CONGRESO NACIONAL DE
BIOCIENCIAS
2017

Congreso Nacional de Biociencias 2017
XVI Jornadas de la SUB
XVI Jornadas de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay (SNU)
XII Encuentro Nacional de Microbiólogos (SUM)
10as. Jornadas de la SBBM
VI Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Inmunología (SUI)
V Congreso de la Sociedad Uruguaya de Genética (SUG)
IV Jornadas +Biofísica (SBF)
IV Jornadas Programa para la Investigación Biomédica (PROINBIO)
II Encuentro Nacional de Virólogos
I Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Microscopía e Imagenología (SUMI)
II Jornadas de la Asociación de Terapia Génica y Celular del Uruguay (ATGC-U)

LIBRO DE RESÚMENES

Viernes

Carpa C5 - SUMI, ATGCU y SUI

14:30 - 16:15 **ATGCU**

Simposio ATGC-U_1: Terapia Celular y Medicina Regenerativa

Terapias basadas en células y medicina regenerativa. (#0339)

Cristina Touriño Ponte [1]

1 - Hospital de Clinicas.

Resumen:

A finales de los 90, el entusiasmo generado por las investigaciones sobre células madre abrieron la esperanza de su utilización para reparar tejidos y órganos, siendo el centro de la llamada medicina regenerativa (MR). Ésta se vincula a diferentes áreas científicas y tiene entre sus objetivos el estudio y desarrollo de productos terapéuticos de innovación: productos de terapia avanzada (PTA). Éstos son medicamentos de uso humano basados en tejidos (ingeniería tisular), células (terapia celular) o genes (terapia génica). Al ser nuevos y complejos, deben ser regulados por una normativa específica y adecuada, para lograr la adecuada traslación de investigaciones básicas (laboratorios de investigación) a la clínica (laboratorios específicos de producción de PTA). Al cambiar su imagen clásica, se considera que deben cambiar de categoría en su reglamentación y condiciones de producción. La utilización de células, tejidos y órganos humanos para trasplante es una técnica reconocida y consolidada desde hace años. El problema surge cuando éstos son modificados de alguna forma previo a su implante. Su producción y aplicación deben estar dentro de un marco ético y regulatorio adecuado que garantice todo el proceso: el marco de producción (buenas prácticas de fabricación) y el marco de aplicación (indicación terapéutica). La finalidad de la normativa es proteger al paciente evitando engaños sobre sus efectos terapéuticos y asegurar la calidad del producto. Dado el estado actual del conocimiento, la mayoría de los PTA deberían estar encaminados a la producción en un ámbito de I+D+I y no de comercialización. En el Uruguay estas terapias están reguladas por el MSP a través del Instituto Nacional de Donación y Trasplante (INDT) (Decreto 160/2006). Nuestro país se encuentra en el inicio de este tipo de terapias con un emprendimiento de carácter nacional en desarrollo, en el marco de una alianza estratégica entre la UdelaR y el MSP.

Donantes fallecidos como fuente de células madre estromales mesenquimales para terapia celular. (#0179)

Lourdes Echarte Raffaelli [1]; Jorge Zunino Delgado [2]; Daniel Machin Torres [2]; Alexandra Sujanov Gordon [1]; Natalia Marquisá Colombo [1]; Mariana Lorenzo Álvarez [2]; Inés Álvarez Saldías [2]; Milka Bengochea Montero [2]; Cristina Touriño Ponte [1]

1 - Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa, Dpto. Básico de Medicina, UdelaR. 2 - Instituto Nacional de Donación y Trasplante (INDT) MSP-UdelaR.

Resumen:

Las células madre estromales mesenquimales (MSC) constituyen una población heterogénea de células multipotentes adultas, con elevada capacidad de proliferación *in vitro*, capacidad de migrar e injertarse en sitios de inflamación, de secretar moléculas bioactivas, con escasa imunogenicidad y con particulares funciones inmunomoduladoras. Estas propiedades resultan interesantes para su aplicación en terapia celular y medicina regenerativa, siendo actualmente evaluadas en cientos de ensayos clínicos. Se han empleado diversas fuentes para la obtención de MSC, pero las derivadas de médula ósea (MO) son las más utilizadas para aplicaciones clínicas autólogas o alogénicas. En este último caso, una de las dificultades para su obtención es la disponibilidad de donantes vivos de MO. En contraste, el donante fallecido como fuente alogénica ha sido poco explorado. El objetivo de nuestro estudio es evaluar el potencial relativo, como fuente alternativa para terapia celular, de las MSC de MO de donantes fallecidos, obtenida de 2 sectores diferentes: fémur (F) y cresta ilíaca (I) y en 2 situaciones de muerte distintas: en parada cardio circulatoria (MCC) y en muerte encefálica (ME) Se desarrollaron procedimientos para la colecta y procesamiento de MO, así como, para el cultivo, inmunofenotipificación y diferenciación de MSC. Los resultados muestran que es posible obtener MSC viables a partir de MO obtenida de ambas topografias. Se logró cultivar y expandir MSC, tanto de donantes en ME (n=3), como de donantes por MCC (n=3). Las MSC obtenidas se caracterizaron mediante citometría de flujo, expresando los marcadores: CD105, CD73, CD90 y no expresando: CD45, CD34, CD14; inmunofenotipo característico de MSC. Se indujo la diferenciación de las MSC a osteblastos, adipocitos y condrocitos; cumpliendo con los criterios de MSC. Estos resultados preliminares muestran la factibilidad de obtener MSC a partir de donantes fallecidos y que éstas podrían constituir una fuente adecuada para terapias basadas en células.

Productos derivados de las plaquetas y su potencial biológico regenerativo. (#0148)

Alexandra Sujanov [1]; Lourdes Echarte [1]; Sofía Falco [2]; Natalia Lamela [3]; Ismael Rodriguez [3]; Gabriela Otero [2]; Cristina Touriño [1]

1 - Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa del Hospital de Clínicas, UdelaR. 2 - Dpto. Dermatología, Hospital de Clínicas, UdelaR. 3 - Dpto. Hemoterapia, Hospital de Clínicas, UdelaR.

Resumen:

Las plaquetas desempeñan roles esenciales no solo en la hemostasis, sino también en el proceso de reparación tisular, dado que los factores de crecimiento (FC) y moléculas bioactivas que secretan constituyen reguladores esenciales de todas las fases de este proceso. Las propiedades biológicas pro-regenerativas de estos factores constituyen la base racional de la aplicación de distintos productos derivados de las plaquetas tanto para estimular la proliferación celular in vitro, como para promover la reparación y acelerar la cicatrización de distintos tipos de lesiones y heridas quirúrgicas. Así, se ha evaluado la utilización de lisados de plaquetas humanas y suero rico en FC plaquetarios como suplementos en cultivos celulares, demostrándose la capacidad de estimulación de la proliferación celular dosis dependiente. La posibilidad de utilizarlos como alternativa al suero fetal bovino resulta de particular importancia para la obtención de productos celulares para uso clínico. Nuestro grupo se encuentra desarrollando la obtención y evaluación de estos productos en distintas líneas celulares. Por otra parte, existe intensa investigación sobre la aplicación del plasma rico en plaquetas (PRP) y sus variantes con fines terapéuticos. Los distintos preparados varían en su estructura, composición, y factores de crecimiento, existiendo una gran variedad de protocolos utilizados para su preparación, que afectan las propiedades de los productos y que han dificultado la comparación de resultados de eficacia en ensayos clínicos. Nuestro equipo ha conducido en el Hospital de Clínicas un estudio piloto prospectivo de intervención terapéutica para evaluar la terapia con PRP autólogo como modalidad complementaria para el tratamiento de úlceras venosas crónicas de miembros inferiores. El procedimiento resultó seguro y con escasa incidencia de efectos adversos. Se observó una disminución significativa del área de las úlceras y del dolor y una mejoría en la calidad de vida de los pacientes, evidenciando un beneficio de esta nueva modalidad terapéutica.

Andamios de regeneración tisular basados en colágeno tipo I. (#0221)

Helena Pardo [1]; Luciana Pereira [1]; Lourdes Echarte [2]; Cristina Touriño [2]; Analía Castro [1]; Álvaro Mombrú [1]; Ricardo Faccio [1]; Juan Pablo Villanueva [1]; Mariano Romero [1]; Inés Alvarez [3]; Pablo Miranda [1]; Patricia Zimet [1]; Juan Benech [4]; Natalia Oddone [4]; Héctor Perez-Campo [3]

1 - Centro NanoMat, DETEMA, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 2 - Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 3 - Instituto Nacional de Donación y Trasplante, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 4 - Laboratorio de Nanobiología y Señalización Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

El objetivo principal de este trabajo es desarrollar un andamio de reposición tisular basado en colágeno tipo I que permita avanzar en el desarrollo de alternativas terapéuticas nacionales mediante el empleo de estrategias de ingeniería tisular y medicina regenerativa. Como materia prima se utiliza al colágeno tipo I, el cual es extraído y purificado a partir de tendón bovino. Una vez obtenido dicho biopolímero con la calidad adecuada se comienza con procesos que permiten su reticulación y que terminan dando lugar a la fabricación de un constructo biodegradable con porosidad y propiedades mecánicas adecuadas. La reticulación primaria se realiza mediante la adición de sulfato de condroitín, también bovino, y la reticulación secundaria se realiza mediante irradiación con rayos gamma. Dicho paso también permite que el material resulte adecuadamente esterilizado. Finalmente, una capa de silicona de grado médico se dispone sobre los andamios dando como resultado una matriz sintética bicapa. Este constructo ha sido modificado exitosamente con la incorporación de sistemas de nanocápsulas de quitosano cargadas con ácido ascórbico empleadas como modelo para estudiar la viabilidad de estos andamios para su uso como plataformas de liberación controlada de drogas. Dichas nanocápsulas fueron preparadas mediante la técnica de gelificación iónica caracterizadas mediante técnicas de microscopía electrónica de transmisión, dispersión dinámica de luz -DLS- y su eficiencia de encapsulación fue determinada mediante técnicas de cromatografía, fue avaluada su citotoxicidad *in vitro* mediante ensayos de MTT. Asimismo, en un intento de avanzar en la fabricación de sistemas híbridos biológicos-sintéticos, estos constructos han sido empleado como soportes de adhesión, proliferación y diferenciación de células mesenquimales de cresta ilíaca. Las diferenciaciones ensayadas fueron a osteoblastos y a adipocitos.

Aislamiento, determinación de viabilidad y caracterización de células madre de pulpa dental humana (*DPSCh*). (#0136)

Alejandro Francia [1]; Guillermo Grazioli [1]; Lourdes Echarte [2]; Natalia Marquisá [2]; Milka Bengochea [3]; Cristina Touriño [2]; Álvaro Maglia [1]; Inés Álvarez [3]

1 - Facultad de Odontología - UdelaR. 2 - Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa, Dpto. Básico de Medicina, UdelaR. 3 - Instituto Nacional de Donación y Trasplante (INDT) MSP-UdelaR.

Resumen:

OBJETIVOS: -Aislar y evaluar células madre de la pulpa dental humana (DPSCh). - Establecer en Uruguay un protocolo de aislamiento de DPSCh. **MÉTODOS:** Fueron utilizados 10 terceros molares sanos donados por pacientes de entre 18 y 30 años que concurrieron a la Facultad de Odontología, UdelaR y otorgaron su consentimiento escrito. Dichas piezas fueron colocadas en medio de transporte y procesadas antes de las 48 hs. en el INDT.En el laboratorio se realizó la fractura de la pieza en cámara de flujo laminar para proceder a la obtención del tejido pulpar y su procesado por el método explante.Obtenida una confluencia del 80% se realizaron 3 pasajes. En cada pasaje se analizó: Morfología por técnicas de microscopía óptica, viabilidad celular y conteo en cámara de Neubauer. Al tercer pasaje se realizó la caracterización celular mediante citometría de flujo, con los marcadores CD29, CD73, CD90, CD105 y CD166 como marcadores positivos (específicos), CD34 y CD45 como marcadores negativos. Además, se sembraron placas Milicell® para inmunocitoquímica, utilizando anticuerpos CD90, CD105, CD34 y CD45. **RESULTADOS:** Se logró obtener DPSCh por primera vez en Uruguay.Las células obtenidas presentaron una vitalidad mayor al 90% en todos los pasajes, observándose una morfología e inmunofenotipo característicos de células madre mesenquimales. El estudio realizado por citometría de flujo, mostró una expresión mayor al 95% en marcadores específicos y ser negativa para los marcadores hematopoyéticos CD34 y CD45. La inmunocitoquímica, confirmó el perfil fenotípico de las DPSC. **DISCUSION:** Se valora esta nueva fuente de células multipotentes humanas con potencial para emplearse en bioingeniería de tejidos para uso clínico. Resta evaluar rendimiento, realizar escalado y controles de calidad. **CONCLUSIONES:** Se logró establecer un protocolo con alta tasa de éxito para el aislamiento y cultivo de DPSCh.
PALABRAS CLAVE: Dental Pulp Stem Cells, Citometría de flujo, Viabilidad Celular

Ingeniería de tejidos en Odontología: Actualidad en Uruguay. (#0135)

Alejandro Francia [1]; *Guillermo Grazioli* [1]

1 - Facultad de Odontología UdelaR - INDT MSP.

Resumen:
En la cavidad bucal encontramos diversos nichos de células estromales adultas, relacionados al órgano dentario, caracterizados por su origen embriológico ectomesenquimático. Las células estromales en la pulpa dental humana (DPSCh) prometen ser una fuente aplicable en medicina regenerativa. Nuestro equipo logró en 2015 establecer por primera vez en Uruguay un protocolo de obtención y cultivo de DPSCh, caracterizadas fenotípicamente. El aislamiento de estas células requiere de una técnica escasamente invasiva para el individuo (escasa morbilidad de la zona donante). Las células estromales mesenquimales como las DPSCh han sido aplicadas en defectos óseos demostrando ser efectivas en la regeneración de este tejido. Se han explorado diferentes métodos y avances en la regeneración ósea pero aún es necesario mejorar o encontrar técnicas que proporcionen mayor éxito clínico, mejor calidad y cantidad de hueso, así como menores tiempos biológicos de regeneración. La disponibilidad de tejido óseo en calidad y volumen son imperativas para situaciones clínicas donde la rehabilitación protésica del paciente requiere la colocación de implantes dentales. En la búsqueda de andamios para la ingeniería de tejidos, la Membrana Amniótica(MA) se presenta como una alternativa ampliamente estudiada. Los componentes de la matriz extracelular de la MA como el colágeno, elastina, laminina y fibronectina han demostrado que es un excelente candidato. Se trata de un material biológico normalmente de descarte. Actualmente nos encontramos desarrollando un protocolo para la obtención de un constructo a partir de MA tratadas con el agregado de DPSCh, con el fin de generar un biomaterial para la regeneración ósea. La Ingeniería de tejidos podría brindar una solución a las dificultades actuales, el uso de tejidos bioingenierizados como constructos osteoinductores, utilizando tejidos y células humanas presentes en biobancos (de tejidos y células), prometen ser una alternativa que evite mayor morbilidad para el paciente.

Sábado

18:30 - 20:15 **ATGCU**

Simposio ATGC-U_2: Terapia Génica y Medicina Regenerativa

Terapia Génica del Cáncer (#0220)

M. Gabriela Kramer [1]

1 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

Resumen:

La terapia génica consiste en la transferencia de material genético (fundamentalmente genes que codifican proteínas) a células somáticas del organismo con el fin de obtener un beneficio terapéutico. Esta terapia tiene una clara aplicación para el tratamiento de enfermedades monogénicas crónicas, tales como la fibrosis quística o las inmunodeficiencias severas hereditarias. Sin embargo, además de la complementación génica, las estrategias de terapia génica comprenden la regulación o edición de genes celulares alterados, la inhibición de la síntesis de proteínas deletéreas, la producción ectópica de proteínas terapéuticas y la inducción de muerte de células tumorales directa o indirectamente mediada por la activación de pro-drogas o del sistema inmune. Anualmente se publican cientos de trabajos sobre tratamientos experimentales de terapia génica evaluados en modelos animales, habiéndose realizado hasta la fecha más de 2000 ensayos clínicos en todo el mundo, de los cuales más del 60% se han dirigido al tratamiento del cáncer. De hecho, ya se han licenciado tres productos de terapia génica *in vivo* para el tratamiento del cáncer (Gendicine, Oncorine y Talimogene laherparepvec), que, junto a las prometedoras estrategias de terapia génica *ex vivo* que involucran la modificación de células inmunes del organismo con genes quiméricos (ej: CAR-T), sugieren que a medio plazo se pueda contar con nuevos productos de uso clínico. En esta presentación se comentarán los avances de este sector de la biomedicina, los desafíos por resolver y los resultados que hemos obtenido en estudios pre-clínicos de terapia génica *in vivo* del cáncer de mama.

Terapia génica aplicada a lesiones traumáticas del sistema nervioso (#0295)

Luciana Negro-Demontel [1]; Daniela Blanco [2]; Eliseo Taranto [2]; Joan Sayós [3]; Hugo Peluffo [1]

1 - Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UDELAR. 2 - Departamento de Fisiopatología, Facultad de Medicina, UDELAR. 3 - Laboratorio de Regulación inmunitaria e Inmunoterapia, programa CIBBIM-Nanomedicina, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut de Recerca (VHIR), Universitat Autonoma de Barcelona.

Resumen:

Nuestro grupo se ha centrado en el desarrollo de vectores adecuados para el tratamiento de lesiones agudas del sistema nervioso, tales como el trauma cerebral. En el presente trabajo utilizamos nano-vectores modulares recombinantes y vectores lentivirales no integrativos (IDLV). Nuestros resultados muestran que ambos tipos de vectores median la sobre-expresión de un transgén reportero (GFP) rápidamente (24hs) luego del trauma. Si bien se observan diferencias en los niveles de expresión y patrón temporal, en ningún caso resultaron tóxicos o pro-inflamatorios luego de la lesión. En base a estos resultados y resultados previos mostrando la que la sobre-expresión del immunoreceptor CD300f resultaba en una reducción del volumen de lesión cerebral luego de un daño excitotóxico, diseñamos un protocolo de terapia génica adecuado para el trauma cerebral. A las 4 horas luego de la lesión inyectamos los distintos vectores sobre-expresando GFP o CD300f bajo el promotor de CMV. Se siguieron los animales durante 3 meses mediante diferentes pruebas neurológicas y se analizó el porcentaje de tejido cerebral remanente. Todos los vectores mostraron un excelente perfil terapéutico: los animales tratados con ambos vectores control presentan un mejor desempeño en los test neurológicos y un mayor porcentaje de tejido cerebral conservado comparado con los animales inyectados con vehículo. Sin embargo, si bien la sobre-expresión de CD300f mediada por NLSCt resultó neuroprotectora a los 3 días, este efecto se revierte a los 3 meses, tanto con el vector NLSCt como con el HNRK o IDLV. En conclusión, nuestros resultados refuerzan la hipótesis de que tanto los nano-vectores modulares recombinantes como los lentivectores son herramientas terapéuticas adecuadas para tratar lesiones traumáticas del sistema nervioso. Sin embargo, la sobre-expresión general del gen diana CD300f no resulta adecuada para el tratamiento del trauma cerebral, planteando la hipótesis de que una expresión específica en microglía/macrófagos podría mostrar efectos neuroprotectores.

Medicina Regenerativa Veterinaria: aplicación terapéutica de Células madre y PRP en el Uruguay. (#0025)

Jacqueline Maisonnave [1]; *Kevin Yaneselli* [1]

1 - Facultad de Veterinaria-UdelaR.

