifica proteínas no-estructurales (NS1/NS2) y de cápside (VP1/VP2). Genera una de las enfermedades infecciosas más comunes en cachorros, caracterizada por cuadros graves de gastroenteritis hemorrágica. Presenta tres variantes antigénicas (2a, 2b y 2c) que se hallan distribuidas mundialmente en distinta proporción, y cuya distinción se basa en el aminoácido en la posición 426 de VP2; Asn (2a), Asp (2b) y Glu (2c). En Uruguay, CPV-2c fue la variante prevalente durante 2006-2010. En 2010 emergió una cepa 2a, muy divergente en secuencia a las cepas 2c, que comenzó a expandirse rápidamente en nuestro país. En el presente trabajo se analizó, durante 2012-2013, muestras de perros con síntomas presuntivos de parvovirosis. La mayoría de las muestras pertenecieron a la variante 2a, indicando que esta variante ha desplazado casi completamente a la variante 2c en nuestro territorio. Se amplificó el genoma completo de algunas cepas de distintas regiones del país utilizando un protocolo de long-PCR diseñado en nuestro laboratorio. La secuenciación del genoma confirmó que ambas variantes presentan diferencias nucleotídicas y aminoacídicas en los genes NS y VP. La variante 2a presentó una gran homogeneidad en su secuencia, y es extremadamente similar a cepas asiáticas en todo su genoma. Nuestros resultados confirman la ocurrencia de un evento de invasión de cepas 2a de origen asiático y revelan una expansión desde Montevideo hacía el interior del país, desplazando a 2c.

POSTERS

S2_066 Genotipificación de variantes del Parvovirus canino mediante Real-Time PCR

*Casabone, Victoria[1 *]; Tomás, Gonzalo[1]; Grecco, Sofía [1]; Marandino, Ana[1]; Calleros, Lucía[1]; Carrau, Lucía [1]; Francia, Lourdes[1]; Benech, Alejandro[2]; Pérez, Ruben[1]; Panzera, Yanina[1]*

[*1] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Departamento de Pequeños Animales, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

El Parvovirus canino del tipo 2 (CPV-2) produce la parvovirosis, una de las enfermedades entéricas más importantes en caninos. El genoma viral es de ADN cadena simple (5.2kb), y codifica para dos péptidos no estructurales (NS1/NS2) y dos que conforman la cápside (VP1/VP2). Mutaciones puntuales en la posición 426 de VP2 diferencian las tres variantes antigénicas (2a/2b/2c) que circulan actualmente a nivel mundial. En Uruguay, durante 2007-2009, circulaba únicamente la variante 2c. En el 2010 se detecta la presencia de una nueva variante, 2a, que comenzó a expandirse, reemplazando a la variante 2c preexistente. Ambas variantes son muy divergentes en su secuencia como consecuencia de sus diferentes orígenes; la variante 2c se originó en Europa y la 2a en Asia. Nuestro grupo realiza el relevamiento de las variantes mediante genotipificación por PCR-RFLP de un fragmento del gen VP2, y secuenciación de diferentes regiones del genoma. En el presente trabajo se estandarizó un nuevo método de genotipificación, más rápido y directo, para las variantes circulantes en nuestro país. La metodología consistió en el diseño de sondas de discriminación alélica (Taqman-MGB) que se unen específicamente a las variantes 2c y 2a, y permiten identificarlas en un único ensayo de Real-Time PCR. Se analizaron muestras de las variantes uruguayas utilizando PCR-RFLP, secuenciación y Real-Time PCR, detectándose un 100% de concordancia entre las diferentes metodologías. La estandarización de este ensayo permitirá realizar la genotipificación de las variantes en un sólo paso para continuar con el análisis de la dinámica de CPV-2 en el país.

S2_067 Identificación de elementos repetidos a partir de pirosecuenciación en un 454 GS-FLX.

*Ríos, Néstor[1 *]; García, Graciela[1]*

[*1] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Rhamdia quelen es una especie del orden Siluriformes que habita cuerpos de agua dulce desde el extremo sur de la cordillera de los andes hasta Argentina. El bagre negro, como se lo conoce comúnmente, es explotado en acuicultura y en pesquerías artesanales. Debido a su explotación como recurso acuático ha entrado en el SNAP como especie prioritaria para su conservación. En este sentido, este trabajo se propuso estudiar el contenido de repetidos en el bagre negro y su proporción en el genoma a través del análisis de 1/4 de carrera del pirosecuenciador 454GS-FLX. La identificación, anotación y aislamiento de los elementos repetidos son un importante paso en el análisis de secuencias y en anotación de genomas. Con este propósito, el paquete informático RepeatExplorer empleando la base de datos de elementos repetidos del Repbase de zebrafish fue utilizado para la identificación de repetidos. La anotación fue realizada en conjunto con los análisis respectivos en el blastn y blastx. A su vez, el programa MISA fue utilizado para la búsqueda de microsatélites. El programa RepeatExplorer permitió identificar que aproximadamente el 4.5% del genoma estaría compuesto de repetidos. Dentro de los cuales se encuentran diferentes tipos de elementos: SINE, LINE, DNA transposón, snRNA, rRNA, mini satélites y repetidos simples. Mientras que la búsqueda en el MISA permitió identificar 13552 microsatélites. En comparaciones con otros miembros del orden el contenido encontrado en *R. quelen* es similar en composición, pero está por debajo de los valores encontrados en bagre americano (*Ictalorus punctatus* 14%).

S2_068 Identificación de QTL mediante mapeo asociativo por medio de la aplicación de modelos mixtos

*Berberian, Natalia[1 *]; Bonecarrère, Victoria [2]; Blanco, Pedro[3]; Pérez de Vida, Fernando[3]; Rosas, Juan[3]; Garaycochea, Silvia[2]; Fernández, Schubert[2]; Gutiérrez, Lucía[1]*

[*1] Departamento de Biometría, Estadística y Cómputo, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Las Brujas; [3] Programa Nacional de Arroz, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Treinta y Tres

El arroz es el cereal de consumo humano más importante a nivel mundial. Uruguay es el primer exportador del cultivo en América Latina y presenta los niveles de rendimiento más altos del mundo. La brecha de producción entre los rendimientos obtenidos por los mejores productores y el rendimiento potencial de las variedades uruguayas es muy estrecho planteando esto el desafío de generar cultivares nacionales de mayor rendimiento. Los modelos mixtos han sido implementados en el mapeo de caracteres complejos para tomar en cuenta las sub-poblaciones así como la correlación genética existente entre los individuos. Con el objetivo de identificar regiones genómicas asociadas a caracteres cuantitativos (QTL) de interés agrícola se compararon una serie de modelos mixtos que incorporaron información de estructura y/o parentesco. Se evaluaron 635 variedades de arroz del programa de mejoramiento de INIA, se trabajó con datos fenotípicos del 2011 y se utilizaron 57500 SNP para el mapeo. Los modelos comparados son variaciones del modelo lineal general $y=X\beta+Zu+e$. Se trabajó con una serie de variables de calidad arrocera y en todos los casos se detectaron regiones genómicas que identifican QTL candidatos. No hubo un único modelo con mejor desempeño para todas las variables, sin embargo se destaca el modelo que incorpora como efecto aleatorio y la estructura poblacional a través de un análisis de componentes principales.

Investigaciones Antárticas - Sesión 2

S2_069 Transferencia horizontal de genes que codifican proteasas en bacterias antárticas

*Marizcurrena, Juan José[1 *]; Martínez, Cecilia[2]; Iriarte, Andrés[3]; Fullana, Natalia[1]; Musto, Héctor[4]; Castro-Sowinski, Susana[2]*

[* 1] Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República ; [2] Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Organización y Evolución del Genoma, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Organización y Evolución del Genoma, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

La transferencia horizontal de genes (THG) es un mecanismo importante en la evolución del genoma. Generalmente, los genes que codifican para proteínas beneficiosas para la bacteria se fijan en la población, mientras que aquellos que no impliquen una adaptación se pierden. Aunque la THG es un fenómeno común de las bacterias en su ambiente natural, existen pocos informes de THG en el ambiente antártico. Se conoce la transferencia de genes asociados a metabolitos antimicrobianos, degradación de hidrocarburos, transducción de señales y enzimas hidrolíticas (quitinasa). En este trabajo se presenta evidencia que sugiere eventos de transferencia de genes que codifican para proteasas en bacterias antárticas. Durante la búsqueda de proteasas en el aislamiento *Janthinobacterium* sp. AU11 se identificó la secuencia codificante para una serín-proteasa (JSP8A; subtilisin-peptidasa perteneciente a la familia S8, subfamilia S8A) presentes en cianobacterias (62% de identidad a nivel aminoacídico con *Planktothrix agardhii* y *Microcystis aeruginosa*, entre otras). El análisis del contexto genómico de JSP8A sugiere que durante la inserción del gen se produjo un evento de duplicación génica de una racemasa (interconversión de aminoácidos L a D). Por otro lado, se encontró que el aislamiento *Flavobacterium* sp. AU8 (filo bacteroidetes) produce una metalo-proteasa extracelular que presenta un 100% de identidad a nivel nucleotídico con la proteasa AprX presente en varios integrantes del género *Pseudomonas* (filo proteobacteria). Actualmente se está analizando el contexto genético de esta proteasa. Los resultados sugieren que la transferencia de genes de proteasas en el ambiente antártico podría ser una fuerza evolutiva de importancia.

S2_070 Microorganismos antárticos productores de enzimas celulolíticas

*Herrera, Lorena[1 *]; Marizcurrena, Juan José[1]; Irving, Vivian[1]; Boullosa, Nicolás[1]; Ponce de León, Rodrigo[1]; Castro-Sowinski, Susana[1]*

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Por sus ventajas económicas y ambientales, la biotecnología está sustituyendo a los métodos químicos convencionales en muchas industrias. Por ello, el campo de investigación y aplicación de las enzimas industriales se está incrementando sustancialmente. Por ejemplo, las celulasas se utilizan para la sacarificación de materiales vegetales y posterior fermentación para la obtención de bioetanol. La fuente de la mayoría de las celulasas de uso industrial son los mesófilos, pero los microorganismos sicrófilos y sicrotolerantes producen enzimas con alta eficiencia catalítica a temperaturas inferiores (35-45°C) que las producidas por microorganismos mesófilos (55-65°C). El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar microorganismos productores de celulasas, activas a bajas temperaturas, provenientes de la microflora intestinal del oligoqueto *Grania sp.*, habitante de las costas de la Bahía Maxwell, Isla Rey Jorge, Antártida. Se trabajó bajo la hipótesis que establece que como el oligoqueto se alimenta de algas rojas (quienes contienen celulosa, entre otros), su flora intestinal debe contener microorganismos celulolíticos. Se aislaron microorganismos capaces de crecer en medios diferenciales con carboximetilcelulosa, a 8°C. Se seleccionaron aquellos capaces de degradar CMC (producen halos de transparencia alrededor de la colonia, en presencia de rojo Congo). Actualmente se están identificando por secuenciación del gen que codifica para la subunidad ribosomal pequeña. Próximamente se analizará su capacidad de sacarificación. Con este trabajo se busca contribuir a la identificación de enzimas activas a temperaturas compatibles con la temperatura óptima de fermentación por levaduras (35°C), para el diseño de protocolos de sacarificación y fermentación secuencial, y producción de bioetanol.

S2_071 IDENTIFICACIÓN DE TypA, UNA PROTEÍNA INVOLUCRADA EN EL CRECIMIENTO A BAJA TEMPERATURA EN UNA PSEUDOMONAS ANTÁRTICA

*Fullana, Natalia [1 *]; Martínez Rosales, Cecilia[1]; Margalef, Natalie[1]; Castro-Sowinski, Susana[2]*

[* 1] Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.; [2] Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Los microorganismos que crecen a bajas temperaturas, pero su temperatura óptima de crecimiento es cercana a los 20°C, se denominan sicrotolerantes. Pseudomonas sp. AU10 es un microorganismo sicrotolerante aislado de muestras de agua de la Isla Rey Jorge, Península Fildes, Antártica. El objetivo de este trabajo fue utilizar una estrategia proteómica y una genómica para encontrar elementos moleculares involucrados en la adaptación al crecimiento a bajas temperaturas en AU10. Se creció AU10 a 4 y 30°C, se realizó la extracción de proteínas intracelulares y se analizaron en geles 2D. Se identificaron algunas proteínas de expresión diferencial a baja temperatura por MS-MALDI/ToF. Se identificaron 16 proteínas involucradas en procesos de transcripción y traducción, metabolismo general y transportadores. También se realizó la mutagénesis al azar de AU10 utilizando el transposón miniTn5, y se seleccionaron las transconjugantes incapaces de crecer a 4°C, pero con fenotipo de crecimiento normal a 30°C. Se obtuvieron cuatro mutantes. Las mutaciones se identificaron por PCR inversa. Al momento se ha logrado identificar una de las mutantes, coincidiendo con una de las proteínas identificadas utilizando la estrategia proteómica. Se trata de una proteína de unión a GTP, o TypA/BipA, con homólogos en P. poea, P. fluorescens y P. extremaustralis. TypA es una GTPasa perteneciente a la familia de factores de elongación durante la traducción. Probablemente esta proteína tenga un papel importante durante la síntesis de proteínas a bajas temperaturas.

S2_072 Bio-precipitación de óxidos de manganeso detectados por análisis funcional de una metagenoteca generada a partir de una muestra Antártica

*Ferrés, Ignacio[1 *]; Amarelle, Vanesa[1]; Noya, Francisco[1]; Fabiano, Elena[1]*

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Con la finalidad de descubrir nuevas enzimas de potencial interés biotecnológico adaptadas a funcionar en frío, se construyó una metagenoteca funcional a partir de una muestra colectada en la Península Antártica. Para ello, se tomó una muestra de un charco de agua de deshielo en la campaña realizada en enero de 2013, se extrajo el ADN metagenómico y se generó dicha metagenoteca en *Escherichia coli* de aproximadamente 50.000 clones, donde cada clon posee 35-40 kb de ADN metagenómico clonado en un fósmido. Los clones fueron agrupados en conjuntos (20-30 clones por grupo) para facilitar su análisis. Uno de los grupos ensayados formó precipitados rojizo-amarronados en presencia de $MnCl_2$. El clon responsable de este fenotipo fue aislado y posteriormente caracterizado. Se confirmó que el fenotipo se debía a la presencia de óxidos de manganeso, sugiriendo que el inserto codifica para una manganeso oxidasa (MnOx). Se comprobó que la actividad/expresión de la MnOx depende de la concentración de Mn en el medio, observándose mayor actividad/expresión en presencia de $MnCl_2$ 0,5 mM. Se determinó que la actividad MnOx estaba presente en la fracción citosólica. Para identificar el gen responsable de esta función, el fósmido fue secuenciado mediante el Ion Torrent. De las 23 secuencias codificantes identificadas, ninguna mostró características clásicas de multicobre-oxidasas, la clase de enzimas más comúnmente reportada para este tipo de actividad. A nivel nucleotídico, 34% de la secuencia mostró un 80% de identidad con *Octadecabacter antarcticus*. Actualmente se continúa analizando la actividad MnOx y buscando identificar la secuencia codificante.

S2_073 Ecosistemas acuáticos antárticos: un aporte al monitoreo de los sistemas límnicos cercanos a la Base Científica Antártica Artigas

Piccardo, Andrea[1 *]; *De Giacomi, Sol*[1]; *Bouzas, Ana Clara*[1]; *Eguren, Gabriela*[2]

[* 1] Primera escuela de verano de introducción a la investigación antártica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Debido a las características físicas extremas del continente antártico, los sistemas límnicos allí presentes poseen una estructura de red trófica simplificada, con propiedades físicas y químicas distintivas. Por esto han sido caracterizados como excelentes modelos de estudio en diversas áreas científicas, representando una guía sensible a la magnitud y el ritmo del cambio climático, siendo sitios clave para la investigación y monitoreo ambiental. En el presente trabajo se reportan datos de parámetros físico-químicos, obtenidos en dos sistemas límnicos adyacentes a la Base Científica Antártica Artigas (BCAA), ubicada en la Antártida Marítima, con el fin de realizar un aporte al monitoreo ambiental llevado a cabo en los últimos años en estos cuerpos de agua. Para ello se obtuvieron muestras en diciembre de 2013 y febrero de 2014, en el Lago Uruguay y el Arroyo Uruguay, estudiando en este último la influencia de la BCAA. Por otra parte, se realizó un análisis de la variación temporal de estos sistemas utilizando datos obtenidos desde 2005 en estudios anteriores. Se determinó que el Lago Uruguay es oligotrófico, con una productividad muy baja, al igual que la encontrada en el arroyo, evidenciada por la baja concentración de fósforo. Se pudo afirmar que ambos sistemas límnicos presentan una buena calidad de agua, infiriendo además, que la BCAA no estaría realizando aportes significativos de nutrientes al arroyo en la actualidad. Se evidenció que las variaciones temporales de nutrientes encontradas en el lago se deberían principalmente a las variaciones estacionales y a los procesos congelamiento-descongelamiento.

S2_074 Aislamiento, identificación y métodos de conservación de hongos filamentosos y levaduras provenientes de la isla Rey Jorge.

González, Amalia[1 *]; *Vero, Silvana*[1]; *Garmendia, Gabriela* [1]; *Alborés, Silvana*[1]

[* 1] Facultad de Química, Universidad de la República

Si bien las aplicaciones en el campo de la biotecnología que se le atribuyen tanto a levaduras como a hongos filamentos son variadas, aun quedan muchos hábitats naturales por explorar en busca de nuevas especies, de forma tal que puedan diseñarse tecnologías novedosas protagonizadas por estos microorganismos. Si bien se han descrito nuevos grupos microbianos provenientes de la Antártida, éstos representan un muy bajo porcentaje de la gran diversidad microbiana presente en esta región. Por otra parte, para la preservación de microorganismos es de gran importancia encontrar métodos de conservación que aseguren la viabilidad e integridad morfológica, fisiológica y genética de un cultivo, manteniendo así las características de la cepa original.En el presente trabajo se trabajó con 44 aislamientos de hongos filamentosos y levaduras obtenidos de muestras de suelo y agua (continental y oceánica) de la isla Rey Jorge. Se realizó la identificación molecular de estos aislamientos mediante la amplificación y secuenciación de las regiones ITS y D1 - D2, complementando dicha identificación con características fenotípicas. Además se evaluaron distintos métodos de conservación de estas cepas como ser almacenamiento en medio de cultivo con vaselina, en agua destilada estéril, en papel, en glicerol-cerebro-corazón y subcultivo continuo.Los resultados obtenidos son un gran aporte para el estudio de biodiversidad de la flora fúngica Antártica, así como para la utilización de estas cepas en aplicaciones biotecnológicas, tales como agentes de biocontrol, fuente de ácidos grasos para la producción de biodiesel, o de nuevos metabolitos bioactivos.Financiación: Instituto Antártico Uruguayo, PEDECIBA Química.

S2_075 Paleolimnología en el continente blanco: reconstrucción del pasado del Lago Uruguay, Isla Rey Jorge, Antártida

Illarze, Mariana[1 *]; *Hordeñana, Juan Andrés*[1]; *Manta, Gastón* [1]; *Olivera, Analía*[1]; *Antoniades, Dermot*[1]

[* 1] Facultad de Ciencias

La Antártida es un continente de características únicas. Sus ecosistemas sensibles a cambios ambientales y el bajo impacto antrópico lo convierten en un observatorio para visualizar cambios a nivel global. Particularmente, la Península Antártica ha sido una de las regiones del planeta más afectados por cambios climáticos recientes, con un aumento de la temperatura media de 0,4°C por década desde 1946. En el marco de la Primera Escuela de Verano de Introducción a la Investigación Antártica de la Facultad de Ciencias, se ha llevado a cabo un estudio paleolimnológico en el Lago Uruguay, localizado en la Isla Rey Jorge (Antártida marítima), con el objetivo de describir cambios ambientales en la región en el pasado. Se tomó un testigo de sedimento del Lago Uruguay para el análisis de tres indicadores: el porcentaje de materia orgánica, la proporción de diatomeas planctónicas/totales y las concentraciones de pigmentos fotosintéticos a lo largo del testigo. Los resultados indican que ha aumentado la biomasa del lago y se ha registrado un cambio en la composición de la comunidad de diatomeas, aumentando la proporción de planctónicas hacia el presente. El aumento de biomasa y de diatomeas planctónicas sugiere un mayor período de descongelamiento del lago durante el verano, lo que se puede atribuir a un posible aumento de la temperatura media en la región. Se propone continuar con el estudio, realizando una datación cronológica del testigo, así como nuevos muestreos en diferentes lagos Antárticos para realizar las comparaciones pertinentes y sumar evidencias a las inferencias formuladas.

S2_076 Potencial de la desnitrificación para la bioremediación de contaminantes en la Antártida

Etchebehere, Claudia[1 *]; *Bovio, Patricia*[1]; *Wenzel, Jorge*[1]; *Braga, Lucía*[1]; *Fuentes, Laura*[1]; *Cabezas, Angela*[2]

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Universidad ORT

La desnitrificación es un proceso microbiano por el cual el nitrato es convertido en N_2 que se vuelve a la atmósfera. Ocurre naturalmente en suelos, ambientes marinos y de agua dulce, pero está muy poco estudiado en ambientes fríos. Se ha demostrado que puede ser utilizado en estrategias de bio-remediación ya que muchas bacterias desnitrificantes son capaces de degradar compuestos recalcitrantes. En este trabajo se estudió la desnitrificación a bajas temperaturas en diferentes ecosistemas de la Antártida con el objetivo final de utilizar microorganismos desnitrificantes en estrategias de bio-remediación a bajas temperaturas. Se tomaron muestras de: lagos, cañadas, suelo, glaciar y agua de mar, de la Isla Rey Jorge cerca de la Base Artigas de Uruguay durante dos veranos. Se aislaron bacterias en medios de cultivo específicos para desnitrificantes que se incubaron a 4ºC en condiciones anaerobias. Se aislaron mas de 300 cepas desnitrificantes. La mayoría se afiliaron a los sub-phylum Gamma y Beta Proteobacteria. Las cepas caracterizadas como Pseudomonas y Janthinobacterium fueron las más abundantes y fueron aisladas de la mayoría de los ambientes. Se seleccionaron cepas representativas de los diferentes sitios muestreados y se testó su capacidad de crecer a 4ºC en un medio mineral con nitrato y con gasoil como única fuente de C y energía. De un total de 37cepas ensayadas, 20 dieron resultados positivos sugiriendo que es factible utilizar el proceso de desnitrificación como estrategia de bioremediación a bajas temperaturas.

S2_077 Organización genómica de plásmidos aislados de cepas antárticas de *Enterobacter* sp., resistentes a antibióticos

*Antelo, Verónica[1 *]; Falcón, Luisa [2]; Mazari, Marisa[2]; Campo, Julio[3]; Batista, Silvia[4]*

[* 1] Unidad de Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Laboratorio de Ecología Bacteriana, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México ; [3] Laboratorio de Biogeoquímica Terrestre y Clima, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. ; [4] Unidad de Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

A partir de muestras de sedimento-suelo y tapetes colectados en la Península Fildes (Isla Rey Jorge), se obtuvo una colección de aislamientos capaces de crecer en medio LB. Algunos de estos microorganismos presentaron un perfil de resistencia a distintos antibióticos incluyendo Trimetoprim (Tmp), Ampicilina y Streptomicina. En algunos de estos aislamientos del género *Enterobacter*, los genes que codifican para esta resistencia estaban asociados a integrones, como elementos genéticos capaces de incorporar y expresar marcos de lectura abiertos exógenos. Los plásmidos de tres aislamientos fueron aislados y secuenciados. Los datos crudos de secuencia del aislamiento HTP19 (Halfthree Point), indicaron que las regiones que contenían los integrones y regiones adyacentes, incluyendo *dfrA14* (Tmpr), presentaban una similitud del 99% (Blastn) con una región de aproximadamente 7200 pb del plásmido pKOX105 de *Klebsiella oxytoca* (HM126016). El resto de la secuencia contenía regiones altamente similares, del orden de 99 a 96% (Blastn), con las correspondientes del plásmido pECL_A de *Enterobacter cloacae* subsp. *cloacae* ATCC 13047 (NC_014107). Las regiones similares incluyen los genes que codifican para el inicio de replicación (RepFIIA, REPFIB), genes *sopA/ sopB* y *parM/parR*, involucrados en el mantenimiento de plásmidos, genes involucrados en las funciones de conjugación y otros de resistencia a metales. Se discuten posibles mecanismos de dispersión de los plásmidos.Proyecto financiado por el Fondo Conjunto de Cooperación México - Uruguay; PEDECIBA; ANII

S2_078 Identificación de una cepa antártica del genero Shewanella productora de Omega 3

*Paz, Mariana[1 *]; Saravia, Veronica[2]; Loperena, Liliam[2]*

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

Los omega 3 son un conjunto de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) cuyo rol esencial en la salud humana ha impulsado numerosas investigaciones. En la búsqueda de nuevas fuentes de PUFAs surgen como alternativa prometedora las bacterias. Una estrategia utilizada por algunos microorganismos para la adaptación a climas fríos se basa en la regulación de la fluidez de la membrana celular, mediante variaciones de la proporción de PUFAs en la misma. En trabajos previos se aisló una cepa del genero Shewanella con un perfil lipídico que la proponía como una potencial productora de ácido eicosapentaenoico.El objetivo de este trabajo fue avanzar en la identificación de esta cepa. Se realizó una caracterización morfológica, fenotípica y genotípica. El microorganismo es un bacilo Gram- movil, por medio de un flagelo apical. Crece entre 4-30°C y concentraciones de NaCl de 0,25 a 6%. Hidroliza gelatina pero no caseína ni almidón. Presenta actividad lisina descarboxilasa y reduce el nitrato a nitrito. No utiliza glucosa ni citrato como fuente de carbono. A partir de la secuencia de ARN 16S se realizó un BLAST y un árbol filogenético. Se obtuvo un 94% de similitud con Shewanella livingstonensis NF22, además de diferencias en aspectos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos. Sin embargo, el mayor porcentaje de similitud obtenido fue de 95% por parte de Shewanella livingstonensis KOPRI_22225 (no se cuenta con caracterización fenotípica). Considerando que el porcentaje de similitud es menor a 97%, se sugiere que se podría estar ante una nueva especie para este género.

S2_079 Producción de ácidos grasos poliinsaturados (ARA, DHA, EPA) por un aislamiento Antártico de *Mortierella* sp.

*Corallo, Belen[1 *]; Bruzzone, Juliana[1]; Loperena, Lyliam[1]; Olazabal, Laura[2]; Lupo, Sandra[3]*

[* 1] Facultad de Ingeniería, Universidad de la República; [2] Laboratorio Tecnológico del Uruguay; [3] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los ácidos grasos poliinsaturados (pufas) son esenciales de las células eucariotas. Algunos hongos pueden ser utilizados para la producción de pufas dado que pueden acumular lípidos en grandes cantidades. Muchas especies del género *Mortierella* tienen la capacidad de producir grandes cantidades de pufas dependiendo de las condiciones de fermentación y los medios de cultivo. El objetivo de este trabajo es determinar las condiciones que favorezcan el crecimiento y la producción de ácidos grasos poliinsaturados en *Mortierella* sp. Se evaluó el efecto de la temperatura, el pH, distintas fuentes de carbono y nitrógeno. Para ello se utilizaron cultivos líquidos con agitación (150rpm) para cada una de las condiciones evaluadas. Se determinó el consumo de glucosa diariamente y a los 7 días se determinó biomasa y se realizó la extracción de ácidos grasos. El perfil de ácidos grasos fue analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La mayor producción de ácidos grasos se obtuvo a 10ºC y pH 6,5 (ácido araquidónico 17.54 mg/g, ácido eicosapentanoico 1.68 mg/g y ácido linoleico 8,23 mg/g). La cantidad de biomasa y pufas obtenida con glucosa y fructosa fue similar y mayor que con maltosa. La fuente de nitrógeno que produjo mayor biomasa fue extracto de levadura. Dado los resultados obtenidos sería de interés continuar con los estudios en escala de fermentador con el fin de evaluar la producción de ácido araquidónico en forma comercial.

Microbiología - Sesión 2

S2_093 Promoción del crecimiento de Festuca SFRO variedad Don Tomás, por probables endófitos bacterianos nativos

de los Santos, María[1 *]; *Taulé, Cecilia*[1]; *Mareque, Cintia*[1]; *Beracochea, Martín*[1]; *Battistoni, Federico*[1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Festuca arundinacea (Festuca) es una gramínea forrajera perenne muy utilizada en nuestro país, sola o combinada con leguminosas. La Sociedad de Fomento Rural Ortíz (SFRO), ubicó en el departamento de Lavalleja, una población espontánea con alta resistencia a la sequía y buena producción en condiciones comerciales y de pastoreo, la cual fue registrada como variedad Don Tomás. El objetivo del presente trabajo fue contribuir a la sustentabilidad económica y ambiental de la variedad Don Tomás, mediante la búsqueda de bacterias endófitas nativas promotoras del crecimiento vegetal (PCV). Para esto se construyó una colección de 343 aislamientos, a partir de tallos, raíces y semillas esterilizados en su superficie. La misma fue caracterizada molecular y bioquímicamente in vitro, buscándose características PCV (diazotrofía, solubilización de minerales y producción de ácido indol acético), así como características probablemente involucradas en la interacción planta-bacteria (producción de enzimas hidrolíticas y formación de biopelículas). Los resultados obtenidos mostraron que la colección presenta una amplia variedad de aislamientos con las características buscadas. Particularmente, 28 aislamientos diazótrofos fueron seleccionados e identificados mediante la secuenciación del gen ADNr 16S, identificándose un total de 15 géneros diferentes. Plantas de Festuca fueron inoculadas con las cepas seleccionadas y crecidas en condiciones gnotobióticas, demostrándose que 4 de ellas (relacionadas con los géneros Microbacterium, Streptomyces y Pseudomonas), fueron capaces de promover el crecimiento vegetal. Las mismas son de gran interés biotecnológico y serán evaluadas en sistemas más complejos en condiciones de invernáculo así como en campo. El objetivo final es la producción de un bioinoculante. El presente proyecto está financiado por el proyecto: ANII-ALI-1-2012-3269

S2_094 Efecto de agroquímicos a base de cobre sobre la bacteria Xanthomonas citri subsp. citri, agente causal del cancro cítrico

Russi, Paola[1 *]; *Siri, María Inés*[2]; *Peyrou, Mercedes*[1]

[*1] Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República

Xanthomonas citri subsp. citri (Xcc) es la bacteria responsable del cancro cítrico, enfermedad que afecta especies de cítricos, ocasionando importantes pérdidas económicas. Un control razonable de la enfermedad se logra en base a productos cúpricos. Sin embargo, su uso trae problemas de toxicidad en la planta, residualidad en la fruta y generación de resistencia. Con el objetivo de comprender el mecanismo de acción del Cu++ se estudió su efecto sobre la multiplicación y la inducción del estado de viable pero no cultivable (VBNC). También se evaluó su efecto sobre la expresión de genes asociados a la patogenicidad de Xcc, in planta. El efecto sobre la multiplicación bacteriana se realizó sobre un grupo de plantines de pomelo tratados con un producto cúprico y otro tratado con agua, he inoculadas con Xcc. La cantidad presente en el tejido fue recuperada a diferentes tiempos y evaluada por qPCR y crecimiento en medio sólido. La presencia de VBNC se evaluó por citometría de flujo. La expresión de los genes de patogenicidad hrpG, virk, avrXacE1, avrBs2, hrcR y pglA se cuantificó por qPCR sobre una población de Xcc provenientes de plantas tratadas de la misma forma que los ensayos de multiplicación. Los resultados obtenidos sugieren que el cobre dentro de la planta elimina la población bacteriana, provocando la muerte de la bacteria, y disminuye la expresion del gen hrpG, uno de los principales reguladores de los procesos de patogenicidad de Xcc y de otras Xanthomonas.

S2_095 Construcción y caracterización de una colección bacteriana de probables endófitos diazótrofos nativos asociados a plantas adultas de la variedad M81E de sorgo dulce (Sorghum bicolor)

Heijo, Gabriela[1 *]; *Mareque, Cintia*[1]; *Battistoni, Federico* [1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

En Uruguay se está llevado a cabo un plan estratégico nacional que busca establecer y consolidar una matriz energética diversificada, con fuerte participación de energías renovables propias, incluyendo la producción de biocombustibles. Una de las principales materias primas utilizada para la producción de bioetanol, en complementación con la caña de azúcar, es el sorgo dulce. Este cultivo presenta grandes costos económicos de producción y efectos ambientales adversos debido a la aplicación de altas concentraciones de fertilizantes químicos necesarios para su óptimo crecimiento. En este contexto proponemos el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) nativas, con el fin de sustituir parcialmente la aplicación de dichos fertilizantes. El presente trabajo busca aportar conocimientos al estudio de las BPCV nativas diazótrofas endófitas, asociadas a la variedad M81E de sorgo dulce. Para ello se construyó una colección de endófitos-diazótrofos asociados a dicha variedad, aislados en condiciones de microaerofília, a partir de raíces y tallos de plantas adultas. La misma está siendo caracterizada buscándose la presencia *in vitro* de características PCV así como características involucradas en el proceso de colonización e infección. Asimismo, con el fin de efectuar estudios filogenéticos, aislamientos seleccionados serán identificados mediante secuenciación del gen *ADNr 16S* . La importancia de realizar estos estudios radica en que las BPCV investigadas estarán especialmente adaptadas a las condiciones climáticas, tipo de suelo y al genotipo de las variedades de sorgo utilizadas en nuestro país. Los resultados obtenidos aportarán conocimiento básicos para el desarrollo de un bioinoculante en base a estos aislamientos.

S2_096 Aproximación molecular al estudio de simbiontes de leguminosas nativas. Aportes para la conservación de la biodiversidad en un área protegida de Uruguay

Ríos, Cecilia[1 *]; *Platero, Raúl*[1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Como parte del Sistema Nacional de Áreas Protegidas, los Esteros de Farrapos e Islas del Río Uruguay (EFIRU) tienen un importante interés social, ambiental y geopolítico para nuestro país. Con el objetivo de conocer la diversidad microbiana de nuestros suelos y poder así contribuir a la preservación de estos recursos nativos, iniciamos la prospección de rizobios asociados a leguminosas nativas presentes en esta área. Para esto se construyó una colección de microorganismos asociados a las mismas, los cuales fueron identificados mediante la amplificación y secuenciación de los genes que codifican para la subunidad ribosomal menor (ARNr 16S) y para la subunidad estructural de la enzima nitrogenasa (NifH). El análisis filogenético de las secuencias, permitió determinar la especie de algunos de los aislamientos. También corroboramos la capacidad de varios de los aislamientos, de establecer asociaciones simbióticas en condiciones controladas con las leguminosas de las cuales fueron aislados. Los resultados obtenidos evidencian una amplia diversidad de bacterias asociadas a las raíces de leguminosas presentes en EFIRU, encontrándose representados todos los géneros de rizobios reportados hasta el momento. A su vez se observó una clara preferencia de las Mimosas por ß-rizobios, tendencia ya reportada para nuestro continente. Sin embargo la alta tasa de *Cupriavidus sp.* asociados a algunas de las Mimosas y la presencia de ß-rizobios asociados a miembros de las subfamilias Papilonoidea y Caesalpinoideae es novedosa y merece ser caracterizada en profundidad.

S2_097 Análisis de beta rizobios pertenecientes al género Cupriavidus aislados de Mimosas nativas de Uruguay

Sandes, Laura[1 *]; *Ríos, Cecilia*[1]; *Zabaleta, María*[1]; *Battistoni, Federico*[1]; *Platero, Raúl*[1]; *Fabiano, Elena*[1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los rizobios son bacterias del suelo que se encuentran en asociación simbiótica con leguminosas. Éstos juegan un rol importante a nivel ambiental ya que se encargan de la fijación de nitrógeno, permitiendo así una disminución del uso de fertilizantes químicos nitrogenados con la consiguiente disminución de gases de efecto invernadero y eutrofización de cursos de agua. Particularmente, este estudio se lleva a cabo en leguminosas pertenecientes al género Mimosa en Uruguay, un sitio biogeográfico de interés para el estudio de sistemas adaptativos. Interesantemente, en trabajos previos realizados por nuestro grupo se encontró que el género Mimosa en Uruguay se encuentra preferentemente nodulado por rizobios pertenecientes al género Cupriavidus. Este trabajo tiene como objetivo caracterizar un grupo de rizobios provenientes de 10 especies de Mimosas diferentes colectados en distintas regiones del país. Se seleccionaron 11 aislamientos de la colección del laboratorio. Se comprobó mediante el análisis de la secuencia del gen ADNr 16S que 10 aislamientos pertenecían al género Cupriavidus y 1 al género Burkholderia. Todos los aislamientos estudiados, crecieron en un rango de pH de 4 a 9, aunque el crecimiento a pH 4 se veía claramente disminuido. Cuando se analizó la capacidad de estos aislamientos de producir lacasas, celulasas y sideróforos, de resistir a metales y de solubilizar fosfato se observó gran diversidad fenotípica entre los aislamientos. Ahora, nos proponemos analizar si existe diversidad genética entre las cepas y su fenotipo simbiótico.

S2_098 Los genes *hmuQ* y *hmuS* de *Sinorhizobium meliloti* 1021 codifican hemo-oxigenasas con diferente regioespecificidad y son importantes en el metabolismo de hemo de la bacteria

Amarelle, Vanesa[1 *]; *Rosconi, Federico*[1]; *Lázaro Martínez, Juan Manuel*[2]; *Buldain, Graciela*[2]; *O'Brian, Mark R.*[3]; *Fabiano, Elena*[1]

[*1] Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires; [3] Department of Biochemistry, State University of New York at Buffalo, New York

La utilización de compuestos hemínicos como fuente de hierro es una propiedad ampliamente distribuida en bacterias y *Sinorhizobium meliloti* (simbionte diazótrofo de leguminosas) no es una excepción. En trabajos previos identificamos y caracterizamos el sistema de transporte involucrado en la adquisición de hemina, desconociéndose hasta el momento el destino del hemo una vez dentro de la célula. En otras bacterias, el hierro es liberado de anillo tetrapirrólico por acción de las hemo-oxigenasas. En trabajos recientes demostramos que las proteínas HmuQ y HmuS de *S. meliloti* son capaces de unir hemina con estequiometria 1:1 y que ambas proteínas presentan actividad hemo-oxigenasa in vitro. En este trabajo continuamos con la caracterización de los productos de reacción obtenidos por ambas enzimas. Comprobamos que si bien se obtiene biliverdina como producto final de la reacción, los isómeros de biliverdina producidos por HmuQ y por HmuS son distintos, por lo que ambas enzimas poseen diferente regioespecificidad. Hasta el momento sólo se ha reportado la producción de distintos isómeros de biliverdina en algunas especies de Pseudomonas. En este trabajo también demostramos que la expresión de los genes *hmuQ* y *hmuS* es reprimida al crecer las bacterias en presencia de hierro o de hemina. Con la finalidad de evaluar la importancia de estas proteínas en la fisiología bacteriana, se construyeron y analizaron mutantes isogénicas noqueadas en los genes *hmuQ*, *hmuS* o en ambos genes. Los fenotipos resultantes, indican que los productos de ambos genes participan en el metabolismo de compuestos hemínicos en *S. meliloti*.

S2_099 Identificación de genes involucrados en la formación de *biofilms* de *Proteus mirabilis* uropatogénico

Iribarnegaray, Victoria[1 *]; *Baraibar, Virginia*[1]; *Scavone, Paola*[1]; *Zunino, Pablo*[1]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los *biofilm* son comunidades microbianas sésiles cuyas células se encuentran adheridas entre sí y a un sustrato o interfase, embebidas en una matriz extracelular polimérica de producción propia y que exhiben un fenotipo distintivo con relación a la tasa de crecimiento y expresión génica, difiriendo de sus contrapartes planctónicas. Tienen gran relevancia en sistemas naturales e industriales y en el contexto clínico están asociadas a infecciones asociadas a implantes médicos. *Proteus mirabilis* es una bacteria Gram-negativa móvil que causa infecciones del tracto urinario complicadas, como las asociadas a catéteres urinarios (ITU-c) las que se relacionan además con la capacidad de formar biofilms en su superficie. A partir de una colección de mutantesde *P. mirabilis* generada mediante mutagénesis al azar se evaluó la capacidad de formar *biofilms* mediante la técnica de tinción con cristal violeta. Se seleccionaron aquellas mutantes que presentaron una capacidad alterada de formar *biofilms*. Se evaluó la presencia de una sola inserción del transposón y se amplificó y secuenció el gen interrumpido. Las características evaluadas fueron: migración sobre catéteres, hidrofobicidad celular, movilidad *swarming* y capacidad infectiva en un modelo de ITU ascendente en ratón. Entre los genes involucrados se identificaron una proteína hipotética, una bomba de eflujo y una péptido sintasa no ribosomal. Estos tres mutantes mostraron diferencias en las distintas características evaluadas así como en su infectividad con respecto a la cepa salvaje *P. mirabilis*. Los resultados obtenidos nos permiten inferir que la formación de *biofilms* es un proceso complejo en el cual participan diversos genes.

S2_100 PCR-RFLP como método para diferenciar especies de *Alternaria* causante del corazón mohoso en manzanas

Pattarino, Luciana[1 *]; *Garmendia, Gabriela*[1]; *Schinca, Cecilia*[1]

[*1] Facultad de Química, Universidad de la República

El corazón mohoso, es una enfermedad que afecta principalmente manzanas rojas, en especial de la variedad Red Delicious y que ha sido asociado a grandes pérdidas económicas. El daño producido es totalmente interno, sin manifestación externa. Los principales patógenos causantes de esta enfermedad son hongos del género *Alternaria*, pertenecientes a las especies *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. tenuissima* y *A. infectoria*. Las tres primeras especies pueden ser productoras de alternariol, una micotoxina de sospechada acción cancerígena. La identificación fenotípica de dichas especies es dificultosa. A su vez, el uso de métodos moleculares basados en el estudio de secuencia la región ITS, sólo permite diferenciar *A. infectoria* de las otras tres especies. El presente trabajo muestra la puesta a punto de un método de identificación a nivel de especie de *A. alternata*, *A. arborescens* y *A. tenuissima*, basado en el RFLP del gen que codifica para la histona. Mediante análisis in silico de secuencias del gen correspondientes a las tres especies, se seleccionaron dos enzimas de restricción capaces de producir cortes que permiten diferenciar las tres especies, el método diseñado fue corroborado con cepas de colección y fue utilizado para estudiar aislamientos uruguayos provenientes de manzanas Red Delicious afectadas por corazón mohoso.

POSTERS

S2_101 *P. crustosum* como causante del biodeterioro de productos panificados. Diseño de un método de PCR en tiempo real para evaluar su crecimiento en atmósfera modificada.

*Gonda, Mariana[1 *]; Cecchetto, Gianna[1]; Rufo, Caterina[2]; Vero, Silvana[1]*

[*1] Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Polo tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República

Son variados los alimentos que a causa del biodeterioro fúngico presentan un corto tiempo de vida útil. Para impedir o retrasar dicho deterioro, se utilizan diversas estrategias siendo la adición de conservantes, una de las más utilizadas. Sin embargo, los consumidores están optando por productos sin aditivos químicos. En este contexto surge como alternativa el uso de atmósfera modificada en el envoltorio de empaque (ATM).El objetivo del presente trabajo fue identificar los hongos contaminantes de tortas bizcochuelo y estudiar la influencia de la atmósfera modificada en el envase en el crecimiento de los mismos. Para ello se analizaron tortas bizcochuelo envasadas en aire atmosférico y almacenadas a 25ºC. Al visualizarse crecimiento fúngico en superficie, se aislaron los hongos causantes del biodeterioro y se identificaron genotípicamente. A su vez, se evaluó el crecimiento en placa, de los hongos aislados bajo ATM, utilizando una mezcla de gases CO_2:N_2 50:50, determinándose que dicha mezcla no logra inhibir completamente el crecimiento de algunos de los hongos estudiados. La especie aislada con mayor frecuencia fue *P. crustosum*. Para evaluar el efecto de diferentes ATM sobre el crecimiento de este hongo sobre torta, se diseñó un método de cuantificación por PCR en tiempo real. Se diseñaron primers específicos dirigidos al gen de la beta tubulina, utilizando el programa AlleleID, de forma tal de realizar el annealing y la extensión en un solo paso a 60°C.

S2_102 Implicancia de la pérdida de expresión de porinas en la sensibilidad a beta-lactámicos en *Klebsiella pneumoniae*

*Echeverría, Natalia[1 *]; Ruiz del Castillo, Belén[2]; Ocampo-Sosa, Alain[2]; Fernández, Marta[2]; Martínez-Martínez, Luis[2]; Galiana, Antonio[3]; Borthagaray, Graciela[4]; Márquez, Carolina[5]*

[*1] Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República - Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Santander; [3] Hospital Maciel; [4] Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República - Servicio de Bacteriología, Hospital Central de las Fuerzas Armadas; [5] Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Universidad de la República - Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La resistencia a beta-lactámicos en Enterobacterias está relacionada mayoritariamente con la producción de enzimas hidrolíticas del anillo beta-lactámico (beta-lactamasas). Sin embargo, la pérdida de porinas (un tipo de proteínas de membrana externa - PME) ocasiona una disminución de permeabilidad a algunos antibióticos, y ha sido asociada con una sensibilidad disminuida a los mismos. En este estudio, se analizó la producción de las porinas OmpK35 y OmpK36 de 8 aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae*, con diferentes perfiles de sensibilidad a cefalosporinas y carbapenemes, con el fin de determinar si las porinas mencionadas juegan un rol en la sensibilidad a antibióticos en dichos aislamientos. Para ello, se secuenciaron los genes de interés *ompK35* y *ompK36*, se determinó la expresión relativa por PCR cuantitativa y se analizó el perfil de PME. Los resultados evidenciaron la falta de expresión de OmpK35 en todos los aislamientos, sin relación con el tipo de beta-lactamasa producida. En la mayoría de los casos se observó un corrimiento del marco de lectura y un codón *stop* prematuro en el gen *ompK35*. La expresión de OmpK36 resultó variable entre los aislamientos, apreciándose una clara disminución en un único aislamiento, productor de carbapenemasa (KPC-2), y aislado posteriormente a la antibiótico-terapia del paciente. El gen *ompK36* en este aislamiento no presentó mutaciones que pudieran explicar la disminución en su expresión, comparado con los genes de los restantes aislamientos, lo cual podría sugerir una regulación de la expresión génica pre y/o post-transcripcional impulsada por la presión selectiva ejercida por el uso de antibióticos.

S2_103 Profundización en el mecanismo de acción de IL-17A durante la colonización por *S. pneumoniae* en el tracto nasofaríngeo.

*Céspedes, María Paula[1 *]; Marqués, Juan Martín[1]; Mazza, Natalia[1]; Crispo, Martina[2]; Chabalgoity, Alejandro[1]; Rial, Analia[1]*

[*1] Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo

Streptococcus pneumoniae continúa siendo el principal agente etiológico de la neumonía comunitaria. Estudios previos en nuestro laboratorio, utilizando una cepa murina deficiente para Il17a y su cepa singénica salvaje, mostraron que IL-17A es esencial para una correcta eliminación de la colonización nasofaríngea. Con el fin de profundizar en el rol que juega esta citoquina, principalmente a nivel de la respuesta humoral, se llevaron a cabo estudios comparativos evaluando la generación de anticuerpos contra el polisacárido capsular de serotipo 1,polisacárido C y sonicado de neumococo en ambas cepas, durante la colonización. Estos resultados no permitieron determinar una dependencia directa entre IL-17A y la generación de anticuerpos primarios como sí lo había observado nuestro grupo en la respuesta secundaria de anticuerpos en un modelo de protección contra neumonía aguda. También se evaluó el rol de las células CD4 en la producción de anticuerpos específicos contra PS1 habiendo obtenido resultados preliminares que estamos actualmente repitiendo. Asimismo, se estudiaron los perfiles transcripcionales en NALT obtenidos de animales WT e Il17a-/- a distintos tiempos post-colonización. Por otro lado, se realizaron ensayos preliminares con el objetivo de reestablecer el fenotipo salvaje en los animales Il17a-/-, mediante el agregado exógeno de la citoquina recombinante. El conjunto de resultados de obtenidos nos motivan a seguir investigando el mecanismo de acción de esta citoquina en la eliminación de la colonización por neumococo.

S2_104 Est10: un nuevo miembro de la familia XV de enzimas lipolíticas, apto para la utilización en bioprocesos

*Rodríguez, Maria Cecilia[1 *]; Loaces, Ines[1]; Amarelle, Vanesa[1]; Andrés, Iriarte[2]; Elena, Fabiano[1]; Noya, Francisco[1]*

[*1] Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El uso de biocatalizadores en la industria ha dirigido nuestro interés hacia una búsqueda de los mismos en la diversidad microbiana. Las hidrolasas constituyen los biocatalizadores con mayor demanda en el mercado enzimático. Específicamente, debido a su versatilidad las enzimas lipolíticas son utilizadas en un amplio rango de bioprocesos, catalizando reacciones con una alta especificidad y alta estabilidad, en un amplio rango de pHs y temperaturas. Originariamente las enzimas lipolíticas se clasificaron en 8 familias, en base a características bioquímicas y conservación de residuos aminoacídicos. Por otro lado, herramientas como la metagenómica permitió el aumento en la disponibilidad de secuencias, determinando el hallazgo de nuevas familias. En este trabajo a partir de una búsqueda de clones con actividad lipolítica en una librería metagenómica, se logró identificar un gen denominado est10, el cual se secuenció, expresó y purificó como una proteína de fusión. Est10 presentó una alta homología con tres esterasas caracterizadas Est5S, EstGK1 y EstZ3, miembros de la familia DUF3089. Por otro lado, estudios de agrupamiento mostraron que Est10 estaba relacionada a otras dos esterasas EstD2 y EstWSD, miembros de la familia DUF3089 y recientemente agrupadas en una nueva familia XV. Sin embargo, estudios de filogenia sugirieron que Est10, Est5S, EstZ3 y EstGK1 serían miembros de la familia XV. Est10 fue caracterizada bioquímicamente, se observó máxima actividad a pH 8-8.5. A pesar de tener temperatura óptima a 40ºC mantuvo hasta un 80% de actividad a 20°C, lo cual la hace muy atractiva desde el punto de vista biotecnológico.

S2_105 Actividad quitinolítica de aislamientos de *Trichoderma* para el control de *Sclerotinia sclerotiorum*.

*Allori Stazzonelli, Enzo[1 *]; Vero, Silvana[2]; Yasem de Romero, Marta[1]*

[*1] Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán; [2] Facultad de Química, Universidad de la República

Sclerotinia sclerotiorum representa un serio problema para el cultivo de hortalizas en el Noroeste argentino. Se trata de un fitopatógeno capaz de desarrollar estructuras de resistencia llamadas esclerocios. Dichas estructuras son fuente de inóculo ya que pueden germinar generando nuevas infecciones. Los esclerocios son vulnerables al ataque de microorganismos, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue caracterizar aislamientos de *Trichoderma* por su producción de enzimas que faciliten el parasitismo de esclerocios. A partir de esclerocios parasitados naturalmente y también empleando la técnica de "esclerocios trampa" se obtuvieron 19 aislamientos de *Trichoderma*, los cuales fueron identificados a nivel de especie por secuenciación del gen tef1a. Cada aislamiento se sembró en medio YNB, con paredes de hongos (1mg/ml) como fuente de carbono, fomentando la producción de enzimas. Los cultivos se incubaron durante 6 días a 25 ± 2 °C y se determinó actividad quitinolítica empleando como sustrato paranitrofenilNacetilglusamidina. Relacionando la absorbancia obtenida a 405 nm con los moles de p-nitrofenol liberado por minuto, se estimó las unidades de enzima (UE) producida por cada aislamiento. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante test de Fisher (LSD) y ANOVA. Todos los aislamientos evaluados produjeron enzimas capaces de degradar paredes de hongo, destacándose significativamente *T. atroviride* 6, *T. atroviride* 21, *T.koningiopsis* 17, *T. longibrechiatum* 11, con medias de 10 a 8,9 UE/ml respectivamente. Dichos resultados demuestran que todos los aislamientos tienen capacidad enzimática para degradar esclerocios y que la concentración de enzimas producida depende de cada aislamiento en particular.

S2_106 Las mimosas uruguayas los prefieren beta

*Platero, Raúl[1 *]; Ríos, Cecilia[1]; Zabaleta, María[1]; Iriarte, Andrés[1]; James, Euan[2]; Battistoni, Federico[1]; Fabiano, Elena[1]*

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura; [2] The James Hutton Institute

Convencidos de que la diversidad microbiana de nuestros suelos es un recurso precioso y escasamente estudiado, estamos generando y caracterizando una colección de rizobios asociados simbióticamente con leguminosas nativas de nuestro país. En este trabajo nos enfocamos en los simbiontes naturalmente asociados a Mimosas presentes en el departamento de Lavalleja. La estructura de los nódulos colectados fue analizada mediante microscopía óptica e inmunohistoquímica. La superficie de los nódulos fue esterilizada para el aislamiento de las bacterias presentes en su interior. Para los análisis filogenéticos, se amplificaron y secuenciaron los genes rrna, que codifica para la subunidad 16S ribosomal (16S), nifH, que codifica para una de las subunidades estructurales de la nitrogenasa y nodA implicado en la síntesis de factores de nodulación. Los resultados mostraron la existencia de bacteroides maduros en el interior de los nódulos. Aunque los bacteroides no fueron reconocidos por los anticuerpos contra beta-rizobios disponibles, la secuencia del 16S indica que las bacterias recuperadas pertenecen al género Cupriavidus. Los análisis filogenéticos sugieren que los genes de nodulación fueron adquiridos ancestralmente, diferenciándose claramente de los presente en alfa-rizobios. Aunque la existencia de beta-rizobios ha sido descrita hace algunos años, la mayoría de los estudios se han centrado en unas pocas especies, principalmente pertenecientes al género Burkholderia. Contrariamente a lo observado en otras zonas del planeta, la preferencia de las Mimosas de nuestro país por Cupriavidus merece ser caracterizada en profundidad.

S2_107 Motilidad de Espiroquetas: estudios estructurales del flagelo de Leptospira

*San Martin, Fabiana[1 *]; Trajtenberg, Felipe[1]; Mechaly, Ariel[1]; Morero, Natalia[1]; Buschiazzo, Alejandro[1]*

[*1] Unidad de Cristalografía de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo

La Leptospirosis es una de las zoonosis más extendidas en el mundo, con más de 1.700.000 casos en humanos por año (tasas de mortalidad del 10%, o más en variantes con síndrome pulmonar hemorrágico - estimaciones de OMS, 2012). La enfermedad es causada por *Leptospira*, bacterias espiroquetas alargadas y con forma celular espiralada. A diferencia de la mayoría de las bacterias conocidas, presenta dos flagelos periplasmáticos dispuestos uno en cada polo. La rotación coordinada de los mismos determina el movimiento translacional, siendo esencial para la virulencia de las especies patógenas. La composición proteica flagelar es más compleja que flagelos mejor conocidos como de *E. coli* y *Salmonella spp.* Además de un núcleo de proteínas (FlaB) homólogas a la flagelina, en *Leptospira* hay proteínas adicionales, algunas ya bien conocidas formando una vaina (FlaA), y otras recientemente descubiertas por nuestro y otros laboratorios. En esta presentación avanzamos en la caracterización de dos de estos componentes adicionales: Fcp1 (*Flagellar-coiling protein 1*)y Fcp2. Esenciales para el movimiento translacional, Fcp1 y Fcp2 estan involucradas en el super-enrollamiento espontáneo del filamento flagelar. Hemos encontrado que Fcp1 tiene la habilidad de polimerizar reversiblemente, autoensamblaje que estamos caracterizando. La similtud de fenotipos de mutantes en *fcp1* y *fcp2* sugieren una potencial interacción directa. Recientemente hemos obtenido las estructuras cristalinas de Fcp1 de L.*biflexa* y de Fcp2 de L.*interrogans*, trabajo que estamos extendiendo a las proteínas ortólogas faltantes, para luego avanzar hacia su fiteo en reconstrucciones 3D de filamentos flagelares intactos por crioelectromicroscopía (Charles Sindelar, Yale University).

S2_108 Un nuevo genotipo de Borrelia burgdorferi sensu lato infectando garrapatas Ixodes auritulus colectadas en aves en Uruguay

*Maya, Leticia[1 *]; Carvalho, Luis[2]; Barbieri, Amalia[3]; Colina, Rodney[1]; Venzal, Jose Manuel[2]*

[*1] Laboratorio de Virología, Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Vectores y Enfermedades transmitidas, Centro Universitario Regional Noroeste, Universidad de la República; [3] Faculdade de Medicina Veterinhária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

La enfermedad de Lyme es considerada a nivel mundial como una de las principales afecciones transmitidas por garrapatas a humanos. Es una zoonosis con afección multisistémica causada por la bacteria Borrelia burgdorferi sensu lato, de la que se reconocen más de 20 especies o genoespecies. Son transmitidas por garrapatas del género Ixodes, de las que en Uruguay, existen cuatro especies: I. auritulus, I. longiscutatus, I. loricatus e I. aragaoi (anteriormente citada como I. parariciinus). Desde 1996 se han descrito casos clínicos en humanos en Uruguay pero sin caracterización molecular ni aislamiento del patógeno. En este trabajo se determinó la presencia de B. burgdorferi s.l. en I. auritulus colectadas sobre aves en dos localidades de Lavalleja y Rocha. Para ello se realizaron cuatro colectas, una para cada estación del año en las que se atraparon 207 aves, de las que 41 (19,8%) resultaron positivas para I. auritulus. Se encontraron I. auritulus en aves en todas las estaciones, presentando otoño e inverno mayores porcentajes de infestación. Para detectar ADN de B. burgdorferi s.l. se analizaron grupos de garrapatas procedentes de aves parasitadas con ninfas y adultos (hembras) de I. auritulus. De los 30 grupos analizados (aves positivas), 10 resultaron positivos a la amplificación de una región del gen fla B y la región espaciadora intergénica rrfA-rrlB. Las secuencias obtenidas son próximas filogenéticamente a las de un genotipo hallado en I. auritulus de Canadá. Este trabajo describe por primera vez en nuestro país la presencia de B. burgdorferi s.l. en I. auritulus.

S2_109 Identificación de metabolitos involucrados en la interacción alfalfa-*Sinorhizobium meliloti-Delftia* sp. JD2: su uso durante el establecimiento de la simbiosis

*Cagide, Célica[1 *]; Castro-Sowinski, Susana[2]; Morel, María[1]*

[* 1] Unidad de Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Delftia sp. JD2 es una ß -proteobacteria capaz de promover el crecimiento vegetal de leguminosas en condiciones de co-inoculación con el rizobio correspondiente. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la co-inoculación de alfalfa con *Sinorhizobium meliloti* U143 y JD2 sobre: 1) el patrón de metabolitos secundarios secretados (en condiciones de hidroponia), probablemente involucrados en la comunicación microorganismo - planta; y 2) el crecimiento vegetal, en condiciones de invernáculo. Para ello se colectaron los exudados radiculares a los 4, 7 y 14 días posteriores a la inoculación de las plantas y se caracterizaron químicamente por técnicas cromatográficas. Se evaluó además, el efecto del agregado de los exudados obtenidos a los 4 días de la co-inoculación sobre el crecimiento de las plantas en invernáculo. Los resultados obtenidos en invernáculo reflejaron un incremento significativo en la biomasa aérea y radicular de las plantas de alfalfa en condiciones de co-inoculación. La caracterización de los exudados mostró cambios cualitativos y cuantitativos en la composición química entre tratamientos. Se destaca el exudado de flavonoides (luteolina), fitohormonas (ácido indolacético), ácidos orgánicos (triptófano, etc) y compuestos volátiles (limoneno). Finalmente, el agregado de exudados radiculares al sustrato de crecimiento en invernáculo incrementó en forma significativa el crecimiento vegetal de alfalfa. En conjunto, los resultados obtenidos sugieren que el aumento en el rendimiento vegetal puede explicarse por la presencia de metabolitos secundarios bioactivos claves para una interacción productiva. Se presentará también un posible modelo de interacción entre alfalfa-JD2-U143. Agradecimientos: ANII (becas y FMV), Pedeciba

S2_110 Descripción de un nuevo bacteriofago en Salmonella Enteritidis, presente en cepas con disminuída capacidad epidémica.

*D`Alessandro, Bruno[1 *]; Iriarte, Andrés[1]; Pérez, Victoria[1]; Chabalgoity, Jose A.[1]; Yim, Lucía[1]; Betancor, Laura[2]*

[* 1] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Bacteriología y Virología - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Salmonella enterica serovar Enteritidis es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay desde 1995, cuando se reporta el primer brote epidémico por este serotipo en nuestro país. En el marco de un estudio de genómica comparativa entre cepas nacionales que circulaban antes de la epidemia respecto a cepas epidémicas, encontramos que ambos grupos se diferencian principalmente en el contenido bacteriofagos, además de numerosos polimorfismos a nivel nucleotídico. En este trabajo, reportamos la presencia de un bacteriofago de 44,8 kpb que no ha sido descrito previamente en otras cepas de *Salmonella* y que se encontró exclusivamente en las cepas que circulaban antes de la epidemia de nuestro país. El genoma de este bacteriofago parece ser un mosaico compuesto por fragmentos de profagos presentes en distintas cepas de *S.* Typhimurium. De acuerdo a su contenido genético, este bacteriofago podría considerarse dentro de los fagos tipo lambda. Además este bacteriofago contiene el gen *gogB*, que codifica para una proteína efectora que se secreta al citosol de la célula del hospedero durante la infección de *Salmonella* en células epiteliales. En *S.* Typhimurium, a la proteína GogB se le adjudica un rol anti-inflamatorio, que limita el daño tisular durante la colonización intestinal, por lo que actúa atenuando la capacidad invasiva de la bacteria. En este trabajo presentamos la caracterización de este nuevo bacteriofago, discutiendo la posible implicancia de su portación en la reducida capacidad epidémica de algunas cepas de *S.* Enteritidis.

S2_111 Análisis proteómico comparativo de aislamientos de *Salmonella* no tifoidea: en busca de los determinantes de la invasividad

*Martínez, Adriana[1 *]; Sasías, Sebastián[1]; Betancor, Laura[2]; Rivera, Bernardina[3]; Batthyány, Carlos[3]; Chabalgoity, Alejandro[1]; Yim, Lucia[1]*

[* 1] Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Desarrollo Biotecnológico - Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [3] Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo

Las infecciones por *Salmonella* no tifoidea son causa principal de enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay y a nivel mundial. Los serovares Enteritidis y Dublin de *Salmonella enterica* están estrechamente relacionados genéticamente, sin embargo difieren significativamente en su potencial patogénico. *S.* Enteritidis es un serovar ubicuo, que en humanos causa típicamente gastroenteritis y rara vez genera enfermedad invasiva, mientras que *S.* Dublin está adaptado a ganado bovino pero en los raros casos que afecta a humanos resulta generalmente en una enfermedad invasiva con elevada morbi-mortalidad. El objetivo general de este trabajo es contribuir al conocimiento de los factores bacterianos responsables de esos comportamientos patogénicos diferenciales. Para esto, nos planteamos realizar un análisis de proteómica comparativa entre aislamientos de *Salmonella enterica* de ambos serotipos crecidos en las condiciones fisiológicas encontradas en el intestino de mamíferos, para identificar proteínas diferencialmente representadas. Con este fin pusimos a punto una técnica de separación inmunomagnética de *Salmonella*, a partir de mezclas bacterianas complejas y el análisis de extractos proteicos bacterianos mediante electroforesis bidimensional de proteínas. Se discutirán resultados del análisis proteómico comparativo entre 4 cepas seleccionadas, dos de cada serotipo. Por otro lado, resultados previos habían revelado la expresión diferencial de *artI* (un gen involucrado en el transporte de arginina), entre cepas de ambos serotipos. En este trabajo, estudiamos el rol de este gen en la invasividad de *Salmonella* mediante la construcción de mutantes nulos y su evaluación en el modelo murino de salmonelosis. Financiación: CSIC

S2_112 Determinación de la función de la bacterioferritina de *Sinorhizobium/Ensifer meliloti*

*Costa, Daniela[1 *]; Amarelle, Vanesa[1]; Cardeillac, Arianne[1]; Fabiano, Elena[1]*

[* 1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El objetivo del trabajo es determinar la función y expresión de la bacterioferritina en *S. meliloti*. El hierro es esencial en múltiples reacciones bioquímicas incluyendo la fijación biológica del nitrógeno. Si bien debe estar presente en el interior celular, cuando se acumula en su forma libre produce efectos tóxicos relacionados a la generación de ROS. Se ha propuesto que las ferritinas cumplen el papel de secuestrar hierro intracelular y evitar el estrés oxidativo causado por un exceso de hierro, aunque también podrían actuar como fuente intracelular del metal. Estudios in silico demostraron la presencia de solo gen en el genoma de S. meliloti con homología a la familia de proteínas tipo ferritina, que corresponde a la bacterioferritina. Para determinar las condiciones en las que se expresa dicho gen y para conocer la función de su producto (Bfr), se construyó una mutación mediante la inserción del cassette reportero lacZGmR en bfr. La expresión de *bfr* fue evaluada indirectamente mediante ensayos de actividad betagalactosidasa, observándose en las condiciones ensayadas, mayor actividad en presencia de hierro. Debido a que no conocemos la ubicación de la región promotora de bfr y para evaluar su expresión, se realizaron fusiones génicas de diferentes regiones candidatas al gen reportero GFP en pOT1. Estas construcciones fueron introducidas en diferentes cepas S. meliloti para la determinación de la expresión de GFP en los distintos contextos. En cuanto al fenotipo, se demostró una deficiencia en el crecimiento de la mutante con respecto a la salvaje en medios carentes de hierro.