Resumen:
En 2007 el Área de Inmunología-F. Veterinaria-UdelaR, comenzó a incursionar en Medicina Regenerativa Veterinaria (MVR). En 2010 se creó el 1er Grupo Multidisciplinario CSIC 881142 de MVR, que es Internacional con investigadores de la Región y Europa. Las Terapias Regenerativas, son procedimientos que "Regeneran" el tejido dañado, y no solo "reparan", como apuntan los tratamientos convencionales. Las Células Madre Mesenquimales (CMM) o Mesenchymal Stem Cells (MSC) tienen 5 características atractivas para su aplicación *in vivo:* Multipotencialidad, Inmunomodulación, Angiogénesis, migran al foco inflamatorio (*homing),* poder Antimicrobiano. La gran mayoría de las propiedades atribuidas a las CMM se deben a los factores que ellas secretan. Además de las CMM, también son elementos de MR, el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y Parches de Fibrina, por los factores de crecimiento que liberan las plaquetas una vez activadas. Las líneas de investigación de MRV en el Área de Inmunología son: Aplicación de Terapia Regenerativa en casos clínicos y Modelos. Con la aplicación de la MR hemos podido contribuir a resolver casos clínicos que no tuvieron éxito con el tratamiento tradicional en Uruguay. Nuestro propósito es continuar contribuyendo al conocimiento de los componentes de la MRV aplicados. También difundir los resultados, para que los médicos y veterinarios clínicos puedan considerar la aplicación de la Medicina Regenerativa.

Células madre mesenquimales en animales domésticos: caracterización y nuevo suplemento de cultivo (#0037)

Kevin Yaneselli [1]; *Jacqueline Maisonnave* [1]

1 - Área Inmunología, Departamento Ciencias Microbiológicas, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay..

Resumen:
Las células madre mesenquimales (CMM) presentan gran interés en veterinaria por su potencial uso en medicina regenerativa. Los caninos, equinos y felinos tienen un rol protagónico como animales de compañía y atletas. Además, son valiosos modelos experimentales para humanos, debido a las similares características anatomofisiológicas, vida longeva y pueden ser sometidos a períodos prolongados de rehabilitación. Tradicionalmente para la proliferación de las CMM se suplementa con suero fetal bovino (SFB), que tiene varios inconvenientes, como el hecho de trasplantar proteínas xenogénicas y afectar el bienestar animal durante su extracción. Existe escasa información sobre las características de las CMM en especies domésticas y potenciales suplementos de cultivo. El objetivo fue difundir los principales avances en caracterización de las CMM provenientes de las especies canina, equina y felina, además de la evaluación del lisado plaquetario alogénico como potencial reemplazo del SFB. Para ello, fueron aisladas células de la fracción vascular estromal de tejido adiposo de las 3 especies. Fueron evaluadas diferentes características: 1) capacidad proliferativa; 2) su inmunofenotipo y 3) la multipotencialidad. Las células caninas y equinas han sido caracterizadas y se ha conseguido evaluar el reemplazo del SFB en las equinas observándose características similares. En felinos se ha comenzado con el aislamiento celular. En conclusión, se continúa con la caracterización de las poblaciones celulares de caninos, equinos y felinos con diferentes grados de avance, con especial énfasis en características de atractivo terapéutico. Por último, se viene generando un banco de CMM de origen animal con el propósito de futuros estudios *in vitro*, como también poder ser utilizadas para la aplicación terapéutica.

Terapia celular en modelos de nefropatía crónica (#0224)

Ana Carina Pizzarossa [1]; Adrian Santelli [1]; Lourdes Echarte [1]; Liliana Gadola [1]; Cristina Touriño [1]

1 - Facultad de Medicina / Hospital de Clinicas.

Resumen:
En los últimos años se han publicado investigaciones que demuestran que la administración de células estromales de medula ósea (CEM) promueve la recuperación renal. **Objetivos:** Evaluar el efecto de CEM en atenuar el daño parenquimatoso en 2 biomodelos experimentales de nefropatía. **Métodos**: En ratas Wistar hembras se realizaron: A. Nefrectomía 5/6 (NFX), control a 10 semanas y B. Ligadura ureteral unilateral (UOU), control a 2 semanas, subdivididos en 1. Controles y 2. Tratados con CEM y los grupos sham correspondientes. Al finalizar el seguimiento, se extrae sangre de aorta (para azoemia, creatininemia, ionograma), corazón (para evaluar fibrosis y espesor miocárdico) y riñones para scores histológicos e inmunohistoquímica para evaluar transición epitelio-mesenquimal e injuria nitro-oxidativa. **Resultados.** El grupo NFX 5/6 *vs* sham presentó creatininemia 0,66±0,23 *vs* 0,27±0,01 mg/dl ($p < 0.05$), azoemia: 56,5±13,3 vs 29±4,79 mg/dl ($p < 0.05$) y score de daño tubulointersticial 0,94±0,24 vs 0,19± 0,17 ($p<0.01$). El modelo UOU presentó aumento de creatininemia vs sham (0,59±0,06 vs 0,29±0,03 mg/dl) y de azoemia (41,2±3,11 *vs* 29±4,8 mg/dl) ($p < 0.0001$). Se obtuvieron CEM de ratas Wistar macho que se administraron, sin incidentes, por vía venosa periférica en el grupo NFX y por vena cava en UOU, a dosis de $1x10^6$ células, en pasaje P2 a P6, por rata (3 UOU y 2 NFX). El grupo UOU+CEM mostró un descenso de creatininemia *vs* UOU (0,44±0,07 *vs* 0,60±0,06 mg/dl) y de azoemia (34,33±5,51 vs 41,80±3,11 mg/dl) ($p<0.05$). **Conclusiones.** Los biomodelos tuvieron el desempeño esperado y los resultados preliminares del modelo UOU mostraron beneficios con la administración de CEM.

Sábado

16:25 - 17:00 **ATGCU**

PRESENTACIÓN POSTERS - ATG - #0225, #0333

Caracterización biológica de una matriz biopolimérica de colágeno y GAG (#0333)

Luciana Pereira [1]; Natalia Oddone [2]; Lourdes Echarte [3]; Natalia Marquisá [3]; Juan C. Benech [2]; Ricardo Faccio [4]; Álvaro W. Mombrú [4]; Mariano Romero [4]; Inés Álvarez [5]; Walter Vicentino [5]; Cristina Touriño [3]; Helena Pardo [1]

1 - Centro NanoMat, DETEMA, Facultad de Química, UdelaR. 2 - Laboratorio de Nanobiología y Señalización Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura. 3 - Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UdelaR. 4 - Centro Interdisciplinario de Nanotecnología, Química y Física de Materiales, Espacio Interdisciplinario, UdelaR. 5 - Instituto Nacional de Donación y Trasplante de Células, Órganos y Tejidos (INDT).

Resumen:

Los avances en la ingeniería tisular y la medicina regenerativa han desarrollado estructuras que posibilitan la reparación y restauración fisiológica de tejidos. Para ello, se utilizan andamios biocompatibles y biodegradables en conjunción con determinadas células para generar productos que simulan estructural y funcionalmente el tejido diana. Las matrices biopoliméricas de colágeno constituyen biomateriales que pretenden imitar la matriz extracelular nativa, actuando como un andamiaje temporario que permite la proliferación organizada de las células. Entre las células utilizadas para regeneración tisular, las células estromales mesenquimales (MSC) son una de las fuentes más utilizadas en la actualidad por sus propiedades biológicas particulares. En este contexto, el objetivo general del presente trabajo fue evaluar la citotoxicidad y adherencia celular de matrices desarrolladas a partir de colágeno tipo I bovino, además de su rol como andamio para la diferenciación de las MSC de médula ósea a linajes osteogénico y adipogénico. La citotoxicidad se evaluó mediante el eensayo de MTT, mediante la exposición de distintas líneas celulares a un extracto de la matriz colagénica. La adherencia celular a la matriz colagénica se determinó mediante el ensayo live/dead marcando con FDA/IP las líneas celulares BJ, MS5 y NIH-3T3. Asimismo, se evaluó la capacidad de diferenciación sobre la matriz de una línea primaria de células estromales mesenquimales (MSC) de médula ósea. Las MSC fueron diferenciadas a los linajes osteogénico o adipogénico luego de ser sembradas sobre la matriz colagénica y expuestas a los respectivos medios inductores de diferenciación durante 15 días. A continuación, las células fueron fijadas y teñidas para evidenciar la diferenciación al linaje correspondiente. El extracto de matriz no resultó citotóxico para las líneas celulares evaluadas. Dichas células lograron adherirse correctamente a la matriz colagénica. Se evidenció cualitativamente la diferenciación de las MSC de médula ósea a los linajes osteogénico y adipogénico.

Terapia génica con interleuquina 12 en un modelo de cáncer de mama hormono-dependiente inducido en ratas Wistar. (#0225)

Natalia Mazza [1]; Patricia Berasain [2]; José Pedro Pacheco [3]; Carolina Chiale [4]; Marcelo Fernandez [5]; Martin Breijo [5]; Jaione Bezunartea [6]; Cristian Smerdou [6]; Teresa Freire [4]; M. Gabriela Kramer [1]

1 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 2 - Unidad de Biología Parasitaria, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 3 - Cátedra de Patología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 4 - Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 5 - Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 6 - Unidad de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra.

Resumen:

El cáncer de mama es una enfermedad con alta incidencia y mortalidad a nivel mundial. Esto hace necesaria la investigación dirigida al desarrollo de estrategias terapéuticas nuevas o complementarias. La carcinogénesis mamaria inducida en ratas con N-nitrosometilurea (NMU) presenta características similares a tumores mamarios humanos, siendo un modelo pre-clínico de gran valor para evaluar el efecto de nuevas terapias contra el cáncer de mama. Al tratarse de tumores heterogéneos, resulta relevante correlacionarlos con los parámetros clásicos de diagnostico del cáncer de mama empleados en humanos, a fin de poder asociar el efecto de una terapia experimental con el tipo de tumor tratado. Por eso, en primer lugar decidimos clasificar un amplio número de tumores inducidos con NMU en ratas Wistar para luego evaluar el efecto de una terapia génica basada en la expresión intratumoral de interleuquina-12 (IL-12). Tras la administración de NMU se cuantificó un promedio de 4±2 tumores/rata en el período de estudio. La zona de aparición más frecuente fue la costal superior y los tumores se clasificaron en su mayoría como adenocarcinoma quístico papilar infiltrante, adenocarcinoma quístico papilar con áreas ductales infiltrantes y carcinoma lobulillar infiltrante. Por inmunohistoquímica se comprobó que todos los tumores fueron hormono-dependientes (ER+ y PR+), siendo la mayoría de éstos de grado 3 y negativos para HER-2. El tratamiento de tumores clasificados como adenocarcinoma quístico papilar infiltrante con 2 dosis de un vector alfaviral que expresa IL-12 consiguió inhibir el crecimiento tumoral de forma significativa. La valoración inmunológica de la respuesta se correlacionó con un mayor infiltrado linfocitario y expresión de interferón gamma. Además, en el tejido tratado se observó re-absorción del epitelio anaplásico y presencia de glándulas secretorias sin diferenciación maligna. Estos datos indican que la terapia génica con IL-12 podría ser beneficiosa para complementar los tratamientos pre-operatorios actuales de tumores mamarios hormono-dependientes.

Viernes

Sala S2 - SBBM

10:30 - 12:00 **SBBM**

Conferencia Inaugural SBBM. Simposio SBBM_1: Biología celular y molecular

LINCing the Nucleus to the Cytoskeleton in Cell Polarity, Migration and Disease (#0081)

Gregg Gundersen [1]

1 - Columbia University. NY.

Resumen:
In virtually all cells the nucleus is positioned at a specific location. Disruption of nuclear position affects cell division, polarity, and migration and is associated with numerous diseases. We use wounded fibroblast and myoblast monolayers as model systems to study the mechanisms of nuclear movement and positioning. We identified a novel nuclear adhesive structure composed of the LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) complex proteins nesprin-2G and SUN2 that attaches the nucleus to actin cables to move the nucleus. As with cell-cell and focal adhesions, we find that this nuclear adhesion is reinforced by the binding of other proteins, including the actin bundling proteins FHOD1 and fascin. Importantly, we find that the interaction of nesprin-2G with FHOD1 stimulates its actin bundling activity, suggesting that the nucleus actively participates in reorganizing the actin cytoskeleton. Mutations in LINC complex components and lamin A/C, which anchors the LINC complex, cause muscular dystrophies, lipodystrophies, ataxias and progeria. Using our model system, we find that expressing the disease variants of these proteins results in defects in nuclear positioning, cell polarization and migration. Interestingly, the defects in nuclear movement and cell polarization observed in progeria patient fibroblasts are also observed in fibroblasts from normal individuals over age 60. Treatments that reduce progeria expression or its abnormal farnesylation restore normal nuclear movement and cell polarization in both progeria and aged fibroblasts suggesting a common determinant for premature and normal aging.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Transporte y señalización a través de PPARγ de ácidos grasos nitrados (NO_2-FA): rol de las proteínas de unión a ácidos grasos (FABPs) (#0290)

María Lamas Bervejillo [1]; Gisela R. Franchini [2]; Natalia M. Bottasso Arias [2]; Juan Martin Marqués [3]; Francisco Schopfer [4]; Betina Córsico [2]; Homero Rubbo Amonini [5]; Ana M. Ferreira [6]

1 - Laboratorio de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, UdelaR. 2 - Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. 3 - LVR, Facultad de Medicina, UdelaR. 4 - Department of Pharmacology and Chemical Biology, University of Pittsburgh. 5 - Departamento Bioquímica, LOBBM, Facultad de Medicina, UdelaR. 6 - Laboratorio de Inmunología, IQB, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

Los nitroalquenos derivados de ácidos grasos poliinsaturados (NO_2FA) son mediadores lipídicos, producidos endógenamente en contextos inflamatorios, capaces de modular la activación de varios tipos celulares. Esto resulta de su acción sobre distintas vías de señalización asociadas a la inflamación y al metabolismo lipídico. Entre otras, los NO_2FA activan receptores nucleares de la familia PPAR, particularmente la isoforma PPARγ. Este trabajo buscó elucidar qué mecanismos moleculares y eventos celulares están ligados a la activación de PPARγ por NO_2FA. Primeramente, demostramos que los NO_2FA activan PPARγ en monocitos/macrófagos ya que indujeron la expresión de genes reporteros de PPARγ (la proteína de unión a ácidos grasos FABP4 y el receptor barrendero CD36) en forma dependiente del receptor (anulada por GW9662, inhibidor específico de PPARγ). Como FABP4 participa en el transporte intracelular de ácidos grasos, evaluamos si esta proteína podía unir y transportar NO_2FA al núcleo, contribuyendo a la activación de PPARγ. Utilizando ensayos de desplazamiento competitivo de una sonda fluorescente, encontramos que *in vitro* los NO_2FA son capaces de unirse a la FABP4 con una afinidad levemente menor que la de sus precursores no nitrados (μM). Esto podría permitir su unión a la FABP4 así como también su disociación frente a otro interactor con afinidad por el NO_2FA, como PPARγ. Finalmente, utilizamos un inhibidor de FABP4 (BMS309403) para evaluar su papel en la activación de PPARγ mediada por NO_2FA. Observamos que la activación de PPARγ por NO_2FA fue interferida por el BMS309403 sugiriendo que FABP4 contribuye a dicha activación, posiblemente actuando como proteína transportadora. Actualmente estamos analizando por inmunofluorescencia el efecto de los NO_2FA sobre la distribución celular de FABP4. Globalmente nuestros resultados plantean que los NO_2FA podrían autorregular su transporte intracelular en monocitos/macrófagos a través de la inducción de una proteína capaz de transportarlos, FABP4, promovida por activación de PPARγ.

Posible rol de SIRT6 en la respuesta inflamatoria (#0370)

Mariana Bresque [1]; Garat Pia [1]; Bobba Natalia [1]; Matalonga Jonathan [2]; Dapueto Rosina [1]; Galliussi German [1]; Marmisolle Ines [3]; Virginia López [1]; Celia Quijano [3]; Carlos Batthyany [1]; Carlos Escande [1]

1 - Institut Pasteur. 2 - Universidad de Barcelona. 3 - Facultad de Medicina.

Resumen:

A nivel mundial la preocupación por el sobrepeso y la obesidad toma cada vez más relevancia y Uruguay no es ajeno a esta problemática. Ambos, constituyen el principal factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares y Síndrome Metabólico. Los orígenes de estas patologías incluyen la generación de resistencia a insulina y una inflamación sistémica crónica y estéril, donde el tejido adiposo (TA) presenta un estado disfuncional y proinflamatorio. Los principales contribuyentes al estado patológico del tejido son los preadipocitos, con un fuerte componente secretor proinflamatorio y células inmunes que infiltran el tejido, retroalimentando positivamente la respuesta inflamatoria. Nuestro grupo propone que SIRT6, una desacilasa de histonas que se encuentra unida a la cromatina, podría tener un rol en la respuesta inflamatoria. Presentaremos resultados *in vitro* e *in vivo* relacionados con la expresión, distribución, regulación y actividad enzimática de SIRT6 en respuesta a estímulos proinflamatorios. Los estudios *in vitro* incluyen el estudio de macrófagos, células con fenotipo secretor senescentes y preadipocitos. Los *in vivo* consisten en el estudio de la respuesta de células inmunes peritoneales a infecciones agudas así como e estudio del TA de ratones bajo dietas hipercalóricas. Finalmente, se presentarán resultados concernientes a la respuesta de SIRT6 frente a la administración de compuestos antiinflamatorios. Los resultados indican que SIRT6 aumenta su expresión en respuesta a estímulos proinflamatorios y al fenotipo secretor senescente, siguiendo el patrón de expresión de citoquinas proinflamatorias. Esta respuesta es inhibida en presencia de compuestos antiinflamatorios. Sin embargo, a pesar de existir un aumento en la expresión de SIRT6 durante la inflamación, observamos una inhibición en su actividad desacetilasa a nivel nuclear. Nuestros resultados in vitro e in vivo sugieren que en respuesta a un estimulo proinflamatorio, SIRT6 se relocaliza intracelularmente, indicando un redireccionamiento respecto a su función clásica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

NC886 es epigénicamente reprimido en el cáncer de próstata y actúa como supresor de tumor a través de la inhibición del crecimiento celular. (#0283)

Rafael Sebastián Fort Canobra [1]; Murilo Geraldo [2]; María Carolina Ottati [1]; Alex Shimura Yamashita [2]; Kelly Cristina Saito [2]; Katia Ramos Leite [3]; Manuel Mendez [4]; Noemi Maedo [4]; Laura Mendez [4]; Beatriz Garat [1]; Edna Teruko Kimura [2]; José Roberto Sotelo-Silveira [5]; María Ana Duhagon [1]

1 - Facultad de Ciencias, L.I.M.. 2 - Depto. de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas, USP. 3 - Laboratório de Investigação Médica en Urologia, LIM55, Departamento de Urología, Faculdade de Medicina, USP, Brasil. 4 - Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Policial. 5 - Depto. de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC.

Resumen:
Nc886 es un transcripto de ARN no-codificante de 102 pb inicialmente clasificado como un precursor de microARN (Pre-miR-886), más tarde como un homólogo divergente de los vault ARNs (vtRNA2-1) y recientemente como un nuevo tipo de ARN no-codificante (nc886). La identidad de nc886/vtRNA2-1/Pre-miR-886 sigue siendo controvertida; se evidenció una regulación epigenética y función supresora de tumor y oncogénica en diferentes cánceres. Aquí presentamos por primera vez, el estudio de nc886 en el cáncer de próstata. La metilación del promotor de nc886 se encontró aumentada en el tumor frente al tejido prostático normal, así como en el tejido metastásico frente al tejido prostático normal. Adicionalmente, la metilación del promotor nc886 correlacionó con la clínica del cáncer de próstata, incluyendo recurrencia bioquímica, valor T clínico y score de Gleason. Observamos una disminución de nc886 en el tumor frente a tejido normal, concordante con el estado de metilación del promotor, y un aumento del mismo al ser tratado con agentes desmetilantes. De hecho, la metilación de nc886 mostró correlación con la expresión de DNMT3B. En estudios funcionales, la sobreexpresión de nc886 en DU145 condujo a una disminución en la proliferación celular *in vitro* debido a una acumulación de células en fase G2/M del ciclo celular, así como a una reducción del crecimiento celular *in vivo* en xenoinjertos de tumor en ratones NUDE. La expresión de nc886 mostró correlación con una firma de genes asociada a la progresión del ciclo celular en el cáncer de próstata. En resumen, nuestros datos sugieren un papel supresor de tumor para nc886 en la próstata, cuya expresión es epigenéticamente silenciada en el cáncer, conduciendo a un aumento de la proliferación celular. Nc886 podría presentar valor clínico en el cáncer de próstata dada su asociación con parámetros clínicos y con una firma génica clínicamente validada.

14:30 - 16:15

SBBM

Simposio SBBM_2: Mitocondria: bioenergética, metabolismo oxidativo y señalización

Mitochondria, the Flexible (#0032)

Alicia Kowaltowski [1]

1 - Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo.

Resumen:
Similarly to humans, in which obesity is related to a variety of age-related diseases, the lifespan of laboratory rodents is limited by obesity, including that promoted by *ad libitum* eating of a standard chow diet. Indeed, daily limitation of caloric intake (calorie restriction) has been widely shown to enhance lifespans and prevent age-related diseases in rodents. We will discuss the metabolic differences between caloric restriction and other dietary interventions that promote weight loss, such as intermittent fasting. We will also show how mitochondrial form and function are altered in caloric restriction, and how changes in energy metabolism promoted by this dietary intervention prevent age-related diseases and modifications in the brain, liver, skin b-cells and stem cells. Overall, our results show that caloric intake, mitochondrial form and function are intimately interconnected, and present central regulatory roles in age-related diseases.

Análisis de la patogenicidad de una mutación en el genoma mitocondrial. (#0024)

Victor Raggio Risso [1]; Hugo Naya Monteverde [2]; Alfredo Cerisola Cardoso [3]; Rosario Gueçaimburú Eutletche [1]; Lucia Spangenberg Torre [2]; Carlos Robello Porto [4]; Alejandra Tapié Nicolini [1]; Valeria Fraga Quiñones [5]; Gonzalo Greif Carámbula [4]; Aida Lemes Arballo [6]; Martín Graña Alfonso [2]; María Boidi Hernández [1]

1 - Departamento de Genética, Facultad de Medicina, UDELAR. 2 - Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Centro de Rehabilitación Infantil Teletón. 4 - Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo. 5 - Servicio Médico Integral (SMI). 6 - Instituto de Genética Médica. Hospital Italiano.

Resumen:

Introducción Las enfermedades mitocondriales (EM) son enfermedades multisistémicas producidas por defectos en la fosforilación oxidativa que se pueden presentar a cualquier edad y con un muy amplio espectro de síntomas y signos. La mayoría de las mutaciones que causan disfunción mitocondrial están en el ADN nuclear, y un 10% en el propio genoma mitocondrial. Se presenta, a partir de un caso clínico, el análisis de la patogenicidad de una mutación en el ADN mitocondrial. **Caso clínico y análisis molecular** Niña de 3 años, hija de una pareja sana, no consanguínea. Sin patología perinatal. Desarrollo normal hasta los dos años, cuando comienza con caídas frecuentes, signos motores piramidales y distónicos a derecha a predomino crural. Resonancia magnética con alteraciones a nivel de núcleos grises de la base y de las fibras corticoespinales en mesencéfalo, y pico de lactato en la espectroscopía. Lactato en líquido cefalorraquídeo aumentado. El resto de los estudios del metabolismo fueron normales. Se realizó la secuenciación del genoma mitocondrial en sangre periférica. Se detectó una mutación de cambio de sentido (3697A (G131S) en el gen ND1) con una heteroplasmia alta (0.99), una clasificación de polyphen2 como "*probably damaging*", en un locus compatible con el fenotipo. La misma estaba presente con baja heteroplasmia en su madre (0,16 en sangre y 0,53 en orina) y su hermana mayor sana (0,24 en sangre y 0,16 en orina). Esta mutación ha sido descrita previamente como patogénica y se ha demostrado su efecto deletéreo sobre la función proteica y mitocondrial. **Comentarios.** El diagnóstico de las enfermedades mitocondriales es complejo, requiriendo de estudios clínicos, genéticos y metabólicos. El mismo es importante para guiar el tratamiento apropiado, ofrecer un pronóstico y para el asesoramiento genético.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Metabolismo energético en la senescencia inducida por temozolomida en el melanoma: evaluando las alteraciones en la masa y dinámica mitocondrial dependientes de p53 (#0091)

Jennyfer Martínez Cazarré [1]; Sebastián Rodríguez-Bottero [2]; Laura Martínez-Palma [2]; Sabina Victoria [3]; Patricia Cassina [2]; Mariela Bollati [3]; María Moreno [4]; Caroline Agorio [5]; Celia Quijano [1]

1 - Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO) y Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República.. 2 - Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 3 - Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo. 4 - Laboratorio de vacunas recombinantes, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 5 - Cátedra de Dermatología, Hospital de Clínicas Manuel Quintela, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

Resumen:

El melanoma es un cáncer muy agresivo cuya incidencia ha aumentado en las últimas décadas. La senescencia es un punto final de la quimioterapia y terapias dirigidas en el melanoma y el fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP) puede afectar el crecimiento y microambiente tumoral. Trabajos previos muestran que el metabolismo energético puede modular el SASP y está involucrado en la resistencia del melanoma a la terapia. En este trabajo estudiamos el metabolismo energético de células de melanoma de ratón B16-F1 tras la inducción de la senescencia por el quimioterapéutico temozolomida. La exposición a temozolomida activó la respuesta al daño del ADN, aumentó los niveles de p53 y p21 e inhibió la proliferación. Además, aumentó la actividad β-galactosidasa, el tamaño celular y la expresión génica de componentes del SASP. El tratamiento indujo la senescencia en aproximadamente un 60 % del cultivo. La inducción de la senescencia fue acompañada por un aumento en varios parámetros respiratorios: el consumo de oxígeno mitocondrial basal, ligado a la síntesis de ATP y máximo; la eficiencia de acoplamiento, capacidad de reserva y el índice de control respiratorio. La evaluación de la actividad citrato sintasa, el marcado con la sonda mitocondrial Mitotracker y la relación ADNmt/ADNn revelaron un aumento en la masa mitocondrial. Las células senescentes presentaron mitocondrias más alargadas y alteraciones en los niveles y localización de las proteínas Fis1 y Drp1, evidenciando alteraciones en la fisión mitocondrial. Por último, los estudios en células senescentes aisladas basándose en el tamaño celular y utilizando el inhibidor de p53 pifithrin-α, confirmaron que el aumento en la bioenergética mitocondrial se asociaba específicamente a la senescencia. Nuestros resultados indican que la inducción de la senescencia del melanoma por temozolomida promueve una reprogramación p53-dependiente del metabolismo energético, que involucra alteraciones en la masa y dinámica mitocondrial.

Grx5 e IsTRP: dos proteínas de *Echinococcus granulosus* involucradas en la unión de centros ferrosulfurados. (#0357)

Jorge Luis Pórfido [1]; Hugo Bisio [2]; Adriana Krapp [3]; Néstor Carrillo [3]; Gustavo Salinas [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Université de Genève. 3 - Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario.

Resumen:
Los cestodos de la familia Taeniidae son los más importantes desde el punto de vista médico y veterinario. En particular, nuestra región es altamente endémica para la hidatidosis quística, causada por *Echinococcus granulosus*. Resulta de sumo interés comprender mejor la biología de este parásito, los factores que favorecen su establecimiento y su relación con el hospedador. Entre otros aspectos interesantes de su metabolismo se destacan los relacionados a la homeostasis del hierro, en particular, la provisión de centros ferrosulfurados (Fe/S) a enzimas esenciales. Específicamente, son de nuestro interés las proteínas Grx5 e IsTRP. Grx5 es una glutarredoxina mitocondrial monotiólica de clase II, conservada en eucariotas y vinculada a la maquinaria de síntesis de Fe/S. Sin embargo, sólo las Grx5 de platelmintos parásitos poseen una inserción de ocho aminoácidos en un sitio inusual del plegamiento tiorredoxina, así como un residuo extra de cisteína (C102) en el extremo C-terminal de la hélice alfa que contiene el sitio activo. Para comprender mejor su mecanismo de unión a Fe/S, se analizaron proteínas recombinantes mutadas en las regiones exclusivas de platelmintos parásitos (Δ8, C102S y Δ8-C102S) mediante técnicas cromatográficas y espectroscopia UV-visible. Si bien con variaciones, todas unen Fe/S. IsTRP, por su parte, es una proteína relacionada a tiorredoxina (TRP) capaz de unir Fe/S de forma independiente de glutatión, codificada únicamente en el genoma de cestodos del orden Cyclophyllidea, con un sitio activo canónico CxxC, y sin actividad óxidorreductasa. Datos transcriptómicos de *E. multilocularis* indican que IsTRP se transcribe en el adulto grávido y muy poco en otros estadios, por lo que podría cumplir algún rol en el establecimiento del parásito en su hospedador intermediario. Se observó que IsTRP es capaz de transferir Fe/S a una ferredoxina aceptora y se está buscando profundizar sobre su perfil de transcripción.

Análisis del efecto traduccional de PDCD4 en células neuronales mediante secuenciación masiva de huellas polisomales (#0188)

Guillermo Eastman [1]; Andrés Di Paolo [2]; José R. Sotelo Sosa [2]; David J. Munroe [3]; José R. Sotelo Silveira [4]

1 - Departamento de Genómica, IIBCE – MEC. 2 - Departamento de Proteínas y Ácidos Nucleicos, IIBCE – MEC. 3 - Laboratory of Molecular Technology, Frederick National Laboratory for Cancer Research, Frederick - USA. 4 - Departamento de Genómica, IIBCE – MEC; Sección Biología Celular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

La regulación de la síntesis proteica es un mecanismo clave en el control de la expresión génica, en particular en células neuronales donde la intrincada morfología que éstas pueden alcanzar aporta un grado mayor de complejidad. Considerando que pocos reguladores traduccionales proteicos nuevos han sido descritos para neuronas, en la presente tesis, nos propusimos estudiar el papel de PDCD4 (Programmed Cell Death 4), un regulador del inicio de la traducción, que nuestro grupo ha observado se expresa en altos niveles en neuronas del SNC y SNP. Para esto, utilizamos la metodología Ribosome Profiling sobre un modelo celular neuronal (PC12) donde silenciamos la expresión de PDCD4 de manera inducible (shARN en vectores lentivirales). En este contexto, identificamos al menos 480 ARNm cuya eficiencia traduccional aumenta al disminuir la expresión de PDCD4. Los blancos putativos encontrados fueron estudiados mediante análisis de ontología, para conocer las principales funciones celulares reguladas por dicho factor, donde se destacan funciones asociadas a la mitocondria (fosforilación oxidativa, cadena de transporte de electrones y producción de energía), así como procesos asociados a la sinapsis, ribosoma y síntesis proteica. El análisis individual de ciertos genes, nos indicó que potencialmente PDCD4 podría estar influenciando el crecimiento neurítico, lo cual fue verificado fenotípicamente en células PC12 diferenciadas: en ausencia de PDCD4, las neuritas presentaban un largo promedio 1,6 veces mayor. Estos resultados, nos permiten plantear una influencia negativa de PDCD4 sobre la neuritogénesis. En suma, pensamos que PDCD4 puede estar cumpliendo funciones neuronales asociadas a diversos contextos fisiológicos definidos ampliamente como plásticos. En cada uno de ellos el repertorio de ARNm regulados por PDCD4 dependerá del conjunto de genes disponibles en dicho contexto. Este es un terreno a explorar en el futuro, incluyendo la determinación de las señales secundarias y terciarias que median la interacción de PDCD4 con sus blancos.

16:45 - 18:30

SBBM

Simposio SBBM_3 y Simposio SGU_1: Ciencias "omicas": aproximaciones en distintos modelos de estudio.

Virulence genes encoding surface proteins of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* spp. (#0253)

Santuza Teixeira [1]

1 - Federal University of Minas Gerais.

Resumen:
Trypanosoma cruzi and different species of *Leishmania* are obligate intracellular parasites that are members early-branching group of unicellular eukaryotes responsible for diseases that affect over 20 million people and cause countless infections in other mammals. *T. cruzi* is the causative agent of Chagas disease, which affects mainly the heart and gastrointestinal tract, whereas more than 20 different species of *Leishmania* cause Leishmaniasis, a human disease with manifestations ranging from cutaneous ulcerations to fatal visceral infection. Studies by several groups have identified trans-sialidase surface proteins as essential for *T. cruzi* infection and for the parasite capacity to survive in the host bloodstream whereas amastin genes have been identified as virulence factors essential for the intracellular survival of both *T. cruzi* and *Leishmania* amastigotes inside the host cell. By knocking-down the expression of amastins in *L. braziliensis*, we showed that these proteins are essential for early stages of the infection of mouse macrophages and may be directly involved in the establishment of the tight contact that is observed between the surface of amastigotes and the membrane of the parasitophorous vacuole of the infected macrophage. By performing comparative genomic and transcriptomic analyses between virulent and avirulent strains of *T. cruzi* we showed evidences indicating that trans-sialidases plays and an essential role during the last steps of the intracellular infection, being involved, together with other cell surface proteins, in the last steps of the differentiation process between amastigotes to the infective, bloodstream trypomastigotes. By developing new protocols for RNA interference and genome editing in *T. cruzi* and *Leishmania* we are now able to perform more deep investigations in the role of these large surface protein multigene families present in the genomes of these parasite.

Aplicaciones transcriptómicas en diversos organismos eucariotas. (#0398)

Fernando Alvarez-Valin [1]

1 - Facultad de Ciencias.

Resumen:
Fernando Alvarez-Valin.

Estudio de la expresión de lncRNAs durante la meiosis del ratón (#0192)

María Fernanda Trovero [1]; Rosana Rodríguez-Casuriaga [1]; Federico Santiñaque [2]; Gustavo Folle [3]; Ricardo Benavente [4]; José Sotelo-Silveira [5]; Adriana Geisinger [6]

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 - Servicio de Citometría de Flujo y Clasificación Celular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable/Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 4 - Biozentrum, Universidad de Würzburg. 5 - Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 6 - Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable/Sección Bioquímica/Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

La meiosis es un proceso incluido en la espermatogénesis, y consiste en una duplicación de ADN seguida de dos divisiones celulares consecutivas, dando como resultado células haploides. La profase I de la meiosis se divide en 5 etapas: leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis. Estudios previos (Soumillon y cols., 2013) predijeron que el testículo de mamífero es el tejido que presenta mayor número de ARNs largos no codificantes (lncRNAs). Sin embargo, hasta la fecha no se ha profundizado en su identificación. En nuestro laboratorio se ha puesto a punto una nueva metodología para la obtención de fracciones celulares espermatogénicas con altísimo nivel de pureza que incluye por primera vez profase meiótica temprana (lepto/zigoteno). Se trata de clasificación celular por citometría de flujo basada en contenido de ADN (y otros parámetros) utilizando el colorante vital Vybrant Dye Green, de unión estequiométrica al mismo. Esta metodología nos permitió purificar las siguientes fracciones celulares de testículo de ratón: 2C [espermatogonias (células pre-meióticas) y células somáticas], LZ (leptoteno/zigoteno), PS (paquiteno) y RS (espermátidas redondas, post-meióticas). A partir de las cuatro fracciones, por triplicado, extrajimos ARN total de excelente calidad y construimos bibliotecas para secuenciación masiva. Empleamos un kit comercial que permite baja cantidad de ARN de partida ya que amplifica la muestra, y construye librerías direccionales (hebra-específicas). Los resultados de la secuenciación indicaron que las réplicas son altamente reproducibles. Los datos de secuenciación están siendo analizados mediante distintas herramientas bioinformáticas, y los resultados preliminares muestran que existe un alto número de lncRNAs detectados en las diferentes etapas estudiadas. En este trabajo presentamos una comparación de estos lncRNAs y sus principales características, incluyendo expresión diferencial entre etapas, origen autosómico o en el par sexual, localización en la hebra sentido o antisentido, entre otras. Financiación: ANII-FCE-1-2014-1-104251.

Meta-análisis de transcriptomas axonales: ¿qué características tienen los transcriptomas de distintos tipos de axones, tanto in vitro como in vivo? (#0222)

Joaquina Farias [1]; *Joaquin Garat* [1]; *José Sotelo Silveira* [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
Gracias a los avances realizados en los últimos años en técnicas de amplificación de ARNs y accesibilidad a las plataformas de secuenciación y análisis de datos, es posible plantearnos estudiar la composición de transcriptos presentes en axones de neuronas. En los últimos años se han publicado una decena de transcriptomas axonales. Una característica común de estos trabajos es que utilizan cultivos neuronales para la obtención de los mismos. Esto tiene como grandes desventajas que las neuronas en cultivo cambian su expresión génica en forma significativa, dado que se encuentra respondiendo al daño, en regeneración activa y desprovistas de su microambiente natural. Mediante la utilización de la técnica de microdisección de axones in toto, hemos logrado identificar y cuantificar los transcriptos presentes tanto en axones motores como sensoriales, provenientes de ratas adultas. Al analizar los transcriptos encontrados en todos los sets de datos se observa que hay una baja coincidencia en cuanto a la identidad de los mismos. Sin embargo, cuando analizamos las categorías ontológicas enriquecidas en cada uno se observa que están conservadas, siendo las más enriquecidas aquellas relacionadas al ribosoma, fosforilación oxidativa, enfermedades neurológicas, entre otras. Al comparar los transcriptomas de axones maduros con los de axones en cultivo, encontramos grandes diferencias en cuanto al número de transcriptos localizados en este dominio subcelular, encontrándose un mayor número en los axones en cultivo. Esto se puede deber a que los axones en cultivo se encuentran desprovistos de su microambiente, y células accesorias. En los transcriptomas de axones maduros encontramos algunas diferencias en abundancia de transcriptos, centrándonos en el estudio de los ARNm codificantes para proteínas ribosomales. Analizar los datos de los transcriptomas de axones disponibles nos permitió encontrar un set de transcriptos comunes a todos ellos, como también identificar las particularidades de cada axón proveniente de distintos tipos de neuronas.

Estudio transcriptómico de la transición de estadios en *Trypanosoma cruzi* (#0351)

Maria Laura Chiribao Pombo [1]; Luisa Berná [2]; Gonzalo Greif [2]; Fernando Alvarez-Valin [3]; Carlos Robello [1]

1 - Facultad de Medicina/IPMon. 2 - Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Facultad de Ciencias.