Microscopía e Imagenología - Sesión 2

S2_113 Localización y ultraestructura de la cilia primaria durante la diferenciación de las células ganglionares de la retina en el pez cebra

Davison, Camila[1 *]; *Lepanto, Paola*[2]; *Casanova, Gabriela*[3]; *Badano, José L.*[2]; *Zolessi, Flavio R.*[1]

[*1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Institut Pasteur de Montevideo; [2] Institut Pasteur de Montevideo; [3] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Durante el desarrollo del sistema nervioso, las neuronas se diferencian a partir de progenitores que presentan una polaridad de tipo epitelial (células neuroepiteliales), con una cilia primaria en la superficie apical. Este organelo está involucrado en la recepción y transducción de diferentes vías de señalización. En el presente trabajo nos propusimos analizar, en el pez cebra, la presencia y estructura de la cilia primaria durante la diferenciación de las células ganglionares de la retina (CGRs). Este proceso incluye el movimiento del núcleo hacia la región basal del neuroepitelio, la retracción del proceso apical, la extensión del axón y la formación del árbol dendrítico. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que las cilias de las células neuroepiteliales son relativamente largas y en muchos casos se encuentran inmersas en un bolsillo ciliar. En los neuroblastos, las cilias están presentes desde etapas tempranas de la diferenciación, localizándose en el extremo del proceso apical durante la retracción. Tanto la longitud de estas cilias como la presencia de un bolsillo ciliar son variables. Las cilias son retenidas en las CGRs incluso luego de que la retracción cesa, pero no todas las CGRs en etapas más avanzadas de la diferenciación presentan cilias completas. Estas observaciones concuerdan con estudios previos que muestran que algunas características de la polaridad ápico-basal se mantienen intactas durante las etapas tempranas de la diferenciación de las CGRs en el pez cebra, y abren preguntas respecto a cuáles pueden ser las funciones de la cilia durante la diferenciación neuronal.

S2_114 Cambios subcelulares asociados a la progresión tumoral en pacientes con leucemia linfoide crónica: Resultados preliminares

Sicco, Estefanía[1 *]; *Prieto, Daniel*[2]; *Casanova, Gabriela*[1]

[*1] Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de investigación en Leucemia Linfoide Crónica, Institut Pasteur de Montevideo

La leucemia linfoide crónica (LLC) es la leucemia más frecuente en adultos. Se caracteriza por un aumento paulatino en el número de células B en sangre periférica, que evadieron la apoptosis y se detuvieron en la fase G0/G1 del ciclo celular. Esto resulta de un complejo equilibrio entre la activación de la proliferación celular y la inhibición de la apoptosis. Frecuentemente el cáncer comienza con la transformación de una o más células que se diseminan por el torrente sanguíneo, pudiéndose acumular en órganos linfoides, generar una lesión, y convertirse en un tumor. Dicho proceso es multifásico y ocurre principalmente a nivel subcelular. Basados en este hecho, hemos comenzado el análisis de las alteraciones subcelulares presentes en células tumorales de pacientes con LLC, empleando microscopía electrónica de transmisión. Dichas alteraciones incluyen una superficie celular irregular, a menudo con múltiples expansiones de membrana, similares a filopodios. Citoplasma con numerosas vesículas de distinto tamaño que pueden contener gránulos electrón-densos; mitocondrias con tamaño y distribución variable; cisternas perinuclear y del REr dilatadas; aparato de Golgi discreto y ocasionalmente presencia de centríolos. El núcleo puede presentar al corte un perfil lobulado, en herradura ó circular, con uno o más nucléolos. En aquellos núcleos de perfil circular, la heterocromatina puede adoptar una disposición anular, asociada a la envoltura nuclear interna. Los cambios ultraestructurales de estas células denotan modificaciones funcionales. La identificación sistemática de una o más alteraciones celulares características de la LLC, permitiría proponer su empleo como elemento pronóstico temprano de la progresión tumoral.

S2_115 Estructura fina del espermatozoide de peces del género *Austrolebias*: caracterización y empleo en estudios taxonómicos y de filogenia.

Rodao, Magela[1 *]; *Casanova, Gabriela* [1]

[*1] Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En los estudios taxonómicos y de filogenia de peces, el análisis de las características ultraestructurales del espermatozoide ha resultado una herramienta muy útil. En las especies de fecundación externa, el gameto masculino presenta adaptaciones morfológicas notables que le permiten sortear los obstáculos del ambiente y aumentar la eficiencia en la fecundación. Este tipo espermático llamado "acuaesperma", presenta una organización simple con adaptaciones que involucran modificaciones en el tamaño, forma y ultraestructura de este gameto. En el presente estudio, analizamos la organización subcelular del espermatozoide maduro de 7 especies de peces anuales del género *Austrolebias*, empleando microscopía electrónica. El espermatozoide es de tipo primitivo con algunas características comunes a todas las especies estudiadas. Posee tres regiones claramente identificables: cabeza esférica pequeña de aproximadamente 2.5-3.5um de diámetro, carente de acrosoma, ocupada casi completamente por el núcleo, dónde la cromatina se encuentra fuertemente compactada salvo en escasas regiones electronlúcidas. Pieza media corta que conecta la región basal del núcleo al flagelo, constituida por 5 a 7 mitocondrias que rodean el axonema. Poseen un solo flagelo de aproximadamente 35um de longitud y cuya membrana plasmática forma proyecciones laterales delgadas que pueden alcanzar 10um de ancho. El número y ancho de las expansiones varía según la especie e incluso entre distintos espermatozoides de un mismo individuo. La identificación de caracteres distintivos estables, en la organización del gameto de las diferentes especies de *Austrolebias*, puede contribuir a discriminar entre ejemplares dónde el análisis fenotípico no basta al momento de determinar la especie a la que pertenecen.

S2_116 Estudio de dendrímero PAMAM G4.5-Piperacinil-FITC como potencial agente de imagen tumoral

Oddone, Natalia[1 *]; *Lecot, Nicole*[2]; *Benech, Juan*[1]; *Cabral, Pablo* [2]; *Cerecetto, Hugo*[2]

[*1] Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable; [2] Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Introducción: Los dendrímeros son nano-estructuras poliméricas esféricas. Particularmente los de poliamidoamina (PAMAM) G4.5 poseen grupos ácido carboxílico de superficie, así como una cavidad interna que permite la encapsulación de fármacos y otras moléculas. Estas estructuras se transportan de forma pasiva a los tejidos tumorales por el Efecto de Permeabilidad y Retención, acumulándose en altas proporciones en tumores. Objetivo: 1) Desarrollar un nanosistema fluorescente derivado de dendrímeros PAMAM G4.5, empleando fluoresceína isotiocianato (FITC); 2) Evaluar química y biológicamente el dendrímero desarrollado como agente de imagen tumoral. Materiales y Métodos: Los dendrímeros PAMAM G4.5 se activaron con EDC por 30 minutos. Al cabo de este tiempo se agregó un derivado de piperacina-N-monoprotegido y se mantuvo 3 horas a temperatura ambiente. Finalmente se realizó la desprotección y la unión a FITC. El producto de reacción se purificó con columna PD-10. Las fracciones colectadas, controladas cromatográficamente, fueron lavadas y filtradas con centrifugada (Microcon) para eliminar el exceso de FITC no unido covalentemente a la nano-estructura. Posteriormente se liofilizó y los resultados de la reacción se analizaron por 1HNMR. Resultados y Conclusión: Se obtuvo un sistema dendrímero PAMAM G4.5-piperacinil-FITC con propiedades adecuadas para ser empleado como potencial agente de imagen tumoral in vitro e in vivo, empleando células de tumor mamario murino 4T1 y ratones BALB/c con tumor mamario, respectivamente.

Organismos Modelo - Sesión 2

S2_117 Ajustes, extinción y vestigios de la incorporación de selenocisteína en el linaje nematodo

*Otero, Lucía [1 *]; Romanelli, Laura[1]; Turanov, Anton A[2]; Gladyshev, Vadim N[2]; Miranda-Vizuete, Antonio[3]; Salinas, Gustavo [1]*

[* 1] Institut Pasteur de Montevideo; [2] Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School; [3] Instituto de Biomedicina de Sevilla

La selenocisteína (Sec) es codificada por un codon UGA junto con un elemento SECIS presente en el ARNm de la selenoproteína. La proteína de unión al elemento SECIS (SBP2) media la incorporación de Sec, sin embargo los roles que cumplen sus dominios y el impacto de su deficiencia no se conocen completamente. Para estudiar estos aspectos utilizamos *Caenorhabditis elegans* como modelo, que posee una única selenoproteína: la tiorredoxina reductasa (TRXR-1). Las SBP2 descritas hasta el momento tienen un dominio de unión al ARN (RBD) y uno de incorporacion de Sec (SID). Mediante análisis *in silico* identificamos la SBP2 de *C. elegans* y encontramos que carece de SID y que consiste en un RBD únicamente. Generamos un mutante en *sbp2* que resultó incapaz de incorporar Sec, demostrando que este gen es esencial para la incorporación de Sec. El análisis de genomas de otros nematodos reveló que la ausencia de SID es característica del linaje y que el mantenimiento de la incorporación de Sec se encuentra ligada a la TRXR-1. Encontramos tambien que los nematodos parasitos de plantas han perdido la capacidad de incorporar Sec (al igual que sus hospederos). Nuestros resultados indican que *C. elegans* y el linaje nematodo proveen indicios clave para comprender el mecanismo de incorporación de Sec, la evolución de la utilización de Sec, así como de los selenoproteomas y las selenoproteínas. Finalmente encontramos evidencia de inicio no canónico de la traducción en *C. elegans*, mecanismo que no había sido previamente descrito en este organismo modelo.

S2_118 Estudio de la función de la Selenoproteína T mediante el uso del modelo *Caenorhabditis elegans*

*Romanelli, Laura[1 *]; Otero, Lucía[1]; Alkema, Mark[2]; Salinas, Gustavo[1]*

[* 1] Institut Pasteur de Montevideo - Universidad de la República; [2] University of Massachusetts Medical School

Las selenoproteínas son un conjunto de proteínas que contienen selenocisteína. En las selenoproteínas de función conocida el residuo de selenocisteína es parte del sitio activo, debido a lo cual el selenio es un oligoelemento esencial para muchos organismos. Sin embargo la función precisa de muchas selenoproteínas se desconoce. En la presente propuesta, se plantea una aproximación a la función de SelT, una proteína con presunto rol óxidorreductasa, utilizando el nematodo *Caenorhabditis elegans*, que posee dos genes que codifican para SelT, *selt-1* y *selt-2*. Con el objetivo de conocer la localización celular y subcelular de dicha proteína, se generaron los organismos transgénicos con construcciones de *selt-1* y *selt-2* fusionados a GFP. En el caso de SELT-1 se observó localización perinuclear en células musculares, epiteliales y algunas neuronas; en tanto SELT-2 se localizó en una única neurona. La presunta localización de Retículo Endoplasmático (RE) de SELT-1, promovió la realización de experimentos de ARN interferencia del tiorredoxoma de RE en el organismo mutante *selt-1/selt-2*, no observándose diferencias con la estirpe silvestre. Los experimentos de estrés de RE con tunicamicina, que dispara la respuesta a proteínas mal plegadas del RE, tampoco arrojaron diferencias entre el organismo mutante y la estirpe silvestre. Por último, debido a la presunta actividad óxidorreductasa de SELT, planteamos exponer al mutante a condiciones de estrés redox; utilizamos H_2O_2 y DTT, reactivos oxidante y reductor respectivamente.

S2_119 Desarrollo y caracterización de una línea de ratas Sprague Dawley a partir de una mutación espontánea que afecta la mielinización

*Santos, Mariela[1 *]; Martínez-Palma, Laura[2]; Benavides, Fernando[3]; Moure, Tatiana[2]; Casal, Valentina[2]; Ures, Ximena[4]; Rocha, Sergio[1]; Breijo, Martín[1]*

[* 1] Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina; [2] Depto de Histología y Embriología, Facultad de Medicina; [3] Universidad de Texas; [4] Laboratorio de Experimentación Animal, Facultad de Química

En este trabajo se presenta una línea mutante de ratas con sintomatología neurológica caracterizada fundamentalmente por temblor en el tren posterior (SDt) cuya base genética es de ratas Sprague Dawley (SD). Fue desarrollada a partir de la identificación de tres animales que presentaron síntomas al destete. Ante el diagnóstico presuntivo de enfermedad congénita, se realizaron cruzamientos de machosSDt*hembrasSD y machosSD*hembrasSDt (F0). La sintomatología no se manifestó en la F1, pero sí en 10 a 25 % de la F2 (intercruza F1*F1). Estos resultados confirmaron la presencia de una mutación autosómica recesiva. Los cruzamientos SDt*SDt generaron una descendencia 100% SDt.El temblor se manifiesta en la tercera semana de vida y disminuye gradualmente luego de la semana 16. A las 5 y 20 semanas, la médula espinal SDt presentó severa hipomielinización en el análisis histológico, y reducción y alteraciones de la compactación de las vainas de mielina en la microscopía electrónica. No encontramos diferencias entre los nervios ciáticos en ratas SDt y SD en cortes semifinos, por lo que estaría afectado solamente el Sistema Nervioso Central. Para indagar las alteraciones subyacentes en el modelo, se enviaron muestras de tejido al Instituto Hubrecht (Holanda) para secuenciación de su exoma. Se encontraron 361 variantes entre las SD y SDt en estado homocigota, las cuales están siendo estudiadas. En suma, contamos con una línea de ratas en proceso de caracterización, con gran potencial para el estudio de mecanismos y ensayos terapéuticos en las leucodistrofias y otras enfermedades que cursan con alteraciones de la mielina.

Terapia Génica y Celular - Sesión 2

S2_120 Caracterización de Células Estromales Mesenquimales Humanas de Médula Ósea

Preza, Matías[1 *]; *Echarte, Lourdes*[1]; *Boada, Matilde*[1]; *Touriño, Cristina*[1]

[*1] Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las Células Estromales Mesenquimales (MSC) son una población heterogénea de células multipotentes que se encuentran en gran parte del organismo. La fuente más utilizada para su obtención es la Médula Ósea (MO). Las MSC mantienen el microambiente donde se da la diferenciación hematopoyética, la cual puede ser alterada por un conjunto de patologías denominadas síndrome mielodisplásico (SMD). Algunas MSC cumplen con las propiedades de las células madre. La falta de un marcador específico para las MSC hizo que la Internacional Society for Cell Therapy (ISCT) propusiera una serie de criterios para su identificación, lo cual es de importancia para su estudio y aplicación en ensayos clínicos y tratamientos estandarizados. En este trabajo se realizaron ensayos para la caracterización de MSC. Se cultivaron células adherentes al plástico provenientes de MO normal y de pacientes con SMD. Se realizaron ensayos de diferenciación in vitro a condrocitos, adipocitos y osteocitos, y se realizó el estudio inmunofenotípico por citometría de flujo. Se realizó la puesta a punto del ensayo formación de colonias de fibroblastos (CFU-F), que muestra la presencia de células con capacidad proliferativa en la población celular. Las células mostraron el patrón de expresión inmunofenótico característico de las MSC. Los ensayos CFU-F evidenciaron la potencialidad de las células de formar colonias individuales con muestras de diferentes fuentes. Se logró demostrar que las células cultivadas tienen la potencialidad para diferenciarse en adipocitos y osteocitos. En conclusión, se demostró que las células cultivadas cumplen con la mayor parte de los criterios de la ISCT.

S2_121 Obtención de partículas similares a Norovirus mediante la construcción de un Baculovirus recombinante como sistema de expresión.

Porley, Darío[1 *]; *Berois, Mabel*[1]; *Blanc, Andrea*[1]

[*1] Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los Norovirus, pertenecientes a la familia Caliciviridae, son un importante agente etiológico de brotes de gastroenteritis contagiosa y pueden llegar a ser responsables del 90% de este tipo de afecciones no bacterianas. Cuando se expresa su proteína principal de cápside VP1 en sistemas de expresión heterólogos, se ha observado que forman pseudo-partículas virales (VLPs) con las mismas propiedades que los viriones nativos. Estas son de gran importancia en el estudio de Norovirus porque no se dispone de un modelo animal o celular apropiado para su crecimiento y tienen gran potencial para su uso en vacunas y kits de detección. En este trabajo se propuso construir Baculovirus recombinantes (rBV) que expresaran la proteína VP1 de cepas de Norovirus autóctonas del Uruguay. Se diseñaron cebadores específicos y se amplificó y clonó el gen codificante para VP1 de dos cepas distintas. Se utilizó el sistema Bac-to-Bac de Invitrogen infectando células Sf9 obteniendo y amplificando con éxito un stock inicial de los distintos rBV. Mediante un gel de poliacrilamida se logró detectar la expresión de VP1 para los rBV de ambas cepas. Por análisis de microscopía electrónica se constató que las VP1 de ambas cepas fueron capaces de auto-ensamblarse en VLPs. Estas presentaron una conformación de cáliz, típica de los Calicivirus. Se concluyó que se logro producir rBV que expresaran VP1 de Norovirus y que dichas proteínas fueron capaces de auto-ensamblarse, siendo éstas, las primeras VLPs de este virus producidas en el país y más aún las primeras generadas a partir de cepas autóctonas.

S2_122 Análisis comparativo de vectores lentivirales y nanovectores modulares recombinantes para estrategias de terapia génica del trauma cerebral

Negro, María Luciana[1 *]; *Saccardo, Paolo*[2]; *Giacomini, Cecilia*[3]; *Yáñez-Muñoz, Rafael J.*[4]; *Ferrer-Miralles, Neus*[2]; *Vázquez, Esther*[2]; *Villaverde, Antonio*[2]; *Peluffo, Hugo*[1]

[*1] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo- Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Institut de Biotecnologia i de Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona; [3] Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República; [4] Royal Holloway University of London

El trauma cerebral constituye una de las causas principales de mortalidad y morbilidad, presentando mayor incidencia aún en países en desarrollo. Sin embargo no existen tratamientos efectivos. Las estrategias de terapia génica han emergido como interesantes opciones para el tratamiento de diversas afecciones del sistema nervioso. Cada patología concreta necesitará un tipo de vector específico, sin embrago se han realizado escasos estudios comparativos. En el presente trabajo comparamos en un modelo de Impacto Cortical Controlado en idénticas condiciones diversas variables de dos de los vectores más prometedores: vectores lentivirales y nanovectores modulares recombinantes,. Mostramos como variables como la relación proteína/DNA, volumen de incubación, o la presencia de cloroquina o suero en el medio de transfección poseen un impacto en la formación de los nanocomplejos así como en su eficiencia de transfección in vitro. Así mismo, mientras que los vectores lentivirales mostraron presencia de la proteína fluorescente verde (GFP) 1 día post trauma, y un importante incremento a los 14 dias, los nanovectores mostraron niveles de GFP menores y estables tanto a 1 día como a 14 días. A nivel funcional, no se observó toxicidad de los vectores per se luego del trauma, medido por el test de la cinta adhesiva, de hecho ambos vectores indujeron una mejora funcional. Tampoco se observó un aumento en la inflamación post trauma medida por niveles de IL-1ß. Dado que ambos vectores emergen como prometedores para el trauma cerebral, futuros estudios serán necesarios para determinar su eficacia asociada a la expresión de un transgen neuroprotector.

Bioquímica - Sesión 3

S3_001 Modelado y análisis mutacional de UreA, el transportador de urea de *Aspergillus nidulans.*

Sanguinetti, Manuel[1 *]; *Amillis, Sotiris*[2]; *Pantano, Sergio*[3]; *Scazzocchio, Claudio*[4]; *Ramón, Ana*[1]

[* 1] Sección Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Facultad de Biología, Departamento de Botánica, Universidad de Atenas; [3] Grupo de Simulaciones Biomoleculares, Institut Pasteur de Montevideo; [4] Sección Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Institut de Génétique et Microbiologie, Université Paris-Sud, Orsay - Department of Microbiology, Imperial College

La urea juega varios roles en la biología de diversos organismos. En hongos y plantas puede ser utilizada como fuente de nitrógeno, siendo transportada activamente a través de la membrana por un tipo de simportadores de alta afinidad. Éstos constituyen una sub-familia dentro de la Superfamilia de Simportadores de Sodio. Nuestro grupo ha caracterizado el representante de esta sub-familia en el hongo ascomicete *Aspergillus nidulans*, el simportador de urea-H^+, UreA. Recientemente hemos abordado el estudio de la relación estructura/función de UreA, siendo el primer estudio realizado sobre un transportador de este tipo. Para ello, desarrollamos un sistema en el cual se combinó una estrategia mixta de mutagénesis (al azar y dirigida) con el modelado en tres dimensiones de UreA. La funcionalidad de los mutantes generados fue analizada por su capacidad de crecimiento en urea y sensibilidad a la 2-tiourea, análogo tóxico de la urea, también transportada por UreA. Asimismo, mediante ensayos de cinética de transporte con ^{14}C-urea se pudo determinar el efecto de las mutaciones generadas en la afinidad por la urea. Finalmente, tomando ventaja de que las mutaciones fueron introducidas en una versión de UreA fusionada a la GFP, se realizó un seguimiento subcelular para analizar el efecto de las mutaciones generadas en la localización subcelular de UreA. Los diferentes abordajes utilizados permitieron identificar una serie de residuos importantes a nivel funcional y estructural así como el probable sitio de unión y translocación del sustrato.

S3_003 Reacción de ácido nitrolinoleico conjugado con tioles

Lebrato, Lourdes[1 *]; *Turell, Lucía*[1]; *Álvarez, Beatriz*[1]

[* 1] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los ácidos grasos nitrados son ácidos grasos con un grupo nitro (NO_2) unido a un carbono insaturado. Pueden formarse endógenamente o sintetizarse en el laboratorio. Al ser electrófilos pueden reaccionar reversiblemente con tioles formando aductos de Michael. En este trabajo se estudió la reacción de ácido nitrolinoleico conjugado (NO_2CLA) con tioles biológicos de bajo peso molecular. Se utilizó una mezcla de los ácidos 9- y 12-nitro-octadeca-(9,11)-dienoico, que poseen dos dobles enlaces conjugados. Se estudió la cinética de las reacciones en condiciones de pseudo primer orden con exceso de tiol. La concentración de NO_2CLA, seguida por absorbancia a 330 nm (máximo obtenido de un espectro cinético realizado previamente) disminuyó en forma exponencial con el tiempo. Las constantes exponenciales (kobs) aumentaron linealmente con la concentración de tiol. Los valores de las constantes de reacción directa (kon) fueron 2.63 ± 0.08, 3.17 ± 0.05, 11.9 ± 0.5 y 0.39 ± 0.16 M^{-1} s^{-1} para la cisteína, glutatión, cistenilglicina y homocisteína respectivamente, a pH 7.4 y 25 °C. Los valores de constante de reacción reversa (koff) dieron en el orden de 10^{-4} s^{-1} . La comprensión de los mecanismos de interacción del NO_2CLA con tioles presentes en el plasma contribuirá a entender posibles formas de transporte y almacenamiento, con miras a las aplicaciones farmacológicas.

S3_005 Clonado de las fosfatasas en tirosina de Listeria Monocytogenes

Irving, Vivian[1 *]; *Nieves, Bibiana*[1]; *Maidana, Matias*[1]; *Villarino, Andrea*[1]

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Listeria monocytogenes es una bacteria patógena responsable de la Listeriosis. L. monocytogenes puede sobrevivir a muchas de las condiciones usadas en la preservación de los alimentos y por lo tanto contaminarlos y convertirse en un riesgo potencial para la salud humana. Es poco frecuente en humanos, pero extremadamente grave en grupos sensibles como niños, ancianos, embarazadas e inmuno-deprimidos, causando una mortalidad de un 70 %. El primer objetivo de este proyecto fue clonar las tres fosfatasas en tirosina de *L. monocytogenes* codificadas por los genes lmo0938, lmo 1935, lmo 2540 ya que estas fosfatasas se piensan son factores de virulencia importantes en la definición de la enfermedad. El segundo objetivo fue optimizar las condiciones de producción de dichas fosfatasas en forma recombinante, expresándolas en *Escherichia coli* para obtenerla en cantidades adecuadas para su posterior purificación y caracterización bioquímica. Hasta el momento hemos logrado clonar la fosfatasa codificada por el gen lmo0938 utilizando la metodología de "RF-cloning", la cual expresamos en *E.coli* y confirmamos su actividad fosfatasa utilizando un sustrato artificial de fosfatasas, el p-nitrofenil fosfato (pNPP). Nos encontramos optimizando su purificación, determinando el grado de oligomerización y determinando sus parámetros cinéticos (km y Vmax). Esta información será comparada con la obtenida para sus homólogos presentes en otros patógenos intracelulares, como el virus ORF y *M. tuberculosis*.

S3_007 PUESTA A PUNTO DE TÉCNICAS PARA LA DETECCIÓN DE ÁCIDO SULFÉNICO EN ALBÚMINA DEL PLASMA

Steglich, Martina[1 *]; *Turell, Lucía*[1]; *Alvarez, Beatriz*[1]

[* 1] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La formación de ácido sulfénico (RSOH) en cisteínas está vinculada a procesos de señalización y catálisis. En la albúmina (HSA) se ha constatado su formación in vitro mediante la utilización de dimedona, que reaccionan con HSA-SOH formando un tioéter estable. En este trabajo se comenzó la puesta a punto de técnicas para detectar la formación de HSA-SOH a nivel del plasma. El método elegido se basa en la utilización de un análogo de dimedona biotinilado, disponibles comercialmente, seguido de detección mediante fluorescencia con el FluoReporter Kit (Invitrogen). El control positivo, HSA bloqueada con N-etilmaleimida-biotina, mostró 0.29 biotinas por HSA, o 0.46 biotinas por cada biotina esperada según los tioles consumidos. Los valores aumentaron a 0.99 y 1.5 respectivamente, en presencia de proteasa. Estos resultados muestran el correcto funcionamiento del sistema de detección. El control negativo consistente en HSA reducida no presentó señal. Se evaluaron muestras expuestas o no a H_2O_2 (4 mM,4 min, 37 °C, pH 7.4) incubadas con dimedona-biotina (10 mM) registrándose en ambos casos ~0.04 biotinas por HSA, y para muestras tratadas además con proteasa, ~0.05. Resultados similares se obtuvieron luego de tratamiento con SDS (1 %), descartándose unión no covalente. Cuando se utilizó tres veces más dimedona-biotina se observó un pequeño aumento en la biotinilación, nuevamente con resultados similares para HSA tratada o no con H_2O_2. Actualmente estamos verificando la reactividad de la sonda con HSA-SOH mediante métodos cinéticos y análisis de los productos por espectrometría de masa.

S3_009 Aportando piezas clave para entender el mecanismo de apertura de la glucopiranosa en seroalbúmina humana camino a su glicación en K199

Ortiz, Federico[1 *]; *Bonanata, Jenner*[1]; *Coitiño, Elena Laura*[1]

[* 1] Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La diabetes es una patología muy extendida en países desarrollados/en vías de desarrollo. El aumento del nivel de glucosa en sangre experimentado en pacientes que sufren este mal favorece la glicación (glucosilación no enzimática) de aminas biológicas. Mediante una compleja cascada de reacciones iniciada por ataque nucleofílico sobre el carbonilo reactivo de la glucosa en su forma abierta, se forman productos de glicación temprana (Bases de Schiff, BS/Productos de Amadori, reversibles) y avanzada (AGEs, irreversibles). La acumulación de AGEs en el organismo se asocia al origen de patologías derivadas de la diabetes. El conocimiento detallado del mecanismo de glicación temprana en proteínas claves del organismo aporta al desarrollo de métodos de detección precoz de avance de la glicación y al diseño de fármacos específicos para su inhibición/reversión. En 2013 Wang *et al* (*J.Biol.Chem.*, 288, 15980) elucidan la estructura de la BS resultante del ataque de glucosa por el residuo K195 (sitio Sudlow I) de la seroalbúmina humana (HSA), proponiendo un mecanismo de apertura de la glucopiranosa que involucraría al residuo cercano K199 y asigna un papel central a la red de enlaces de hidrógeno (EdH) con el entorno proteico local. Este trabajo busca evidencia para sostener o descartar el mecanismo recientemente propuesto empleando técnicas de modelado computacional para caracterizar el proceso básico de apertura de la glucopiranosa en solución acuosa y la red de EdH en el sitio Sudlow I de HSA en ausencia/presencia de glucopiranosa como complejo inicial del proceso *in vivo* y con la correspondiente BS formada.

S3_011 En busca del origen de la reactividad diferencial frente a tioles de nitroalquenos de los ácidos grasos oleico, linoleico y linoleico conjudo

Sagasti, Camila[1 *]; *Pérez Escanda, Diego*[1]; *Coitiño, Elena Laura*[1]

[* 1] Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Se sabe que los derivados nitrados de ácidos grasos insaturados identificados como "nitroalquenos" (NO_2-FA) modulan la función proteica, siendo detectados en plasma/orina de organismos sanos. Su modo de acción in vivo implicaría interacciones no covalentes y/o reacciones de adición tipo-Michael donde siendo electrófilos son atacados por aminoácidos de proteínas y otras moléculas dadoras de electrones, particularmente los tioles biológicos de bajo peso molecular glutatión y cisteína. De ahí la importancia de caracterizar el mecanismo de reacción y las propiedades fisicoquímicas de los NO_2-FA que permiten entender su rol biológico y explotar racionalmente su posible empleo como fármacos para enfermedades de origen inflamatorio y metabólico. Siendo inicialmente estudiados los distintos regioisómeros de nitroalquenos de los ácidos oleico (NO_2-OA) y linoleico (NO_2-LNA), más recientemente se han investigado derivados nitrados del ácido linoleico conjugado (NO_2-CLA) que muestran u n patrón diferente respecto a los NO_2-LNA en su reacción de Michael con tioles de bajo peso molecular (Turell-Álvarez, comunicación personal). Tales resultados difieren de cuanto se espera en base a las ideas generales sobre la reactividad de estas especies, llevando a buscar una justificación teórica a estas diferencias a partir del empleo de herramientas de modelado computacional. Para cumplir con este objetivo se modelaron con métodos cuánticos DFT (teoría de los funcionales de la densidad) la estructura de distintos regioisómeros de NO_2-OA, NO_2-LNA y NO_2-CLA en solución acuosa, caracterizando su reactividad global y específica a través de predictores globales/locales obtenidos e interpretados en el marco de la DFT conceptual.

S3_013 PROFUNDIZANDO EN EL CONOCIMIENTO DEL MECANISMO DE LA REACCION DE MICHAEL ENTRE NITROALQUENOS DEL ÁCIDO OLEICO Y TIOLES

Pérez Escanda, Diego[1 *]; *Sagasti, Camila*[1]; *Bonanata, Jenner*[1]; *Coitiño, Elena Laura*[1]

[* 1] Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los nitroalquenos de los ácidos grasos insaturados (NO2-FA) son derivados nitrados de origen tanto endógeno como exógeno, capaces de modular distintas funciones del organismo (por ej. la función vascular y la respuesta inflamatoria) actuando como electrófilos desde un punto de vista químico. Se sabe que varios nitroleatos (NO2-OA) y nitrolinoleatos (NO2-LNA) se unen reversiblemente a tioles de bajo peso molecular (por ej. Glutatión y Cisteína) y tioles proteicos (por ej. PPARγ) mediante mecanismos tipo-Michael, generando productos relevantes en la modulación post-traducción de enzimas y proteínas reguladoras de la transcripción. Este trabajo apunta a caracterizar con técnicas de modelado computacional (teoría de funcionales de la densidad, DFT) el mecanismo de reacción detallado en solución acuosa para la aducción de metiltiolato (tomado como compuesto modelo representativo de los tioles de bajo peso molecular) por dos nitroalquenos regioisoméricos derivados del oleato. Para ello se determinó la estructura de las especies participantes (complejos intermediarios, estado de transición) y el camino de reacción detallado, determinando la termoquímica de los procesos. El análisis detallado realizado intenta aportar a través del uso de descriptores fisicoquímicos una comprensión más profunda de la modulación ejercida por la posición del grupo nitro sobre la reactividad y cinética del proceso y la selectividad del mismo, detectándose la existencia de zonas y caras preferenciales de ataque hacia la formación reversible de estos aductos de Michael.