Resumen:

La trypanosomiasis Americana es una enfermedad crónica y endémica que afecta a millones de personas principalmente en Latinoamérica. *Trypanosoma cruzi*, su agente causal, tiene un ciclo de vida que involucra transiciones morfológicas y funcionales complejas así como la adaptación a distintos tipos de ambientes. Estas transiciones requieren una regulación estricta de la expresión génica, la cual es alcanzada en este organismo mediante regulación post-transcripcional. En este trabajo, realizamos el primer análisis transcriptómico por RNAseq de los tres principales estadios de vida del parásito: amastigotas, epimastigotas y tripomastigotas. Este análisis nos permitió delinear los perfiles transcriptómicos de cada estadio así como identificar aquellos procesos biológicos de mayor relevancia en cada estadio. El estudio de expresión estadio específico nos permitió evidenciar la plasticidad de *T. cruzi* a adaptarse rápidamente a condiciones diferentes, con un foco particular en la remodelación de proteínas de superficie y cambios metabólicos durante el ciclo. Los epimastigotas, que se replican en el intestino del insecto vector, mostraron una mayor expresión de genes relacionados al metabolismo energético aeróbico, principalmente ciclo de Krebs, cadena respiratoria y fosforilación oxidativa, así como también genes relacionados con la síntesis de esteroides y metabolismo de nucleótidos. En este estadio también se evidenció una subexpresión de genes que codifican glicoproteínas de superficie. Los tripomastigotas, que se encuentran en el torrente sanguíneo del hospedero mamífero expresan un gran repertorio de genes que codifican glicoproteínas de superficie y proteínas de señalización involucradas en la invasión y evasión de la respuesta inmune. Los amastigotas por último, que se encuentran dentro de las células de mamífero, expresan mayoritariamente genes que codifican transportadores de membrana y proteínas reguladoras del ciclo celular. Este estadio también expresa un subgrupo específico de genes codificantes de proteínas de membrana. Por último, estos resultados permitieron mejorar la anotación del genoma de la cepa Dm28c.

sábado

09:00 - 10:45 **SBBM**

Simposio SBBM4: Bioquímica y Biología molecular en sector productivo – Realidad Nacional y Regional.

The pursuit of the crop "ideotype" and *de novo* domestication of stress resistant wild plant species through genome editing (#0374)

Lázaro Peres [1]

1 - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", University of São Paulo - USP.

Resumen:
Increased knowledge in disciplines such as Plant Physiology, Genetics and Genomics, along with the development of tools for genome editing (*e.g.* CRISPR/Cas9), has paved the way for the pursuit of the *ideotype*, a theoretical model of an archetypal ("ideal") cultivated plant. In this talk, I will introduce tomato (*Solanum lycopersicum*) as a model to discuss the ideotype in terms of vegetative and reproductive development, aiming at improving plant productivity and fruit quality. Although the ideotype is the outcome of the integration of multiple factors, it can be accessed through the manipulation of monogenic traits whose physiological effects have already been described. Information for engineering desirable phenotypes can be tapped from two different sources. If the goal is increased yield, superior alleles can be revealed by comparative studies performed in elite cultivars or hybrids. If, on the other hand, the aim is improving stress resistance, the genetic reservoir of inter-fertile wild relatives of crops can be used. In this latter case, monogenic traits of wild relatives can be reproduced in the corresponding crop through introgression (successive backcrosses with a recurrent elite parent) or now using state-of-the-art genome editing techniques, an approach known as "back to nature" breeding (or "re-wilding"). However, traits with a diffuse, polygenic basis, which is frequent in stress resistance, are more difficult to harness. A feasible alternative avenue is *de novo* domestication of wild relatives. The goal is editing known monogenic determinants of yield in wild relatives to increase fruit yield and palatability. Proof of concept of this approach will be presented for a wild tomato relative.

Genetically Engineered Crops and Sustainability (#0126)

Paul Vincelli [1]

1 - Universidad de Kentucky.

Resumen:
Genetic engineering (GE) broadens the possibilities for making useful genetic changes in crops, but how do GE techniques impact agricultural sustainability? Not surprisingly, this simple question has a complex and multifaceted answer. Crops engineered for herbicide tolerance have well-known benefits. However, they foster a "pesticide treadmill" of continued—possibly even increasing—dependence on herbicides. Of course, herbicide-tolerant crops also have been created by conventional breeding. Thus, the challenge to sustainability arises from the herbicide tolerance trait itself, not from the method used to make the genetic change. In contrast, crops engineered for resistance to infectious diseases and insect pests provide important opportunities to reduce the use of pesticides. Several examples will be provided, and deployment strategies for improving the durability of genetic traits—GE and conventional—will be discussed. GE is being used for crop improvement in numerous developing countries. Such examples demonstrate that publicly funded GE projects can improve food security in ways that address social aspects of sustainability. It is worth noting that, beyond control of pests and disease, GE is being used to engineer plants to address a wide variety of sustainability challenges.

Caracterización de genes MLO de frutilla en respuesta al hongo fitopatógeno *Podosphaera aphanis* (#0147)

Pablo Porro [1]; Alexandra Castro [2]; Esteban Vicente [3]; Ana Arruabarrena [3]

1 - Estación Experimental INIA Salto Grande y Laboratorio de Biotecnología, Universidad ORT. 2 - Laboratorio de Biotecnología, Universidad ORT. 3 - Estación Experimental INIA Salto Grande.

Resumen:

En Uruguay, el cultivo de frutilla protegido se realiza principalmente en el Litoral Norte (Salto). El mismo se especializa en producción precoz de invierno y principios de primavera utilizando cultivares nacionales de día corto y cultivo protegido por macro y microtúneles plásticos. El oidio, enfermedad causada por el hongo fitopatógeno *Podosphaera aphanis*, afecta negativamente al cultivo causando pérdidas importantes en calidad del fruto y potencial productivo. Esto lleva al uso frecuente de fungicidas durante la etapa de crecimiento para controlar la enfermedad. El desarrollo de cultivares altamente tolerantes al oidio es un objetivo prioritario del proyecto de mejoramiento genético de frutilla de INIA. En otras especies vegetales, incluidas especies de la familia *Rosaceae*, se ha reportado que los genes de susceptibilidad MLO (Mildew Locus O) están involucrados en las interacciones planta-oidio y que mutaciones de pérdida de función de los mismos resultan en variedades resistentes a la enfermedad. En este trabajo se realizó la búsqueda *in silico* de genes MLO en el genoma de *Fragaria vesca* y se seleccionaron genes candidatos para estudiar sus patrones de expresión en tres genotipos de frutilla cultivada (*Fragaria x ananassa*) con resistencia diferencial a *P. aphanis*. Adicionalmente, con el objetivo de tener una visión preliminar del grado de polimorfismos de los genes MLO en los tres genotipos, se secuenciaron las regiones promotoras de los mismos. Los resultados obtenidos aportan información acerca de la interacción molecular planta-patógeno y permiten la identificación de genes que podrían ser responsables de la susceptibilidad a la enfermedad y, por lo tanto, ser utilizados para el desarrollo de cultivares resistentes utilizando selección asistida por marcadores o ingeniería genética.

11:00 - 12:30 **SBBM**

Simposio SBBM_5: Biotecnología aplicada a la Salud.

Novas abordagens em vacinologia para leptospirose (#0055)

Odir Antônio Dellagostin [1]

1 - Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

Resumen:

A Leptospirose é uma importante zoonose, causada por bactérias do gênero *Leptospira*. Além de ser um problema de saúde pública, esta doença também causa perdas significativas na produção animal, principalmente associadas a problemas reprodutivos. As vacinas comercialmente disponíveis são constituídas de células inteiras inativadas (bacterinas), geralmente compostas pela combinação de 5 a 7 sorovares. Estas vacinas apresentam limitações, principalmente relacionadas ao espectro de proteção, já que há múltiplos sorovares patogênicos, e a vacina só confere proteção contra os sorovares contidos na preparação. Para contornar este problema, estudos que buscam identificar antígenos proteicos conservados e capazes de induzir resposta imune protetora estão sendo conduzidos. Nesta apresentação, serão relatadas as diferentes abordagens que estão sendo utilizadas para o desenvolvimento de novas vacinas. Estas abordagens incluem vacinologia reversa, vacinologia estrutural, vacinas de DNA, vacinas vetorizadas e vacinas de subunidade. As vantagens e desvantagens de cada uma destas abordagens serão destacadas, assim como os mais recentes avanços e as perspectivas futuras destas diferentes tecnologias.

Biosensores amperométricos y colorimétricos para la detección de exosomas circulantes en suero y plasma (#0052)

Pablo Fagúndez [1]; Ximena Doldán [1]; Belén Fernandez [1]; Julio Berbejillo [1]; Justo Laíz [1]; Alfonso Cayota [2]; Juan Pablo Tosar [3]

1 - Unidad de Bioquímica Analítica-CIN-Facultad de Ciencias. 2 - Laboratorio de Genómica Funcional-Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Unidad de Bioquímica Analítica -CIN- Facultad de Ciencias/ Laboratorio de Genómica Funcional - Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Las vesículas extracelulares (EVs), entre las que se distinguen los exosomas (EXOs) y las microvesículas (MVs), son importantes mediadores en la comunicación intercelular, y juegan importantes roles en la biología celular y la patología tumoral. Dado que son secretadas al torrente sanguíneo, y que contienen un conjunto de proteínas y ácidos nucleicos provenientes de las células de origen, presentan gran potencial en el diagnóstico clínico, dado que su análisis puede realizarse en biopsias líquidas mínimamente invasivas. Para ello se requiere del desarrollo de métodos analíticos confiables, rápidos, sensibles y económicos, aplicables al análisis descentralizado o el tamizaje de un gran número de muestras. En nuestro laboratorio hemos desarrollado un biosensor electroquímico con estas características, pudiendo detectar hasta 200 exosomas por microlitro de muestra (cerca de 1000 veces más sensible que métodos de ELISA comerciales), con un rango lineal que abarca cuatro órdenes de magnitud. El dispositivo consiste en un diseño del tipo sándwich, utilizando anticuerpos contra la proteína de superficie CD9 obtenidos en distintas especies, y un tercer anticuerpo conjugado a una enzima redox. El biosensor es altamente específico, distinguiendo exosomas de microvesículas en exceso de estas últimas, y es funcional en suero. Además, estamos desarrollando un segundo dispositivo basado en un principio diferente, que permitiría la detección de exosomas mediante el monitoreo de cambios de color. Esto resulta atractivo, pensando en la posibilidad de hacer un tamizaje de exosomas provenientes de células tumorales, que poseen marcadores de superficie específicos. En etapa menos avanzada que el otro, se presentará la síntesis, caracterización y derivatización de nanopartículas de oro, necesarias para esta segunda estrategia. En conjunto, esperamos obtener una serie de dispositivos analíticos versátiles, que permitan una detección rápida y económica de exosomas y otras partículas extracelulares, con aplicaciones tanto para el laboratorio básico como en diagnóstico y seguimiento de pacientes.

Reasignando la especificidad de inmunoglobulinas en circulación, con fines terapéuticos, mediante el uso de nanobodies biespecíficos. (#0175)

Cecilia Vallejo Garín [1]; Gualberto González-Sapienza [1]; Andrés González Techera [1]

1 - Cátedra de Inmunología-Facultad de Química.

Resumen:

Los anticuerpos humanos o humanizados son los fármacos con mayor potencial para combatir cáncer y enfermedades autoinmunes en pacientes en la actualidad, siendo su altísimo costo el principal obstáculo para acceder a éstos. El objetivo general de este trabajo es desarrollar una estrategia que permita utilizar los anticuerpos en circulación propios del organismo como inmunoterapia, mediante el uso de nanobodies biespecíficos. Los nanobodies son fragmentos del dominio variable de la cadena pesada de anticuerpos de llama que reconocen al antígeno. Estos carecen de funciones efectoras y a su vez presentan la desventaja de que son rápidamente eliminados por los riñones debido a su pequeño tamaño (11-15 Kd aproximadamente). Ambas desventajas serían eliminadas mediante el desarrollo de nanobodies biespecíficos en el cual un fragmento se une a inmunoglobulinas con funciones efectoras y el otro a la molécula blanco. El primer objetivo específico planteado, fue el de desarrollar nanobodies anti-IgG2a e IgG2b de ratón (isotipos con funciones efectoras) y fusionarlos genéticamente a un nanobody específico para una molécula modelo (toxina tetánica), a ser eliminada de la circulación mediante esta estrategia. Para esto se construyó una biblioteca de nanobodies de llamas inmunizadas con anticuerpos IgG2a e IgG2b de ratón en el bacteriófago M13. Posteriormente se realizaron rondas de selección mediante "Phage Display" y se seleccionaron nanobodies específicos para IgG2a e IgG2b. Se obtuvieron nanobodies específicos para IgG2a, IgG2b y otros que presentan reactividad cruzada con IgG1 y/o IgG3. Las secuencias de ADN codificantes de los nanobodies específicos para IgGs de ratón se transfirieron "en masa" y se clonaron en un vector de expresión como fusión a un nanobody neutralizante y específico para un fragmento de la toxina tetánica. El próximo paso es realizar pruebas con estos nanobodies biespecíficos en ensayos de desafío con toxina tetánica en ratones.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

ISCOMS preparados en base a saponinas de *Q. brasiliensis* son capaces de inducir una potente respuesta inmune contra una proteína recombinante de *Fasciola hepatica* en modelo murino. (#0070)

Mariana Rivera Patron [1]; Gabriela Maggioli [2]; Federico Wallace [3]; Cristina Olivaro [3]; Fernando Ferreira [4]; Carlos Carmona [2]; María Moreno [1]; Gustavo Mourglia-Ettlin [5]; Fernando Silveira [1]

1 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina. UdelaR. 2 - Unidad de Biología Parasitaria, Instituto de Higiene, Facultad de Ciencias. UdelaR. 3 - Espacio de Ciencia y Tecnología Química, Centro Universitario de Tacuarembó, UdelaR. 4 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina.UdelaR.Espacio de Ciencia y Tecnología Química, Centro Universitario de Tacuarembó, UdelaR. 5 - Cátedra de Inmunología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química. UdelaR.

Resumen:
La fasciolasis es una zoonosis de gran importancia en nuestro país, que afecta al ganado ovino y bovino, cuyo principal agente causal es la *Fasciola hepatica* por lo que existe una urgente necesidad de generar vacunas potentes para controlar esta enfermedad. Con la intención de dar respuesta a esta situación, realizamos formulaciones en base a saponinas y una proteína recombinante de este parásito denominada *Fh*LAP. Las saponinas son compuestos glicosídicos anfipáticos de origen vegetal que han sido utilizados como adyuvantes, donde Quil A® es la saponina comercial más utilizada. Recientemente nuestro grupo ha reportado por primera vez la formulación de ISCOMs con fracciones de *Q. brasiliensis* de la flora nativa como una alternativa a las saponinas de Quil A®. Estas nanoformulaciones tipo caja de 40 nm promueven una fuerte respuesta humoral mixta (IgG1/IgG2a) y celular polarizada hacia un fenotipo Th1 (INFγ e IL-2), similar a la desencadenada por las formulaciones de Quil A® pero con menores efectos secundarios (Cibulski, *et. al.* 2016). Este tipo de respuesta inmune humoral con altos niveles de IgG2a y celular tipo Th1 es la necesaria para controlar esta zoonosis. Aquí diseñamos un ensayo de vacunación en ratones utilizando diferentes formulaciones vacunales en base a saponinas de *Q. brasiliensis* y adyuvantes tradicionales. Los resultados preliminares indicaron que las formulaciones en base a saponinas (en solución o como adyuvantes particulados tipo ISCOMs) dispararon fuertes respuestas inmunes caracterizadas por altos títulos de anticuerpos similares a los adyuvantes más potentes del mercado, que a su vez se correlacionaron con una reacción de hipersensibilidad retardada (DTH) significativa con respecto al grupo control. Finalmente se evaluó la respuesta celular mediante inmunofenotipificación así como también la linfoproliferación a partir de esplenocitos estimulados con el antígeno y se determinó el perfil de citoquinas secretado (Th1/Th2/Th17).

Estudio *in vitro* del efecto de *Baccharis trimera* (carqueja) como antiparasitario de ovinos (#0242)

Maria Pia Solaro [1]; Juan Manuel Azanza [1]; Pamela Lombardo [2]; Juan Cedano [1]; Elena Pérez [3]; Zully Hernández [4]; Gabriela Ferragut [1]

1 - CenUR Litoral Norte-Salto. 2 - CenUR Litorla Norte-Salto,FAgro. 3 - INIA-Salto Grande. 4 - CenUR Litoral Norte-Salto, FVet.

Resumen:

En Uruguay, las nematodosis gastrointestinales constituyen las principales infecciones que deterioran la salud animal y causan importantes perjuicios económicos en la producción ovina. Dichas pérdidas, sumado al surgimiento de resistencia a los antihelmínticos y a la presencia de residuos de los mismos en tejidos animales y en el ambiente, han llevado a la búsqueda de nuevas medidas de control de los nematodos gastrointestinales (NGI). El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro* de aceite esencial de *Baccharis trimera* (AE) sobre los estadios de vida libre de NGI. Se estudió el efecto sobre huevos y larvas obtenidos de materia fecal extraída del recto de ovinos infectados naturalmente en predios agropecuarios particulares. Se realizó el test de eclosión de huevos en placas de cultivo celular de 24 pocillos dispensando 200 μl conteniendo 100 huevos/pocillo. Se adicionaron 200 μl/pocillo de diferentes concentraciones de AE. Para ello se prepararon diluciones seriadas de AE en PBS+1% DMSO. Como control positivo se usó 200 μl/pocillo de Ricobendazol (12,5 mg/ml), como control negativo 200 μl/pocillo de PBS+1% DMSO. En el test de motilidad larvaria las placas se siembran con 50 larvas en 200 μl/pocillo y se adicionan 200 μl/pocillo de cada dilución de AE en PBS+1% DMSO. Como control positivo 200 μl/pocillo de Levamisol (2 mg/ml) y 200 μl/pocillo de PBS+1% DMSO como control negativo. Se realizaron triplicados en cada tratamiento. Las placas se incubaron a 27°C en cámara húmeda durante 72 h y 48 h, respectivamente. Se observó efecto dosis respuesta en ambos test. El IC50 fue del 4,93% en eclosión de huevos, siendo el IC50 de 16,77% para motilidad larvaria. AE de *Baccharis trimera* fue más efectivo como ovicida que larvicida.

Domingo

09:00 - 10:45 **SBBM**

Simposio SBBM_7: Perspectivas estructurales en procesos biológicos

Nanobodies: generación, selección y aplicaciones (#0243)

Sofía Tabares [1]; Martín Rossotti [1]; Macarena Pírez [1]; David Wilson [2]; Gualberto González [1]

1 - Facultad de Química. 2 - Universidad de California, Davis.

Resumen:

Los camélidos además de los anticuerpos convencionales producen anticuerpos carentes de cadena liviana (sdAbs) en los que el sitio de unión al antígeno está formado únicamente por el dominio variable de 15 kDa de la cadena pesada (VHH). Debido a la ausencia de "barajado" de las cadenas livianas y pesadas, el aislamiento de VHHs a partir de bibliotecas de expresión en fagos es más sencilla que en el caso de anticuerpos convencionales. Por otro lado, los VHHs se expresan con alto rendimiento en forma recombinante (nanobodies), tienen propiedades únicas de solubilidad y estabilidad, y constituyen versátiles dominios de especificidad para la construcción de quimeras, o chaperones para cristalización de proteínas. Con solo 3 CDRs la diversidad estructural del sitio de unión es menor que en los anticuerpos convencionales, pero esto no parece limitar su capacidad de reconocimiento y se han aislado nanobodies de alta afinidad contra todo tipo de antígenos. Una excepción parcial a lo anterior es el caso de las moléculas pequeñas (haptenos), que típicamente se unen a cavidades formadas en la interface de las cadenas livianas y pesadas en los anticuerpos convencionales. En esta presentación discutiremos estas propiedades de los nanobodies con ejemplos de aplicaciones llevadas adelante por nuestro grupo.