S3_015 Diseño y síntesis de nuevas sondas fluorogénicas para detección de peroxinitrito dirigidas a la matriz mitocondrial.

Rios, Natalia[1 *]; *López, Gloria V.*[1]

[* 1] Facultad de Química, Universidad de la República

El peroxinitrito ($ONOO^-$), ha sido identificado como un agente citotóxico con gran poder oxidante y nitrante. Es considerado un mediador patogénico en situaciones de estrés nitrooxidativo, involucrado en afecciones como inflamación y enfermedades cardiovasculares. En los últimos años la disfunción mitocondrial ocasionada por estrés nitrooxidativo ha sido implicada en la patogénesis de varias enfermedades neurodegenerativas. Si bien existen sondas disponibles para la detección de especies reactivas del oxígeno en la mitocondria queda mucho por explorar sobre su biología redox. Diversos estudios han demostrado la rápida reacción entre $ONOO^-$ y ácidos o ésteres fenilborónicos ($k=1x10^6 M^{-1}s^{-1}$) rindiendo el correspondiente producto hidroxilado. En trabajos previos hemos reportado las ventajas de utilizar la sonda fluorogénica CBE (éster pinacolínico del ácido cumarin-7-borónico) siendo capaz de reaccionar con nucleófilos rindiendo el correspondiente producto hidroxilado (7-hidroxicumarina) fluorescente de alto rendimiento cuántico. En condiciones donde se generan varios oxidantes, los boronatos reaccionan preferencialmente con $ONOO^-$ debido a su cinética más favorable.Es sabido que los cationes lipofílicos como el catión trifenilfosfonio, es capaz de atravesar la membrana mitocondrial conducido por su diferencia de potencial. En el presente trabajo describimos el diseño, síntesis y caracterización bioquímica de CBE acoplado covalentemente a trifenilfosfonio como sonda fluorogénica para la detección de peroxinitrito dirigida a la matriz mitocondrial ¨*MitoCBE*¨. El compuesto generado fue sintetizado por condensación de Pechmann entre un halo ß-cetoester y di-hidroxibenceno, posterior reacción de borilación y finalmente reacción con trifenilfosfina para dar la sal de fosfonio correspondiente con moderados a excelentes rendimientos. Seguimos trabajando en la caracterización fisicoquímica.

S3_017 Efectos benéficos del consumo de aceite de oliva extra virgen en un modelo de inflamación

Sánchez-Calvo, Beatriz[1 *]; *Cassina, Adriana*[1]; *Rubbo, Homero*[1]; *Trostchansky, Andrés*[1]

[* 1] Departamento de Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El aceite de oliva extra virgen (EVOO) es la principal fuente de lípidos en la dieta Mediterránea, asociada con una protección cardiovascular que incluyen la disminución en los niveles de colesterol, disminución del estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial. Dadas las propiedades anti-inflamatorias de los nitrolípidos y su reciente detección en EVOO, es factible que sus niveles pueden verse incrementados tras la ingesta relacionado ambas acciones beneficiosas sobre la salud cardiovascular. En este trabajo nos planteamos evaluar parámetros de daño nitrooxidativo y los mecanismos que puedan estar involucrados en la protección observada, en un modelo de ratones sometidos a una dieta hiperlipidémica (HF) suplementados con EVOO. El aumento del estrés oxidativo en ratones alimentados con HF resultó disminuido en los animales suplementados con EVOO; se detectaron menores niveles de oxidación lipídica y proteica así como una protección de la función mitocondrial con respecto a los ratones que no consumen dicho suplemento alimenticio. La participación del peroxinitrito en el daño mitocondrial, como mecanismo de acción, fue analizado utilizando mitocondrias aisladas. En presencia de nitrolípidos, se obtuvo una mejora de los índices respiratorios y de la actividad de los complejos de la cadena de transporte de electrones junto a una disminución de los parámetros de oxidación y nitración de proteínas mitocondriales. En conjunto, los nitrolípidos que se puedan formar a partir de la ingesta de EVOO en un ambiente nitrante como el estómago, podrían prevenir el daño mitocondrial y el estrés nitrooxidativo explicando los efectos beneficiosos observados para su consumo.

S3_019 Caracterización estructural de la proteína CCDC28B, un modificador del síndrome de Bardet-Biedl

Fabregat, Matías[1 *]; *Cárdenas-Rodríguez, Magdalena*[1]; *Correa, Agustín* [2]; *Trajtenberg, Felipe*[3]; *Buschiazzo, Alejandro*[3]; *Badano, José Luis*[1]; *Irigoín, Florencia* [4]

[* 1] Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Unidad de Proteínas Recombinantes, Institut Pasteur de Montevideo; [3] Unidad de Cristalografía de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo; [4] Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo - Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La cilia primaria es un organelo que participa en la comunicación de la célula con el entorno, siendo central en la transducción de importantes vías de señalización. Su mal funcionamiento es causante de una serie de enfermedades llamadas ciliopatías, de las cuales el síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es un ejemplo. Nuestro grupo estudia varias proteínas mutadas en BBS y este proyecto se centra en una de ellas: CCDC28B. Datos de nuestro laboratorio han vinculado a CCDC28B con la proteína SIN1, regulando tanto ciliogénesis como la vía de señalización de mTORC2. CCDC28B es una proteína de 200 aminoácidos sin homólogos de función conocida y de la que no poseemos información estructural. Nuestro objetivo es la caracterización bioquímica y estructural de esta proteína. Para ello expresamos en bacterias CCDC28B con una etiqueta de 6 histidinas. La proteína se produce en forma soluble y la purificamos por cromatografía de afinidad por metales (IMAC) e intercambio aniónico. En este último paso observamos que la proteína oligomeriza, eluyéndose las formas más grandes a concentraciones mayores de sal. Nos encontramos realizando las primeras pruebas de cristalización con la forma monomérica y con la mezcla monómero-dímero e intentando optimizar el proceso de purificación para mejorar el rendimiento. Además intentaremos co-expresarCCDC28B con interactores conocidos: SIN1, Ran y BBS2. Pensamos que esta estrategia podría permitir estabilizar a la proteína en una conformación activa que facilite su cristalización. Este proyecto permitirá comprender la interacción entre CCDC28B y distintas proteínas identificadas en el laboratorio aportando información fundamental para entender su función.

S3_021 Efectos del potencial de membrana plasmática sobre el citoesqueleto de microtúbulos en células de endotelio de córnea de bovino en cultivo

Cabo, Federico[1 *]; *Hernandez, Julio A* [2]; *Chifflet, Silvia*[1]

[* 1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En trabajos previos encontramos que las modificaciones del potencial de membrana plasmática (PMP) de células de endotelio de córnea de bovino (BCE) en cultivo provocan cambios de los citoesqueletos de actina y de microtúbulos. En este trabajo se estudia más detalladamente el efecto del PMP sobre el citoesqueleto de microtúbulos y las posibles vías de señalización involucradas. Tau es una proteína asociada a los microtúbulos que, dependiendo de su estado de fosforilación, actúa estabilizando o desestabilizando a los mismos. En este trabajo empleamos medios de distinta composición para producir cambios en el PMP en células BCE en cultivo. Mediante inmunofluorescencia, Western blot y un inhibidor de la proteína quinasa A (PKA), estudiamos modificaciones en la distribución de los microtúbulos y cambios en el estado de fosforilación de p-tau-214, sitio fosforilado específicamente por la PKA. Nuestros resultados muestran que la despolarización del PMP provoca una disminución en la cantidad de filamentos de tubulina a nivel de la periferia celular. Por el contrario, la hiperpolarización del PMP determina aumento en la cantidad de dichos filamentos en esa localización. Asimismo, encontramos que tanto la hiperpolarización del PMP como la inhibición de la PKA disminuyen los niveles de p-tau en la periferia celular. En conclusión, nuestros datos sugieren que los microtúbulos responden a los cambios del PMP y que la fosforilación de tau mediada por PKA estaría implicada en dicho proceso. Estos cambios de fosforilación podrían participar en las modificaciones de la estabilidad de las uniones celulares provocadas por los cambios en el PMP.

S3_023 Nuevos potenciales sustratos eucariotas de la fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis* PtpA: indicios de una modulación bacteriana del estado bionergético del macrófago

Margenat, Mariana[1 *]; *Gil, Magdalena*[2]; *Durán, Rosario*[2]; *Berois, Mabel*[1]; *Ferreira, Ana María*[1]; *Villarino, Andrea*[1]

[* 1] Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo

PtpA es un factor de virulencia de M. tuberculosis importante para la sobrevida de la bacteria durante la infección del macrófago. Hemos logrado aislar e identificar varios candidatos a sustratos de PtpA, entre ellos tres proteínas mitocondriales (la ECHA o Trifunctional protein subunit-alpha, la ATPA o ATP synthase subunit-alpha y la SQRD o Sulfide quinone oxidoreductase) y la K6PP (6-phosphofructokinase), todas ellas relacionadas directamente o indirectamente con la producción de ATP. Curiosamente ha sido reportado recientemente que la tres proteínas mitocondriales identificadas dejan de ser detectadas en la mitocondria de macrófagos infectados con una cepa virulenta de TB y no en aquellos infectados con una cepa avirulenta. Por lo tanto PtpA podría constituir el factor de virulencia responsable de este efecto. Todos nuestros esfuerzos apuntan a validar estos posibles candidatos como sustratos de PtpA. Hemos comenzado en estudiar la interacción/actividad de PtpA con la TFP, proteína identificada con el mejor score y clave en la beta-oxidación de los lípidos. En paralelo, buscamos poner a punto un modelo celular eucariota donde se exprese la PtpA de TB para poder estudiar si se alteran las vías metabólicas asociadas a la producción de ATP. Las diferentes herramientas que están siendo abordadas apuntan a demostrar si los candidatos identificados son sustratos fisiológicos de PtpA, cuál es el efecto de la actividad de PtpA sobre la localización/funcionalidad de los mismos y en especial sobre el metabolismo energético de los macrófagos.

S3_025 Estudios bioquímicos en glutamina sintetasa humana: expresión, purificación, actividad y sensibilidad a peroxinitrito

*Campolo, Nicolás[1 *]; Bartesaghi, Silvina[2]; Tórtora, Verónica[1]; Radi, Rafael[1]*

[*1] Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas y Departamento de Educación Médica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La glutamina sintetasa (GS) cataliza la condensación ATP-dependiente de glutamato y amonio para formar glutamina. A nivel del sistema nervioso central, la GS se localiza principalmente en el citosol de los astrocitos y participa tanto en la detoxificación de amonio como en la prevención de la excitotoxicidad dependiente de glutamato. Cambios en esta enzima pueden derivar en disfunción astroglial, lo cual puede afectar la función y supervivencia neuronal. El peroxinitrito ($ONOO^-$) es un potente oxidante que se forma *in vivo* por la reacción entre los radicales óxido nítrico y superóxido, capaz de oxidar directa e indirectamente diversas biomoléculas. En particular, es capaz de nitrar los residuos de tirosina proteicos a 3-nitrotirosina, lo que constituye una modificación postraduccional oxidativa capaz de alterar la estructura y función de las proteínas. En este trabajo se purificó la GS humana recombinante expresada en *Escherichia coli* mediante cromatografía de afinidad, obteniéndose la enzima pura en altos rendimientos (más de 15 mg proteína por litro de cultivo). La identidad de la misma se verificó por su peso molecular (43 kDa por monómero) y mediante medidas de actividad. Se utilizaron dos métodos espectrofotométricos para determinar la actividad. El primero, basado en la reacción fisiológica de la enzima, consistió en determinar la cantidad de fosfato liberado como producto; el segundo se basó en la determinación de γ-glutamilhidroxamato formado a partir de glutamina e hidroxilamina catalizada por la GS. Por último, se evaluó la inactivación de la enzima luego de su exposición a $ONOO^-$ bajo diferentes condiciones experimentales.

S3_027 Una nueva clase de proteína relacionada a la tiorredoxina es capaz de coordinar centros ferrosulfurados.

*Bisio, Hugo[1 *]; Bonilla, Mariana[2]; Comini, Marcelo[2]; Salinas, Gustavo[1]*

[*1] Laboratorio de Biología de Gusanos, Institut Pasteur de Montevideo; [2] Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomátidos, Institut Pasteur de Montevideo

Los centros ferrosulfurados (Fe/S) son cofactores importantes para ciertas proteínas cuyas funciones incluyen la fosforilación oxidativa, la reparación del ADN y la síntesis proteica. Las glutaredoxinas (Grx) pertenecen a la superfamilia con unidad de plegamiento tiorredoxina (Trx). Algunos miembros de las Grx participan en la síntesis de Fe/S y la homeostasis del hierro, o bien emplean dicho cofactor como un elemento regulador de su actividad óxidorreductasa. Por otro lado, las Trx propiamente dichas y las proteínas relacionadas a las Trx (TRP), miembros de la misma superfamilia Trx, participan en diferentes vías aunque sus funciones no están directamente relacionadas con los Fe/S. En este trabajo demostramos que una nueva clase de TRP, la cual llamamos Fe/S-TRP, clonada del parásito Echinococcus granulosus, es capaz de coordinar un Fe/S de manera diferente a una Grx que convencionalmente une dicho cofactor. En particular, mostramos que Fe/S-TRP es una proteína específica del linaje cestodos, que dimeriza al unir el Fe/S y no utiliza glutatión como ligando del Fe (a diferencia de Grx) ya que la coordinación del metal es llevada a cabo por dos cisteínas de cada subunidad. Además, dicha proteína no posee actividad óxidorreductasa en los ensayos canónicos pero puede ser reducida por la tiorredoxina-glutatión reductasa, única flavoproteína involucrada en la reducción de Grx y Trx en platelmintos parásitos. Ensayos de pull down están siendo realizados para identificar posibles interactores de dicha proteína, así como estudios de complementación en levaduras deletadas para el gen que codifica una Grx involucrada en el metabolismo de Fe/S.

S3_029 Puesta a punto de una técnica de cromatoenfoque para el análisis por HPLC de albúmina oxidada

*Deambrosi, Matías[1 *]; Moller, Matías[2]; Turell, Lucía[1]; Botti, Horacio[3]; Santos, Leonardo[2]; Alvarez, Beatriz[1]*

[*1] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Unidad de Bioquímica Analítica, Institut Pasteur de Montevideo

La albúmina (HSA) tiene una única cisteína libre que puede encontrarse reducida u oxidada a los estado de disulfuro mixto (HSA-SSR), sulfénico (HSA-SOH), sulfínico ($HSA\text{-}SO_2H$) y sulfónico ($HSA\text{-}SO_3H$). Recientemente, se desarrolló una técnica cromatográfica mediante la cual es posible separar las distintas isoformas de la albúmina según sus puntos isoeléctricos y propiedades químicas (Turell, L., Botti, H. et al, Journal of Chromatography B, 944 (2014) 144-151). La técnica involucra la utilización de una resina de intercambio aniónico débil de alta resolución a un pH próximo al del punto isoeléctrico de la albúmina y un método de elución basado en un gradiente de pH. En este trabajo se comenzó la puesta a punto del procedimiento en un equipo HPLC (Agilent 1260 Infinity con detector de fluorescencia). Se realizó el montaje de la columna y se procedió al análisis de muestras de HSA reducida (3×10^{-5} M), oxidada (H_2O_2 15 mM, 11 min, temperatura ambiente) y bloqueada con Hg^{2+} (0.5 mM) preparadas a partir de HSA comercial para evaluar la capacidad de separación del método. Actualmente se continúa trabajando en mejorar las condiciones de separación de forma de proceder al análisis de muestras de plasma.

S3_031 El peróxido de hidrógeno activa transitoriamente la respuesta al daño al ADN e induce la senescencia en fibroblastos humanos

*Marmisolle, Inés[1 *]; Quijano, Celia[1]*

[*1] Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La senescencia celular es un estado caracterizado por el cese de la proliferación, activación de la respuesta al daño al ADN (DDR), transformaciones morfológicas, aumento en la actividad de la enzima ß-Galactosidasa (SA-ß-Gal) y secreción de factores proinflamatorios. Estudiamos la inducción de la senescencia celular en fibroblastos de pulmón humano (IMR-90) expuestos a peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En las horas siguientes a la exposición observamos la fosforilación (Ser1981) y activación de la quinasa ataxia telangiectasia mutada, la fosforilación y aumento en los niveles del factor de transcripción p53, (Ser15), así como la aparición de focos nucleares de la histona γH2AX y la proteína 53BP1, evidenciando la activación de la DDR. Dichos cambios fueron acompañados con un aumento en la expresión de p21 y p16 (inhibidores de kinasas dependientes de ciclinas), la consecuente hipofosforilación de la proteína del retinoblastoma (Rb) y el cese de la proliferación celular. La activación de la DDR en fibroblastos no fue persistente ya que a los siete días de la exposición a H_2O_2 la fosforilación y los niveles de las proteínas de la DDR eran iguales en las células tratadas y en las células sin tratar. Sin embargo, Rb continuaba hipofosforilada, la proliferación detenida y observamos cambios en la morfología celular y aumentada la actividad SA-ß-Gal en células expuestas a H_2O_2. Nuestros resultados indican que la activación transitoria de la DDR por el tratamiento con H_2O_2 es suficiente para inducir un cese irreversible de la proliferación y la adquisición de características senescentes en fibroblastos humanos.

POSTERS

S3_033 Muerte celular programada en la célula mineralizadora de Echinococcus granulosus

*Varela, María[1 *]; Chalar, Cora[1]; Señorale, Mario[1]*
[* 1] Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La autofagia representa tanto un mecanismo de supervivencia como una vía alternativa de muerte celular programada (PCD), que ejecuta su programa o se asocia a otros. Cuando las morfologías apoptótica y autofágica coexisten, la PCD muestra características mixtas aún a nivel molecular. En este sentido, la enzima caspasa-3 no es indicativa exclusivamente de apoptosis, sino que participa también en la muerte celular por autofagia. La forma larvaria infectiva de Echinococcus granulosus presenta, al igual que otros cestodos, formaciones calcáreas características, los corpúsculos calcáreos (CC). En trabajos previos corroboramos que el desarrollo del CC se da por un proceso de mineralización intracelular. Demostramos que la célula responsable, en la que se distinguen pequeñas vesículas y numerosos ribosomas, desaparece previa presentación de signos apoptóticos. Estos hechos estarían sugiriendo que en esta estrategia de muerte celular, interviene la autofagia. Con el objetivo de contribuir a la comprensión del mecanismo de PCD de la célula asociada al corpúsculo calcáreo en E. granulosus, nos propusimos clonar y caracterizar el gen que codifica para caspasa-3 en este organismo. Mediante herramientas bioinformáticas identificamos en el genoma de E. granulosus el gen caspasa-3. Diseñamos oligonucleótidos específicos con los que realizamos reacciones de RT-PCR sobre ARN de protoescólex. La banda del tamaño esperado fue clonada obteniéndose el plásmido recombinante egcasp-3 cuya identidad fue confirmada por secuenciación. Actualmente estamos abordando la obtención de un péptido recombinante para generar anticuerpos específicos que nos permitirán estudiar la expresión temporal de caspasa-3 en la célula asociada al CC.

S3_035 ROL DEL HACINAMIENTO MOLECULAR EN EL DAÑO OXIDATIVO PROTEICO

*Aicardo, Adrian [1 *]; Cassina, Adriana [1]; Radi, Rafael[1]*
[* 1] Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La interacción entre proteínas y oxidantes ha sido ampliamente estudiada, sin embargo la mayoría de los datos publicados fueron obtenidos bajo condiciones que difieren del ambiente intracelular. Las condiciones de hacinamiento molecular encontradas en los compartimientos celulares facilitan interacciones intermoleculares que modifican propiedades biofísicas y bioquímicas comparado con soluciones diluidas. Proponemos que la alta densidad a la cual las proteínas están presentes en bioambientes celulares, permite reacciones oxidativas radicalares entre diferentes cadenas polipeptídicas desencadenando eventos de propagación en cadena comparables con procesos de lipoperoxidación de membrana. En este trabajo evaluamos la participación de reacciones de oxidación en cadena en soluciones altamente concentradas de albúmina sérica bovina (BSA). Realizamos estudios de oximetría, quimioluminiscencia, y fluorescencia para demostrar la formación en el tiempo de especies radicalares producto de la exposición de BSA a generadores de radicales proteicos (peroxinitrito). La producción de radicales derivados de amino acidos lleva a la formación de radicales peroxilo que propagan el proceso oxidativo. Estos resultados apoyan el concepto de que en ambientes hacinados como el citoplasma celular, el daño oxidativo puede ser inducido y amplificado via reacciones radicalares en cadena mediados por proteinas y dependientes de oxígeno, lo cual representa un proceso bioquímico no evidenciado previamente.

S3_037 Activación de los reguladores de respuesta ocurre mediante un mecanismo de regulación alostérico atípico

*Trajtenberg, Felipe[1 *]; Albanesi, Daniela[2]; Ruetalo, Natalia[1]; Botti, Horacio[1]; Mechaly, Ariel[1]; Nieves, Marcos[1]; Larrieux, Nicole[1]; de Mendoza, Diego[2]; Buschiazzo, Alejandro[1]*
[* 1] Institut Pasteur de Montevideo; [2] Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR)

La capacidad de los microorganismos de adaptarse rápidamente a los cambios del entorno es una función biológica esencial y clave para su supervivencia. Durante los últimos años nos hemos enfocado en la caracterización estructural y funcional del sistema termosensor DesK-DesR de Bacillus subtilis. En este trabajo presentamos el estudio del mecanismo alostérico de activación del regulador de respuesta DesR. Se resolvió la estructura cristalina de la forma activa de la proteína completa, así como también de distintas formas del dominio REC. La combinación de información estructural con estudios bioquímicos y biofísicos de la proteína en solución demuestran que DesR es monómero en solución y al fosforilarse dimeriza a través de la superficie a1a5. La tetramerización ocurre a través de la superficie a4ß6a6 y requiere la unión al ADN. Por otro lado, la histidin-quinasa DesK interacciona tanto en el estado fosfatasa como en el fosfotransferasa por la misma superficie a1a5, teniendo implicancias funcionales relevantes. Ensayos *in vivo* usando diversos mutantes puntuales permitió detectar un mecanismo de activación independiente de fosforilación, que requiere la presencia de DesK y es regulado por temperatura. En este trabajo proponemos que la histidina-quinasa actúa como un controlador alostérico del regulador de respuesta pre-activando la proteína, siendo esto un elemento común a todos los sistemas a dos componentes.

S3_039 Estudio de una fosfata en tirosina considerada potencial factor de virulencia del virus Orf

*Segovia, Eliana[1 *]; Porley, Darío[2]; Olivero, Natalia[2]; Berois, Mabel[2]; Villarino, Andrea[1]*
[* 1] Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Existen evidencias que demuestran que las fosfatasas de patógenos intracelulares pueden actuar como factores de virulencia defosforilando residuos celulares y modulando la respuesta inmune. Sin embargo, las moléculas y los mecanismos implicados se conocen de forma incompleta. Nuestro interés está focalizado en la tirosina fosfatasa del virus Orf (PTP-Orf) perteneciente al género Parapoxvirus (Familia Poxviridae). Este virus es responsable del Ectima Contagioso, una enfermedad proliferativa de la piel y mucosas que afecta principalmente ovinos. Las reinfecciones son frecuentes y plantean la hipótesis de que factores de virulencia podrían jugar un rol importante en dicho proceso. En este contexto la PTP-Orf es una buena candidata a estudio existiendo hasta ahora sólo antecedentes para su homóloga VH1 en el Virus Vaccinia. En este trabajo se clonó el gen de la PTP-Orf en un vector de expresión procariota para su producción en E. coli. Se purificó la proteína recombinante, la cuál se caracterizó en términos de actividad, parámetros cineticos, grado de oligomerización y estabilidad frente a temperatura y pH. En este momento estamos realizando ensayos de cristalización y nos planteamos dilucidar los sustratos y vías de señalización que modularía la PTP-Orf. Para ello, estamos buscando introducir la actividad fosfatasa del virus en células blanco (Madin-Darby bovine kidney) mediante la utilización del sistema de transducción basado en vectores herpéticos de tipo amplicón. Hemos iniciado la introducción del gen de la PTP-Orf en el vector HSV-1. Empleando dicho sistema de transducción buscaremos determinar la localización e identificar los sustratos y posibles vías de señalización moduladas.

S3_041 Hacia una síntesis racional de una chalcona inhibidora de la fosfatasa en tirosina PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*.

Maidana, Matías[1 *]; *Herrera, Fernando*[2]; *Ravel, Florencia*[3]; *Seoane, Gustavo*[3]; *Sagrera, Gabriel*[3]; *Villarino, Andrea*[1]

[* 1] Sección de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Modelado Molecular, Universidad Nacional del Litoral; [3] Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

En este estudio 25 chalconas fueron evaluadas como potenciales inhibidores de PtpB, factor de virulencia de *Mycobacterium tuberculosis*. De este grupo sólo dos chalconas, la 9 (2□-hidroxi-4,4´-di-n-butiloxichalcona) y la 22 ((2E,4E)-1-(2-hidroxifenil)-5-fenil-2,4-pentadien-1-ona) presentaron un efecto inhibitorio. El análisis de los acoplamientos moleculares, realizados para entender cómo se posicionan estas chalconas en la estructura de PtpB, nos sugiere que ambas chalconas se encontrarían estabilizadas únicamente por 2 enlaces de hidrógeno y no por 4 o más, como fue descrito para potentes inhibidores de PtpB ya reportados (Isoxazol-salicilato y OMTS: oxalilaminometilen-tiofenosulfonamida). Por otro lado se observa que el anillo A de las mismas se ubicaría en el sitio activo, al igual que otros inhibidores competitivos. Un aspecto interesante es que el anillo B de la chalcona 9 se ubicó hacia la hélice alfa 7, que forma parte de un elemento estructural que actúa como puerta ("Lid") del sitio activo y que no se encuentra en las PTPs humanas. Con esta información buscamos mejorar el diseño de nuevas chalconas derivadas de la chalcona 9, a las cuáles le modificaremos el sustituyente del anillo B buscando estabilizarlo aún más hacia la hélice alfa 7 de PtpB. En paralelo realizamos el acoplamiento molecular para ver cómo se posicionarían estas nuevas variantes en la estructura de PtpB y cuál sería la energía de unión. Los resultados muestran que todas siguieron posicionándose de forma similar a la chalcona 9 y presentaron diferentes energías de unión. Una vez sintetizadas se les evaluará su poder inhibitorio frente a PtpB.

S3_043 Desarrollo de método para detección de productos electrofílicos de la oxidación de tirosina

Acosta, Silvina[1 *]; *Porcal, Williams*[2]; *Denicola, Ana*[1]; *Möller, Matías*[1]

[* 1] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República ; [2] Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

Tanto la oxidación radicalar de tirosina con posterior adición de radical superóxido o radical peroxilo lipídico, como la reacción de tirosina con oxígeno singulete, llevan a la formación de derivados electrofílicos de la tirosina, que luego de un paso de reducción forman hidroxi-oxociclohexadienona (HO-OCHDA). Dado la frecuencia de estas reacciones en medios biológicos, es de esperar que se formen cantidades significativas de HO-OCHDA en el organismo, especialmente en condiciones que aumenten el estrés oxidativo, como patologías vasculares y diabetes. En este estudio se plantea desarrollar un método sensible para detectar la formación de HO-OCHDA en medios biológicos. Para ello se utiliza como modelo de HO-OCHDA a la N-Boc-tirosina oxidada a la lactona correspondiente y al dipéptido glicil-tirosina oxidado con oxígeno singulete. Como reactivo se utilizó en primer lugar dinitrofenilhidrazina (DNPH) para formar la hidrazona con el carbonilo. A bajas concentraciones de DNPH se forma un producto detectado por HPLC, presumiblemente la hidrazona. A altas concentraciones de DNPH se forman múltiples productos que dificultan la cuantificación por HPLC. También se utilizó el ácido tionitrobenzoico (TNB) para formar un aducto de Michael con un cromóforo asociado. La reacción principal entre la lactona y TNB es una reducción que conduce a la formación de tirosina y DTNB. Esta reducción parece ser particular de la lactona y no de HO-OCHDA. Posteriormente se pretende probar las mismas reacciones utilizando el producto HO-OCHDA del dipéptido glicil-tirosina así como desarrollar tioles asociados a grupos fluorescentes que potencien la detección de esta modificación oxidativa.

S3_045 Efecto de la sobreexpresión de peroxirredoxinas mitocondrial y citosólica en T. cruzi en la respuesta al agente terapéutico Nifurtimox

Specker, Gabriela[1 *]; *Estrada, Damián*[1]; *Piñeyro, Dolores*[2]; *Robello, Carlos*[2]; *Radi, Rafael*[1]; *Piacenza, Lucía*[1]

[* 1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo - Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Trypanosoma cruzi es un parásito protozoario intracelular causante de la Enfermedad de Chagas, la cual constituye un problema de Salud Publica en Latinoamérica ya que se encuentran 8 millones de personas infectadas y 28 millones en riesgo de contraer la enfermedad.Hasta la fecha no existen agentes terapéuticos que lleven a la cura de la enfermedad, utilizándose dos drogas para su tratamiento, Nifurtimox (Nfx) y Benznidazol, los cuales son más efectivos en la fase aguda de la enfermedad, presentando serios efectos secundarios. En este trabajo se estudió el efecto de la sobreexpresión de enzimas antioxidantes de T. cruzi en la toxicidad del Nifurtimox sobre los parásitos. Las cepas sobreexpresantes CPX y MPX, mostraron una mayor resistencia al tratamiento con Nifurtimox. Se analizó la actividad peroxidasa de la CPX y MPX en extractos proteicos de parásitos control y tratados con Nfx mediante el estudio de la relación dímero/monómero, no encontrándose diferencias significativas en este parámetro. Además de la actividad peroxidasa, se ha descripto la capacidad de las peroxirredoxinas de actuar como chaperonas moleculares la cual se observa en los complejos de alto peso molecular de estas enzimas. Por esto, se analizó la presencia de estos agregados en los parásitos control y tratados con Nfx, encontrando una mayor proporción en los sobreexpresantes de MPX y CPX en comparación con parásitos wt. Estos resultados podrían indicar que la resistencia observada al tratamiento con Nfx de los sobreexpresantes de MPX y CPX es debida a la actividad chaperona de las mismas. Futuros estudios nos permitirán confirmar esta hipótesis

S3_047 Relevancia del contendido de Fe-superóxido dismutasas de *Trypanosoma cruzi* durante la infección a macrófagos

Martinez, Alejandra[1 *]; *Prolo, Carolina*[1]; *Piñeyro, Dolores*[2]; *Robello, Carlos*[2]; *Radi, Rafael*[1]; *Piacenza, Lucia* [1]

[* 1] Departamento de Bioquimica, Facultad de Medicina - CEINBIO, Universidad de la República; [2] Institut Pasteur de Montevideo - Departamento de Bioquimica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los macrófagos forman parte de la primera línea de defensa del huésped frente a la invasión por *Trypanosoma cruzi*. Durante la fagocitosis se activa la NADPH-oxidasa con la consiguiente generación de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) a nivel intrafagosomal. El $O_2^{\bullet-}$ puede: i) dismutar a H_2O_2 ii) reaccionar con $^{\bullet}NO$ para dar lugar al agente citotóxico peroxinitrito y iii) protonarse en el fagosoma volviéndose un radical neutro ($HO_2^{\bullet}$ pka=4.88) e ingresar al parásito. En este trabajo se estudia esta última ruta así como la relevancia de las Fe-superóxido dismutasas (Fe-SODA, mitocondrial y Fe-SODB, citosólica) durante la infección a macrófagos por *T. cruzi*. Se evaluó la entrada de $O_2^{\bullet-}$ evaluando la inhibición de la enzima aconitasa. Flujos externos de $O_2^{\bullet-}$ (xantina-xántina oxidasa) a pH=6 producen una mayor inactivación de la enzima parasitaria. La entrada de $HO_2^{\bullet}$, se confirmo por la detección de 2-hidroxietidio en parásitos incubados con dihidroetidio (producto específico de la presencia de $O_2^{\bullet-}$) a nivel intraparasitario. Parásitos sobrexpresantes expuestos a flujos de $O_2^{\bullet-}$ y $^{\bullet}NO$ (SIN-1 1mM) mostraron una mayor proliferación (Abs=600nm) asi como una disminución en la formación de peroxinitrito intraparasitario (evaluado por oxidación de DHR por citometría de flujo). Sobrexpresantes de la Fe-SODB/A mostraron una mayor proliferación en infecciones a macrófagos de línea celular (J774A.1) y derivados de médula ósea de ratón en condiciones de inmunoestimulación (inducción de la iNOS) en comparación a la cepa wt. Estos resultados sugieren que el contenido de Fe-SODs podría ser considerado un factor de virulencia para la infección por *T. cruzi*.