Diseño racional de biosensores de alta resolución, selectividad y reproducibilidad para detectar nucleótidos cíclicos por efecto FRET (#0099)

Florencia Klein [1]; Matías Machado [1]; Sergio Pantano [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

La activación de receptores acoplados a la proteína G (GPCRs) resulta en la generación de segundos mensajeros como AMP cíclico (AMPc) y GMP cíclico (GMPc). Esto promueve una cascada de eventos pleiotrópicos a nivel intracelulares cuyo resultado final depende de la adecuada compartimentalización de las señales dando lugar a circuitos funcionales de información. En dicho contexto, conocer la correcta discriminación espacio-temporal versus la distribución global de estos segundos mensajeros permitiría aumentar la especificidad de potenciales fármacos y reducir sus efectos adversos. Para ello es imprescindible entender la organización estructural que determina la función y regulación de los compartimientos individuales de cada segundo mensajero. Disecar estas vías de señalización requiere de procedimientos no invasivos y en tiempo real en células o tejido vivo. Por estos motivos, frecuentemente se emplean técnicas espectroscópicas para monitorear el cambio de fluorescencia por efecto FRET de sensores moleculares.Estos sensores están típicamente constituido por un modulo proteico capaz de ligar AMPc/GMPc generando una transición alostérica y una pareja de variantes espectrales de la proteína fluorescente verde (GFP) que cambian su orientación y distancia relativa como resultado del mecanismo alostérico. Usando una estrategia racional que combina bioinformática, modelado molecular, simulaciones de grano grueso, biología molecular y experimentos de fluorescencia, hemos desarrollado una nueva generación de sensores FRET (llamado CUTie) con una arquitectura innovadora, formada por dos módulos fluorescentes anidados en un dominio de plegamiento mínimo de unión al ligando que deja el extremo N-teminal libre para la fusión a otra proteína. CUTie permite detectar concentraciones de nucleótidos cíclicos intracelulares con una resolución sin precedentes, gran selectividad e independencia de sensibilidad al compartimiento que sea dirigido. Este avance tecnológico abre el campo de posibilidades para la ingeniería de nuevos sensores con distintas afinidades y potencial multifunción al poder acoplar diferentes módulos efectores a una sola molécula.

Orientando el estudio de nuevas variantes génicas en la enfermedad de von Hippel Lindau mediante aplicación de herramientas de modelado molecular (#0353)

Cecilia Mathó [1]; Alicia Merlino [2]; Gabriela Sansó [1]; Patricia Pennisi [1]; E.Laura Coitiño [2]

1 - Centro de Investigaciones Endocrinológicas "Dr. César Bergadá" (CEDIE), CONICET–FEI–División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina. 2 - Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

La enfermedad de von Hippel-Lindau (VHL) es un desorden hereditario, autosómico dominante que predispone a la formación de una variedad de quistes y tumores benignos y malignos en diversos órganos. El gen de VHL es un supresor tumoral que codifica para una proteína (pVHL) la cual, integrada al complejo multiproteico VBC, determina la poliubiquitinación y posterior degradación por el proteasoma de las subunidades α del factor inducible por hipoxia (HIFα). Si bien en los últimos años se han descripto otras funciones de pVHL independientes de HIF y relevantes para el desarrollo tumoral, la regulación del nivel de subunidades HIFα sigue siendo su función mejor caracterizada.Tras demostrar mediante ensayos in vivo la patogenicidad de dos variantes de pVHL (P138R y L163R) caracterizadas por nuestro grupo se buscó analizar in silico su estructura y dinámica para contribuir al conocimiento de los mecanismos moleculares subyacentes. Se emplearon herramientas de modelado computacional (campo de fuerza clásico AMBER) para predecir estructura e interacciones proteína-proteína y proteína-solvente en complejos VBC-HIF (PDBID 1LQB) de cada variante P138R/L163R comparada a pVHL nativa bajo condiciones quasi-fisiológicas (caja de agua explícita TIP3P y contraiones, NPT a 310 K y 1 atm). La termodinámica de la interacción VBC-HIF fue también caracterizada usando la aproximación MM/PB(GB)SA.La estabilidad relativa de los complejos VBC-HIF formados con ambas variantes resultó ser menor que con pVHL nativa. Aun así, estos complejos se forman in vitro. Analizada la accesibilidad de Lys blanco de modificaciones postraduccionales determinantes de la estabilidad y funciones HIF independientes de pVHL, se detectaron diferencias que deben ser confirmadas in vitro. Los resultados obtenidos, sientan base para futuros estudios tendientes a determinar la implicancia de las modificaciones estructurales aquí caracterizadas in silico en los procesos de degradación y modificación de pVHL.

Estudios moleculares de HemR: un regulador de respuesta dual involucrado en el metabolismo del hemo en Leptospira (#0140)

Juan Andrés Imelio [1]; Felipe Trajtenberg [1]; Natalia Morero [1]; Florencia Rammauro [2]; Mathieu Picardeau [3]; Alejandro Buschiazzo [1]

1 - Laboratorio de Microbiología Molecular y Estructural, Instituto Pasteur Montevideo. 2 - Laboratorio de Inmunoregulación e Inflamación, Instituto Pasteur Montevideo. 3 - Unidad de Biología de Espiroquetas, Instituto Pasteur Paris.

Resumen:

HemR, de Leptospira, es un regulador de respuesta de la familia de proteínas OmpR/PhoB y controla el metabolismo del hemo, esencial para estas bacterias. Tras su activación por fosforilación, mediada por la histidin-quinasa HemK, HemR actúa como un regulador transcripcional dual: induce la expresión de genes codificantes para enzimas involucradas en la síntesis de hemo, e.g. el operón hemA, probablemente reclutando a la ARN polimerasa (ARNP); y simultáneamente reprime la expresión de proteínas catabólicas de degradación de hemo, e.g. el operón hmuO, impidiendo estéricamente la asociación de la ARNP al promotor. El operón hmuO (o hol) codifica entre otras para la hemo oxigenasa, un factor de virulencia en Leptospira patógenas. El objetivo de este trabajo consiste en desacoplar la regulación dual de HemR mediante mutagénesis dirigida en su bucle de transactivación, permitiendo su unión al ADN pero impidiendo el reclutamiento de ARNP. Los residuos mutados fueron seleccionados en base a alineamientos secuenciales y estructurales entre HemR y PhoB, y análisis estructurales de los complejos PhoB:ADN y ARNP:ADN, siguiendo una estrategia de diseño racional. Las variantes de HemR se expresaron en Escherichia coli y se purificaron por cromatografía de afinidad y exclusión molecular. La unión de los mutantes a los promotores hemA y hmuO fue confirmada por ensayos de retardo de movilidad electroforética. Inesperadamente, algunos mutantes se unieron al ADN incluso desfosforilados. Estos constructos mutados están siendo clonados junto a su promotor nativo en un vector "shuttle" para conjugar desde E. coli en una cepa knockout hemR$^-$ de Leptospira biflexa. La expresión de los promotores será determinada por RT-PCR. Este trabajo contribuye a entender los mecanismos moleculares que aseguran la conexión estímulo-respuesta en el metabolismo del hemo, íntimamente ligado a la patogenicidad de Leptospira.

El singular flagelo periplásmico de *Leptospira*: de la estructura 3D a la función celular? *(hacia una Biología Estructural integrativa...)* (#0392)

Fabiana San Martín [1]; Ariel Mechaly [1]; Nicole Larrieux [1]; Felipe Trajtenberg [1]; Alejandro Buschiazzo [1]

1 - Lab de Microbiología Molecular y Estructural / Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Las Ciencias de la Vida están viviendo una nueva revolución: poder ir desde la observación de detalles moleculares y sus interacciones, hasta su integración en mecanismos funcionales de organismos vivos. La Biología Estructural ha contribuido con estructuras 3D y propiedades bioquímicas de una enorme diversidad de moléculas biológicas. Hoy caminamos hacia enfoques sistémicos, integrando escalas temporales y espaciales de mayor magnitud. En este trabajo discutiré ejemplos de nuestro laboratorio, combinando aproximaciones complementarias para estudiar motilidad en bacterias. La motilidad es esencial en quimiotaxis, nutrición, y también en la diseminación de bacterias patógenas. Elegimos el género *Leptospira* como modelo singular de locomoción. Estas Espiroquetas poseen sólo dos flagelos, determinantes de la morfología celular y de su capacidad de natación. En contraste con sistemas ampliamente estudiados, los flagelos de Leptospira no son extracelulares, sino que rotan confinados en el espacio periplásmico. Nuestros resultados revelan que la composición proteica del flagelo de *Leptospira* es inusualmente compleja. Centrando nuestro análisis en el filamento (prolongación que sobresale del motor y el gancho conector), además de la flagelina, hemos identificado varias proteínas adicionales. Las "*flagellar* **c***oiling* **p***roteins*" Fcp A y B [1], esenciales para la motilidad traslacional, y para la virulencia de especies patógenas. También se reclutan dos isoformas de FlaA, conservadas en todas las Espiroquetas. Resolvimos las estructuras cristalográficas de FcpA [2] y FcpB, que sorprendentemente revelan dos nuevos plegamientos proteicos, ausentes en la PDB. Estamos obteniendo mapas de densidad 3D por crio-tomografía electrónica de filamentos enteros de *Leptospira*, en los cuales podremos ajustar las estructuras cristalográficas. El filamento flagelar de Leptospira parece ser un ensamblaje supramolecular con marcada asimetría, lo que nos conduce a hipótesis nuevas sobre el mecanismo de natación de Espiroquetas. [1] Wunder, Mol Microbiol (2016) 101:457-70. [2] San Martín, Acta Crystallogr F (2017) 73:123-9.

11:00 - 12:30

SBBM

Simposio SBBM_8: Técnicas aplicadas a la edición de Genomas: En qué estamos.

Engineering the mosquito's genome to fight vector-borne diseases (#0395)

Jayme Augusto de Souza-Neto [1]

1 - Vector Functional Genomics & Microbiology Laboratory (Vectomics), UNESP Institute of Biotechnology, São Paulo State University, Brazil..

Resumen:

Mosquitoes transmit a broad range of human diseases caused by viruses and protozoans, including dengue, chikungunya, zika and malaria. Immune signaling pathways have recently been shown to regulate anti-dengue and anti-*Plasmodium* immunity in mosquitoes. The three major immune signaling pathways (Toll, IMD, and JAK-STAT) that were originally described in *Drosophila* or mammals have been identified in *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae.* The *Ae. aegypti* JAK-STAT pathway has been shown to be an important component of the human anti-dengue responses, while the *An. gambiae* IMD pathway is a key pathway in anti-*Plasmodium* defenses. Immune enhanced mosquitoes have recently been generated by genetic engineering. Particularly, overexpression of Rel2, a positive regulator of the IMD pathway, renders *Anopheles* mosquitoes more resistant to *Plasmodium*. The same phenomenon is observed in *Ae. aegypti* infected with dengue virus when Dome, a positive regulator of the JAK-STAT pathway, is overexpressed. We are currently using CRISPR-Cas9 to generate specific knock out and knock in genetically modified mosquitoes to evaluate the antiviral potential of a set of DENV-modulated genes, newly identified in our laboratory through RNA-seq assays.

New possibilities in gene editing via CRISPR (#0393)

Tiago Campos Pereira [1]

1 - Universidade de São Paulo.

Resumen:
Gene editing via CRISPR/Cas9 has prompted a recent revolution in molecular biology by enabling the fast, ease and low cost precise manipulation of genes and genomes. Here we will present some recent variations of this technology, which add new instruments into CRISPR/Cas9 toolbox: (i) regulation of gene expression, (ii) mutagenic chain reaction (MCR), (iii) base editing without DNA cleavage, (iv) heterologous expression of Cas9, (v) the use of ribonucleoproteins (RNPs), (vi) RNA tracking/cleavage and (vii) new nucleases (Cpf1, shorter Cas9 and high fidelity enzymes).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio funcional del gen Spats1 y su rol en la espermatogénesis: Producción de ratones knockout y análisis fenotípico. (#0193)

Carlos Adrian Capoano [1]; Rosana Rodríguez-Casuriaga [1]; Geraldine Schlapp [2]; Ana Paula Mulet [2]; María Noel Meikle [2]; Martina Crispo [2]; Adriana Geisinger [3]

1 - Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación, Institut Pasteur Montevideo. 3 - Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable/Sección Bioquímica-Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

Spats1 es un gen identificado previamente en nuestro laboratorio en la rata (Rattus norvegicus), de expresión específica del testículo y expresado diferencialmente durante el desarrollo testicular. En la primera onda espermatogénica, se expresa preferentemente en las células meióticas masculinas (Capoano et al., Gene Expr Patterns, 2010). La importante conservación evolutiva de este gen (desde cnidarios hasta humanos) sugiere la importancia de su función. Con el objeto de contribuir a la elucidación de la función de SPATS1 en relación con el desarrollo testicular y la espermatogénesis, generamos ratones knockout (KO) para el gen Spats1 mediante dos metodologías en paralelo: microinyección de células madre embrionarias genéticamente modificadas en embriones, y microinyección de CRISPR/Cas9 en cigotos. La realización de ambos abordajes para un mismo gen nos permitió comparar en términos cuantitativos la eficiencia de la aplicación de ambas metodologías en nuestro medio. En tanto la tecnología de células madre resultó de alta complejidad debido a la necesidad de cultivar células extremadamente delicadas y la imposibilidad de lograr transmisión del transgén a la línea germinal, la metodología CRISPR representó una enorme ventaja tanto en términos económicos como de rapidez, permitiéndonos generar los primeros ratones KO producidos enteramente en el Uruguay. La caracterización completa del fenotipo mutante incluyó análisis morfológicos, histológicos, moleculares y funcionales. Si bien evidencias recientes apuntan a la implicancia de SPATS1 en la fertilidad de los mamíferos, el fenotipo sutil encontrado en los ratones KO es consistente con resultados recientemente observados para otros genes vinculados a gametogénesis, que sugieren la existencia de redundancias que salvaguarden las funciones esenciales para la reproducción.

Carpa C3 - SNU

17:05 - 17:50

SBBM

SBBM - Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular

Análisis de reactividad de glutarredoxinas humanas (#0125)

Sebastian Villar Rodriguez [1]; Karin Grunberg [1]; Matias Moller [1]; Bruno Manta [2]; Gerardo Ferrer-Sueta [1]

1 - Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR.
2 - Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA.

Resumen:
Las glutarredoxinas se encuentran presentes en organismos de todos los reinos. Son proteínas pequeñas, de aproximadamente 80 a 120 aminoácidos que presentan un plegamiento tipo tiorredoxina y un sitio activo CXXC/S. Algunas, son oxidorreductasas activas en reacciones de intercambio tiol-disulfuro, mientras que otras utilizan sustratos como el glutatión para la biogénesis de centros Fe-S. En este trabajo se profundiza sobre la reactividad de dos glutarredoxinas humanas: HsGrx2 y HsGrx5. La primera, es activa en reacciones de intercambio tiol-disulfuro, mientras que la última no. A raíz de esto, se plantea identificar el origen de las diferencias funcionales en estas proteínas que son muy similares a nivel de secuencia y estructura. Para ello, ambas se someten a ensayos de reactividad nucleofílica, actividad enzimática y determinaciones de pKa de residuos de cisteína catalíticamente relevantes. Los ensayos de reactividad nucleofílica, apuntan al estudio cinético de la reacción de sustitución nucleofílica, entre los tioles de cisteína y dos electrófilos: el monobromobimano (mBBr) y un disulfuro de glutatión derivatizado con fluoresceína. Para evaluar la actividad de intercambio tiol-disulfuro, se siguió la reacción entre la proteína y un disulfuro mixto de glutatión y mercaptoetanol, acoplada al consumo de NADPH por glutatión reductasa. El pKa se determinó mediante distintas técnicas, observando: la absorbancia del tiolato (S^-) a 240 nm, el corrimiento del centro de masa del espectro de emisión del triptofano y las velocidades iniciales de reacción con mBBr; todo, a distintos valores de pH. No se observaron diferencias significativas en la acidez de las cisteínas catalíticas, ni en la reactividad con el sustrato inespecífico (mBBr), entre ambas proteínas. En cuanto al sustrato específico (GSSG) se observó que la reacción para la HsGrx2 resultó ser cien mil veces más rápida que para la HsGrx5; y que HsGrx5 no presenta actividad enzimática como tiol-disulfuro oxidorreductasa a diferencia de HsGrx2.

viernes

18:30 - 20:00 **SBBM**

PRESENTACIÓN POSTERS - SBBM - #0351, #0098, #0192, #0352, #0329, #0031, #0079, #0143, #0237, #0304, #0317, #0066, #0232, #0256, #0043, #0100, #0065, #0092, #0122, #0156, #0014, #0016, #0017, #0039, #0050, #0057, #0238, #048, #0290, #0370, #0283, #0091, #0357, #0188

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Sintesis de análogos de dehidrozingerona como potenciales antimicrobianos y antioxidantes (#0014)

Gabriel Sagrera [1]

1 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República.

Resumen:

La dehidrozingerona, 4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-buten-2-ona, se obtiene a partir de la raíz del gengibre (*Zingiber officinale*) y posee diversas actividades biológicas (antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas). Se ha reportado que la actividad antimicrobiana de análogos de la dehidrozingerona depende de la presencia del grupo 4-OH libre. En este trabajo se describe la síntesis de una serie de análogos de dehidrozingerona, de estructura general H_3C-CO-CH=CH-Ar, donde el grupo aromático se encuentra sustituído con grupos fenólicos en diferentes posiciones. Todos los compuestos fueron obtenidos con buenos rendimientos y caracterizados por RMN y EM. En una etapa posterior se determinarán sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

Sintesis de isoflavonas para su posterior incorporación en liposomas y evaluación de propiedades antioxidantes (#0016)

Carla Roberta Lopes de Azambuja Borges [1]; Nichole Silva [1]; Vania Rodrigues de Lima [1]; Gabriel Sagrera [2]

1 - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande (FURG). 2 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química.

Resumen:
Las isoflavonas son un grupo de flavonoides que poseen diversas actividades biológicas como antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, estrogénicas y otras. Muchas isoflavonas son compuestos naturales que existen en plantas. La genisteína se encuentra presente en la soja y posee importantes propiedades antioxidantes, pero su hidrofobicidad dificulta la administración oral. La incorporación de la genisteína en liposomas es una alternativa viable para su uso y así es importante desarrollar un sistema farmacológico eficaz y de baja toxicidad. Con el fin de controlar la permeabilidad de la genisteína en la membrana liposomal, es importante testear asociaciones de lípidos con distintos estados de fases. En este contexto, es importante el uso de colesterol, porque tiene la capacidad de condensar monocapas fosfolipídicas y reducir la permeabilidad de los liposomas y también conocer la influencia de la genisteína en la dinámica molecular de un sistema que consiste en dimiristoilfosfatidilcolina y colesterol. Previamente, la investigadora principal ha estudiado las interacciones moleculares entre genisteína y liposomas compuestos por DMPC y colesterol por medio de RMN de fósforo y protón y calorimetria diferencial de barrido, encontrando que la genisteína causa un mayor grado de orden tanto en la región polar, como en la región apolar de los liposomas. El orden en la membrana causado por la genisteína puede influir en su actividad antioxidante, reduciendo la movilidad de los radicales en la membrana y las reacciones de radicales libres. Con el objeto de continuar con estas investigaciones hemos decidido preparar una serie de análogos de la genisteína. En este trabajo se prepararon cinco isoflavonoides, en dos etapas: reacción entre un fenol y un ácido fenilacético para formar una desoxibenzoína, la cual luego cicla para dar la correspondiente isoflavona. Todos los compuestos se han caracterizado por RMN y EM y sus rendimientos se encuentran en etapa de optimización.

Actividad antioxidante de chalconas sintéticas y efecto en la turbidez de liposomas (#0017)

Nichole Osti Silva [1]; Carla Roberta Lopes de Azambuja Borges [1]; Gabriel Sagrera [2]; Vania Rodrigues de Lima [1]

1 - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande (FURG). 2 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República.

Resumen:
Las chalconas son flavonoides que poseen la estructura básica de 1,3-difenil-2 propenona. Entre sus actividades biológicas, la propiedad antioxidante se destaca por su importancia en la terapia anti-cáncer. La actividad antioxidante de chalconas está asociada con la reducción de radicales libres y la quelación de los metales. Un efecto protector en membranas biológicas puede ser un mecanismo secundario, así que es importante conocer los efectos de las chalconas en propiedades de bicapas lipídicas. En este estudio se realizó la síntesis de dos chalconas (4-hidroxichalcona y 2',4-dihidroxichalcona) y se evaluó la actividad antioxidante y su efecto en la turbiedad de liposomas. La síntesis de las chalconas se realizó en tres etapas: protección de los grupos fenólicos de los precursores como éteres de tetrahidropiranilo, condensacion aldólica y remoción de los grupos protectores. El potencial de reducción de las chalconas fue evaluado por el método de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) y sus efectos contra la peroxidación de liposomas detectados por el método TBARS. Los liposomas fueron preparados por el método de hidratación de película lipídica. Los ensayos de turbiedad de liposomas fueron hechos por espectrofotometría UV-vis. Los resultados muestran una relación entre la presencia de grupos hidroxilos con la actividad antioxidante y la dinámica molecular de membranas, contribuyendo para el desarrollo de candidatos de medicamentos más eficaces para el tratamiento de diversas enfermedades

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Perfil de cannabinoides por ^{1}H-RMN y actividad antioxidante de *Cannabis sativa* (#0039)

Bruno Musetti [1]

1 - Facultad de Ciencias.

Resumen:
El Cannabis es una planta con múltiples aplicaciones, tanto industriales como medicinales. Sus usos como droga de ritual y con fines terapéuticos datan de hace más de 4.000 años en el continente asiático. Se conocen 109 fitocannabinoides además de terpenos, flavonoides, esteroides entre otros grupos de metabolitos presentes en el cannabis. Actualmente sus usos medicinales han despertado gran interés debido a los continuos descubrimientos de las implicancias que el sistema endocannabinoide presenta en varios procesos fisiológicos. En el sistema cardiovascular existen evidencias sobre la utilidad terapéutica de los cannabinoides en la aterosclerosis y en la protección ante el daño generado por isquemia-reperfusión. En este trabajo se estudió el perfil de cannabinodes presentes en extractos de inflorescencias femeninas de dos fenotipos de *Cannabis sativa* mediante ^{1}H-RMN en distintas etapas de maduración y su capacidad para inhibir la lipoperoxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL), proceso fuertemente ligado al desarrollo de la aterosclerosis. Se evidenció una acumulación de metabolitos, entre ellos cannabinodes, en los tricomas glandulares durante la etapa final del desarrollo de la floración. El principal cannabinoide encontrado en los extractos analizados fue el ácido carboxílico Δ9-THC (THC-A) (~30%) y en una proporción mucho menor su producto de descarboxilación, con propiedades psicoactivas, el Δ9-THC (~1%). No se registró la presencia de otros cannabinodes en los extractos analizados debido a la sensibilidad de la técnica utilizada. Por otra parte los extractos presentaron la capacidad de interrumpir las cadenas de propagación de la lipoperoxidación en LDL mediada por Cu^{2+}, con CI_{50} en el rango de 1,7-4,6 μg/mL dependiendo de la variedad y el grado de maduración de las flores.

UTRme: a tool to annotate UTRs in kinetoplastids. (#0304)

Santiago Radío [1]; Lorena Becco [1]; José Sotelo [2]; Beatriz Garat [1]; Pablo Smircich [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
Since post-transcriptional regulation is the main level of gene expression control in trypanosomatides, the determination of actively translated mRNA seems particularly adequate to analyze gene expression profiles. We previously applied translatomic analysis and detected significant differences in the expression and translational efficiencies of several gene groups. In particular, the genes for ribosomal proteins and trans-sialidases were significantly regulated at these levels. To deepen our understanding of the mechanisms and signals that determine these regulatory processes we created UTRme (UTR-mini-exon), a program to annotate UTRs in Trypanosoma cruzi. Using pair-end RNA-Seq data and an annotated genome, UTRme annotates the UTRs and assigns them a reliability index, which indicates the confidence with which the polyadenylation and transplicing sites were detected. The program is based on several read filtering steps (through trimming and alignment) in order to obtain a reliable set from which the annotation will be generated. The score assigned to each site depends on the number of reads that support it, the differences between the bases of polyadenylated or transpliced read with its aligned genomic region, the number and percentage of adenines for 3'UTRs, among others. UTRme allowed us to determine the use of preferential sites according to the parasitic stage and search for signals in UTRs, both at the level of primary sequence and secondary structure, that might explain the observed co-regulation of family members. Finally, we expect that UTRme will enable researchers to obtain reliable UTRs regions to be used in their own projects.

Análisis evolutivo y caracterización funcional de Prostaglandina Sintasas de Trypanosoma cruzi (#0317)

Florencia Díaz Viraqué [1]; María Laura Chiribao Pombo [2]; Matías Machado Gonzalez [3]; Andrea Trochine [4]; Gregorio Iraola Bentancor [5]; Carlos Robello Porto [2]

1 - Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo. 2 - Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo / Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR. 3 - Laboratorio de Simulaciones Biomoleculares, Institut Pasteur Montevideo. 4 - Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC), Argentina. 5 - Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur Montevideo.

Resumen:

Desde hace un tiempo se sabe que los tripanosomátidos son capaces de sintetizar prostaglandinas. Este descubrimiento plantea interrogantes sobre cuál es el rol de estos lípidos bioactivos durante las infecciones parasitarias. El presente trabajo se enmarca en el estudio de la relevancia de la síntesis de prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) para Trypanosoma cruzi en el establecimiento de la infección. La mayor parte de las $PGF_2\alpha$ sintasas caracterizadas pertenecen a la familia proteica Aldo-Keto reductasa (AKR). Sin embargo, en T. cruzi la síntesis de $PGF_2\alpha$ es catalizada por TcOYE que pertenece a la familia proteica Old Yellow Enzyme (OYE). Esta proteína no presenta homólogos en mamíferos ni otros tripanosomátidos. Por otro lado, existe una proteína perteneciente a la familia AKR (TcAKR) cuya actividad $PGF_2\alpha$ sintasa no pudo ser determinada in vitro y su función biológica es desconocida. En este contexto, se realizaron estudios estructurales, evolutivos y funcionales de TcAKR y TcOYE para dilucidar las principales diferencias entre ellas y su relevancia en la infección. Se estudió la localización subcelular, expresión en ciclo de vida y expresión en diferentes cepas de ambas proteínas. Se realizó la sobreexpresión y se evaluó el efecto en la infectividad mediante ensayos in vitro y en modelo murino. Paralelamente, se realizó una búsqueda de todos los genes pertenecientes a las familias proteicas OYE y AKR en los genomas de protozoo disponibles con el fin de determinar la distribución en las diferentes especies y sus relaciones filogenéticas para dilucidar cuál fue el evento evolutivo que determinó la particularidad de que TcOYE catalice la síntesis de $PGF_2\alpha$ en T. cruzi. Este abordaje implicó el desarrollo de un conjunto de scripts cuyo uso en forma secuencial permite la identificación de todos los homólogos de un gen en un conjunto de genomas de interés, independientemente de la anotación del genoma.

Panorama transcriptómico y traductómico del ciclo celular de Trypanosoma cruzi. (#0329)

Santiago Chavez [1]; Guillermo Eastman [2]; Pablo Smircich [1]; Beatriz Garat [1]; Jose R. Sotelo Silveira [2]; Maria Ana Duhagon [1]

1 - Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias (UdelaR). 2 - Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
Avances en el entendimiento de las bases moleculares del ciclo proliferativo de *Trypanosoma cruzi* pueden acelerar el desarrollo de estrategias quimioterápicas contra la enfermedad de Chagas, la cual continúa siendo una grave problemática en regiones endémicas de Latinoamérica. Para estudiar los patrones de expresión génica durante el ciclo celular del parásito, se realizaron análisis transcriptómicos (RNA-seq de ARNm poliadenilados) y traductómicos (RNA-seq de huellas ribosomales) sobre epimastigotas sincronizados mediante Hidroxiurea. Se obtuvieron poblaciones de parásitos en G1, S y G2/M, (70% de enriquecimiento analizado mediante citometría para contenido de ADN). Por secuenciado profudo de los ARNm (30 millones de lecturas mapeadas/muestra) se identificó un grupo de 305 genes diferencialmente regulados en el ciclo (CR-DEGs, cambio $\geq$1.5, p-valor $<$0.01). Aquí se afectan funciones relacionadas al metabolismo energético de carbohidratos (G1), replicación del ADN en (S) y movimiento asociado a microtúbulos (G2/M). Para el traductoma nos focalizamos en la transición G1-S, donde se obtuvieron 12 millones de lecturas mapeadas en ARNm, para 7860 genes con al menos 10 lecturas. Curiosamente, a nivel traduccional se afectaron 1784 genes (CT-DEGs, cambio $\geq$2, FDR $<$0.05), 923 y 861 de estos resultaron regulados al alta en G1 y S respectivamente, mostrando enriquecidas funciones relacionadas a la síntesis del ribosoma, metabolismo de nucleótidos y dinámica de microtúbulos. Los genes regulados en el ciclo muestran propiedades estructurales y funcionales distintivas, como distancia al inicio transcripcional, contenido GC, uso de codones, largo génico y de regiones no-traducidas (UTRs). También se presentan resultados de búsquedas de motivos estructurales y de secuencia. Finalmente, nuestros datos sugieren una regulación coordinada de los ARNm periódicamente expresados, basada en propiedades conservadas de los transcriptos y la cual depende predominantemente en la traducibilidad más que en la estabilidad de estos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

RNAs reguladores no tan pequeños: ensamblaje de mitades de tRNA y otros RNAs no codificantes, en partículas extracelulares capaces de mediar señalización intercelular (#0352)

Juan Pablo Tosar Rovira [1]; Fabiana Gámbaro [1]; Mercedes Segovia [1]; Marcelo Hill [1]; Eric Westhof [2]; Alfonso Cayota [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Université de Strasbourg.

Resumen:

Por lo general, cuando se habla de pequeños RNAs reguladores de la expresión génica, se piensa en micro-RNAs, siRNAs, y piRNAs. Sin embargo, el rol de los fragmentos de RNAs no codificantes (tRNAs, rRNAs, YRNAs) en la regulación de la expresión génica queda cada vez más de manifiesto. Entre estos, resultan de particular interés las mitades de tRNAs, ya que evidencia reciente las vincula al control del inicio de la traducción, ensamblado de gránulos de estrés, inhibición de la apoptósis, proliferación celular, y silenciamiento epigenético de elementos transponibles. Además de su rol intracelular, los pequeños RNAs reguladores se secretan al espacio extracelular, y pueden mediar mecanismos de comunicación entre células distantes. Esto está bastante estudiado para micro-RNAs, pero se sabe más bien poco de las demás familias de pequeños RNAs reguladores. En estudios previos hemos estudiado el secretoma de pequeños RNAs presentes en distintas fracciones extracelulares (exosomas, microvesículas, fracción no vesicular) de líneas celulares mamarias, malignas y no malignas (Tosar et al. 2015, Nucleic Acids Res). Llamó la atención el enriquecimiento en mitades de tRNA en la fracción no vesicular. Buscamos luego posibles proteínas asociadas, pero, curiosamente, descrubirmos que su resistencia a la degradación y estabilidad extracelular proviene de su capacidad de formar dímeros y otras estructuras oligoméricas. La separación cromatográfica del medio extracelular permite evidenciar que las mitades de tRNA eluyen en distintos picos, correspondiendo a dímeros y estructuras particuladas de mayor peso molecular. Hemos realizado la proteómica y la secuenciación de cada uno de estos picos, permitiendo así reconstruir los complejos que estas mitades de tRNA forman en el medio extracelular. También hemos estudiado posibles vías de señalización que estas partículas de RNA puedan estar llevando a cabo, especialmente sus efectos sobre células del sistema inmune, y efectos autócrinos sobre las propias células secretoras.

Explorando diferencias entre Prx1 y Prx2 humanas, peroxiredoxinas de dos cisteínas citosólicas (#0256)

Joaquín Dalla Rizza Aishembreg [1]; Lía Margarita Randall [1]; Gerardo Ferrer-Sueta [1]; Ana Denicola [1]

1 - LAboratorio de Fisicoquímica Biológica, Facultad de Ciencias, Udelar.

Resumen:

Las peroxirredoxinas (Prx) son una familia de enzimas presentes en archaeas, bacterias y eucariotas, que se caracterizan por su capacidad de reducir peróxido de hidrógeno (H_2O_2), alquil hidroperóxidos y peroxinitrito a través de un mecanismo basado en cisteínas. Además de su rol detoxificante, tienen un rol principal en la señalización celular mediada por H_2O_2. En su sitio activo se destacan una cisteína peroxidática (C_P) y una cisteína resolutiva (C_R). La C_P es la que reduce el H_2O_2 a H_2O, mientras que la C_R participa en el reciclado de la enzima, que comienza por la formación de un disulfuro entre ambas cisteínas. Una particularidad de las Prx como enzimas antioxidantes, es que pueden ser sobreoxidadas en su C_P si una segunda molécula de H_2O_2 reacciona con la misma antes de formar el disulfuro con la C_R, inactivándose. Poseen además estructura cuaternaria definida, manteniendo equilibrio entre dímeros y decámeros activos. Entre las 6 isoformas presentes en humanos, se encuentran Prx1 y Prx2, las cuales además de tener la misma localización celular (citosol) poseen un 78% de identidad aminoacídica y un 90% de homología. A pesar de estas similitudes, se presume que poseen funciones distintas y únicas. Buscando esclarecer los mecanismos que expliquen estas diferencias, se purificaron las proteínas recombinantes Prx1 y Prx2 humanas y se estudió su oxidación por H_2O_2 siguiendo los cambios de fluorescencia intrínseca de las proteínas durante esta reacción. Según los parámetros determinados, si bien las constantes de reacción con H_2O_2 son similares, las constantes de velocidad de cierre del disulfuro presentan diferencias importantes, lo cual se asocia a diferencias en su sensibilidad a sobreoxidarse. También se exploró el efecto de su estado redox en su oligomerización, así como diferencias en el consumo catalítico del sustrato.

Vías de señalización involucradas en las respuestas de los microtúbulos a la despolarización del potencial de membrana en endotelio de córnea (#0031)

Frances Evans [1]; Julio A. Hernández [2]; Silvia Chifflet [3]

1 - Depto. de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UdelaR. 2 - S. Biofíosica, Facultad de Ciencias, UdelaR. 3 - Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

En trabajos previos encontramos que la despolarización del potencial de membrana plasmática (DPMP) de células de endotelio de córnea de bovino en cultivo (BCEC) provoca la remodelación del citoesqueleto de actina y tubulina. Asimismo, hallamos que la DPMP activa a la vía del cAMP/PKA y que ésta parece participar en la reorganización de la actina-F cortical. El objetivo de este trabajo fue determinar, por un lado, si la vía del cAMP/PKA está implicada en la remodelación de los microtúbulos en respuesta a la DPMP en BCEC y, por otro si existe un acoplamiento entre los microtúbulos y los microfilamentos durante dicha respuesta. Mediante estudios de microscopía confocal pudimos identificar distintas poblaciones de microtúbulos en BCEC. La DPMP provoca la disminución de la población de microtúbulos corticales que se extiende longitudinalmente a lo largo del eje ápico-basal. Los inhibidores de la adenilil ciclasa soluble y de la PKA bloquean este cambio. Los microtúbulos parecen ser más sensibles a la DPMP que los microfilamentos. El paclitaxel, una droga que estabiliza los microtúbulos, no parece afectar los efectos de la DPMP sobre los microfilamentos. La desestabilización de los microtúbulos con nocodazol conduce por sí misma a un incremento de las fibras de estrés basales y, reduce la remodelación de la actina-F cortical provocada por la DPMP. Una desestabilización controlada de los microfilamentos con citocalasina, atenúa el efecto de la DPMP sobre los microtúbulos. En su conjunto, estos resultados sugieren que la vía de la cAMP/PKA podría estar implicada en la reorganización de los microtúbulos en respuesta a la DPMP. Asimismo, no resulta evidente el acoplamiento en los cambios de los filamentos de tubulina y actina frente a la DPMP.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

External genitalia from juvenile *Caiman latirostris*. Similarities and differences between male, TSD-females and HSD-females. (#0057)

Yamil Ezequiel Tavalieri [1]; Germán Hugo Galoppo [2]; Guillermina Canesini [2]; Enrique Hugo Luque [3]; Mónica Milagros Muñoz-de-Toro [2]

1 - Cátedra de Patología Humana, Universidad Nacional del Litoral. 2 - Cátedra de Patología Humana, Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL), Universidad Nacional del Litoral. 3 - Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL), Universidad Nacional del Litoral.

Resumen:

Caiman latirostris is a reptile with temperature sex determination (TSD). In ovo exposure to xenoestrogens overcomes the effects of temperature (hormonal sex determination; HSD). External genitalia (phallus) from TSD- males and females are similar in gross anatomy; however, male phallus continues increasing its size as caiman grows. The aims were to evaluate histo-architecture and hormone receptor status in the phallus of juvenile caimans to describe the sexual dimorphic pattern and to determine whether the phallus of HSD-female caimans differs from the phallus of TSD-females. Archived paraffin embedded samples from juvenile caimans were used. Groups were as follow: TSD-male, TSD-female and HSD-female (incubated at male producing T^{0}C and exposed in ovo to 1.4 ppm of 17β-Estradiol). From the base to the glans, external genitalia of male and female are composed by a collagen rich corpus cavernosum (CC), surrounding a vascularized smooth muscle tissue, where a ventral invagination of the external epithelium (sulcus) is anchored to. PAS+ staining cells were present in the deep sulcus and in the external epithelia; muscle cells exhibited cytoplasmic PAS+ granules. Sexual dimorphism was exhibited by: 1) collagen fiber organization in the CC that is densely packed in males versus loosely packed in females, 2) the spatial orientation of muscle fibers 3) peripheral innervations is higher in females than in males, and 4) AR and ER expression are both higher in males than in females. Results demonstrate that, sexual dimorphism of caiman phallus is not only restricted to its growing dynamics, but also to histological features and hormone dependency. Aditionally, HSD-female phallus differs from TSD-females. Significant, AR and ERα expression in TSD-female phallus resembles that observed in TSD-males. Masculine features of external genitalia from HSD-females could alter their reproductive behavior and/or performance.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

CARACTERIZACIÓN DE LA DIAPAUSA I EN PECES ANUALES DEL GÉNERO *AUSTROLEBIAS* (#0238)

Nicolás G. Papa [1]; Nibia Berois [1]; Graciela A. Clivio [1]; Jimena Montagne [1]; Soledad De la Piedra [2]; María José Arezo [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Investigadora independiente.