S3_049 Los nitroalquenos son mediadores lipídicos que se unen a las FABPs y activan PPAR-γ

*Lamas Bervejillo, María[1 *]; Bottasso, Natalia[2]; Schopfer, Francisco[3]; Córsico, Betina[2]; Rubbo, Homero[4]; Franchini, Gisela[2]; Ferreira, Ana M[5]*

[*1] Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata; [3] Department of Pharmacology and Chemical Biology, University of Pittsburgh; [4] Departamento Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [5] Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los nitroalquenos (NO_2-FA) son mediadores lipídicos derivados de la nitración de ácidos grasos insaturados. Son producidos endógenamente en contextos inflamatorios y potencialmente capaces de controlar el metabolismo lipídico y la inflamación mediante la regulación de varios factores de transcripción. Uno de éstos es el receptor nuclear PPAR-γ, que modula directa e indirectamente las respuestas metabólicas e inflamatorias. Determinamos que varios NO_2-FA, derivados del ácido oleico, araquidónico y linoleico conjugado, activan PPAR-γ en monocitos/macrófagos, midiendo la respuesta de reporteros asociados al metabolismo lipídico (CD36, FABP4, ABCA1 y ABCG1). También estamos evaluando los cambios inducidos por NO_2-FA en la expresión de interleuquinas inflamatorias, potencialmente afectadas por activación de PPAR-γ (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-a). Estos resultados plantearon la pregunta sobre cómo los NO_2-FA son transportados al núcleo para activar PPAR-γ. Como derivan de ácidos grasos insaturados que son naturalmente transportados en las células por la familia de proteínas FABP, pensamos que estas proteínas podrían estar involucradas. Estudiamos por fluorimetría la interacción de NO_2-FA con las isoformas de FABP expresadas predominantemente en monocitos/macrófagos, hígado, e intestino. Utilizamos ensayos de desplazamiento de sondas fluorescentes unidas previamente a las FABPs, con agregados crecientes del NO_2-FA. La determinación de las constantes de disociación aparentes para cada NO_2-FA y su correspondiente ácido graso precursor mostró que todos los NO_2-FA se comportan como ligandos de las FABPs, y que la nitración no alteró significativamente la unión mostrada por el precursor. A futuro buscaremos determinar la contribución de las FABPs en la activación de PPAR-γ por NO_2-FA en monocitos/macrófagos.

S3_051 El inhibidor tipo Kunitz de Echinococcus granulosus EgKU-7 posee un comportamiento diferente frente a distintas tripsinas

*Fló, Martín [1 *]; Pellizza, Leonardo[1]; Álvarez , Beatriz[2]; Fernández, Cecilia[1]*

[*1] Facultad de Química, Universidad de la República; [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Nuestro grupo describió una familia de proteínas Kunitz del parásito E. granulosus (EgKUs) que son secretadas a la interfase con el hospedador. Las proteínas Kunitz son inhibidores de proteasas de alta afinidad; se unen a la enzima por un bucle "anti-proteasa" que, si bien simula al sustrato, es hidrolizado muy lentamente. Nuestros estudios indican que EgKU-7 inhibe tripsinas con alta afinidad pero no es un Kunitz típico e interacciona de manera diferente con distintas tripsinas. En el caso de la bovina, la velocidad de la enzima inhibida aumenta 2-3 veces luego de dos horas debido a que EgKU-7 es hidrolizado. Este comportamiento no se observa con las tripsinas caninas (con las que EgKU-7 interaccionaría en el hospedador definitivo). No obstante, el curso temporal de la inhibición, típicamente monofásico, es bifásico con estas proteasas. Además, los datos experimentales para determinar KI* no se ajustan a la ecuación correspondiente, observándose que ajustarían a una concentración de inhibidor mayor a la utilizada. Como EgKU-7 posee una extensión C-terminal del dominio Kunitz, estudiamos el comportamiento del inhibidor sin esa extensión. EgKU-7_s/C-t mantiene la susceptibilidad a la hidrólisis por tripsina bovina. No obstante, si bien posee menor actividad que el inhibidor intacto, se comporta como un Kunitz típico en cuanto al ajuste de los datos para determinar KI* y a los cursos temporales con tripsinas caninas (monofásicos). Estos resultados indican que EgKU-7 inhibe mejor a las tripsinas caninas que a la bovina y que la extensión C-terminal de su dominio Kunitz participa en la inhibición.

S3_053 Rol de la Proteín Disulfuro Isomerasa (PDI) en la inhibición de la NADPH oxidasa fagocítica por el Ácido Nitroaraquidónico

*González Perilli, Lucía[1 *]; Rubbo, Homero[1]; Laurindo, Francisco [2]; Trostchansky, Andrés[1]*

[*1] Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Instituto del Corazón, Universidad de San Pablo

El Ácido Nitroaraquidónico (NO_2AA) presenta diversas acciones anti-inflamatorias en macrófagos activados como ser la regulación de la actividad y secreción de enzimas inducibles o citoquinas pro-inflamatorias. Recientemente hemos demostrado que el NO_2AA inhibe la actividad la NADPH oxidasa fagocítica (NOX2), responsable de la formación de superóxido en el fagosoma, modulando la formación del complejo activo en la membrana sin afectar a la fosforilación de las subunidades citosólicas (Gonzalez-Perilli L. et al Free Radic. Biol. Med. 2013 May; 58:126-33). Un trabajo reciente indica que la Proteín disulfuro isomerasa (PDI) está involucrada en la formación del complejo activo de NOX2, lo cual nos lleva a hipotetizar que la inhibición de la NOX2 por NO_2AA podría involucrar la modulación de PDI. Esto es apoyado por la inhibición in vitro de la actividad reductasa de PDI por NO_2AA de manera dosis- y tiempo-dependiente. La utilización del inhibidor de la PDI tiomuscimol ejerce acciones similares a las del NO2AA sobre la actividad NOX2. Por otra parte, estudios de microscopía confocal mostraron que en macrófagos activados con PMA, la presencia de NO_2AA ejerce cambios en la morfología celular, afectando la estructura de actina, similares a los observados usando tiomuscimol. En resumen, nuestros resultados sugieren que la PDI puede ser un blanco para el NO_2AA en su actividad de inhibición de la actividad NOX2.

S3_055 Formación y detección por LC-MS/MS de ácidos grasos nitrados en la LDL: nitración lipídica vs oxidación y nitración proteica

*Mastrogiovanni, Mauricio[1 *]; Trostchansky, Andrés[1]; Rubbo, Homero[1]*

[*1] Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los ácidos grasos nitrados, en particular los nitroalquenos, son compuestos señalizadores de acción anti-inflamatoria que podrían formarse y transportarse en la lipoproteína de baja densidad (LDL) modulando la capacidad pro-aterogénica de ésta. En este trabajo se estudian condiciones experimentales que favorezcan la nitración lipídica con respecto a la oxidación y nitración proteica, exponiendo LDL humana a diferentes agentes nitrantes que incluyen al peroxinitrito y nitrito en pH ácido. Mediante estudios de espectrometría de masa acoplada a cromatografía líquida (LC-MS/MS) se detectó la formación de ácidos grasos nitrados, en particular los derivados del ácido oleico (NO_2-OA) y linoleico conjugado (NO_2-cLA). La identificación y cuantificación de estos derivados nitrados fue realizada utilizando estándares marcados con ^{13}C o ^{15}N. En estas condiciones experimentales, se compararon los niveles de ácidos grasos nitrados con respecto a los de 3-nitrotirosina, carbonilos proteicos, TBARS e hidroperóxidos lipídicos (como marcadores de oxidación proteica y lipídica, respectivamente). Especulamos que una LDL que presenta una mayor relación ácidos grasos nitrados/ oxidados será menos pro-aterogénica.

S3_057 Caracterización de un anticuerpo que reconoce conformaciones alternativas de cyt c

*Tomasina, Florencia[1 *]; Demicheli, Verónica[1]; Jemmerson, Ronald[2]; Thomson, Leonor[3]; Radi, Rafael[1]*

[*1] Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Department of Microbiology, University of Minnesota Medical School; [3] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El Citocromo c (cyt c) es una hemoproteína que funciona como transportador de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial, así como un mediador pro-apoptótico en el citosol. El hemo del cyt c en estado nativo contiene dos ligandos axiales, histidina 18 y la metionina 80 (Met80). Modificaciones post-traduccionales en el cyt c, tales como la nitración de tirosinas o la sulfoxidación de la Met80, disparan un cambio estructural en la unión al hemo. La conformación alcalina es un cambio inducido a alto pH, en donde se disocia el ligando axial de la Met80. En particular, cambios en la coordinación del hemo genera un aumento en la actividad peroxidasa. Jemmerson y colaboradores caracterizaron un anticuerpo monoclonal (mAb) denominado 1D3 que reconoce la región cercana al aminoácido 44 del cyt c de conformación no nativa. El presente trabajo tiene como objetivo la generación de un nuevo anticuerpo policlonal (pAb) que identifique formas oxidadas de cyt c exclusivamente y compararlo con el mAb 1D3. Se utilizó como antígeno cyt c en pH alcalino unido a ovoalbúmina. Se purificó a los pAb utilizando columnas de afinidad con el péptido sintético que contiene la secuencia 40-54 del cyt c. Para la caracterización se realizaron ELISAs, análisis con dot blot e inmunohistoquímicas. En conclusión, se caracterizó un nuevo anticuerpo (pAb FT3) que tiene un comportamiento similar al mAb 1D3 en el reconocimiento de formas alternativas de cyt c y que por lo tanto, este Ab es una potencial herramienta en la detección de cyt c modificados en células y tejidos sometidos a estrés oxidativo.

S3_059 Rol de la disfunción mitocondrial en la motilidad espermática: Drogas antioxidantes dirigidas a la mitocondria.

*Silveira, Patricia [1 *]; Cassina, Adriana[2]; Alciaturi, Jimena[3]; Cantu, Laura [3]; Montes, Jose Maria[4]; Canepa, Mariel[4]; Radi, Rafael [2]; Sapiro, Rossana[1]*

[*1] Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina - Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República; [3] CEM; [4] Fertilab

Existen diversos factores que están involucrados en la disfunción espermática. Entre ellos, las especies reactivas del oxigeno y del nitrógeno (ROS) juega un rol fundamental produciendo lipoperoxidación de membranas y daño del ADN. Lo cual lleva a la perdida de la capacidad fecundante del espermatozoide. La mitocondria constituye la principal fuente de formación de ROS a nivel intracelular. Estas especies altamente oxidantes y nitrantes, pueden interactuar con las proteínas y lípidos mitocondriales provocando daño por estrés nitrooxidativo lo que lleva un aumento aun mayor de la formación ROS. Los espermatozoides son particularmente vulnerables a las ROS dado que su pequeño espacio citoplasmáticos limita la posibilidad de contener suficientes enzimas antioxidantes que neutralicen estas especies. Nuestra hipótesis plantea que la disminución de la motilidad espermática es producida por la disfunción mitocondrial. El estudio de la actividad mitocondrial en muestras de baja motilidad (< al 32% de acuerdo a lo establecido por la OMS) y alta motilidad (> al 32 %) mostró que existe una correlación positiva entre el estado de acople mitocondrial (RCR) y la motilidad. Se evidenció la formación de un potente agente oxidante como es el peroxinitrito por las mitocondrias en células espermáticas permeabilizadas. Se realizó un análisis computarizado de la motilidad espermática obteniéndose incrementos en los patrones de motilidad de los espermatozoides cuando se incubaron las muestras con antioxidantes dirigidos a la mitocondria. Support: PEDECIBA-UdelaR, MERK-SERONO. CSIC Equipamiento

S3_061 Estudio del mecanismo de la reacción de peroxinitrito con la Superóxido Dismutasa de Manganeso y de la nitración de la Tirosina 34 crítica.

*Demicheli, Veronica[1 *]; Moreno, Diego [2]; Jara, Gabriel[3]; Carballal, Sebastian[1]; Quijano, Celia[1]; Ferrer-Sueta, Gerardo[4]; Rios, Natalia[1]; Estrín, Darío[3]; Martí, Marcelo [3]; Radi, Rafael[1]*

[*1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Instituto de Química Rosario (IQUIR-CONICET), Universidad Nacional de Rosario; [3] Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química-Física (INQUIMAE-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales , Universidad de Buenos Aires; [4] Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD), es una enzima antioxidante localizada en la mitocondria cuya función es la detoxificación de superóxido.El peroxinitrito, especie oxidante producto de la reacción entre el óxido nítrico y el superóxido se genera con una constante de velocidad de $k=0,6\text{-}2,0x10^{10}M^{-1}s^{-1}$. Esta reacción puede competir por el superóxido a la MnSOD ($k\sim1x10^{9}M^{-1}s^{-1}$), siendo el peroxinitrito entonces capaz de reaccionar con MnSOD, nitrando una tirosina crítica en la posición 34 (Tyr34). La nitración de MnSOD a nivel de la Tyr34 es uno de los principales ejemplos de nitración de tirosinas con consecuencias funcionales, presente en una gran variedad de patologías. En un artículo reciente se reportó una constante de reacción de MnSOD de E. coli con peroxinitrito de $9,3x10^{2}M^{-1}s^{-1}$, valor que difiere de los resultados previamente reportados por nuestro laboratorio ($k=2x10^{5}M^{-1}s^{-1}$). Debido a la controversia entre las constantes de reacción de MnSOD con peroxinitrito reportadas, se estudió nuevamente dicha reacción utilizando métodos cinéticos (directos y utilizando sondas fluorescentes), y se realizaron estudios teóricos computacionales, de manera de determinar el mecanismo de nitración asociado a la reacción en estudio. Los resultados obtenidos muestran diferencias con las dos constantes reportadas previamente, obteniéndose un valor intermedio de $1,92x10^{4}M^{-1}s^{-1}$ por tetrámero. Por otra parte, los estudios teóricos basados en métodos de QM/MM permitieron el estudio de diferentes condiciones, a nivel molecular, de la reacción de MnSOD con peroxinitrito y la nitración de la Tyr34. Estos resultados fueron consistentes con un mecanismo de reacción catalizado por metales planteado previamente en la literatura.

S3_063 Mecanismo de desacoplamiento de la enzima eNOS mediada por peroxinitrito

*Subelzu, Natalia[1 *]; Peluffo, Gonzalo [1]; Michel, Thomas[2]; Radi, Rafael[1]; Romero, Natalia[3]*

[*1] Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Cardiovascular Division, Brigham and Women´s Hospital, Harvard Medical School; [3] Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República - Cardiovascular Division, Brigham and Women´s Hospital, Harvard Medical School

El óxido nítrico ($^{\cdot}NO$) es sintetizado por las células endoteliales por la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). Diversas fisiopatologías comunes como diabetes e hipertensión se asocian al aumento en la formación vascular del anión-radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el cual reacciona con $^{\cdot}NO$ formando peroxinitrito. Este oxidante promueve modificaciones estructurales y funcionales en proteínas al oxidar tioles, centros metálicos o promover nitración de residuos de tirosina. Se ha reportado que el peroxinitrito podría reaccionar con la eNOS aunque se desconoce el mecanismo. Estudiamos el mecanismo de la reacción de la enzima eNOS con peroxinitrito, donde evaluamos la oxidación de tioles presentes en el dominio reductasa. El peroxinitrito reacciona con uno de ellos directamente con una constante de $2x10^{4}\ M^{-1}s^{-1}$ y no reacciona con otros oxidantes biológicamente relevantes como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), mientras puede formar radicales tiílos con otras cisteínas. Estudiamos la relevancia de esta reacción en cultivos celulares, para lo cual evaluamos la oxidación de la eNOS por peroxinitrito en células endoteliales. Por otra parte generamos una línea celular HEK transfectada para la sobreexpresión de eNOS y las mutantes C910S, C691S y la doble mutante C910S/C691S. Evaluamos la formación de peroxinitrito y H_2O_2 por las técnicas de in vivo imaging y en lector de placas. Estudiamos los cambios en la actividad eNOS luego del tratamiento con oxidantes. Los resultados obtenidos demuestran que la eNOS es un blanco celular de oxidantes y la comprensión del mecanismo de oxidación es necesario para el desarrollo de estrategias que mejoren la función endotelial.

POSTERS

S3_065 Estudio de las propiedades analgésicas de nitroalquenos aromáticos sintéticos

*Celano, Laura [1 *]; Cataldo, Nicolás[2]; Cerecetto, Hugo[3]; González, Mercedes[4]; Thomson, Leonor[1]*

[* 1] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República - Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [3] Área Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares - Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los agentes antiinflamatorios no esteroideos son ampliamente utilizados en el tratamiento de diversas patologías con componente inflamatorio como la artritis reumatoidea, tendinitis y artrosis. La mayoría de estos medicamentos son inhibidores de las isoformas PGHS-1 y PGHS-2, sin embargo presentan diferencias en su respuesta, siendo en algunos casos más eficientes contra una de ellas. Por ejemplo, el ácido acetilsalicílico (aspirina) es un inhibidor 10 a 100 veces más potente de la isoforma PGHS-1, presentando efectos secundarios relacionados con la pérdida de protección de la mucosa gástrica asociada a esta isoforma. Estudios preliminares realizados por nuestro grupo en un modelo celular y animal mostraron que cuatro nitroderivados (B1, B2, F1, F2) presentaban actividad analgésica. Los compuestos entonces fueron estudiados como inhibidores de las isoformas 1 y 2 tanto para la concentración utilizada en el modelo animal (30 μM) como en el celular (10 μM). Todos mostraron un porcentaje de inhibición similar para la isoforma PGHS-1 en las concentraciones ensayadas, situándose en ~20 % para 10 μM y ~40 % para 30 μM. La isoforma PGHS-2 también fue inhibida por todos los compuestos en un porcentaje aún mayor (~ 50 %), destacándose el compuesto B2 al disminuir la actividad PGHS-2 en un 72 % y 88 % para 10 y 30 μM, respectivamente. Los compuestos B1 y B2 se seleccionaron para caracterizar esta inhibición en forma discriminada sobre las actividades ciclooxigenasa y peroxidasa de la isoforma PGHS-2.

S3_066 Efecto de diferentes agentes que modulan la actividad y expresión del ENaC sobre la cicatrización de la córnea en un modelo de ojo de rata ex vivo

Cabo, Federico[1]; Justet, Cristian[1]; Hernández, Julio[2]; Chifflet, Silvia[1]

[1] Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República; [2] Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El estudio de la cicatrización de heridas de córnea es de gran importancia en la medicina oftalmológica. En nuestro laboratorio encontramos que en diversos epitelios en cultivo el canal de sodio epitelial (ENaC) participa en la modulación de la velocidad de cicatrización. Entre otros aspectos, mostramos que el aumento de expresión o de inserción del ENaC en la membrana plasmática provoca un incremento de la velocidad de cicatrización, mientras que la inhibición del canal provoca su disminución. En este trabajo se desarrolló un sistema ex vivo para el estudio de la cicatrización de heridas profundas y superficiales de córnea y para la determinación del rol del ENaC sobre la cicatrización en este sistema. Se describen aquí las condiciones de cultivo de ojo de rata que encontramos que mejor mantienen la morfología e integridad de la córnea. Nuestros principales resultados fueron que el aumento de expresión (aldosterona) y de inserción (aldosterona y forskolina) del ENaC determinaron incrementos de la velocidad de cicatrización de aproximadamente 25 y 35%, respectivamente. Por otra parte, la inhibición del canal (fenamil) provocó una disminución de dicha velocidad de aproximadamente 15%. Los resultados fueron similares tanto en heridas superficiales como profundas. En estudios preliminares no se observaron cambios importantes en la expresión de TGF-β, un marcador de inflamación en heridas de córnea. Nuestros resultados sugieren que la velocidad de cicatrización de heridas de córnea podría ser modulada a través del uso de fármacos que actúen sobre la actividad, expresión y localización del ENaC.

Ecología - Sesión 3

S3_067 Embalses como incubadoras de cianobacterias: efecto de la residencia del agua y la disponibilidad de nutrientes

*Illarze, Mariana[1 *]; Bonilla, Sylvia[1]; Aubriot, Luis[1]*

[* 1] Sección Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En las últimas décadas, las actividades antrópicas han incrementado el aporte de nutrientes a los cuerpos de agua continentales. En consecuencia, se ve favorecido el aumento abrupto de biomasa fitoplanctónica, principalmente de cianobacterias capaces de producir toxinas. Cambios en el tiempo de residencia de los ríos, ejemplo al crear embalses, también beneficia la acumulación de cianobacterias. Este fenómeno, llamado floración, provoca gradualmente pérdida de biodiversidad y deterioro de calidad del agua. El Río Negro, uno de los ecosistemas más importantes del país, tiene tres embalses en cadena donde se registran frecuentes floraciones de cianobacterias tóxicas. El objetivo del estudio fue determinar la influencia del tiempo de residencia y de los nutrientes como factores reguladores de la formación de floraciones en dichos embalses. Se usó una aproximación experimental con muestras naturales de fitoplancton, con un diseño al azar en el cual se aplicaron 4 tratamientos, combinando factores: con y sin dilución, y, con y sin agregado de nutrientes. Se evaluó la respuesta general de la comunidad de fitoplancton a través de la medición diaria de indicadores de biomasa: concentración de clorofila a y ficocianina por fluorometría. Los resultados preliminares indicaron que los tratamientos con mayor tiempo de residencia del agua y elevada concentración de nutrientes presentan mayor crecimiento del fitoplancton, particularmente de cianobacterias. Esto sugiere que el tiempo de residencia junto con los nutrientes son variables claves para explicar las acumulaciones de cianobacterias en los embalses. La información generada brindará bases científicas que contribuyan con un manejo integrado del Río Negro.

S3_069 Evaluación de diferentes intensidades de laboreo sobre crecimiento inicial de Eucaliptus

*González Barrios, Pablo[1 *]; Pérez Bidegain, Mario[2]; Gutiérrez, Lucía[2]*

[* 1] Departamento de Biometría Estadística y Cómputo, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

La preparación del sitio en plantaciones comerciales forestales a través del laboreo es uno de los momentos más críticos en términos de riesgo de erosión de suelos. Esto hace necesario el diseño de estrategias de laboreos que manteniendo sus niveles óptimos de productividad, reduzcan los movimientos de suelos e incidan positivamente sobre la sostenibilidad de los sistemas forestales en Uruguay. El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes intensidades de laboreo sobre variables de crecimiento inicial de Eucaliptus grandis y comparar diferentes estrategias en la incorporación de medidas de manejo sitio- específico. Se realizaron dos experimentos sobre condiciones contrastantes de suelo, utilizando un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro y cinco repeticiones respectivamente, siendo los tratamientos: plantación al pozo, excéntrica y subsolador. Altura y diámetro de cada árbol fueron relevados periódicamente durante el periodo experimental (5 a 30 meses post-plantación) y variables relevantes de suelo fueron determinadas para caracterizar la variabilidad espacial existente. Los resultados indican que sobre mejores condiciones para el desarrollo de plantas, no existieron diferencias significativas entre las prácticas más intensivas (Excéntrica y Subsolado), mientras que en peores condiciones de sitio la aplicación de medidas de manejo sitio-específico permitiría identificar zonas donde practicas más intensivas no son necesarias. La caracterización de la variabilidad espacial de suelos en plantaciones forestales y el uso de herramientas estadísticas apropiadas, permiten hacer un uso más eficiente de los recursos, disminuyendo el riesgo de erosión y aportando a la generación de sistemas de preparación de sitio más sostenibles.

S3_071 Eutrofización y floraciones de cianobacterias en ecosistemas acuáticos continentales de Uruguay

*Martigani, Fátima[1 *]; Haakonsson , Signe [1]; Aubriot, Luis[1]; Yorda, Gabriel[2]; De León, Lizet[2]; Chalar, Guillermo[3]; Gravier, Ana[4]; Britos, Anamar[4]; Vidal, Leticia[4]; Bonilla, Sylvia[1]*

[*1] Sección Limnología. Grupo de Ecología y Fisiología de Fitoplancton, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Ministerio de Vivienda Ordenamiento, Territorial y Medio Ambiente (DINAMA-MVOTMA), División Calidad Ambiental; [3] Sección Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [4] Obras Sanitarias del Estado, División Análisis Biológicos - Área Hidrobiología. Laboratorio Central Dr. Francisco Alciaturi

Las cianobacterias planctonicas potencialmente toxicas pueden incrementar rapidamente su biomasa (floraciones) lo que conlleva a limitaciones en el uso del agua. Este fenomeno puede asociarse con aumentos en la carga de nutrientes, principalmente nitrogeno y fosforo, como consecuencia de la urbanizacion y de la actividad agroindustrial asociada a los cuerpos de agua, proceso llamado eutrofizacion. Recientemente las floraciones de cianobacterias han despertado interes por parte de investigadores y gestores de nuestro pais. Este trabajo tuvo por objetivo caracterizar ecosistemas acuaticos respecto a su concentracion de nutrientes e indicadores de biomasa de cianobacterias en un analisis integral a nivel pais, basados en informacion disponible. Para esto se construyo una base de datos con informacion de 50 ecosistemas acuaticos (más de 1500 datos) incluyendo variables bioticas y abioticas, brindados por la Universidad de la Republica, DINAMA y OSE. La mayoria de los ecosistemas analizados presentan valores de fosforo total altos (eutroficos) siendo superiores a los niveles establecidos por la normativa nacional vigente. Estos valores no se correlacionaron con floraciones en ecosistemas de aguas corrientes. Los registros de floraciones (>50 μg/l clorofila-a, >80% biovolumen de cianobacterias en el total de fitoplancton) se asociaron a ambientes lacustres, playas, zonas de remanso de rios y arroyos con cianobacterias potencialmente toxicas que comprometen el uso del agua. Los resultados indican eutrofizacion en muchos de los ecosistemas acuaticos estudiados, lo que puede favorecer el crecimiento de cianobacterias, por lo que mas estudios son necesarios para contribuir a establecer nuevas medidas de gestion y monitoreo.

S3_073 Biodisponibilidad de metales traza en playas del Río de la Plata: Laeonereis acuta como organismo clave

*Castiglioni, Delfina[1 *]; Smith, Brian [2]; Rainbow, Phil[2]; García Alonso, Javier[1]*

[*1] Centro Universitario de la Región Este, Universidad de la República; [2] Natural History Museum, London

Los poliquetos son organismos claves en ecosistemas costeros estuarinos. Estos organismos son ítems alimenticios clave tanto de comunidades acuáticas (peces y crustáceos), como terrestres (aves). Laeonereis acuta es un poliqueto que habita el intermareal del Río de la Plata y al ser sedimentívoro, puede representar una vía de entrada de contaminantes a las redes tróficas costeras. En el presente trabajo, se determinan las concentraciones de cinco metales (Zn, Pb, Cu, Cr y Cd) en sedimentos (totales y biodisponibles) y en poliquetos en 6 playas estuarinas con distintos impactos antrópicos. Los sedimentos fueron digeridos con HF (totales) o HCl 1 N (biodisponibles) y se cuantificaron con ICP-OES. Los metales en L. acuta se midieron por ICP-MS. Se analizaron las correlaciones entre fracciones totales y biodisponibles en sedimento y las encontradas en L. acuta para determinar la acumulación específica de cada elemento. Zn es el elemento más abundante tanto en L. acuta como en sedimentos, mientras que Cd se encontró en todos los casos por debajo del límite de detección. Altos niveles de elementos no esenciales y tóxicos como Pb indican contaminación costera y se evalúa el papel de estos organismos como especie de estudio en ecotoxicología de estuarios.

S3_075 *Paspalum* en mezclas forrajeras: disponibilidad de forraje, resistencia a la invasión, y estabilidad

*Tejera, Mauricio[1 *]; Picasso, Valentín[2]; Speranza, Pablo[3]*

[*1] Depto. Prod. Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [2] Depto. Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República; [3] Depto. Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

Una de las principales limitantes de la producción ganadera en Uruguay es la corta vida útil de sus pasturas sembradas. Una de las alternativas para solucionar este problema es la inclusión de gramíneas perennes estivales. El género Paspalum presenta buena adaptación a las condiciones ambientales regionales y buen potencial forrajero. Sin embargo la investigación nacional previa ha sido de pequeña escala y por cortos períodos de tiempo, lo cual ha limitado su inclusión en mezclas comerciales. El objetivo de esta investigación fue evaluar la inclusión de P. dilatatum y P. notatum sobre la disponibilidad de forraje, la resistencia a la invasión, y la estabilidad de una mezcla convencional de leguminosas y gramíneas invernales durante 4 años. Las mezclas no mostraron diferencias en su disponibilidad de forraje, ni biomasa de especies invasoras. Las mezclas con Paspalum presentaron mayor cobertura en otoño y las mezclas con P. notatum presentaron menor cobertura en invierno. Las mezclas no mostraron diferencias para los indicadores de estabilidad temporal utilizados. El componente invernal (Festuca) disminuyó en mezclas con P. notatum, lo cual no ocurrió en mezclas con P. dilatatum. El denso tapiz de generado por P. notatum puede aumentar la cobertura en otoño pero disminuir la disponibilidad en invierno debido a una reducción en la abundancia de Festuca. Para maximizar los beneficios de la inclusión de una gramínea perenne estival es recomendable que las especies presenten una habilidad competitiva moderada, como P. dilatatum, de forma de evitar impactos negativos sobre el componente templado.

POSTERS

Virología - Sesión 3

S3_079 Diagnóstico y caracterización genética del virus de la anemia infecciosa aviar en la industria avícola uruguaya

*Techera, Claudia [1 *]; Marandino, Ana [1]; Tomás, Gonzalo[1]; Hernández, Martín [1]; Hernández, Diego[1]; Panzera, Yanina[1]; Pérez, Ruben[1]*

[* 1] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El virus de la Anemia Infecciosa Aviar (CAV) causa inmunosupresión en aves de corral y es responsable de pérdidas económicas relevantes en la avicultura internacional. CAV (familia Circoviridae) es un virus pequeño, con genoma ADN simple hebra circular de polaridad negativa (2,3 Kb), que posee tres genes parcialmente solapados: VP1, VP2 y VP3. El gen VP1 codifica para la proteína de cápside y tiene alta variabilidad, por lo cual se utiliza para la caracterización genética de las cepas. Hasta la fecha no existen reportes de caracterización genética de CAV en Uruguay. Con el objetivo de diagnosticar y caracterizar genéticamente las cepas de CAV que circulan en nuestro país, desarrollamos un ensayo de PCR que amplifica una región variable del gen VP1 (720 pb). La metodología se estandarizó con una cepa vacunal, y posteriormente se aplicó en muestras de timos y bursas provenientes de aves con sintomatología presuntiva de anemia, colectadas durante los años 2010-2014. El virus se detectó en algunas aves, muchas veces co-infectando con el virus de Gumboro y de la bronquitis infecciosa aviar. Los análisis filogenéticos mostraron que las cepas uruguayas de CAV pertenecen a un mismo genotipo, diferente al de la cepa vacunal, y presentan alta homología con cepas argentinas, brasileras y chilenas. Próximamente se analizarán aspectos evolutivos de CAV mediante la secuenciación y análisis de genomas completos. Este trabajo se enmarca en la línea de investigación del laboratorio que analiza el impacto de agentes virales y bacterianos en la industria avícola uruguaya.

S3_081 Desarrollo de un nuevo método diagnóstico para la Leucosis Bovina Enzoótica

*Addiego, Andrés[1 *]; Carrión, Federico[1]; Tomé, Lorena[1]; Obal, Gonzalo[1]; Pritsch, Otto[1]; Bianchi, Sergio[1]*

[* 1] Unidad de Biofísica de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad infecciosa de alta prevalencia en nuestro país, que afecta al ganado vacuno y que puede ocasionar importantes pérdidas económicas. Es causada por un deltarretrovirus denominado Virus de la Leucemia Bovina (VLB) que infecta principalmente linfocitos B. La LBE se caracteriza clínicamente por presentar tres estadíos en su evolución: una primera fase de infección asintomática; una fase de linfocitosis persistente, caracterizada por una expansión policlonal preneoplásica de linfocitos B IgM+/CD5+; y finalmente, el desarrollo de una leucemia/linfoma a células B. La infección viral desencadena en el hospedero una respuesta inmune persistente caracterizada por la presencia de anticuerpos específicos contra las proteínas virales gp51 (glicoproteína de la envoltura) y p24 (proteína estructural) en el suero del animal. La seropositividad para estos anticuerpos representa el mejor indicador de infección por VLB y es actualmente el método estándar para su diagnóstico. En el presente trabajo comparamos los resultados de un ELISA comercial de referencia utilizado a nivel internacional (VMRD Inc., Pullman, WA) frente a 2 ELISAs indirectos desarrollados en nuestro laboratorio que detectan anticuerpos anti-gp51 y anti-p24. Luego del análisis de 209 sueros bovinos, nuestros resultados muestran una especificidad de 0,930 y una sensibilidad de 0,926 para gp51; en tanto que para p24 la especificidad es de 0,947 y la sensibilidad de 0,776. Más allá de la necesidad de aumentar el número de sueros testados, estos resultados primarios abren la posibilidad de un desarrollo biotecnológico que permita el diagnóstico de esta patología a menores costos.

S3_083 Estudio de la variabilidad genética del Virus Influenza A: Aproximación al análisis de cuasiespecies.

*Sóñora, Martín [1 *]; Moreno, Pilar[1]; Moratorio, Gonzalo[1]; Uriarte, Rosario[2]; Boschi, Susana[2]; Álvarez, Fernando[3]; Guerberoff, Gustavo[3]; Cristina, Juan[1]*

[* 1] Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; [2] Laboratorio de Biología Molecular, Asociación Española Primera de Socorros Mutuos; [3] Laboratoiro de Biomatemática, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Al igual que numerosos virus de gran importancia médica con genoma ARN, el Virus Influenza A (VIA) replica a una tasa de mutación extremadamente alta y exhibe una significativa diversidad genética. Esta diversidad permite a la población viral emerger y adaptarse rápidamente a nuevos ambientes y hospederos, así como evolucionar hacia la resistencia a vacunas y drogas antivirales. El objetivo de este trabajo es estudiar la variabilidad genética de las cepas de VIA H3N2 que circularon en Uruguay entre los años 2011 y 2013. Se amplificaron y analizaron las secuancias consenso de los principales blancos antigénicos del VIA, Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA), para ocho de las muestras obtenidas en dicho periodo, de forma de establecer las relaciones filogenéticas y antigénicas entre las variantes de estas poblaciones y la cepa vacunal. Los resultados del presente estudio indican una relacion filogenética distante entre las estirpes analizadas y la cepa vacunal recomendada para ese mismo periodo. Asimismo, se pudo evidenciar una apreciable variabilidad genética entre las muestras de cada año, lo que refuerza la necesidad de realizar estudios más exhaustivos de las cepas de VIA que circulan en nuestro país. El conocimiento en profundidad de las cuasiespecies virales y su evolución tiene profundas implicancias para nuestra comprensión de las enfermedades causadas por estos agentes. La reconstrucción de las cuasiespecies permitirá describir detalladamente la composición de los genomas virales individuales, su relación genética e historia evolutiva.

S3_085 Desarrollo de un ensayo de PCR en tiempo real para la diferenciación del genotipo del virus de Gumboro predominante en Uruguay

*Tomás, Gonzalo[1 *]; Hernández, Martín[1]; Marandino, Ana[1]; Hernández, Diego[1]; Panzera, Yanina[1]; Techera, Claudia[1]; Pérez, Ruben[1]*

[* 1] Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El virus de Gumboro (Birnaviridae, Avibirnavirus), es un patógeno que afecta gravemente la industria avícola mundial. Provoca una enfermedad inmunitaria en aves jóvenes de entre 2-6 semanas de edad, causando desde una leve inmunodepresión hasta una grave inmunosupresión. El genoma del virus está compuesto por dos segmentos de ARN doble hebra llamados A (3.200 pb) y B (2.900 pb), los cuales codifican cinco proteínas virales (VP1-5). A nivel mundial existen tres cepas virales: clásicas, variantes e hipervirulentas. Las dos primeras se conocen como cepas de baja patogenia, mientras que las cepas hipervirulentas son llamadas de alta patogenia. En Uruguay se reportó por primera vez la presencia del virus en el año 2004, la cual se debió a un brote de cepas hipervirulentas. A partir de ese momento se comenzaron a realizar muestreos sistemáticos, encontrándose casi exclusivamente un tipo de cepa genéticamente diferente de las tres previamente conocidas. El objetivo de este trabajo fue diseñar, estandarizar y validar un ensayo de PCR en tiempo real para identificar este tipo particular de virus de Gumboro predominante en nuestro país. Se diseñaron sondas de discriminación alélica (TaqMan-MGB) y distintos cebadores en base a marcadores nucleotídicos característicos de este tipo viral. Luego se realizó la estandarización y validación del método, habiendo obtenido resultados muy satisfactorios en los ensayos realizados. Este método permitirá la detección rápida, sensible y certera de los virus de Gumboro predominantes en Uruguay, lo cual es fundamental para desarrollar planes estratégicos de control de forma inmediata y específica.

Presentaciones orales - Sesión 3

S3_087 Modelos de la interacción entre el ácido oleico y la α–lactoalbúmina en HAMLET: camino a entender las causas de su actividad antitumoral

Klein, Florencia[1(*)]; Ferraro, Florencia[1]; Mastandrea, Ignacio[1]; Cancela, Saira[1]; Merlino, Alicia[1]; Coitiño, Laura[1]

[*1] - Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

HAMLET (Human Alpha-lactalbumin Made LEthal to Tumor cells) es un complejo lipoproteico formado por α–Lactoalbúmina (α-La) y ácido oleico (OA) que viene siendo objeto de estudio como potencial agente quimioterapéutico, existiendo evidencia clara de su actividad citotóxica contra células cancerígenas. Su mecanismo de acción sobre células tumorales aún no ha sido completamente dilucidado y varias características fisicoquímicas del complejo no están aún caracterizadas. No obstante ello, la evidencia disponible luego de 10 años de intensa investigación muestra que a concentraciones similares ninguno de los componentes aislados del complejo es efectivo para tratar células tumorales, asociándose la actividad únicamente a HAMLET. Lograr un conocimiento a nivel molecular (con detalle atómico y electrónico) de la interacción entre OA y α-La resulta fundamental tanto para lograr una mayor comprensión del mecanismo de acción anticancerígena del complejo, como h acia el diseño de nuevos agentes antitumorales más selectivos a las células tumorales. En el presente trabajo partiendo del conocimiento de la estructura cristalográfica de α-La se modeló computacionalmente la interacción entre los elementos integrantes del complejo en solución acuosa mediante técnicas de docking ligando-proteína, dinámica molecular clásica y métodos multiescala mixtos clásico-cuánticos (ONIOM QM/MM). Los resultados obtenidos permiten identificar cuáles son los residuos involucrados en la unión α-La:OA (en relación 1:1 u otra proporción) y analizar a nivel atómico los cambios conformacionales y las variaciones que la proteína y el ácido oleico inducen mutuamente en sus propiedades fisicoquímicas (estudiadas hasta detalle electrónico) a consecuencia de dicha interacción.

S3_088 Terapia génica lentiviral para el tratamiento de dolor crónico

Villamil, Emilia[1(*)]; Negro, Luciana[1]; Sayós, Joan[2]; Peluffo, Hugo[3]; Lago, Natalia[1]

[*1] - Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo. [2] Hospital Universitari Vall d'Hebrón, Barcelona. [3] Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo- Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El dolor crónico se caracteriza por persistir en el tiempo por semanas, meses e incluso años. Genera una disminución en la calidad de vida de quienes lo padecen así como costos sanitarios muy elevados, no existiendo tratamientos eficaces antinociceptivos. En los últimos años, se ha descrito que las células inmunitarias juegan un papel importante en la modulación del dolor no sólo en tejido inflamado sino también en nervio periférico dañado o sistema nervioso central. La respuesta inflamatoria es regulada en parte por receptores inmunes modulando las respuestas celulares. El inmunoreceptor CD300f es una diana interesante mostrando efectos anti-inflamatorios en modelos de esclerosis múltiple, alergia y lupus. En el presente trabajo hemos evaluado el efecto de la modulación del inmunoreceptor CD300f sobre la hiperalgesia producida por inyección intraplantar de Adyuvante Completo de Freund (ACF). Hemos observado como la expresión de CD300f aumenta en la piel inyectada con ACF. Bajo este marco, se evaluó si el bloqueo de la interacción entre el CD300f y sus ligandos exacerba la hiperalgesia térmica, mediante la inyección intraplantar de una proteína de fusión CD300f-IgG2a. Los resultados muestran que la inyección única de la proteína de fusión no es suficiente para exacerbar la hiperalgesia térmica. La utilización de ratones CD300f-KO serán necesarios para confirmar este resultado. Por otro lado, se inyectó intraplantarmente un lentivector integrativo para sobreexpresar el CD300f. Los resultados mostraron que la sobre-expresión de CD300f disminuyó significativamente la hiperalgesia térmica mostrándose como una estrategia terapéutica prometedora para el tratamiento del dolor crónico.

S3_089 Predicción de función sináptica en genes de *Drosophila melanogaster* a partir de su transcriptoma temporal mediante una combinación de algoritmos de aprendizaje automático

Pazos, Flavio[1(*)]; Papalardo, Cecilia[2]; Castro, Sebastián[2]; Cantera, Rafael [1]; Guerberoff, Gustavo [2]

[*1] Departamento de Biología del Neurodesarrollo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.[2] Instituto de Matemática y Estadística, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

El ensamblaje y funcionamiento de la sinapsis neuronal requieren la expresión de un número de genes aún no determinado. Se conocen algunas decenas, pero se estima que son varios cientos los genes imprescindibles para este proceso. En este trabajo combinamos tres algoritmos de aprendizaje para predecir función sináptica en genes de *Drosophila melanogaster*, a partir del transcriptoma temporal correspondiente a su desarrollo. Para ello, entrenamos tres algoritmos de aprendizaje automático supervisado; Random Forest, Support Vector Machine y k-NN, construyendo una muestra de entrenamiento conformada por genes con función sináptica firmemente establecida y genes para los que esa función es muy poco probable. Los tres algoritmos alcanzaron errores menores al 5% sobre la muestra de entrenamiento, así como un alto grado de coincidencia en su clasificación del resto del genoma. Para obtener un catálogo de tamaño adecuado combinamos criterios estadísticos y biológic os; la minimización de la probabilidad de falsos positivos, el enriquecimiento funcional en términos GO asociados a sinapsis y el enriquecimiento en genes expresados preferencialmente en el sistema nervioso central. Los genes de nuestro catálogo final poseen, según los tres modelos, una probabilidad mayor al 90% de tener función sináptica. Aunque la importancia para la sinapsis de cada uno de estos genes debe ser experimentalmente comprobada, este abordaje permite dirigir la experimentación (ahorrando tiempo y recursos) y puede ser aplicado a la predicción de otras funciones biológicas.

S3_090 La activación de receptores purinérgicos con ATP inhibe tanto la apoptosis dependiente como la independiente de caspasas en células de endotelio de córnea de bovino en cultivo

Justet, Cristian[1(*)]; Hernández, Julio[2]; Chifflet, Silvia[1]

[*1] Facultad de Medicina, Universidad de la República. [2] Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Además de su rol como molécula de alta energía, el ATP participa de procesos de señalización. Diversos estímulos inducen su liberación al medio extracelular, donde activa receptores purinérgicos. La activación de estos receptores genera principalmente el incremento de concentración citosólica de calcio. En trabajos previos encontramos que, en células de endotelio de córnea de bovino (BCE) en cultivo, se produce apoptosis caspasa-dependiente durante las primeras 24 horas después de realizada una herida. Asimismo, de forma instantánea luego de realizada una herida, se produce una onda de calcio mediada por la liberación de ATP. En nuestro laboratorio hemos encontrado que dicha onda inhibe la apoptosis durante la cicatrización. En este trabajo nos propusimos determinar el efecto de la incubación con ATP sobre la apoptosis en monocapas indemnes de células de BCE en cultivo. Encontramos que la incubación durante 24 horas con etopósido 150 μM (inductor de apoptosis caspasa-de pendiente) o con hexametilen-amiloride 80 μM (inductor de apoptosis caspasa-independiente) provoca un incremento del índice apoptótico de aproximadamente 300%. Sin embargo, la incubación previa durante 2 minutos con ATP 100 μM induce una reducción del incremento de apoptosis hasta aproximadamente 150% en ambos casos. Además, la inhibición del incremento de concentración de calcio citosólico (utilizando ácido ciclopiazónico 10 μM y EGTA 100 μM) bloquea por completo el efecto protector del ATP. En su conjunto, nuestros resultados sugieren que la activación de receptores purinérgicos mediante incubación con ATP tiene un efector de protección contra la apoptosis de forma dependiente del incremento de calcio citosólico.

S3_091 Ritmos circadianos humanos desafiados por las condiciones ambientales antárticas

Horta, Stefany[1(*)]; Santana, Noelia[1]; Martino, Natalia[1]; Levandovski, Rosa[2]; Tassino, Bettina[3]; Silva, Ana[4]

[*1] Primera Escuela de Iniciación a la Investigación Antártica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. [2] Laboratorio de Cronobiología, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidad Federal de Rio Grande do Sul. [3] Escuela de Iniciación a la Investigación Antártica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República- Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. [4] Primera Escuela de Iniciación a la Investigación Antártica, Facultad de Ciencias, UdelaR; Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, UdelaR; Unidad Bases Neurales de la Conducta, IIBCE

En el marco de la Primera Escuela de Verano de Iniciación a la Investigación Antártica, se realizó una investigación con el objetivo de evaluar el impacto de las extremas condiciones antárticas (temperatura y fotoperíodo) sobre los ritmos circadianos humanos. Los objetivos específicos fueron determinar cronotipos, estudiar variaciones en tiempos de reacción, y evaluar el ciclo de sueño-vigilia de la población de estudio constituida por 17 estudiantes universitarios (21-25 años). Se construyeron diarios de sueño y se midió actividad, temperatura corporal y exposición a la luz por actimetría durante 35 días subdivididos en tres períodos: Pre Antártico, Antártico y Post Antártico, (enero-febrero, 2014) en Montevideo y en la Base Científica Antártica Artigas. Al inicio, se utilizó el cuestionario de Munich para determinar el cronotipo de los participantes. Se evaluó el desempeño cognitivo por pruebas de medida del tiempo de reacción a diferentes horas del día durante el período Antártico. Los resultados muestran cronotipos mayoritariamente tardíos. Se observó una disminución significativa en la duración del sueño y el MSF (mid-sleep on free days) en el período Antártico y un aumento en el período Post antártico de ambos parámetros. Se comprobó la existencia de una discrepancia entre el reloj interno y el reloj social (jet lag social) de dos horas. Sin embargo, el patrón circadiano del desempeño cognitivo no se alejó de lo reportado en estudios previos en jóvenes. Se confirma el interés de esta población para evaluar el impacto de la desincronización entre la agenda socio-laboral y los ritmos biológicos.

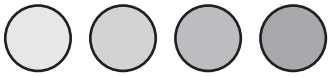
S3_092 Desarrollo y caracterización de anticuerpos monoclonales anti-nitroNGF

Varela, Valentina[1(*)]; Richter, Monique[1]; Lago, Natalia[1]; De León, Andrés[1]; Puig, Natalia[1]; Alzari, Pedro[2]; Barbeito, Luis[1]

[*1] Laboratorio de Neurodegeneración, Institut Pasteur de Montevideo | (*) Uruguay. [2] Structural Microbiology Unit, Institut Pasteur Paris

El NGF (Nerve Growth Factor), proteína perteneciente a la familia de las neurotrofinas, es esencial para la diferenciación y supervivencia de poblaciones específicas de neuronas durante el desarrollo, y modula la plasticidad del sistema nervioso maduro. En condiciones inflamatorias, hay una sobreexpresión de NGF, actuando como mediador nociceptivo en el sistema sensorial. El bloqueo de la acción del NGF por anticuerpos neutralizantes resulta en un potente efecto antinociceptivo. Nuestro laboratorio demostró la existencia de especies nitradas de NGF (nitroNGF) bajo condiciones oxidantes y nitrantes de la inflamación, adquiriendo una "ganancia de función" con respecto a la neurotrofina no nitrada. Recientemente hemos desarrollado cuatro anticuerpos monoclonales (mAbs) que reconocen un epítope específico del nitroNGF. Mediante Western Blot y ELISA observamos que dos de ellos reconocen un epítope conformacional, mientras que los otros dos reconocen un epítope lineal. El aliniam iento de las secuencias de los mAbs mostró similitudes con el patrón de reconocimiento. Estos mAbs muestran actividad neutralizante de la degranulación mastocitaria de la línea RBL-2H3 estimulada por nitroNGF, y no interfieren con la actividad trófica del NGF no nitrado en bioensayos con células PC12. In vivo, se realizaron inmunizaciones pasivas en ratones sujetos a un modelo de dolor inflamatorio para demostrar el rol biológico de los mAbs. Los resultados preliminares muestran un gran potencial terapéutico y diagnóstico de los mAbs anti-nitroNGF.

Índice de Participantes



ÍNDICE DE PARTICIPANTES

Nombre, Apellido	Código	N°Pág
Alves Da Cunha, Mário	S2_042	107
Abin Carriquiry, Juan Andres	S1_078	089
Abin-Carriquiry, Andrés	S2_001	097
Abin-Carriquiry, Juan Andres	S1_059	084
Abin-Carriquiry, Juan Andrés	198	039
Abin-Carriquiry, Juan Andrés	423	064
Abin-Carriquiry, Juan Andrés	S1_058	084
Abin-Carriquiry, Juan Andrés	S1_080	089
Abramovich, Dalhia	277	045
Abramovich, Dalhia	123	059
Abramovich, Dalhia	S1_020	074
Abud, Ana Paula	389	028
Abud, Maria	S1_021	074
Achigar, Rodrigo	131	023
Acosta, Silvina	S3_043	131
Addiego, Andrés	376	061
Addiego, Andrés	S1_010	071
Addiego, Andrés	S3_081	136
Afonso, Joaquín	S1_039	079
Agorio, Astrid	412	030
Agorio, Caroline	118	045
Agrati, Daniella	312	047
Agrati, Daniella	292	059
Agrati, Daniella	S1_022	074
Agrati, Daniella	S2_026	103
Aguiar, Alessandra	389	028
Aguiar, Sofía	S1_011	071
Aguilar, Lorena	053	044
Aguilar, Pablo	S2_027	103
Aguilar, Pablo	S2_027	104
Aguilera, Elena	S1_038	078
Aguilera, Elena	S1_046	080
Aguilera, Pedro	S1_056	083
Ahumada, Ariel	S1_027	075
Aicardo, Adrian	S3_035	130
Albanesi, Daniela	S3_037	130
Albo, María José	399	048
Alborés, Silvana	S2_074	116
Alciaturi, Jimena	S3_059	133
Alfaro, Maite	079	029
Alfaya, Lucía	S2_014	100
Alkema, Mark	S2_118	124
Allen, Judith E.	106	054
Allen, Judith E.	S1_114	095
Allori Stazzonelli, Enzo	S2_105	121
Alonzo, Pablo	404	055
Alsina, Laura	S1_013	072
Álvarez Valín, Fernando	336	057
Alvarez, Alfonso	S1_030	076
Alvarez, Andrea	S1_021	074
Alvarez, Beatriz	S3_007	126
Alvarez, Beatriz	S3_029	129
Álvarez, Beatriz	S3_051	132
Álvarez, Beatriz	S3_003	126
Álvarez, Fernando	S3_083	136
Alvarez, Guzman	S1_038	078
Álvarez, Guzmán	S1_041	079
Álvarez, Guzmán	S1_046	080
Álvarez, Guzmán	S1_050	081
Álvarez, Javier Guzman	S1_044	080
Álvarez, María Noel	407	055
Álvarez, María Noel		054
Alvarez, Natalia	053	044
Alvarez, Natalia	S2_044	108
Álvarez, Natalia	S2_050	109
Alvarez-Valin, Fernando	S2_009	099
Alvite, Gabriela	S2_010	099
Alzari, Pedro	258	023
Alzari, Pedro	S3_092	138
Alzugaray, Stefanía	S1_026	075
Amarelle, Vanesa	S2_029	104
Amarelle, Vanesa	S2_072	115
Amarelle, Vanesa	S2_098	119
Amarelle, Vanesa	S2_104	120
Amarelle, Vanesa	S2_112	122
Amaro, Matias	S1_051	082
Amillis, Sotiris	S3_001	126
Ancheta, Sergio	130	037
Andrés, Iriarte	S2_104	120
Anesetti, Gabriel	S1_016	073
Antelo, Verónica	S2_077	117
Antoniades, Dermot	S2_075	116
Antunez, Karina	S1_080	089
Aparicio, Gonzalo	261	018
Aparicio, Gonzalo	S1_046	080
Appelt, Patricia	S2_044	108
Appelt, Patricia	S2_042	107
Arbildi, Erika	S1_039	079
Arbildi, Paula	S1_112	094
Arbiza, Juan	354	061
Arbiza, Juan	356	061
Arce, Carolina	002	029
Arévalo, Ana Paula	130	037
Arezo, Maria Jose	378	058
Arezo, María José	031	049
Arim, Matias	361	034
Arim, Matias	365	034
Arim, Matías	366	035
Arim, Matías		034
Arim, Matías	393	035
Armentano, Ricardo	S2_055	111
Arrarte, Eloisa	268	025
Arredondo, Florencia	S1_078	089
Arredondo, Florencia	S1_080	089
Arredondo, Florencia	S2_001	097
Arreseigor, Edith	077	060
Arruti, Cristina	261	018
Artagaveytia, Nora	S2_041	107
Artagaveytia, Nora	S2_043	107
Aubriot, Luis	168	035
Aubriot, Luis	S3_067	134
Aubriot, Luis	S3_071	135
Azambuja, Carlos	392	063
Azambuja, Carlos J.	409	022
Azziz, Gastón	007	041
Baca, Antonio	S2_059	112
Badano, José	062	042
Badano, José	S2_011	099
Badano, José L.	S2_012	099
Badano, José L.	S2_113	123
Badano, José Luis	144	036
Badano, José Luis	S2_013	100
Badano, José Luis	S3_019	128
Baez, David	401	053
Baraibar, Virginia	S2_099	119
Barbeito, Luis	258	023
Barbeito, Luis	S1_060	084
Barbeito, Luis	S1_096	090
Barbeito, Luis	S1_097	090
Barbeito, Luis	S3_092	138
Barbieri, Amalia	S2_108	121
Barreto, Romina	S1_096	090
Barreto, Romina	S1_097	090
Barrios, Anabella	S1_117	096
Bartesaghi, Silvina	S3_025	129
Bascuas, Thais	S2_046	108
Basso, Alicia		016
Basso, Alicia Leonor	373	017
Batista, Silvia	S2_077	117
Batthyany, Carlos	S2_011	099
Batthyány, Carlos	S1_116	095
Batthyány, Carlos	S2_111	122
Batthyány, Carlos	205	039
Batti, Addeli	389	028
Battistoni, Federico	331	040
Battistoni, Federico	S2_093	118
Battistoni, Federico	S2_097	119
Battistoni, Federico	S2_106	121
Battistoni, Federico	S2_095	118
Battthyany, Carlos	S1_004	069
Bausero, María	S1_013	072
Becana, Manuel	108	031
Becco, Lorena	S2_024	102
Bedó, Gabriela	S2_023	102
Bedó, Gabriela	S2_026	103
Bellanda, Mássimo	S1_120	096
Benavente, R	S2_006	098
Benavides, Fernando	S2_119	124
Benech, Alejandro	S2_066	114
Benech, Juan	S2_116	123
Benech, Nicolás	S1_011	071
Benedetto, Luciana	S1_070	087
Benedetto, Luciana	S1_073	087
Benítez*, Diego	S1_115	095
Bentancor, Marcel	S2_015	100
Bentancor, Marcel	S2_030	104
Beracochea, Martín	S2_093	118
Berazategui, Mauro	365	034
Berberian, Natalia	369	017
Berberian, Natalia	S2_068	114
Berberián, Natalia	S2_063	113
Berdasco, María	S2_041	107
Berglund, Lisa M	035	033
Berná, Luisa	S2_009	099
Berois, Mabel	S2_121	125
Berois, Mabel	S3_023	128
Berois, Mabel	S3_039	130
Berois, Nibia	031	049
Berois, Nibia	378	058
Berois, Nibia	S1_014	072
Berois, Nibia	S2_017	101
Berriolo Bilbao, Patricia	S2_052	110
Berro, Inés	S2_008	098
Berrosteguieta, Ines	S1_057	083
Bertoni, Bernardo	S2_041	107
Bertoni, Bernardo	S2_043	107
Bertoni, Bernardo	S2_058	112
Bertucci, Ana	S1_051	082
Betancor, Laura	250	041
Betancor, Laura	S2_110	122
Betancor, Laura	S2_111	122
Betancor, Laura		040
Bianchi, Sergio	376	061
Bianchi, Sergio	S1_010	071
Bianchi, Sergio	S3_081	136
Bianchimano, Paola	126	019
Biancolo Marino, Leonardo	S1_036	078
Bielli, Alejandro	380	059
Bielli, Alejandro	S1_021	074
Bielli, Alejandro	S1_024	075
Bielli, Alejandro	S1_026	075
Birriel, Estefania	S1_043	080
Birriel, Estefania	S1_047	081
Birriel, Estenia	S1_038	078
Bisio, Hugo	S3_027	129
Bisioli, Carlos	123	059
Bisioli, Claudio	277	045
Bisioli, Claudio	S1_020	074
Blanc, Andrea	S2_121	125
Blanc, Lourdes	391	062
Blanco, Fabiana	035	033
Blanco, Pedro	369	017
Blanco, Pedro	S2_063	113
Blanco, Pedro	S2_068	114
Blasina, Fernanda	S2_023	102
Boada, Matilde	383	028
Boada, Matilde	S2_120	125
Boidi, María	S2_064	113
Bolatto, Carmen	317	036
Bollati, Mariela	S1_009	071
Bollati-Fogolín, Mariela	S2_034	105
Bollazzi, Martin	225	049
Bonanata, Jenner	S3_009	127
Bonanata, Jenner	S3_013	127
Bonecarrère, Victoria	S2_068	114
Bonilla, Braulio	S2_025	103
Bonilla, Braulio	S2_049	109
Bonilla, Carolina	S2_043	107
Bonilla, Mariana	S1_120	096
Bonilla, Mariana	S3_027	129
Bonilla, Sylvia	168	035
Bonilla, Sylvia	356	061
Bonilla, Sylvia	S3_067	134
Bonilla, Sylvia	S3_071	135
Bonnecarrère, Victoria	369	017
Bonnecarrère, Victoria	S1_030	076
Bonnecarrère, Victoria	S1_031	076
Bonnecarrère, Victoria	S2_063	113
Borba, Alejandra	S1_039	079
Borde, Michel	S1_094	090
Borde, Michel	S1_099	091
Borderia, A	359	061
Bornia, Natalia	S1_105	093
Borsani, Omar	S1_032	077
Borsani, Omar		030
Borthagaray, Ana	361	034
Borthagaray, Ana	365	034
Borthagaray, Graciela	S2_102	120
Boschi, Susana	S3_083	136
Bottasso, Natalia	S3_049	132
Botti, Horacio	205	039
Botti, Horacio	S3_029	129
Botti, Horacio	S3_037	130
Bottini, Gualberto	404	055
Boullosa, Nicolás	064	049
Boullosa, Nicolás	S2_070	115
Bouzas, Ana Clara	S2_073	116
Bovio, Patricia	S2_076	116
Bracesco, Nelson	391	062
Bradford, Lara	098	039
Braga, Lucía	S2_076	116
Brandariz, Sofía	S2_056	111
Brando, Victoria	S1_074	088
Brauer, Mónica	126	019
Brauer, Mónica	S1_106	093
Brehm, Klaus	S1_113	095
Breijo, Martín	S2_119	124
Brena, Beatriz	S2_022	102
Bresque, Mariana	248	019
Brignoni, Lucía	S2_041	107
Brignoni, Lucía	S2_043	107
Britos, Anamar	S3_071	135
Briva, Arturo	281	043
Briva, Arturo	S1_007	070
Briva, Arturo	S1_008	070
Browne, Dillon	292	059
Brum, Gustavo	379	026
Brum, Gustavo	S1_006	070
Brunet, JN	S1_016	073
Bruzzone, Juliana	S2_079	117
Buldain, Graciela	S2_098	119
Burgues, Sandra	S2_058	112
Buschiazzo, Alejandro	376	061
Buschiazzo, Alejandro	S2_020	101
Buschiazzo, Alejandro	S2_107	121
Buschiazzo, Alejandro	S3_019	128
Buschiazzo, Alejandro	S3_037	130
Caballero, Nicolas	S1_052	082
Cabana, Álvaro	260	027
Cabana, Álvaro	S2_053	110
Cabana, Álvaro		046
Cabezas, Angela	S2_076	116
Cabo, Federico	S3_021	128
Cabo, Federico	S3_066	134
Cabral, Pablo	237	038
Cabral, Pablo	S1_039	079
Cabral, Pablo	S1_042	079
Cabral, Pablo	S1_045	080
Cabral, Pablo	S2_047	108
Cabral, Pablo	S2_116	123
Cabrera, Florencia	S2_038	106
Cabrera, Mauricio	148	039
Cabrera, Mauricio	S1_042	079
Cabrera, Mauricio	S1_048	081
Cabrera, Mauricio	S1_049	081
Cabrera, Mauricio	S1_050	081
Cabrera, Mirel	S1_045	080
Cagide, Célica	S2_109	122
Cal, Karina	248	019
Calleros, Lucía	S2_065	113
Calleros, Lucía	S2_066	114
Calliari, Danilo	393	035
Calvo, Alejandra	S2_033	105
Calzada, Victoria	S1_045	080
Cambiazo, Verónica	317	036
Camesasca, Laura	S2_027	103
Camesasca, Laura	S2_027	104
Campo, Julio	S2_077	117
Campolo, Nicolás	S3_025	129
Cancela, Florencia	354	061
Cancela, Saira	052	053
Cancela, Saira	S1_009	071
Cancela, Saira	S3_087	137
Canclini, Lucia	248	019
Canclini, Lucia	294	019
Canclini, Lucía	424	065
Canclini, Lucía	S1_104	092
Canepa, Mariel	S3_059	133
Canosa, Luis F.	115	058
Cantera, Rafael	022	057
Cantera, Rafael	S3_089	137
Cantu, Laura	S3_059	133
Capetta, Mónica	S2_058	112
Cappetta, Mónica	S2_041	107
Cappetta, Mónica	S2_043	107
Caputi, Angel	S1_063	085
Caputi, Angel	S1_100	091
Caputi, Ángel	S1_056	083
Carballal, Sebastian	S3_061	133
Carboni, Alejandra	S2_051	110
Cardeillac, Arianne	S2_112	122
Cardelino, Juan	S2_055	111
Cárdenas, Magdalena	S2_013	100
Cardenas-Rodriguez, Magdalena	144	036
Cárdenas-Rodriguez, Magdalena	S3_019	128
Cardoso, Josefina	S1_034	077
Cardozo, Viviana	S2_023	102
Carissimi, Alicia	S2_054	111
Carmona, Carlos	404	055
Carrasquel, Willy	050	052
Carrau, Francisco	S2_027	103
Carrau, Francisco	S2_027	104
Carrau, Lucía	S2_066	114
Carrera, Inés	285	037
Carrión, Federico	376	061
Carrión, Federico	S1_010	071
Carrión, Federico	S3_081	136
Carvalho, Diego	S1_080	089
Carvalho, Diego	S2_001	097
Carvalho, Luis	S2_108	121
Casabone, Victoria	S2_066	114
Casal, Valentina	S2_119	124
Casanova, Gabriela	S1_107	093
Casanova, Gabriela	S2_113	123
Casanova, Gabriela	S2_114	123
Casanova, Gabriela	S2_115	123
Casaravilla, Cecilia	106	054
Casaravilla, Cecilia	S1_114	095
Cassina, Adriana	S3_017	128
Cassina, Adriana	S3_035	130
Cassina, Adriana	S3_059	133
Cassina, Patricia	S1_069	086
Cassina, Patricia	S1_071	087
Cassina, Patricia	S1_093	089
Cassina, Patricia	S1_101	091
Castellano, Mauricio	S2_039	106
Castelló, María	054	018
Castelló, María E.	S1_054	083
Castells, Matías	077	060
Castiglioni, Delfina	S3_073	135
Castillo, Estela	S1_119	096
Castillo, Karen	050	052
Castro Martins, Alessandra	S2_054	111
Castro, Ariel	S2_060	112