Resumen:
Los estados de dormancia permitieron a los seres vivos conquistar las regiones más extremas del planeta, mediante adaptaciones a ambientes hostiles. Las detenciones del desarrollo embrionario o diapausas en los peces anuales, son ejemplos de dormancia, estrategia de supervivencia adaptada a la desecación de las efímeras masas de agua en las que viven. En estas detenciones las actividades vitales disminuyen dramáticamente hasta que se vuelve a llenar el charco, donde la detención y el reinicio del desarrollo están determinados por señales ambientales, factores genéticos y epigenéticos. A pesar del papel crucial de las diapausas en los embriones de peces anuales, los mecanismos moleculares implicados principalmente en la diapausa I, son desconocidos. En este contexto, enmarcado dentro de mi proyecto de doctorado, junto a nuestro grupo de investigación "Análisis de los mecanismos subyacentes a las diapausas en peces anuales" dirigido por la doctora Arezo, proponemos contribuir a la caracterización de la diapausa I (DI) en especies del género *Austrolebias* a nivel morfológico y molecular, mediante diferentes abordajes. En este trabajo se presentarán datos sobre el sistema de inducción empleado, así como la distribución y morfología celular en embriones detenidos en DI identificando los dos fenotipos alternativos observados por nuestro grupo en el laboratorio. A nivel molecular, los resultados de cuantificación de ARN en diapausa I, así como en estadios previos y posteriores de la misma, serán tomados como parámetro para evidenciar regulación de la expresión génica. Estos abordajes son los primeros pasos hacia la caracterización de la diapausa I en estos vertebrados extremófilos, definidos por la tolerancia de sus embriones a factores de estrés ambiental. En este sentido, responder a las interrogantes sobre la regulación de sus diapausas es un desafío que proyecta el conocimiento básico a aspectos biomédicos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la respuesta inmunologica de la triparredoxina peroxidasa citosólica de *Trypanosoma cruzi* (#0043)

Lucía López [1]; María Laura Chiribao [2]; Carlos Robello [3]; Teresa Freire [4]; María Dolores Piñeyro [3]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Institut Pasteur de Montevideo, Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina, UdelaR. 3 - Institut Pasteur de Montevideo, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR. 4 - Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

La enfermedad de Chagas, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*. En la actualidad, los fármacos utilizados muestran una eficacia variable con efectos secundarios indeseables. La eficacia en la infección por parte del parásito está asociada a su capacidad de resistir el ataque oxidativo del hospedero y de evadir la respuesta inmunitaria. Las triparredoxinas peroxidasas contribuyen a la capacidad antioxidante del parásito y constituyen factores de virulencia para la enfermedad de Chagas. En este trabajo evaluamos la respuesta inmunológica de la triparredoxina peroxidasa citosólica de *T. cruzi* (cTXNPx). Para ello utilizamos cTXNPx y una versión mutada en la cisteína peroxidática 52 (cTXNPxC52S), que carece de actividad peroxidasa. El análisis de la respuesta inmune celular y humoral se realizó en animales inoculados con cTXNPx, y cTXNPxC52S, a través del análisis del título de anticuerpos específicos en suero y de la proliferación de linfocitos T. Los resultados obtenidos indican que los esplenocitos de los animales inoculados con cTXNPx tienen un mayor índice de proliferación de linfocitos TCD4+ y TCD8+, asociado a una mayor producción de IFNγ, indicando que la cTXNPx favorece la proliferación específica y policlonal en linfocitos TCD4+ y TCD8+. Sin embargo, encontramos mayor título de anticuerpos específicos, tanto IgG como IgM en los animales inoculados con cTXNPxC52S, sugiriendo una activación de las células B diferente inducida por ambas proteínas. Nuestros resultados indican que la proteína sin actividad peroxidasa genera respuestas inmunológicas humorales y celulares diferentes a la nativa, lo cual podría deberse a una presentación antigénica diferencial. Los resultados de este trabajo contribuyen a la comprensión de la respuesta inmunológica inducida por factores de virulencia de *T. cruzi*.

Las plaquetas humanas como biomarcador de estrés metabólico sistémico (#0065)

Santiago Mansilla [1]; *Celia Quijano* [1]; *Laura Castro* [1]

1 - Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:
Las plaquetas son células sanguíneas anucleadas pequeñas (2 a 3 μm) que se originan del citoplasma de los megacariocitos en la médula ósea, siendo su concentración sanguínea entre 150 y 400 mil por μL y su vida media de 10 días aproximadamente. Además de su rol fundamental en la hemostasia, recientemente se ha planteado que las plaquetas podrían utilizarse como biomarcador de un gran número de patologías sistémicas, tales como enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, cáncer y diabetes, entre otras que cursan con disfunción mitocondrial. Se ha demostrado que la bioenergética celular de las plaquetas es alterada en presencia de dichas patologías debido a la exposición de las mismas durante la maduración en la médula ósea a condiciones de estrés metabólico e inflamatorio sistémico. En este trabajo se puso a punto un protocolo para la evaluación de la bioenergética de plaquetas humanas mediante la utilización de un analizador de flujo extracelular que permite estudiar cambios de concentración de oxígeno y pH. La puesta a punto se realizó con sangre de 12 voluntarios sanos, previo consentimiento informado. Se determinó el número de células óptimo a utilizar, encontrándose un rango lineal de consumo de oxígeno cuando se usaron entre 10 y 50 x 10^6 plaquetas por pocillo. Se establecieron las concentraciones óptimas de inhibidores y desacoplantes mitocondriales y la utilidad del uso de prostaglandina I_2 como antiagregante durante el aislamiento de las plaquetas. Posteriormente se analizaron plaquetas de 2 niños, uno con enfermedad OXPHOS comprobada por secuenciación del ADNmit y el otro con un síndrome clínico compatible con enfermedad OXPHOS. Se encontraron diferencias significativas con los controles en la máxima capacidad respiratoria y en la capacidad de reserva. Postulamos que evaluar la función mitocondrial en plaquetas podría sustituir el uso de biopsias musculares o de piel para diagnosticar la disfunción mitocondrial en enfermedades OXPHOS.

Caracterización bioquímica y estructural de la aconitasa mitocondrial murina (#0066)

Santiago Mansilla [1]; *Verónica Tórtora* [1]; *Laura Castro* [1]

1 - Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

La aconitasa mitocondrial (ACO2), es una enzima esencial del ciclo de Krebs que cataliza la isomerización reversible de citrato a isocitrato mediante un intermediario *cis*-aconitato. Esta enzima, que posee un centro [4Fe-4S] en su sitio activo, ha sido identificada como uno de los principales blancos de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, siendo preferencialmente modificada e inactivada por oxidantes durante el envejecimiento y en patologías que cursan con disfunción mitocondrial. El objetivo de este trabajo fue la expresión, purificación y caracterización bioquímica de una ACO2 de mamífero expresada como proteína de fusión con glutatión S-transferasa. Se logró purificar una ACO2 recombinante murina, con una pureza del 91%. Se obtuvo información importante sobre el plásmido y el gen codificante ya que no se contaba con información suficiente al comenzar el trabajo; y se determinó el peso molecular de la enzima de 90,1 ± 5,3 kDa. Se determinó la actividad enzimática por ensayo directo, acoplado y gel de actividad, pudiéndose determinar los K_M para los tres sustratos: 624 ± 28 μM para citrato, 838 ± 33 μM para isocitrato y 11,7 ± 1,1 μM para *cis*-aconitato. Se calcularon las constantes de reacción de segundo orden de la ACO2 murina con peroxinitrito y peróxido de hidrógeno obteniéndose valores de 1,3 x 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ y 6 x 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ respectivamente, en el orden de los reportados previamente para otras especies. La inactivación de la ACO2 murina mostró ser reversible tras la incubación con hierro, azufre y un agente reductor en condiciones anaerobias, evidenciando la reactividad de los oxidantes con el centro ferrosulfurado.

Glicerofosfolipidos pueden incorporarse a las membranas biológicas de espermatozoides humanos maduros, incrementando su capacidad de resistencia ante el stress oxidativo. (#0079)

Carlos Costa [1]; Verónica Bassaizteguy [1]; Marcelo Santos [1]; Rosina Ordoqui [2]; José María Montes [2]; Robert Settineri [3]; Garth Nicolson [3]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos. 2 - Fertilab. 3 - Institutes for Molecular Medicine. CA.

Resumen:
La composición de la membrana plasmática es determinante para la movilidad y viabilidad de espermatozoides maduros. El espermatozoide maduro produce especies reactivas de oxígeno, que incrementan con la edad y producen lipoperoxidación de las membranas, repercutiendo en movilidad/viabilidad. La terapia de reposición lipídica (TRL) consiste en el reemplazo de lípidos peroxidados por una mezcla de glicerofosfolípidos en proporciones similares a las encontradas en las membranas biológicas resistentes a la lipoperoxidación (NTFL). Previamente hemos reportado que la incubación de espermatozoides humanos con NTFL en el rango 0.01-3%, disminuye el efecto negativo sobre la movilidad (medida de acuerdo a OMS), cuando son sometidos a vías de aumento del stress oxidativo (Costa et al.,2015). En este trabajo evaluamos la TRL lipídica en espermatozoides humanos maduros, observando integridad de membranas y reporte fluorescente de potencial de membrana mitocondrial. Nuestros resultados muestran que NTFL 0.01-0.1% ultrasonicado y centrifugado, origina submicronanomicelas que se pueden observar al microscopio, que incorporan pigmentos fluorescentes y que los espermatozoides incubados con dichas submicronanomicelas con pigmentos, incorporan los marcadores presentes en las mismas, incorporando probablemente NTFL. Las curvas dosis-respuesta de motilidad de espermatozoides vs. H2O2, desplazan sus valores de dosis media de inhibición a valores más positivos, indicando un rol protector de la incubación de NTFL ante la exposición a H2O2. La citometría de flujo de espermatozoides humanos maduros cargados con JC1, indican que la incubación con NTFL aumenta la población de espermatozoides con mayor potencial mitocondrial, respecto a los incubados solo con H2O2. Estudios en microscopía confocal con Rhodamina123 y JC1, consistentemente con los resultados anteriores, indican un rol antioxidante de NTFL. En conclusión, los espermatozoides humanos maduros son un buen modelo para estudiar TRL con NTFL, sugiriendo que la misma es efectiva para prevenir el daño oxidativo a nivel de membranas biológicas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la función mitocondrial en biopsias de hígado bovino durante el balance energético negativo (#0092)

Mercedes García-Roche [1]; Alberto Casal [2]; Mariana Carriquiry [2]; Celia Quijano [3]; Adriana Cassina [3]

1 - Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO) y Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República/ Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. 2 - Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. 3 - Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO) y Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

Resumen:

El balance energético negativo se desarrolla durante el periparto, un período donde la vaca lechera se enfrenta a una gran demanda de nutrientes por parte del feto y para la producción de leche. Con el fin de atender a esta demanda, se movilizan reservas corporales y aumenta la lipólisis, la cetogénesis, glucogenólisis y gluconeogénesis. En este trabajo se planteó elaborar un protocolo de criopreservación de biopsias de hígado bovino para estudiar el efecto del balance energético negativo sobre la función mitocondrial. Se compararon diferentes condiciones de congelamiento de biopsias de hígado y se analizó la función mitocondrial por medio de respirometría de alta-resolución en un oxímetro (Oroboros Oxygraph-2K), en presencia de sustratos de los complejos I y II de la cadena respiratoria. A partir de las medidas de velocidad de consumo de oxígeno obtenidas en ausencia/presencia de inhibidores y desacoplantes de la fosforilación oxidativa se determinó la máxima capacidad respiratoria, la respiración en estado 3 y el índice de control respiratorio. En las muestras criopreservadas se agregó citocromo c para evaluar la integridad de membrana y se observó un aumento de la respiración con respecto a las biopsias frescas ($p < 0,05$). Se agregó citocromo c a todas las medidas posteriores. No encontramos diferencias significativas en la máxima capacidad respiratoria, respiración en estado 3 e índice de control respiratorio para el complejo I entre muestras frescas y criopreservadas. Solo el índice de control respiratorio para el complejo II se vio afectado. El estudio de función mitocondrial durante la lactancia demostró que las biopsias tomadas de vacas en el balance energético negativo y cercanas al pico de lactancia, presentaban una máxima capacidad respiratoria disminuida ($p < 0,05$) con respecto a las vacas en lactancia tardía. Sugiriendo que la función mitocondrial se encuentra comprometida durante el balance energético negativo.

Rol de la Ser/Thr-quinasa PknG en la fisiología y patología de Mycobacterium tuberculosis. (#0098)

Analía Lima Raimondo [1]; Magdalena Gil [1]; Alessandro Cascioferro [2]; Jessica Rossello [1]; Bernardina Rivera [1]; Natalia Lisa [3]; Marco Bellinzoni [3]; María Noel Álvarez [4]; Carlos Batthyány [1]; Annemarie Wehenkel [3]; Roland Brosch [2]; Pedro Alzari [3]; Rosario Durán [1]

1 - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay. 2 - UP Pathogénomique Mycobactérienne, Institut Pasteur, Paris, Francia. 3 - Structural Microbiology, Institut Pasteur Paris. 4 - Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo Uruguay.

Resumen:

El éxito de *Mycobacterium tuberculosis* como patógeno humano reside principalmente en su capacidad de sobrevivir en macrófagos y mantener una infección latente. Existen evidencias de que la Ser/Thr-quinasa PknG de *M. tuberculosis* regula procesos críticos del metabolismo micobacteriano y que tiene además un rol en la capacidad de la bacteria de persistir en los macrófagos inhibiendo la maduración fagosomal. Sin embargo, los mecanismos moleculares subyacentes a esta acción son aún poco comprendidos. Con el fin de elucidar en qué procesos biológicos participa PknG llevamos a cabo una aproximación interactómica usando PknG de *M. tuberculosis* como "bait" acoplado a una estrategia de elución secuencial. Paralelamente realizamos abordajes proteómicos comparativos y cuantitativos, DIGE y "shot gun", usando la cepa salvaje de *M. tuberculosis* (WT) y una cepa "knock out" en el gen *pknG* (KO). La estrategia interactómica nos permitió identificar potenciales sustratos e interactores de esta enzima, que participan en el control del metabolismo del nitrógeno y la división celular. Mediante la aproximación DIGE se detectaron spots que presentaron un perfil consistente con cambios en el estado de fosforilación de proteínas, y fueron identificadas como potenciales sustratos de PknG. Por otro lado, usando la aproximación tipo "shot-gun" se detectaron una serie de proteínas diferenciales, las cuales serían fundamentales para la sobrevida de la bacteria en el hospedero. Asimismo, el análisis de estos datos nos permitió determinar que el metabolismo de la pared celular y la adaptación a la hipoxia fueron los procesos biológicos principalmente afectados por la ausencia de PknG. Por lo tanto, a partir de este trabajo pudimos identificar potenciales sustratos de PknG los cuales cumplen un papel central en el metabolismo de la bacteria y determinamos que la ausencia de PknG en *M. tuberculosis* afecta procesos de gran relevancia para su patogenicidad.

EXPLOTANDO LA DIVERSIDAD DE LEVADURAS ANTÁRTICAS (#0100)

Franco Laureano [1]; Lorena Herrera [1]; César García [1]; Juan José Marizcurrena [1]; Susana Castro-Sowinski [1]

1 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:
La Antártida es una fuente inagotable de recursos genéticos para el desarrollo de productos biotecnológicos. Un ejemplo podrían ser las levaduras capaces de degradar polisacáridos a bajas temperaturas, útiles para el desarrollo de procesos de sacarificación y fermentación a bajas temperaturas para la producción de bioetanol. En un trabajo anterior, nuestro equipo de trabajo aisló levaduras que formarían parte de la microbiota del oligoqueto antártico *Grania* sp. Las levaduras se identificaron en forma molecular como integrantes de los géneros *Rhodotorula* y *Cystobasidium*. Estos microorganismos mostraron actividad celulolítica y esterolítica, lo cual dejó abierta la posibilidad de su uso durante los procesos de producción de bioetanol y biodiesel. El objetivo del trabajo acá presentado fue ampliar la colección de levaduras antárticas con potencial celulolítico, identificarlas y analizar su capacidad de realizar fermentación etanólica utilizando glucosa como sustrato. Se trabajó con muestras de diferentes zonas geográficas de la Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica, y se aislaron 11 levaduras con diferencias morfológicas. Se analizó su capacidad de producir celulasas y amilasas en medio sólido, a 10 °C. Cinco de éstas levaduras presentaron actividad celulasa y solo una mostró actividad amilasa. Los próximos ensayos estarán focalizados a la identificación molecular por amplificación, secuenciación y análisis de los dominios D1/D2 del gen 26S rDNA. Además, se analizará su habilidad para producir etanol por GC-FID. Se espera que estos resultados contribuyan a las líneas de investigación de nuestro laboratorio, con miras al desarrollar proyectos de interés para la industria de los biocombustibles.

Análisis de reactividad de glutarredoxinas humanas (#0122)

Sebastian Villar Rodriguez [1]; Karin Grunberg [2]; Bruno Manta [3]; Gerardo Ferrer-Sueta [2]

1 - Laboratorio de Fisicoquimica Biológica, Instituto de Química Biológica, UdelaR. 2 - Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR. 3 - Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA.

Resumen:

Las glutarredoxinas se encuentran presentes en organismos de todos los reinos. Son proteínas pequeñas, de aproximadamente 80 a 120 aminoácidos que presentan un plegamiento tipo tiorredoxina y un sitio activo CXXC/S. Algunas, son oxidorreductasas activas en reacciones de intercambio tiol-disulfuro, mientras que otras utilizan sustratos como el glutatión para la biogénesis de centros Fe-S. En este trabajo se profundiza sobre la reactividad de dos glutarredoxinas humanas: HsGrx2 y HsGrx5. La primera, es activa en reacciones de intercambio tiol-disulfuro, mientras que la última no. A raíz de esto, se plantea identificar el origen de las diferencias funcionales en estas proteínas que son muy similares a nivel de secuencia y estructura. Para ello, ambas se someten a ensayos de reactividad nucleofílica, actividad enzimática y determinaciones de pKa de residuos de cisteína catalíticamente relevantes. Los ensayos de reactividad nucleofílica, apuntan al estudio cinético de la reacción de sustitución nucleofílica, entre los tioles de cisteína y dos electrófilos: el monobromobimano (mBBr) y un disulfuro de glutatión derivatizado con fluoresceína. Para evaluar la actividad de intercambio tiol-disulfuro, se siguió la reacción entre la proteína y un disulfuro mixto de glutatión y mercaptoetanol, acoplada al consumo de NADPH por glutatión reductasa. El pKa se determinó mediante distintas técnicas, observando: la absorbancia del tiolato (S^-) a 240 nm, el corrimiento del centro de masa del espectro de emisión del triptofano y las velocidades iniciales de reacción con mBBr; todo, a distintos valores de pH. No se observaron diferencias significativas en la acidez de las cisteínas catalíticas, ni en la reactividad con el sustrato inespecífico (mBBr), entre ambas proteínas. En cuanto al sustrato específico (GSSG) se observó que la reacción para la HsGrx2 resultó ser cien mil veces más rápida que para la HsGrx5; y que HsGrx5 no presenta actividad enzimática como tiol-disulfuro oxidorreductasa a diferencia de HsGrx2.

Estudio de las proteínas multifunción (moonlighting proteins) (#0143)

Luís Franco [1]; Sergio Hernández [1]; Alejandra Calvo [2]; Gabriela Ferragut [2]; Ma Angélica Severi [2]; Antoni Hermoso [1]; Isaac Amela [1]; Enrique Querol [1]; Juan Cedano [2]

1 - Institut de Biotecnologia i Biomedicina, UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona. 2 - Laboratorio de Inmunología "Dr. Alberto Nieto", CenUR Litoral Norte-Salto, UdelaR.