ÍNDICE DE PARTICIPANTES

Nombre, Apellido	Código	N°Pág
Castro, Ariel		016
Castro, Gustavo	354	061
Castro, Laura	362	033
Castro, Mara	S2_035	105
Castro, Marina	S2_056	111
Castro, Santiago	S1_072	087
Castro, Santiago	S1_074	088
Castro, Santiago	S1_076	088
Castro, Santiago	S1_098	091
Castro, Sebastián	022	057
Castro, Sebastián	S3_089	137
Castro, Susana		024
Castro-Sowinski, Susana	S2_069	115
Castro-Sowinski, Susana	S2_070	115
Castro-Sowinski, Susana	S2_071	115
Castro-Sowinski, Susana	S2_109	122
Cataldo, Nicolás	S1_053	082
Cataldo, Nicolás	S3_065	134
Cavelli, Matias	S1_076	088
Cavelli, Matías	S1_074	088
Cavelli, Matías	S1_098	091
Cayota, Alfonso	S2_016	100
Cayota, Alfonso	S2_025	103
Cayota, Alfonso	S2_049	109
Cecchetto, Gianna	S2_018	101
Cecchetto, Gianna	S2_101	120
Cedano, Juan	135	062
Cedano, Juan	S2_003	097
Cedano, Juan	S2_033	105
Celano, Laura	S1_053	082
Celano, Laura	S3_065	134
Cerecetto, Hugo	237	038
Cerecetto, Hugo	148	039
Cerecetto, Hugo	S1_037	078
Cerecetto, Hugo	S1_038	078
Cerecetto, Hugo	S1_041	079
Cerecetto, Hugo	S1_042	079
Cerecetto, Hugo	S1_043	080
Cerecetto, Hugo	S1_044	080
Cerecetto, Hugo	S1_045	080
Cerecetto, Hugo	S1_046	080
Cerecetto, Hugo	S1_047	081
Cerecetto, Hugo	S1_048	081
Cerecetto, Hugo	S1_049	081
Cerecetto, Hugo	S1_050	081
Cerecetto, Hugo	S1_053	082
Cerecetto, Hugo	S2_048	109
Cerecetto, Hugo	S2_116	123
Cerecetto, Hugo	S3_065	134
Cerecetto, Hugo		038
Cerecetto, Hugo	388	045
Cerecetto, Hugo	S2_047	108
Cervetto, Sabrina	S1_063	085
Céspedes, María Paula	202	040
Céspedes, María Paula	S2_103	120
Chabalgoity, Alejandro	327	023
Chabalgoity, Alejandro	S2_103	120
Chabalgoity, Alejandro	S2_111	122
Chabalgoity, Jose A.	S2_110	122
Chabalgoity, José Alejandro	202	040
Chabalgoity, José Alejandro	090	045
Chabalgoity, José Alejandro	S2_036	106
Chabalgoity, José Alejandro	S2_046	108
Chalar, Cora	378	058
Chalar, Cora	S2_017	101
Chalar, Cora	S3_033	130
Chalar, Guillermo	S3_071	135
Chaquiriand, Virginia	S1_017	073
Charquero, Diego	S1_115	095
Chauvin, Anne-Laure	111	031
Chavarria, Cecilia	S1_071	087
Chávez Genaro, Rebeca	S1_016	073
Chávez, Santiago	S2_021	102
Chávez, Santiago	S2_045	108
Chavez-Montes, Ricardo	111	031
Chifflet, Silvia	095	033
Chifflet, Silvia	S3_021	128
Chifflet, Silvia	S3_066	134
Chifflet, Silvia	S3_090	137
Chiribao, María Laura	301	054
Chiriboga, Ximena	148	039
Chmiel, Leticia	S2_053	110
Chung, ManChin	384	038
Cipriani, Micaella	192	038
Cipriani, Micaella	098	039
Cipriani, Micaella	S1_035	078
Cirne Lima, Elizabeth	002	029
Clivio, Graciela	031	049
Clivio, Graciela	378	058
Close, María Laura	S1_017	073
Coitiño, Elena Laura	S3_009	127
Coitiño, Elena Laura	S3_011	127
Coitiño, Elena Laura	S3_013	127
Coitiño, Laura	S3_087	137
Coitiño, Laura	052	053
Colina, Rodney	077	060
Colina, Rodney	S2_108	121
Collado, Ernestina	S2_052	110
Colombo, Lucia	111	031
Comas, Victoria	359	061
Comas, Virginia	S1_094	090
Comas, Virginia	S1_099	091
Comas, Virginia		066
Comini, Marcelo	066	044
Comini, Marcelo	S1_037	078
Comini, Marcelo	S1_115	095
Comini, Marcelo	S1_120	096
Comini, Marcelo	S3_027	129
Conijeski, Daniel	S2_039	106
Consorcio, Europeo	S1_115	095
Contreras, Valeria	391	062
Corallo, Belen	S2_079	117
Corbacho, Ana		066
Corbacho, Ana M.	397	066
Correa, Agustín	S3_019	128
Correa, Alejandro	389	028
Córsico, Betina	S1_116	095
Córsico, Betina	S3_049	132
Corvo, Ileana	S1_050	081
Costa, Alicia	S1_072	087
Costa, Carlos	050	052
Costa, Carlos	S1_001	069
Costa, Carlos	S1_002	069
Costa, Daniela	S2_112	122
Costa, Gustavo	423	064
Costa, Gustavo	S1_058	084
Costabel, Marcelo	S1_116	095
Costábile, Alicia	S1_119	096
Costa-Filho, Antonio J.	S2_050	109
Couto, Marcos	S1_041	079
Couto, Marcos	S1_042	079
Cremella, Bruno	168	035
Crispo, Martina	130	037
Crispo, Martina	202	040
Crispo, Martina	S2_103	120
Crispo, Martina		036
Cristina, Juan	077	060
Cristina, Juan	359	061
Cristina, Juan	S3_083	136
Cruces, María Eugenia	S1_046	080
Cucinotta, Mara	111	031
Curbelo, Nicolás	S2_064	113
Curti, G	S2_006	098
Curti, Gianni	S1_027	075
Curti, Sebastián	S1_061	084
D` Albora, Cecilia	354	061
D`Alessandro, Bruno	S2_110	122
D´Alessandro, Bruno	250	041
da Cruz, I	S2_006	098
Da Luz, Julio	310	016
da Luz, Julio	S2_061	112
Da Silveira, Lorena	310	016
Dajas, Federico	198	039
Dajas, Federico	423	064
Dajas, Federico	S1_055	083
Dajas, Federico	S1_058	084
Dajas, Federico	S1_078	089
Dajas, Federico	S1_080	089
Dajas, Federico	S2_023	102
Dalla Rizza, Joaquín	186	043
Dallagiovanna, Bruno	389	028
Dallagiovanna, Bruno	122	056
Davison, Camila	062	042
Davison, Camila	S2_113	123
Davoine, Federico	S1_061	084
Davyt, Danilo	156	032
de Folter, Stefan	111	031
De Gaudenzi, Javier	S2_024	102
De Giacomi, Sol	S2_073	116
De León, Andres	258	023
De León, Andrés	S3_092	138
De León, Dinorah	S2_051	110
De León, Lizet	S3_071	135
de los Santos, María	S2_093	118
de Mendoza, Diego	S3_037	130
De Negri, Maíra	S2_048	109
De Zúñiga, Ignacio	277	045
De Zúñiga, Ignacio	123	059
De Zúñiga, Ignacio	S1_020	074
Deambrosi, Matías	S3_029	129
del Puerto, Lucía	S1_113	095
Delfraro, Adriana		060
Delgado, Hernán	312	047
Delgado, Hernán	S1_022	074
Delgado, Lucia	S2_049	109
Dell Oca, Nicolás	S1_050	081
Dellacassa, Eduardo	135	062
Dellacassa, Eduardo	414	063
Dellacassa, Eduardo		062
Dematteis, Sylvia	066	044
Dematteis, Sylvia	S1_111	094
Dematteis, Sylvia	S1_118	096
Demicheli, Veronica	S3_061	133
Demicheli, Verónica	S3_057	133
Denicola, Ana	281	043
Denicola, Ana	186	043
Denicola, Ana	S1_004	069
Denicola, Ana	S1_007	070
Denicola, Ana	S1_008	070
Denicola, Ana	S3_043	131
Denicola, Ana		042
Deutsch, Helena	425	065
Deutsch, Helena	S1_079	089
Di Landro, S.	S1_016	073
Di Landro, Santiago	150	059
Di Landro, Santiago	S1_019	073
Di Paolo, Andres	294	019
Di Paolo, Andrés	424	065
Di Paolo, Andrés	S1_104	092
Di Pietro, Mariana	S1_020	074
Díaz Amarilla, Pablo	S1_048	081
Díaz, Alvaro	S1_113	095
Díaz, Alvaro	S1_117	096
Díaz, Álvaro	106	054
Díaz, Álvaro	S1_114	095
Díaz, Heike	002	029
Díaz, Mauricio	S2_052	110
Díaz, Pedro	S1_033	077
Diaz-Amarilla, Pablo	S1_049	081
Díaz-Amarilla, Pablo	S1_096	090
Díaz-Amarilla, Pablo	S1_097	090
Díaz-Viraqué, Florencia	S2_007	098
Diez Vignola, Manuel	S1_033	077
Docampo, Roberto	S1_035	078
Domínguez, María Fernanda	S1_119	096
Dorantes-Acosta, Ana E.		012
Dresch, Fabiane	S2_054	111
Duhagon, Maria Ana	122	056
Duhagon, Maria Ana	032	033
Duhagon, María Ana	102	045
Duhagon, María Ana	S2_021	102
Duhagon, María Ana	S2_045	108
Durán, Rosario	S3_023	128
Dutius Andersson, Anna-Maria	035	033
Dutra, Aníbal	356	061
Eastman, Guillermo	122	056
Eastman, Guillermo	S2_021	102
Echarte, Lourdes	383	028
Echarte, Lourdes	S2_120	125
Echeverría, Natalia	S2_102	120
Echeverry, Carolina	S1_078	089
Echeverry, Carolina	S1_080	089
Eguren, Gabriela	410	024
Eguren, Gabriela	S2_073	116
Elena, Fabiano	S2_104	120
Ellena, Javier	S2_044	108
Escande, Carlos	382	032
Esteller, Manel	S2_041	107
Esteves, Adriana	S2_010	099
Estrada, Damián	326	055
Estrada, Damián	S3_045	131
Estrín, Darío	S3_061	133
Etchebehere, Claudia	S2_076	116
Etchebehere, Claudia		040
Fabbiani, Gabriela	S1_108	093
Fabiano, Elena	156	032
Fabiano, Elena	127	041
Fabiano, Elena	S2_029	104
Fabiano, Elena	S2_072	115
Fabiano, Elena	S2_097	119
Fabiano, Elena	S2_098	119
Fabiano, Elena	S2_106	121
Fabiano, Elena	S2_112	122
Fabregat, Matías	S3_019	128
Facchin, Gianella	053	044
Facchin, Gianella	S2_042	107
Facchin, Gianella	S2_044	108
Facchin, Gianella	S2_050	109
Facchin, Gianella		044
Fagúndez, Catherine	066	044
Falcón, Luisa	S2_077	117
Falconi, Atilio	425	065
Falconi, Atilio	S1_074	088
Falconi, Atilio	S1_076	088
Falconi, Atilio	S1_079	089
Falconi, Atilio	S1_098	091
Faral, Paula	301	054
Farias, Joaquina	294	019
Farías, Joaquina	S1_104	092
Farías, Joaquina	424	065
Fariña, Laura	S2_027	103
Fariña, Laura	S2_027	104
Farrar, William	102	045
Fazio, Laura	S2_035	105
Fernández Abella, Daniel	S1_025	075
Fernández López, Elena	S2_039	106
Fernández Theoduloz, Gabriela	S2_052	110
Fernandez, Anabel	S1_057	083
Fernández, Anabel	S1_107	093
Fernández, Cecilia	S2_004	097
Fernández, Cecilia	S3_051	132
Fernández, Gabriel	130	037
Fernández, María Victoria	S1_103	092
Fernández, Marta	S2_102	120
Fernández, Schubert	369	017
Fernández, Schubert	S2_063	113
Fernández, Schubert	S2_068	114
Fernández, Verónica	S1_112	094
Fernández, Verónica	S1_118	096
Ferragut, Gabriela	135	062
Ferragut, Gabriela	S2_033	105
Ferrando, Rodolfo	411	047
Ferrarini, Alberto	336	057
Ferraro, Florencia	052	053
Ferraro, Florencia	S1_050	081
Ferraro, Florencia	S3_087	137
Ferreira Gregorio, Juan	379	026
Ferreira Gregorio, Juan	S1_006	070
Ferreira, Ana M	S3_049	132
Ferreira, Ana M.	106	054
Ferreira, Ana María	S1_116	095
Ferreira, Ana María	S2_039	106
Ferreira, Ana María	S3_023	128
Ferreira, Annabel	312	047
Ferreira, Annabel	292	059
Ferreira, Annabel	S1_022	074
Ferreira, Annabel	S1_070	087
Ferreira, Annabel	S1_073	087
Ferreira, Annabel	S1_103	092
Ferreira, Fernando	S1_113	095
Ferreira, Gonzalo	050	052
Ferreira, Gonzalo	S1_001	069
Ferreira, Gonzalo	S1_002	069
Ferreira, Gonzalo		052
Ferrer-Miralles, Neus	S2_122	125
Ferrer-Sueta, Gerardo	205	039
Ferrer-Sueta, Gerardo	S3_061	133
Ferrés, Ignacio	S2_072	115
Fiestas, Lucía	S1_115	095
Filomeno, Andrea	002	029
Firpo, Griselda	S1_035	078
Fleming, Alison	292	059
Fló, Emilia	S1_066	086
Fló, Martín	S3_051	132
Folle, G	S2_006	098
Folle, Maite	S1_116	095
Fontana, Carolina	S1_113	095
Fontes, Agustina	S2_019	101
Ford, Mariana	S1_017	073
Fort, Hugo	393	035
Fort, Rafael	102	045
Fort, Rafael	S2_045	108
Fossati, Rosina	392	063
Franchini, Gisela	S3_049	132
Francia, Lourdes	S2_065	113
Francia, Lourdes	S2_066	114
Freeman, Bruce	S1_069	086
Fuentes, Laura	S2_076	116
Fullana, Natalia	S2_069	115
Fullana, Natalia	S2_071	115
Gaggero, Carina	S2_027	103
Gaggero, Carina	S2_027	104
Gagliardi Leite, Jose Paulo	077	060
Gaiero, Paola	S2_062	113
Galiana, Antonio	S2_102	120
Galizzi, Melina	S1_035	078
Galliussi, German	205	039
Galvalisi, Martín	426	065
Galvalisi, Martín	S1_059	084
Galvalisi, Martín	S1_064	085
Gámbaro, Fabiana	S2_025	103
Gambino, Dinorah	192	038
Gambino, Dinorah	098	039
Gambino, Dinorah	S1_035	078
Gambino, Dinorah	S1_036	078
Gambino, Dinorah	S1_037	078
Gambino, Dinorah	S1_115	095
Gambino, Dinorah	S2_015	100
Gambino, Dinorah		038
Garat, Beatriz	032	033
Garat, Beatriz	098	039
Garat, Beatriz	122	056
Garat, Beatriz	S2_021	102
Garat, Beatriz	S2_024	102
Garaycochea, Silvia	369	017
Garaycochea, Silvia	S2_063	113
Garaycochea, Silvia	S2_068	114
García Alonso, Javier	S3_073	135
García Alonso, Javier		058
García Carnelli, Carlos	387	063
García Tejedor, Gabriela	336	057
García, Graciela	S2_067	114
García, M. Elena	S1_037	078
García, María Fernanda	S2_047	108

ÍNDICE DE PARTICIPANTES

Nombre, Apellido	Código	N°Pág
García, María José	S1_008	070
García, Mariana	077	060
García, Mateo	225	049
García, Virginia	S2_058	112
García-Alonso, Javier	S1_023	074
Garcia-Silva, Maria Rosa	S2_049	109
Gariazzo, Bruno	S2_030	104
Garmendia, Gabriela	268	025
Garmendia, Gabriela	S2_074	116
Garmendia, Gabriela	S2_100	119
Geisinger, A	S2_006	098
Geisinger, Adriana	S1_015	072
Genovese, Patricia	380	059
Genovese, Patricia	S1_021	074
Genovese, Patricia	S1_024	075
Genovese, Patricia	S1_026	075
Geraldo, Murilo	102	045
Giacomini, Cecilia	S2_122	125
Gil, Magdalena	186	043
Gil, Magdalena	S1_004	069
Gil, Magdalena	S3_023	128
Gilli, Javier	S1_030	076
Giraudat, Jérôme	412	030
Gladyshev, Vadim N	S2_117	124
Gómez, Leonel		046
Gomez, Maria F	035	033
Gómez-Sena, Leonel	S1_065	085
Gonçalves, Fabiany	002	029
Gonda, Mariana	S2_101	120
Gonzáles Barrios, Pablo	S2_057	111
González Barrios, Pablo	S3_069	134
González Perilli, Lucía	S3_053	132
González Ramos, Helena	S1_065	085
González Sapienza, Gualberto	S2_022	102
González, Amalia	S2_074	116
Gonzalez, Carlos	050	052
González, Carlos	401	053
González, Gualberto	S2_031	104
González, Gualberto		022
González, Joel	S1_045	080
González, Marcelo	120	024
Gonzalez, Mercedes	S1_038	078
Gonzalez, Mercedes	S1_044	080
Gonzalez, Mercedes	S1_049	081
Gonzalez, Mercedes	S1_053	082
González, Mercedes	237	038
González, Mercedes	148	039
González, Mercedes	388	045
Gonzalez, Mercedes	S1_037	078
González, Mercedes	S1_041	079
Gonzalez, Mercedes	S1_042	079
Gonzalez, Mercedes	S1_043	080
Gonzalez, Mercedes	S1_046	080
González, Mercedes	S1_047	081
Gonzalez, Mercedes	S1_048	081
Gonzalez, Mercedes	S1_050	081
Gonzalez, Mercedes	S2_048	109
Gonzalez, Mercedes	S3_065	134
González, Mercedes		038
González, Mónica	S2_061	112
González-Sapienza, Gualberto	S2_032	105
González-Sapienza, Gualberto	S2_037	106
González-Sapiénza, Gualberto	327	023
González-Sapienza, Gualberto	S2_014	100
Gonzalez-Techera, Andres	327	023
González-Techera, Andrés	S2_032	105
Gradin, V.B.	S2_052	110
Graña, Lucía	S2_005	098
Graña, Martín	S2_011	099
Gratton, Enrico	281	043
Gravier, Ana	S3_071	135
Grecco, Sofía	S2_065	113
Grecco, Sofía	S2_066	114
Grille, Sofía	S2_046	108
Grinspan, Gustavo	S1_011	071
Guarnaschelli, Julio	327	023
Guerberoff, Gustavo	S3_083	136
Guerberoff, Gustavo	022	057
Guerberoff, Gustavo	S3_089	137
Guigou, Nicolás	335	020
Gurzeler, Erika	035	033
Gutierrez, Lucia	369	017
Gutierrez, Lucia	S2_008	098
Gutierrez, Lucía	S2_057	111
Gutierrez, Lucía	S2_060	112
Gutiérrez, Lucia	159	017
Gutiérrez, Lucía	S1_029	076
Gutiérrez, Lucía	S1_031	076
Gutiérrez, Lucía	S2_056	111
Gutiérrez, Lucía	S2_063	113
Gutiérrez, Lucía	S2_068	114
Gutiérrez, Lucía	S3_069	134
Gutiérrez, Verónica	S1_014	072
Haakonsson, Signe	S3_071	135
Harreguy, María Belén	S2_034	105
Heguaburu, Viviana	S2_040	107
Heijo, Gabriela	S2_095	118
Heinonen, Suvi	035	033
Hernandez Magadán, Alfonso	131	023
Hernández, Ana	S2_035	105
Hernández, Diego	353	060
Hernández, Diego	S3_079	136
Hernández, Diego	S3_085	136
Hernández, Julio	S3_066	134
Hernández, Julio	S3_090	137
Hernández, Julio		026
Hernandez, Julio A	S3_021	128
Hernández, Julio Andrés	095	033
Hernández, Martín	353	060
Hernández, Martín	S3_079	136
Hernández, Martín	S3_085	136
Hernández, Paola	S1_009	071
Hernández, Paola	S1_039	079
Herrera, Daniel	202	040
Herrera, Emiliano	380	059
Herrera, Emiliano	S1_024	075
Herrera, Emiliano	S1_026	075
Herrera, Fernando	S1_040	079
Herrera, Fernando	S3_041	131
Herrera, Lorena	S2_070	115
Hidalgo, Pedro	S2_043	107
Hidalgo, Pedro C.		016
Hobert, Oliver	285	037
Holetz, Fabiola	122	056
Hordeñana, Juan Andrés	S2_075	116
Horta, Stefany	121	025
Horta, Stefany	S2_052	110
Horta, Stefany	S3_091	138
Hugo, Martín	S1_004	069
Ibáñez, Agustín	415	046
Ibarburu, Sofía	S1_096	090
Ibarburu, Sofía	S1_097	090
Igarzabal, Horacio	S1_098	091
Illarze, Mariana	S2_075	116
Illarze, Mariana	S3_067	134
Imelio, Juan Andrés	S2_020	101
Impagliazzo, Juan	S1_001	069
Impagliazzo, Juan	S1_002	069
Irabuena, Oscar	S1_025	075
Iraola, Gregorio	353	060
Iraola, Gregorio	S2_007	098
Irazusta, Agustina	S1_118	096
Iriarte, Andrés	250	041
Iriarte, Andrés	S2_069	115
Iriarte, Andrés	S2_106	121
Iriarte, Andrés	S2_110	122
Iribarnegaray, Victoria	S2_099	119
Irigoín, Florencia	S2_011	099
Irigoín, Florencia	S3_019	128
Irigoyen, Juan Octavio	S1_034	077
Irisarri, Pilar	007	041
Irusta, Griselda	277	045
Irusta, Griselda	S1_020	074
Irving, Vivian	S2_070	115
Irving, Vivian	S3_005	126
Isasi, Eugenia	S1_060	084
Isasi, Eugenia	S1_062	085
Iwai, Leo K	S1_116	095
Izaguirre, Irina	393	035
Izquierdo, Daniela	S1_013	072
James, Euan	S2_106	121
James, Euan K.	108	031
Jameson, David	281	043
Jara, Gabriel	S3_061	133
Javiel, Gerardo	104	016
Jemmerson, Ronald	S3_057	133
Joan, Sayós	107	029
Jones, Wibke	292	059
Jönsson-Rylander, Ann-Cathrine	035	033
Jorgensen, Richard A.		012
Justet, Cristian	095	033
Justet, Cristian	S3_066	134
Justet, Cristian	S3_090	137
Kimura, Edna	102	045
Kitano, Eduardo	S1_116	095
Klein, Florencia	052	053
Klein, Florencia	S3_087	137
Koziol, Uriel	S2_004	097
Kramer, Gabriela	S2_019	101
Kramer, Gabriela		028
Kramer, Gabriela		044
Kramer, M. Gabriela	079	029
Kramer, M. Gabriela	053	044
Kramer, M. Gabriela	S2_044	108
Kramer, María Gabriela	S2_042	107
Kremer, Eduardo	S2_044	108
Kremer, Eduardo	S2_050	109
Kruk, Carla	393	035
Kun, Alejandra	248	019
Kun, Alejandra	294	019
Kun, Alejandra		018
Kvist, Anders	S2_049	109
L.Hidalgo, María Paz	S2_054	111
Labadie, Guillermo	S1_115	095
Lado, Bettina	S1_029	076
Lado, Bettina	S2_008	098
Lado, Bettina	S2_056	111
Lago, Natalia	258	023
Lago, Natalia	107	029
Lago, Natalia	203	050
Lago, Natalia	S1_093	089
Lago, Natalia	S1_102	092
Lago, Natalia	S3_088	137
Lago, Natalia	S3_092	138
Lagos, Patricia	425	065
Lagos, Patricia	S1_068	086
Lagos, Patricia	S1_075	088
Lagos, Patricia	S1_079	089
Lagos, Patricia	S1_095	090
Lagos, Patricia	S2_026	103
Lagos, Valentina	S1_093	089
Lamas Bervejillo, María	S3_049	132
Langhain, María	411	047
Larrieux, Nicole	376	061
Larrieux, Nicole	S2_020	101
Larrieux, Nicole	S3_037	130
Larsson, Peter	401	053
Lasalle, André	150	059
Lasalle, André	S1_019	073
Lassabe, Gabriel	S2_032	105
Lasserre, Moira	S1_054	083
Latorre, Ramon	050	052
Latorre, Ramón	402	052
Latorre, Ramón	401	053
Latorre, Ramón		013
Launikonis, Bradley	379	026
Launikonis, Bradley	S1_006	070
Laurindo, Francisco	S3_053	132
Lavaggi, María Laura	148	039
Lavaggi, María Laura	388	045
Lavaggi, María Laura	S1_039	079
Lavaggi, María Laura	S1_048	081
Lavaggi, María Laura	S2_048	109
Lázaro Martínez, Juan Manuel	S2_098	119
Lebrato, Lourdes	S3_003	126
Lecot, Nicole	S2_116	123
Lemos, Mary	S2_035	105
Lepanto, Paola	062	042
Lepanto, Paola	S2_113	123
Levandovski, Rosa	121	025
Levandovski, Rosa	S2_054	111
Levandovski, Rosa	S3_091	138
Levandovski, Rosa	282	021
Libisch, Gabriela	301	054
Lin, Gerardo	S1_113	095
Lizasoain, Andrés	077	060
Loaces, Ines	S2_104	120
Loaces, Inés	S2_029	104
Locatelli, Andrés	S2_060	112
Lombardo, Pamela	135	062
Lombide, Paula	S1_013	072
Loperena, Liliam	S2_078	117
Loperena, Lyliam	S2_079	117
López Hill, Ximena	S1_067	086
López Tort, Fernando	077	060
Lopez, Alvaro	S1_021	074
López, Gloria V.	205	039
López, Gloria V.	S3_015	127
López, Lucía	S2_026	103
López, Patricia	077	060
López, Verónica	S1_112	094
Lorena, Becco	S2_038	106
Lorite, Pedro	S2_059	112
Loureiro, Marcelo	361	034
Lupo, Sandra	S2_079	117
Macadar, Omar		012
Machado, Ignacio	S1_034	077
Machado, Ignacio	S1_036	078
Machado, Luna	312	047
Machado, Luna	S1_022	074
Madrigal, Sabina	S1_026	075
Maedo, Noemi	102	045
Maggioli, Gabriela	404	055
Magrisso, Alessandra	002	029
Maidana, Matias	S3_005	126
Maidana, Matías	S1_040	079
Maidana, Matías	S3_041	131
Maisonnave, Jacqueline	002	029
Malacrida, Leonel	281	043
Malacrida, Leonel		042
Malacrida, Leonel	S1_007	070
Malacrida, Leonel	S1_008	070
Malayil, Leena	S1_035	078
Manasliski, Santiago	S2_060	112
Mansilla, Mariela	356	061
Manta, Bruno	S1_004	069
Manta, Bruno	S1_120	096
Manta, Eduardo	066	044
Manta, Gastón	S2_075	116
Marandino, Ana	353	060
Marandino, Ana	S2_065	113
Marandino, Ana	S2_066	114
Marandino, Ana	S3_079	136
Marandino, Ana	S3_085	136
Marchesi, Claudia	S1_033	077
Mareque, Cintia	S2_093	118
Mareque, Cintia	S2_095	118
Margalef, Natalie	S2_071	115
Margenat, Mariana	S3_023	128
Marichal, Nicolás	S1_108	093
Marín, Mónica	S2_017	101
Marín, Mónica	S2_038	106
Maringolo Ribeiro, Camila	S1_036	078
Marizcurrena, Juan José	S2_069	115
Marizcurrena, Juan José	S2_070	115
Marmisolle, Inés	S3_031	129
Marques, Fernanda	S1_037	078
Marqués, Juan Martín	S2_103	120
Marqués, Juan Martín	202	040
Marquet, Pablo		013
Marquez, Alejandro	342	019
Márquez, Alejandro		018
Márquez, Carolina	S2_102	120
Marsch-Martinez, Nayelli	111	031
Martell, Miguel	S2_023	102
Marti, Marcelo	S3_061	133
Martigani, Fátima	S3_071	135
Martin, Graeme Bruce	S1_012	072
Martínez Rosales, Cecilia	S2_071	115
Martínez Silveira, Adalgisa	026	041
Martínez, Adriana	S2_111	122
Martinez, Alejandra	S3_047	131
Martínez, Cecilia	S2_069	115
Martínez, Gaby	126	019
Martinez, Gaby	S1_106	093
Martínez, Jennyfer	118	045
Martinez, Marcela	S1_059	084
Martinez, Marcela	S1_078	089
Martínez, Sebastián	S1_031	076
Martínez, Sebastián	S2_063	113
Martínez-Busi, Marcela	198	039
Martínez-Martínez, Luis	S2_102	120
Martínez-Palma, Laura	S1_069	086
Martínez-Palma, Laura	S1_093	089
Martínez-Palma, Laura	S2_119	124
Martino, Natalia	121	025
Martino, Natalia	S3_091	138
Mas de Ayala, Jimena	S1_017	073
Mastandrea, Ignacio	052	053
Mastandrea, Ignacio	S1_042	079
Mastandrea, Ignacio	S1_048	081
Mastandrea, Ignacio	S3_087	137
Mastrogiovanni, Mauricio	S3_055	132
Matus, Iván	S2_056	111
Maya, Juan Diego	192	038
Maya, Leticia	077	060
Maya, Leticia	S2_108	121
Mazari, Marisa	S2_077	117
Mazza, Natalia	S2_103	120
Mazzella, Cristina	S2_062	113
Mechaly, Alejandro S.	115	058
Mechaly, Ariel	S2_107	121
Mechaly, Ariel	S3_037	130
Mechoso, Búrix	392	063
Medeiros*, Andrea	S1_115	095
Medeiros, Andrea	066	044
Medeiros, Andrea	S1_037	078
Meikle, María Noel	130	037
Méndez, Andrés	411	047
Mendez, Manuel	102	045
Mereles, Martín	130	037
Merlino, Alicia	052	053
Merlino, Alicia	S1_009	071
Merlino, Alicia	S2_048	109
Merlino, Alicia	S3_087	137
Merlot, Sylvain	412	030
Miagostovich, Marize	077	060
Michel, Thomas	S3_063	133
Midiwo, Jacob	S1_078	089
Migliaro, Adriana	349	021
Migliaro, Eduardo	S1_074	088
Migliaro, Eduardo	S1_076	088
Miles, Sebastián	S1_111	094
Miles, Sebastián	S1_118	096
Mimbacas, Adriana	104	016
Minini, Lucía	S2_048	109
Minteguiaga, Manuel	S2_027	103
Minteguiaga, Manuel	S2_027	104
Miño, Patricio	148	039
Miquel, Ernesto	S1_069	086
Miquel, Ernesto	S1_101	091
Miranda-Vizuete, Antonio	S2_117	124
Mirazo, Santiago	354	061
Mirazo, Santiago		060

ÍNDICE DE PARTICIPANTES

Nombre, Apellido	Código	N°Pág
Mizraji, Eduardo	260	027
Mizraji, Eduardo	S1_005	070
Moineau, Sylvain	131	023
Moller, Matías	S3_029	129
Möller, Matías	186	043
Möller, Matías	S3_043	131
Mónaco, Amy	090	045
Montagne, Jimena	378	058
Montagne, Jimena	S1_014	072
Montaldo, Sebastian	S1_021	074
Montes, Jose Maria	S3_059	133
Montesano, Marcos	S1_030	076
Monza, Jorge	007	041
Moraes, Tania	S1_037	078
Morales, Francisco R.	S1_066	086
Moratorio, Gonzalo	359	061
Moratorio, Gonzalo	S3_083	136
Morel, María	S2_109	122
Moreno, Diego	S3_061	133
Moreno, María	002	029
Moreno, María	118	045
Moreno, María	090	045
Moreno, María	S2_046	108
Moreno, Pilar	S3_083	136
Morero, Natalia	S2_107	121
Mosquillo, Florencia	S1_036	078
Mosquillo, Florencia	S2_015	100
Mouhape, Camila	423	064
Mouhape, Camila	S1_058	084
Moure, Tatiana	S2_119	124
Mourglia-Ettlin, Gustavo	S1_111	094
Mourglia-Ettlin, Gustavo	S1_118	096
Moyna, Guillermo	S1_113	095
Mulet, Ana Paula	130	037
Mulet, José Miguel	108	031
Muniz, Mariana	S1_105	093
Muniz, Mariana	S1_110	094
Munroe, David	122	056
Muñoz, Natalia	002	029
Muñoz, Natalia	202	040
Musto, Héctor	S2_069	115
Navatta, Marco	S1_118	096
Naya, Hugo	S2_016	100
Negro, Luciana	107	029
Negro, Luciana	S2_019	101
Negro, Luciana	S3_088	137
Negro, Maria Luciana	203	050
Negro, Maria Luciana	S2_122	125
Nelson, Kimberly	S1_004	069
Nicolaisen Sobesky, E.	S2_052	110
Nieto, Clever	S2_058	112
Nieves, Bibiana	S3_005	126
Nieves, Marcos	S3_037	130
Noble, Carolina	S2_044	108
Nogueira, Karina	356	061
Novas, Rossina	144	036
Novas, Rossina	S2_013	100
Noya, Francisco	S2_072	115
Noya, Francisco	S2_104	120
Noya, Francisco	S2_029	104
Nuesch, Melanie	S1_056	083
Nunes, Elia	391	062
O□Brian, Mark R.	S2_098	119
Obal, Gonzalo	376	061
Obal, Gonzalo	S1_010	071
Obal, Gonzalo	S2_020	101
Obal, Gonzalo	S3_081	136
Ocampo-Sosa, Alain	S2_102	120
Oda, Gisele	339	020
Oddone, Natalia	S2_116	123
Olazabal, Laura	S2_079	117
Olea Azar, Claudio	192	038
Oliveira, Fernanda	002	029
Oliver, Patricia	312	047
Olivera y Luna, Gabriela	S2_055	111
Olivera, Analía	S2_075	116
Olivera, Fernando	124	027
Olivera, Fernando	S1_003	069
Olivera, Silvia	S1_107	093
Olivera, Silvia	S1_062	085
Olivera-Bravo, Silvia	S1_060	084
Olivera-Bravo, Silvia	S1_096	090
Olivera-Bravo, Silvia	S1_097	090
Olivera-Pasilio, Valentina	054	018
Olivero, Natalia	S3_039	130
Ortiz, Federico	S1_039	079
Ortiz, Federico	S3_009	127
Osorio Martínez, Carlos Alberto	237	038
Osorio, Carlos	S1_044	080
Otarola, Ester	401	053
Otero, Gabriel	S1_049	081
Otero, Lucía	192	038
Otero, Lucía	098	039
Otero, Lucía	S1_035	078
Otero, Lucía	S1_036	078
Otero, Lucía	S1_037	078
Otero, Lucía	S1_115	095
Otero, Lucía	S2_117	124
Otero, Lucía	S2_118	124
Otón, Marcelo	S2_052	110
Ottati, Carolina	102	045
Ottati, Carolina	S2_045	108
Pablo, Smircich	032	033
Pagotto, Romina	S2_034	105
Palomeque, Teresa	S2_059	112
Pannunzio, Bruno	S1_056	083
Pantano, Sergio	S3_001	126
Panzera, Francisco	S2_059	112
Panzera, Yanina	353	060
Panzera, Yanina	S2_059	112
Panzera, Yanina	S2_065	113
Panzera, Yanina	S2_066	114
Panzera, Yanina	S3_079	136
Panzera, Yanina	S3_085	136
Paolino, Andrea	312	047
Papa, Nicolas	378	058
Papa, Nicolás	031	049
Papa, Nicolás	S2_017	101
Papalardo, Cecilia	022	057
Papalardo, Cecilia	S3_089	137
Parborell, Fernanda	123	059
Parborell, Fernanda	S1_020	074
Parodi, Adriana	301	054
Parodi, Adriana	S2_023	102
Parpal, Florencia	S2_040	107
Pascovich, Claudia	425	065
Pascovich, Claudia	S1_079	089
Pascuali, Natalia	123	059
Pascuali, Natalia	S1_020	074
Passos, Carlos	400	048
Passos, Carlos	031	049
Pastro, Lucia	032	033
Pastro, Lucia	S2_024	102
Pastro, Lucia	S2_064	113
Pastro, Lucía	S2_015	100
Pattarino, Luciana	S2_100	119
Paulino, Margot	416	056
Paulino, Margot	S2_001	097
Paulino, Margot	S2_002	097
Paulino, Margot		056
Pavan, Fernando R.	S1_036	078
Paz, Mariana	S2_078	117
Paz, Valentina	S2_052	110
Pazos, Camila	277	045
Pazos, Flavio	022	057
Pazos, Flavio	S3_089	137
Pedrana, Graciela	S1_012	072
Pedrana, Graciela	S1_013	072
Pellizza, Leonardo	S3_051	132
Peluffo, Gabriel	S2_064	113
Peluffo, Gonzalo	S3_063	133
Peluffo, Hugo	107	029
Peluffo, Hugo	203	050
Peluffo, Hugo	S1_102	092
Peluffo, Hugo	S2_019	101
Peluffo, Hugo	S2_122	125
Peluffo, Hugo	S3_088	137
Peluffo, Hugo		028
Peluffo, R. Daniel	267	026
Peña, Stella	066	044
Pequera, Germán	379	026
Pequera, Germán	S1_006	070
Perata, Mariana	S1_062	085
Pereira, Claudio	S1_008	070
Pereira, Mariana	S1_073	087
Peres de Araujo, Marcio	S2_044	108
Peres De Araújo, Márcio	S2_042	107
Pereyra, Silvana	S1_017	073
Pereyra, Virginia	026	041
Pérez Bidegain, Mario	S3_069	134
Perez de Vida, Fernando	369	017
Pérez de Vida, Fernando	S2_063	113
Pérez de Vida, Fernando	S2_068	114
Pérez Escanda, Diego	S3_011	127
Pérez Escanda, Diego	S3_013	127
Pérez, Alfonso	S2_052	110
Pérez, Elena	135	062
Pérez, Leticia	S1_036	078
Pérez, Leticia	S2_015	100
Pérez, Raquel	S1_021	074
Pérez, Ruben	353	060
Pérez, Ruben	S2_065	113
Pérez, Ruben	S2_066	114
Pérez, Ruben	S3_079	136
Pérez, Ruben	S3_085	136
Pérez, Victoria	250	041
Pérez, Victoria	S2_110	122
Pérez, William	S1_013	072
Pérez-Rontomé, Carmen	108	031
Perra, Valentina	426	065
Perra, Valentina	S1_064	085
Perrone, Rossana	413	064
Pessina, Paula	S1_013	072
Peyrou, Mercedes	S2_094	118
Piacenza, Lucía	326	055
Piacenza, Lucía	S3_045	131
Piacenza, Lucia	S3_047	131
Pianzzola, María Julia	131	023
Pianzzola, María Julia	S2_018	101
Picasso, Valentín	S3_075	135
Piccardo, Andrea	S2_073	116
Piccini, Claudia	168	035
Pi-Denis, Natalia	S2_064	113
Piffaretti, Marcela	S1_100	091
Pino, Cecilia	S1_012	072
Piñeyro, Dolores	S3_045	131
Piñeyro, Dolores	S3_047	131
Pirez Schirmer, Macarena	S2_022	102
Pirri, Sara	426	065
Pirri, Sara	S1_064	085
Pistón, Mariela	S1_034	077
Pita, Sebastian	S2_059	112
Pittini, Álvaro	106	054
Pittini, Álvaro	S1_114	095
Pizarro, Gonzalo	124	027
Pizarro, Gonzalo	S1_003	069
Pizzarossa, Carlos	248	019
Pizzato, Sabrina	002	029
Platero, Raúl	127	041
Platero, Raúl	S2_096	118
Platero, Raúl	S2_097	119
Platero, Raúl	S2_106	121
Platero, Raúl		032
Poland, Jesse	S1_029	076
Pomi, Andrés	S1_005	070
Pomi, Andrés		026
Ponce de León, Inés	S1_028	076
Ponce de León, Inés	S1_030	076
Ponce de León, Rodrigo	S2_070	115
Poole, Leslie B	S1_004	069
Porcal, Williams	S1_009	071
Porcal, Williams	S3_043	131
Porley, Dario	S2_121	125
Porley, Dario	S3_039	130
Posada, Pablo	S2_057	111
Pose, Inés	S1_066	086
Poubel, Saloe	122	056
Pouso, Paula	S1_077	088
Preza, Matias	383	028
Preza, Matías	S2_120	125
Prieto, Daniel	S2_114	123
Prieto, Jesus	079	029
Prieto, Jose Pedro	S1_059	084
Prieto, José Pedro	426	065
Prieto, José Pedro	S1_064	085
Prieto-Echague, Victoria	144	036
Prieto-Echagüe, Victoria	S2_012	099
Pritsch, Otto	376	061
Pritsch, Otto	S1_010	071
Pritsch, Otto	S3_081	136
Pritsch, Otto	408	022
Prolo, Carolina	407	055
Prolo, Carolina	S3_047	131
Prueba, Carlos	S3_077	136
Prueba, Cristian	S3_077	136
Prunell, Giselle	423	064
Prunell, Giselle	S1_075	088
Prunell, Giselle	S1_080	089
Prunell, Giselle	S1_058	084
Puig, Natalia	258	023
Puig, Natalia	S3_092	138
Pupo, Amaury	401	053
Putzu, Eugenia	098	039
Puyol, Arturo	S2_035	105
Q. F. Leite, Clarice	S1_036	078
Quero, Gaston	369	017
Quero, Gastón	S1_030	076
Quijano, Celia	106	054
Quijano, Celia	S1_071	087
Quijano, Celia	S3_031	129
Quijano, Celia	S3_061	133
Quijano, Celia	118	045
Quincke, Martín	S1_029	076
Quincke, Martín	S2_056	111
Quinn, Thomas	S2_047	108
Quintana, Laura	351	059
Quintans, Ignacio	S2_057	111
Radi, Rafael	362	033
Radi, Rafael	326	055
Radi, Rafael	407	055
Radi, Rafael	S3_025	129
Radi, Rafael	S3_035	130
Radi, Rafael	S3_045	131
Radi, Rafael	S3_047	131
Radi, Rafael	S3_057	133
Radi, Rafael	S3_059	133
Radi, Rafael	S3_061	133
Radi, Rafael	S3_063	133
Radio, Santiago	S2_004	097
Raggio, Victor	S2_064	113
Raggio, Victor	310	016
Rainbow, Phil	S3_073	135
Ramas, Viviana	356	061
Ramón, Ana	S3_001	126
Ramón, Ana		032
Ramos, Javier	108	031
Ramos, Natalia	354	061
Randall, Lía	S1_004	069
Ravel, Florencia	S1_040	079
Ravel, Florencia	S3_041	131
Reboledo, Guillermo	S1_028	076
Reolon, Eduardo	S2_038	106
Reus, Thamile	389	028
Rey, Claudio	S2_052	110
Reyes, Laura	312	047
Rial, Analia	S2_103	120
Rial, Analia	002	029
Rial, Analía	202	040
Riaño, Victoria	380	059
Riaño, Victoria	S1_021	074
Riaño, Victoria	S1_024	075
Riaño, Victoria	S1_026	075
Richeri, Analía	126	019
Richeri, Analía	S1_067	086
Richeri, Analía	S1_106	093
Richter, Monique	258	023
Richter, Monique	S3_092	138
Rios, Cecilia	S2_096	118
Rios, Cecilia	S2_097	119
Rios, Cecilia	S2_106	121
Rios, Eduardo	379	026
Rios, Eduardo	S1_006	070
Rios, Natalia	S3_015	127
Rios, Natalia	S3_061	133
Rios, Néstor	S2_067	114
Rivas, Mayda	425	065
Rivas, Mayda	S1_070	087
Rivas, Mayda	S1_079	089
Rivera, Bernardina	S2_111	122
Rivera, Felicia	198	039
Rivera, Felicia	S1_055	083
Rivera, Mariana	S2_036	106
Robaina, Felipe	S1_025	075
Robello, Carlos	301	054
Robello, Carlos	336	057
Robello, Carlos	S2_007	098
Robello, Carlos	S3_045	131
Robello, Carlos	S3_047	131
Robello, Carlos		054
Robello, Carlos	S2_009	099
Robert, Anny	389	028
Roces, Flavio	225	049
Rocha, Sergio	S2_119	124
Roche, Leda	S2_064	113
Rodao, Magela	S2_115	123
Rodriguez Arce, Esteban	S1_037	078
Rodriguez Duarte, Jorge	205	039
Rodriguez- Madoz, Juan R.	079	029
Rodríguez, Alejandra	148	039
Rodríguez, Claudio	S2_035	105
Rodríguez, Esteban	S1_036	078
Rodríguez, Gonzalo	S1_044	080
Rodríguez, Maria Cecilia	S2_104	120
Rodríguez, Soledad	S2_043	107
Rodríguez, Zulma	S1_074	088
Rodríguez-Bottero, Sebastián	S1_069	086
Rodríguez-Bottero, Sebastián	S1_071	087
Rodríguez-Casuriaga, R	S2_006	098
Rodríguez-Casuriaga, Rosana	S1_015	072
Rodríguez-Cattaneo, Alejo	S1_056	083
Rodríguez-Tricot, Lucía	366	035
Romanelli, Laura	S2_117	124
Romanelli, Laura	S2_118	124
Romeo, Carlos	248	019
Romero, Héctor	S2_005	098
Romero, Natalia	S3_063	133
Rosas, Juan	369	017
Rosas, Juan	S1_031	076
Rosas, Juan	S2_063	113
Rosas, Juan	S2_068	114
Rosconi, Federico	156	032
Rosconi, Federico	127	041
Rosconi, Federico	S2_098	119
Rosillo, Juan Carlos	S1_057	083
Rosillo, Juan Carlos	S1_107	093
Rossi, Andrea	S2_036	106
Rossi, Francesco		050
Rossi, Francesco	S1_110	094
Rossi, Francesco Mattia	065	050
Rossi, Francesco Mattia	S1_105	093
Rossi, Francesco Mattia	S1_109	094
Rosso, Gonzalo	248	019
Rossotti, Martin	327	023
Rossotti, Martin	S1_118	096

ÍNDICE DE PARTICIPANTES

Nombre, Apellido	Código	Nº Pág
Rossotti, Martín	S2_014	100
Rossotti, Martín	S2_032	105
Rovetta, Romina	S1_113	095
Rovira, Carlos	S2_016	100
Rubbo, Homero	S1_069	086
Rubbo, Homero	S3_017	128
Rubbo, Homero	S3_049	132
Rubbo, Homero	S3_053	132
Rubbo, Homero	S3_055	132
Ruchansky, Dora	356	061
Rückerl, Dominik	S1_114	095
Ruetalo, Natalia	S3_037	130
Rufo, Caterina	268	025
Rufo, Caterina	026	041
Rufo, Caterina	S2_101	120
Ruiz del Castillo, Belén	S2_102	120
Ruiz Perera, Lucia M.	S1_105	093
Ruiz, Lucia	S1_110	094
Ruiz-Viroga, Vicente	S1_095	090
Russi, Paola	S2_094	118
Russo, Raúl	S1_108	093
Russo, Raúl E	336	057
Saad, Juan Francisco	393	035
Sabina, Victoria	S1_009	071
Saccardo, Paolo	S2_122	125
Sagasti, Camila	S3_011	127
Sagasti, Camila	S3_013	127
Sagrera, Gabriel	S1_040	079
Sagrera, Gabriel	S1_051	082
Sagrera, Gabriel	S1_052	082
Sagrera, Gabriel	S3_041	131
Sainz, María Martha	108	031
Saiz, Eugenia	S1_075	088
Saldain, Néstor	S1_033	077
Salinas, Gustavo	S2_118	124
Salinas, Gustavo	S3_027	129
Salinas, Gustavo		036
Salinas, Gustavo	S2_117	124
Salvo, Matías	S2_018	101
Salzman, Valentina	S2_027	103
Salzman, Valentina	S2_027	104
San Martin, Fabiana	S2_107	121
San Román, Magdalena	281	043
Sanabria, Analia	S2_018	101
Sanchez Donoso, Susana	209	042
Sánchez, Ana	391	062
Sánchez-Calvo, Beatriz	S3_017	128
Sandes, Laura	S2_097	119
Sandro, Pablo	159	017
Sanguinetti, Guillermo	S1_012	072
Sanguinetti, Julia	S2_025	103
Sanguinetti, Julia	S2_049	109
Sanguinetti, Manuel	S3_001	126
Sans, Mónica	S2_043	107
Santana, Noelia	121	025
Santana, Noelia	S3_091	138
Santiñaque, F.	S2_006	098
Santiñaque, Federico	S1_015	072
Santos, Leonardo	S3_029	129
Santos, Mariela	S2_119	124
Sapiro, Rossana	S1_002	069
Sapiro, Rossana	S1_018	073
Sapiro, Rossana	S3_059	133
Saravia, Veronica	S2_078	117
Sarniguet, Cynthia	192	038
Sarniguet, Cynthia	S1_037	078
Sasías, Sebastián	S2_111	122
Sayós, Joan	203	050
Sayós, Joan	S2_019	101
Sayós, Joan	S3_088	137
Scandroglio, Fiorella	362	033
Scarone, Laura	066	044
Scarone, Laura	S1_115	095
Scavone, Paola	S2_099	119
Scazzocchio, Claudio	S3_001	126
Schinca, Cecilia	S2_100	119
Schlapp, Geraldine	130	037
Schopfer, Francisco	S3_049	132
Schwarkopf, Natalia	425	065
Schwarkopf, Natalia	S1_079	089
Schwarzkopf, Natalia	S1_098	091
Scorza, Cecilia	312	047
Scorza, Cecilia	426	065
Scorza, Cecilia	S1_022	074
Scorza, Cecilia	S1_059	084
Scorza, Cecilia	S1_064	085
Scorza, Cecilia	S1_068	086
Scorza, María Cecilia	S1_067	086
Scotti, Leopoldina	123	059
Scotti, Leopoldina	S1_020	074
Segovia, Eliana	S3_039	130
Segura, Angel Manuel	393	035
Sellanes, Diver	066	044
Semiglia, Gabriel	002	029
Sena, Florencia	S1_032	077
Señorale, Mario	S2_017	101
Señorale, Mario	S3_033	130
Seoane, Gustavo	S1_040	079
Seoane, Gustavo	S1_052	082
Seoane, Gustavo	S3_041	131
Seoane, Paula	S1_117	096
Seoane, Paula I.	106	054
Seoane, Paula I.	S1_114	095
Serna, Elva	148	039
Serra, Gian Pietro	426	065
Serra, Gian Pietro	S1_064	085
Serra, Gloria	066	044
Serra, Gloria	S1_115	095
Severi, Maria	S2_033	105
Severi, María Angélica	135	062
Sicco, Estefanía	S2_114	123
Silva Santisteban, Alejandra	S1_102	092
Silva, Ana	S1_077	088
Silva, Ana	S3_091	138
Silva, Ana		020
Silva, Ana	121	025
Silva, Matías	S1_025	075
Silva, Noelia	S2_031	104
Silva, Paula	S1_029	076
Silva, Valeria	S1_116	095
Silvarrey, Cecilia	S2_010	099
Silveira, Alicia	411	047
Silveira, Fernando	S2_023	102
Silveira, María	S2_062	113
Silveira, Patricia	S1_002	069
Silveira, Patricia	S3_059	133
Silveira, Valentina	S1_066	086
Simón, María		012
Siré, Gabriela	S2_035	105
Siri, María Inés	S2_018	101
Siri, María Inés	S2_094	118
Sloboda, Deborah	S1_012	072
Smerdou, Cristian	079	029
Smircich, Pablo	122	056
Smircich, Pablo	S2_004	097
Smircich, Pablo	S2_021	102
Smircich, Pablo	S2_024	102
Smith, Brian	S3_073	135
Solari, Patricia	203	050
Somma, Andrea	168	035
Somoza, Gustavo M.	115	058
Sóñora, Martín	S3_083	136
Sosa, Ileana	S2_026	103
Sosa, Verónica	391	062
Sotelo Silveira, José	122	056
Sotelo Silveira, Jose Roberto	294	019
Sotelo, José	416	056
Sotelo, José	S2_045	108
Sotelo, Jose Roberto	248	019
Sotelo, Jose Roberto	294	019
Sotelo, Mariana	111	031
Sotelo, Mariana	S1_032	077
Sotelo-Silveira, J.	S2_006	098
Sotelo-Silveira, José	032	033
Sotelo-Silveira, José	424	065
Sotelo-Silveira, José	S1_104	092
Sotelo-Silveira, José	S2_021	102
Sotelo-Silveira, Jose Roberto	102	045
Souto, Jorge	104	016
Souto, Jorge	S2_058	112
Souto, Jorge	S2_064	113
Souza, Elisa	S1_015	072
Souza, Emanuel	127	041
Souza, José M.	S1_071	087
Specker, Gabriela	326	055
Specker, Gabriela	S3_045	131
Speranza, Pablo	159	017
Speranza, Pablo	S2_057	111
Speranza, Pablo	S2_062	113
Speranza, Pablo	S3_075	135
Stancov, Matias	S1_055	083
Stefanakis, Nikolaos	285	037
Stefansson, Olafur	S2_041	107
Steglich, Martina	S3_007	126
Sterla, Silvia	S1_025	075
Stimamiglio, Marco	389	028
Suárez, Mariana	S2_010	099
Suárez, Roberto	S1_027	075
Subelzu, Natalia	S3_063	133
Sujanov, Alexandra	383	028
Sutz, Judith		012
Tabares, Sofía	S2_037	106
Tacain, Jimena	S2_040	107
Tapie, Alejandra	S2_064	113
Tardra-Sfeir, Michelle	127	041
Tassino, Bettina	257	021
Tassino, Bettina	121	025
Tassino, Bettina	S3_091	138
Taulé, Cecilia	S2_093	118
Techera, Claudia	353	060
Techera, Claudia	S3_079	136
Techera, Claudia	S3_085	136
Tejera, Gonzalo	371	046
Tejera, Mauricio	S3_075	135
Tesone, Marta	277	045
Tesone, Marta	123	059
Tesone, Marta	S1_020	074
Thomine, Sébastien	412	030
Thomson, Leonor	S3_057	133
Thomson, Leonor	S3_065	134
Thomson, Leonor	S1_053	082
Toledo Gallo, Rosina	281	043
Toledo Gallo, Rosina	S1_007	070
Toloza, Jeannette	192	038
Toloza, Jeannette	098	039
Tomás, Gonzalo	353	060
Tomás, Gonzalo	S2_066	114
Tomás, Gonzalo	S3_079	136
Tomás, Gonzalo	S3_085	136
Tomasco, Ivanna		048
Tomasco, Ivanna	064	049
Tomasina, Florencia	S3_057	133
Tomaz, Ana Isabel	098	039
Tomaz, Isabel	S1_037	078
Tome, Lorena	376	061
Tomé, Lorena	S1_010	071
Tomé, Lorena	S3_081	136
Törngren, Therese	S2_049	109
Torrado, Belén	S2_011	099
Torre, María H.	053	044
Torre, María H.	S1_034	077
Torre, María H.	S2_044	108
Torre, María H.	S2_050	109
Torres, Hugo	050	052
Torres, Hugo	S1_001	069
Torres, Hugo	S1_002	069
Torres, Maximilano	S1_021	074
Torres, Maximiliano	S1_107	093
Torres, Susana	148	039
Tort, José	S1_119	096
Tort, José Francisco	S1_050	081
Torterolo, Pablo	425	065
Torterolo, Pablo	S1_068	086
Torterolo, Pablo	S1_070	087
Torterolo, Pablo	S1_072	087
Torterolo, Pablo	S1_073	087
Torterolo, Pablo	S1_074	088
Torterolo, Pablo	S1_076	088
Torterolo, Pablo	S1_079	089
Torterolo, Pablo	S1_095	090
Torterolo, Pablo	S1_098	091
Tortora, Veronica	362	033
Tórtora, Verónica	S3_025	129
Tosar, Juan Pablo	S2_016	100
Tosar, Juan Pablo	S2_025	103
Touriño, Cristina	383	028
Touriño, Cristina	S2_120	125
Touriño, Cristina		028
Tovar, M. Oswaldo	115	058
Trajtenberg, Felipe	376	061
Trajtenberg, Felipe	S2_020	101
Trajtenberg, Felipe	S2_107	121
Trajtenberg, Felipe	S3_019	128
Trajtenberg, Felipe	S3_037	130
Trasante, Tania	007	041
Trias, Emiliano	S1_096	090
Trias, Emiliano	S1_097	090
Trostchansky, Andrés	S3_017	128
Trostchansky, Andrés	S3_053	132
Trostchansky, Andrés	S3_055	132
Trotchanski, Andrés	S1_069	086
Trovero, Fernanda	156	032
Trovero, Ma. Fernanda	127	041
Trujillo Cénoz, Omar	336	057
Trujillo, Madia	S1_004	069
Trujillo-Cenóz, Omar	S1_108	093
Tucci, Paula	S2_038	106
Turanov, Anton A	S2_117	124
Turell, Lucía	S3_003	126
Turell, Lucía	S3_007	126
Turell, Lucía	S3_029	129
Urbanavicius, Jessika	S1_068	086
Urbanavicius, Jessika	S1_095	090
Ures, Ximena	S2_119	124
Uriarte, Natalia	292	059
Uriarte, Natalia	S1_103	092
Uriarte, Rosario	S3_083	136
Vaamonde, Lucía	S2_023	102
Vacca, Agustina	S1_039	079
Valentin, Adrián	336	057
Valentini, Valentina	426	065
Valentini, Valentina	S1_064	085
Valentinuzzi, Verónica	339	020
Valle Lisboa, Juan	260	027
Valle Lisboa, Juan C.	S2_053	110
Vanrell, Lucía	S2_031	104
Varela, Javier	148	039
Varela, Javier	S1_037	078
Varela, Javier	S1_038	078
Varela, Javier	S1_041	079
Varela, Javier	S1_043	080
Varela, Javier	S1_047	081
Varela, María	S3_033	130
Varela, Roberto	S2_061	112
Varela, Valentina	258	023
Varela, Valentina	S3_092	138
Vázquez, Esther	S2_122	125
Veiga, Nicolás	S2_050	109
Velásquez, Noelia	S1_074	088
Velásquez, Noelia	S1_076	088
Velázquez, Tatiana	S2_058	112
Venzal, Jose Manuel	S2_108	121
Vera de Bilbao, Ninfa	148	039
Vera, Brenda	S2_002	097
Verdes, Jose Manuel	248	019
Vero, Silvana	268	025
Vero, Silvana	026	041
Vero, Silvana	S2_074	116
Vero, Silvana	S2_101	120
Vero, Silvana	S2_105	121
Victoria, Matías	077	060
Vidal, Leticia	S3_071	135
Vidal, Sabina	S2_030	104
Viega, Luis	S2_060	112
Vieites, Marisol	192	038
Vieites, Marisol	098	039
Viera, Ines	S1_034	077
Vierci, Gabriela	S1_105	093
Vierci, Gabriela	S1_109	094
Vigil, Maximiliano	S1_025	075
Vignali, Gustavo	S2_051	110
Vignalle, Beatriz	135	062
Vignuzzi, Marco	359	061
Villamil, Emilia	107	029
Villamil, Emilia	S3_088	137
Villamil, Valentina	S2_002	097
Villarino, Andrea	S1_040	079
Villarino, Andrea	S2_039	106
Villarino, Andrea	S3_005	126
Villarino, Andrea	S3_023	128
Villarino, Andrea	S3_039	130
Villarino, Andrea	S3_041	131
Villarino, Andrea		022
Villaverde, Antonio	S2_122	125
Viotti, María Helen	S1_012	072
Viotti, María Helen	S1_013	072
Vitar, Magdalena	S1_099	091
Vitureira, Nathalia	398	051
Vizziano Cantonnet, D.	S1_017	073
Vizziano, Denise	S1_019	073
Vizziano-Cantonnet, Denise	150	059
Volff, JN	S1_016	073
Vollono, Patricia	425	065
Vollono, Patricia	S1_076	088
Vollono, Patricia	S1_079	089
Vomero, Alejandra	S2_064	113
von Zitzewitz, Jarislav	S2_056	111
Wenzel, Jorge	S2_076	116
Wilson, Dave	S2_037	106
Witwer, Kenneth	S2_025	103
Wyneken, Ursula	249	051
Y. Kagimura, Francini	S2_042	107
Yaluff, Gloria	148	039
Yamashita, Alex	102	045
Yaneselli, Kevin	002	029
Yáñez-Muñoz, Rafael J.	S2_122	125
Yasem de Romero, Marta	S2_105	121
Yim, Lucia	S2_111	122
Yim, Lucía	250	041
Yim, Lucía	090	045
Yim, Lucía	S2_110	122
Ylä-Herttuala, Seppo	035	033
Yorda, Gabriel	S3_071	135
Zabala, Maider	079	029
Zabaleta, María	S2_097	119
Zabaleta, María	S2_106	121
Zamarreño, Fernando	S1_116	095
Zanetti, Eugenia	375	030
Zolessi, Flavio	062	042
Zolessi, Flavio	S1_046	080
Zolessi, Flavio	S2_026	103
Zolessi, Flavio R.	261	018
Zolessi, Flavio R.	S2_113	123
Zugarramurdi, Camila	S2_053	110
Zuluaga, María José	292	059
Zuluaga, María José	S2_026	103
Zunino, Pablo	S2_099	119

NOTAS

NOTAS

NOTAS

NOTAS

NOTAS

NOTAS

NOTAS

NOTAS

SUB

XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

Viernes 5 de Setiembre

9:00-10:30	**Acreditación**	Sala de Secretaría
10:30-11:00	**Acto de Apertura** 12	Fontana
11:00-12:00	**Actividad Plenaria I** 12 *Dr. Richard Jorgensen*	Fontana
12:30-14:00	**Almuerzo**	
14:00-15:45	**Mesas Temáticas**	
	Sociedad Uruguaya de Genética 16	Fontana
	Marcando el tiempo 20	Concepción
	Sociedad Uruguaya de Microscopía e Imagenología 18	Pasillo Planta Baja
	Biotecnología 22	Pasillo Spa
	Asamblea de Seccional Biofísica	Sala Jardín
15:45-18:30	**Sesión de Posters I** 69	Salón Dorado y Sala Génova
	Exposición Fotográfica I	Salón Dorado
	Café	
18:45-20:30	**Mesas Temáticas**	
	Viviendo al extremo: investigaciones en biociencias antárticas 24	Fontana
	Seccional Terapia Génica y Celular: proyectos actuales en desarrollo en Uruguay 28	Concepción
	Seccional Biofísica 26	Pasillo Planta Baja
	Biología Vegetal 30	Pasillo Spa
20:30-22:30	**Cena**	Salón comedor
	Estreno del documental "Escuela de Verano en la Antártida: Entrenando a los futuros investigadores antárticos. Una experiencia educativa"	Fontana

Sábado 6 de Setiembre

9:00-10:45	**Mesas Temáticas**	
	Seccional Bioquímica y Biología Molecular 32	Fontana
	Organismos modelo 36	Concepción
	Biodiversidad y sus determinantes 34	Pasillo Planta Baja
	I+D de fármacos de terapia y diagnóstico: de la investigación básica a la biomedicina traslacional 38	Pasillo Spa
	Asamblea de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay	Sala Jardín
10:45-11:00	**Café**	
11:00-12:30	**Actividad Plenaria II** 12	Fontana
	"Políticas científicas en el futuro de Uruguay: resolviendo inequidades" Panelistas Invitados: Prof. Judith Sutz, Prof. María Simón y Prof. Omar Macadar	
12:30-14:00	**Almuerzo**	
14:00-15:45	**Mesas Temáticas**	
	Microbiología 40	Fontana
	Nuevos enfoques químicos y biológicos para el tratamiento del cáncer 44	Concepción
	Fluorescencia Biológica: desde la cubeta al microscopio 42	Pasillo Planta Baja
	Ciencias Cognitivas 46	Pasillo Spa
	Zoología 48	Sala Jardín
15:45-18:30	**Sesión de Posters II** 97	Salón Dorado y Sala Génova
	Exposición Fotográfica II	Salón Dorado
	Café	
18:45-20:30	**Mesas Temáticas**	
	Mecanismos de Plasticidad en el Sistema Nervioso 50	Fontana
	Interacción Hospedero-Parásito 54	Concepción
	Biofísica como ciencia interdisciplinaria en estudios de proteínas 52	Pasillo Planta Baja
	Bioinformática 56	Pasillo Spa
	Biología Reproductiva en Metazoos 58	Sala Jardín
20:30-22:30	**Cena**	
22:30-3:00	**Confraternización y Fiesta**	Boliche Costelo

Domingo 7 de Setiembre

10:00-11:00	**Actividad Plenaria III** 13 *Dr. Ramón Latorre*	Fontana
11:00 -12:30	**Sesión de Posters III** 126	Salón Dorado y Sala Génova
	Café	
12:30-14:00	**Almuerzo**	
14:00 -15:45	**Mesas Temáticas**	
	Virología en Uruguay: batallando con el enemigo invisible 60	Fontana
	Sociedad de Neurociencias del Uruguay 64	Concepción
	Productos naturales 62	Pasillo Planta Baja
	Taller: Educación Científica y Motivación Académica 66 *(dirige A. Corbacho)*	Pasillo Spa
15:45-16:00	**Café**	
16:00-17:00	**Actividad Plenaria IV** 13 *Dr. Pablo Marquet*	Fontana
17:00-17:30	**Ceremonia de Clausura y Premios a Presentaciones de Estudiantes** 13	Fontana