Resumen:

Las proteínas Moonlighting o multitareas son aquellas proteínas con dos o más funciones realizadas por una sola cadena polipeptídica. Estas proteínas presentan funciones alternativas (llamadas canónicas y "moonlighting") que tienen lugar al cambiar la localización celular, el tipo de célula, el estado oligomérico, la concentración de ligandos celulares, los sustratos, los cofactores, los productos o las modificaciones postraduccionales. Generalmente, estas proteínas se revelan experimentalmente por serendipia. La aparición de una nueva función puede convertirse en una ventaja para la célula o el organismo porque les permite reducir el número de genes y las proteínas correspondientes que tienen que ser sintetizados, haciendo su genoma más compacto y también permitiendo coordinar las actividades celulares. Pero su presencia también complica la interpretación de knock-outs, knock-ins, ADN arrays, metabolómica, análisis de biología de sistemas, farmacocinética, farmacodinámica y ensayos de toxicidad, etc. Aunque su presencia permiten explicar, en parte, el reducido número de genes de nuestro genoma también introduce nuevas fuentes de pleiotropía, que implicará repensar algunos aspectos de la evolución de los sistemas vivos. Muchas de las proteínas identificadas con estas características pertenecen a vías que podríamos llamar "ancestrales", es decir, enzimas del metabolismo primario, receptores, chaperonas, etc. y muchas de sus funciones secundarias están relacionadas con transducción de señales, regulación de la transcripción, cambio de estado celular, patogeneicidad, etc. En este trabajo, nos aproximamos a este conjunto de proteínas explorando algunos aspectos de cómo se pudieron generar y algunas de sus particularidades a la hora de tratar de identificar estas funciones por métodos bioinformáticos, revelando que los mejores métodos bioinformáticos son los que combinan el análisis de homología con los datos de interactómica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desarrollo de una sonda fluorescente dirigida a la matriz mitocondrial para la detección directa de peroxinitrito (#0156)

Natalia Rios [1]; Lucia Piacenza [2]; Gloria Virginia López [3]; Rafael Radi [2]

1 - Dpto. de Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina; Dpto. de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR. 2 - Dpto. de Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, UdelaR. 3 - Dpto. de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR; Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

El peroxinitrito (ONOO⁻/ONOOH), producto de la reacción controlada por difusión ($k \sim 10^{10}$ M^{-1} s^{-1}) entre los radicales superóxido ($O_2^{\bullet -}$) y óxido nítrico ($^{\bullet}NO$) es una especie de vida media muy corta, que 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. Existe una necesidad de desarrollar sondas para la detección y estimación de la velocidad de formación de peroxinitrito en mitocondrias, uno de los sitios celulares principales de su formación. Este tipo de sondas puede aportar información fundamental para entender cómo los oxidantes derivados del óxido nítrico afectan procesos biológicos, incluyendo la disfunción mitocondrial y señalización de la muerte celular. Los aril-boronatos reaccionan rápida y estequiométricamente con ONOO⁻ para dar el correspondiente compuesto hidroxilado como producto principal. En sistemas celulares donde coexisten varias especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, los boronatos son cinéticamente selectivos para la reacción con peroxinitrito ($k \sim 1 \times 10^6$ $M^{-1}s^{-1}$). Recientemente hemos reportado la validación de una sonda fluorescente derivada de éster borónico para la detección directa de peroxinitrito producido endógenamente. Estos datos nos permitieron modificar estructuralmente los derivados arilborónicos para avanzar hacia la identificación de los sitios subcelulares y las velocidades de generación de peroxinitrito. En este trabajo se presenta el diseño, la síntesis y la caracterización de la nueva sonda fluorescente derivada de arilboronatos, MitoCT (Mito-cumarintriazol), dirigida a la matriz mitocondrial para la detección directa de peroxinitrito.

Modulación redox de hSIRT6, enzima clave del metabolismo y la inflamación (#0232)

Mara Carreño [1]; Leonardo Santos [2]; Carlos Batthyány [3]; Carlos Escande [2]; Ana Denicola [1]

1 - Laboratorio de Fisicoquímica Biológica- Facultad de Ciencias UdelaR. 2 - Laboratorio de patologías del metabolismo y envejecimiento. Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas. Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Las sirtuinas, proteínas desacetilasas dependientes de NAD^+, son factores clave en la regulación del metabolismo, la inflamación y respuesta al estrés. En particular, la sirtuina 6 humana (hSIRT6) es conocida como desacetilasa de histona 3 a pesar de poseer baja actividad in vitro. Se ha reportado que dicha actividad se incrementa en presencia de ácidos grasos libres y que a su vez posee actividad deacilasa de ácidos grasos de cadena larga. Los estudios en la regulación de hSIRT6 son escasos. Nuestro objetivo es investigar la potencial regulación redox de hSIRT6 caracterizando cambios estructurales y funcionales bajo condiciones oxidantes. hSIRT6 recombinante fue expresada y purificada de *E. coli*. La actividad desacetilasa se midió usando un ensayo enzimático acoplado monitoreando el consumo de NADPH a 340 nm, utilizando como sustrato un péptido de histona 3 sintético acetilado (H3K9Ac). Los tioles de la enzima fueron oxidados luego de tratamientos con H_2O_2 y peroxinitrito, sin embargo la actividad desacetilasa únicamente se vio afectada en exceso de peroxinitrito. Se determinó la formación de un disulfuro intermolecular en el cual es altamente probable que participe la C320. Se confirmó el incremento de la actividad desacetilasa en presencia de ácido oleico (OA), incremento que no se constata cuando la enzima es previamente incubada con el nitroalqueno derivado del OA (NO_2OA). La hipótesis de que el NO_2OA se une covalentemente a hSIRT6 fue refutada mediante ensayos de competencia. La identificación de los residuos aminoacídicos modificados por los tratamientos oxidantes y ácidos grasos se realizará mediante espectrometría de masas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio funcional de una proteína con repetidos ricos en leucina (LRR) en *Trypanosoma cruzi* (#0237)

Fernanda Paola Matto Camejo [1]; *Adriana Parodi Talice* [2]

1 - Instituto Pasteur de Montevideo. 2 - Facultad de Ciencias, UdelaR - Instituto Pasteur de Montevideo.

Resumen:

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi*, constituye un problema sanitario en Latinoamérica y ha sido declarada por la Organización Mundial de la Salud como "enfermedad tropical desatendida". *Trypanosoma cruzi* es capaz de invadir varios tipos celulares en el hospedador mamífero, desplegando diferentes moléculas y diversos mecanismos, muchos de los cuales aún se desconocen, asegurando su invasión y persistencia. Buscando en la base de datos de su genoma hemos identificado genes para proteínas con motivos repetidos ricos en Leucina (LRR), los cuales no presentan claras homologías con secuencias de proteínas de mamíferos. Dichas proteínas han sido poco estudiadas en *T. cruzi*, a pesar de que se conoce que en otros organismos participan en importantes funciones tales como interacción célula-célula, transducción de señales, reordenamiento del citoesqueleto, virulencia y señalización celular, haciéndolas así un blanco atractivo para su estudio. Nos propusimos estudiar si algunas de estas proteínas tienen algún rol en la interacción de *T. cruzi* con las células hospedadoras y en la invasión y persistencia de la infección. Hemos obtenido parásitos sobreexpresantes de una de estas proteínas y hemos analizado su influencia en el crecimiento del estadío epimastigota del insecto, estudiado su localización subcelular por microscopía de fluorescencia y Western Blot, y determinado su influencia en el proceso infectivo mediante ensayos de infección *in vitro*. Los resultados obtenidos indican que esta proteína se encuentra asociada al citoesqueleto, su sobreexpresión no genera cambios significativos en la capacidad replicativa del estadío epimastigota, pero aumenta en pequeña medida su capacidad infectiva. Los datos generados hasta la fecha nos indican, por lo tanto, que esta proteína puede estar participando en procesos asociados a la dinámica del citoesqueleto del parásito, los cuales podrían determinar la capacidad infectiva del mismo.

Sábado

15:00 - 17:00 **SBBM**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SBBM - #0062, #0069, #0105, #0128, #0129, #0142, #0210, #0263, #0275, #0270, #0344, #0034, #0051, #0063, ,#0061,#0127,#0097,#0134, #0307, #0036, #0147, #0088, #0087, #0138, #0340, #0231, #0202, #0377, #0018, #0019, #0021, #0178, #0216, #0272, #049, #0147, #0052, #0175, #0070, #0242, #0076, #0077, #0085, #0055, #0259

Unveiling the structural role of transmembrane proteins in mature Flavivirus particles (#0259)

Matías Machado [1]; *Sergio Pantano* [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:
Mature infective particles of Flavivirus are protected by a tight shell of envelope E proteins and transmembrane M proteins arranged in an icosahedral symmetry. The major role subscribed to M proteins is to help anchoring the outer E proteins in a flat conformation close to the membrane, however their very specific distribution along the viral particle also suggests a relevant scaffold function. To shed light on M protein's functionality, we performed a series of state-of-the-art molecular dynamics simulations on Zika and Dengue viral particles using the SIRAH force field [http://www.sirahff.com]. We discovered an underlying icosidodecahedron frame that gives rise to the observed icosahedral shape by placing the M proteins at critical points to support the structural stress. This new vision on the mechanical properties of the Flavivirus particle may help understand its dynamics, stiffness and interactions against protective antibodies.

CARACTERIZACIÓN DEL TRANSPORTE DE GLI2 A LA CILIA MEDIADO POR IMPORTINA-BETA2 (#0263)

Belén Torrado Rodríguez [1]; José Luis Badano Caballero [1]; Florencia Irigoín Costa [2]

1 - Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Depto. de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:
Gli2 es el principal activador transcripcional de la vía de Sonic Hedgehog (Shh). En vertebrados esta vía de señalización opera a través de la cilia primaria: en presencia de Shh, Gli2 se transloca primero a la cilia y luego al núcleo donde activa genes blanco. Los cambios de localización subcelular de los componentes de la vía de Shh son centrales en la regulación del proceso de transducción, por lo que nos parece un modelo interesante para estudiar el movimiento de proteínas a la cilia, un aspecto básico de la biología de este organelo que aún se entiende poco. Demostramos que el transporte ciliar de Gli2 depende de la maquinaria de importación nuclear: el gradiente de RanGTP/GDP entre el compartimento intra-ciliar y el citosol, y el transportador nuclear importina-beta2. Por el contrario, la importación nuclear de Gli2 es mediada por el complejo importina-alfa/beta1. Mediante ensayos de co-inmunoprecipitación logramos evidenciar la interacción de Gli2 con las tres importinas. Tenemos evidencias que la interacción con importina-alfa/beta1 ocurre a través de señales de localización nuclear (NLS) clásicas en Gli2, sin embargo no sabemos si la interacción con importina-beta2 es directa o utiliza algún adaptador. Si bien no existen algoritmos específicos para predecir NLS para importina-beta2 (PY-NLS), algunas reglas permiten identificar dos regiones de Gli2 que podrían actuar como PY-NLS. Para evaluar esta posibilidad vamos a realizar deleciones de esas regiones, obteniendo líneas estables expresando EGFP-fusionada a Gli2 mutante y analizando la localización ciliar de la proteína. También estudiaremos la interacción de los mutantes PY-NLS de Gli2 con importina-beta2 mediante co-inmunoprecipitaciones.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Inhibición de la NADPH oxidasa fagocítica por Ácido Nitroaraquidónico en macrófagos activados: rol de la Proteína Disulfuro Isomerasa (#0265)

Lucía González Perilli [1]; *Homero Rubbo* [1]; *Francisco Laurindo* [2]; *Andrés Trostchansky* [1]

1 - Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 2 - Instituto de Corazón, Facultad de Medicina, Universidad de San Pablo.

Resumen:

El Ácido Nitroaraquidonico (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, mediante la modulación la formación del complejo activo en la membrana sin afectar a la fosforilación de las subunidades citosólicas (Gonzalez-Perilli L. *et al* FRBM. 2013). Asimismo, está reportado que la Proteína disulfuro isomerasa (PDI) está involucrada en la formación del complejo activo de NOX2. Recientemente hemos demostrado que el NO_2AA es capaz de formar un aducto covalente con PDI (Gonzalez-Perilli L. *et al* BBA. 2017), por lo que la inhibición de NOX2 por NO_2AA podría deberse a la modulación de PDI con el nitrolípido directamente. Esto se apoya por inhibición observada de la actividad NOX2 usando un inhibidor de PDI, el tiomuscimol, implicando que los efectos observados sobre la NOX2 pueden explicarse por inhibición de la PDI. Estudios de microscopía confocal mostraron que el NO_2AA provocó cambios morfológicos en macrófagos activados y en la distribución celular de PDI comparado con las condiciones con PMA o sin activar, efectos similares a lo observado en presencia de tiomuscimol, sugiriendo que los cambios observados son debidos a la inhibición de la PDI. Cuando se activaron los macrófagos, se observó una colocalización del componente citosólico de NOX2, $p47^{phox}$ con PDI como está reportado pero fue prevenida con tratamientos con NO_2AA. Finalmente, se observó por microscopia confocal que el nitrolípido afectó a las fibras de actina generando fibras de estrés alargadas en macrófagos activados, efecto no observado en ausencia del NO_2AA. En resumen, nuestros resultados sugieren que PDI puede ser el blanco del NO_2AA, provocando la inhibición de NOX2.

Rol de la polaridad celular durante la génesis de los fotorreceptores de la retina del zebrafish (#0270)

Gonzalo Aparicio [1]; *Flavio R. Zolessi* [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo/Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

Los fotorreceptores de la retina son las células encargadas de transducir las señales luminosas captadas del entorno en señales eléctricas. Son quizás uno de los tipos celulares más compartimentalizados y polarizados de los vertebrados. Los fotorreceptores derivan de células progenitoras neuroepiteliales, las cuales forman parte de un tejido con características muy similares a las de otros epitelios. Relativamente poco se sabe acerca de cómo los fotorreceptores cambian de una forma neuroepitelial a un fotorreceptor inmaduro (en proceso de diferenciación), y cómo se establece inicialmente la polaridad neuronal. Utilizando una construcción reportera bajo la regulación del promotor CRX (cone-rod homeobox) comenzamos la caracterización del proceso de transición entre el estado neuroepitelial a célula en proceso de diferenciación, tanto en contexto salvaje como en ambientes en donde la polaridad retiniana está alterada. Observamos que la expresión de la proteína reportera comienza en los progenitores antes de la última división mitótica (36 hpf) y que se mantiene por lo menos hasta el comienzo de diferenciación a fotorreceptor inmaduro (96 hpf). Gracias a la expresión en mosaico de las proteínas reporteras, logramos estudiar la génesis del fotorreceptor inmaduro in vivo. Observamos que las células CRX positivas sufren una retracción del proceso basal y que posteriormente pueden presentar o no una última división mitótica. Luego de dicha división comienzan a adoptar la morfología de fotorreceptor inmaduro en la capa nuclear externa. Mediante el knock-down con morfolinos de una proteína integrante del complejo Crumbs, PALS-1, generamos un ambiente retiniano con una alteración de la polaridad ápico-basal. En estas retinas encontramos, a 72 hpf, grupos de fotorreceptores ectópicos, ubicados en regiones centrales de la retina, y en disposición de tipo "roseta". Nuestros resultados muestran un patrón estereotipado de transición célula progenitora-fotorreceptor, el cual es drásticamente modificado cuando se altera la polaridad ápico-basal del neuroepitelio.

Síntesis de catequinas como potenciales antioxidantes (#0018)

Desirée Magalhães [1]; Vania Rodrigues de Lima [1]; Gabriel Sagrera [2]

1 - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande (FURG). 2 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química.

Resumen:

Las catequinas son una familia de flavonoides que poseen el esqueleto del tipo 3-hidroxiflavano, esto es, el fragmento C_3 es un anillo del tipo dihidropirano que posee un grupo hidroxilo en posición 3. Se encuentran en diversos vegetales (te verde, moras y uvas) y poseen diversas propiedades biológicas, entre ellas anticancerígenas, antioxidantes y antimicrobianas. En el marco de nuestra linea de investigación relacionada con la síntesis de flavonoides y análogos hemos decidido preparar una serie de catequinas, para luego evaluar sus propiedades antioxidantes. En este trabajo se describe la preparación del compuesto modelo 3,4'-dihidroxiflavano. La síntesis se realizó en 5 etapas con un rendimiento global del orden del 30%. Todos los productos fueron caracterizados por RMN y EM. Utilizando estas condiciones de síntesis optimizadas, se ha preparado una pequeña biblioteca de catequinas, las cuales se evaluarán biologicamente.

Sintesis de dihidrochalconas como potenciales antioxidantes para su uso en alimentos (#0019)

Michel Techera [1]; *Gabriel Sagrera* [1]

1 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química.

Resumen:

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y poseen diversas actividades biológicas, entre ellas antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas. Son componentes importantes en la dieta humana, aunque se consideran como no nutrientes. Se estima que la ingesta diaria de flavonoides oscila entre 50 y 1000 mg, dependiendo del consumo de vegetales y frutas, vino tinto y té, aunque esta cantidad puede ser superior en personas que suplementan sus dietas con flavonoides. Se ha sugerido que los flavonoides deben poseer una toxicidad mínima si son ingeridos en las cantidades de una dieta típica vegetariana. Existe un interés creciente en el uso de flavonoides como antioxidantes naturales en preservación de alimentos, debido al rechazo de los consumidores a los antioxidantes sintéticos y también a sus propiedades beneficiosas para la salud. Las dihidrochalconas son una famila de flavonoides que poseen la estructura Ph_A-CH_2-CH_2-Ph_B, donde Ph_A y Ph_B son grupos fenilo. Se ha reportado que la aspalatina, una dihidrochalconapentahidroxilada aislada del te roibos (*Aspalathus linearis*) posee una actividad antioxidante importante. Como continuación de una línea de investigación relacionada con la síntesis y evaluacion biológica de flavonoides, en este trabajo se describe la síntesis de una pequeña biblioteca de dihidrochalconas, algunas de ellas no descritas aún en la literatura, que luego serán evaluadas como antioxidantes. Las mismas fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (acetofenonas y benzaldehídos) por condensación aldólica y posterior hidrogenación catalítica con buenos rendimientos y fueron caracterizadas espectroscópicamente. La actividad antioxidante será determinada en una etapa posterior por tres métodos: a) decoloración del radical difenilpicrilhidrazilo, b) oxidación acoplada de betacaroteno y ácido linoleico y c) fotoquímico (consumo de especies reactivas de oxígeno).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

CCDC28B, una proteína asociada al síndrome de Bardet Biedl, regula ciliogénesis interaccionando con miembros del complejo quinesina. (#0275)

Rossina Novas [1]; Magdalena Cardenas-Rodriguez [1]; Matías Fabregat [1]; Lucía Alfaya [2]; Gualberto González-Sapienza [2]; Florencia Irigoín [3]; José L. Badano [1]

1 - Laboratorio de Genética Molecular Humana, Instituto Pasteur de Montevideo. 2 - Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química. 3 - Laboratorio de Genética Molecular Humana y Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República..

Resumen:

El síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es una ciliopatía caracterizada por degeneración de la retina, obesidad, polidactília, enfermedad renal y retardo mental. CCDC28B es una proteína BBS que previamente demostramos juega un rol en la regulación del largo de las cilias, donde su depleción resulta en cilias anormalmente cortas tanto en células como en *Danio rerio* (pez cebra). Hemos reportado que al menos parte de su rol lo cumple a través de su interacción con SIN1, componente del complejo mTORC2, pero los detalles mecanísticos de esta interacción, y/o de otras funciones que CCDC28B podría estar cumpliendo en el contexto de las cilias, todavía no se conocen bien. En este trabajo encontramos una nueva interacción entre CCDC28B y quinesina que es relevante en cilias. Interesantemente, el motor molecular afecta el largo de cilias inhibiendo su elongación, una función que depende de su capacidad de regular la localización sub-celular de CCDC28B, en particular, inhibiendo su localización nuclear. Por último, y mediante un mecanismo que todavía desconocemos, nuestros datos muestran que el rol de CCDC28B-quinesina en ciliogénesis pasa, al menos en parte, por regular la dinámica de actina. La depleción de CCDC28B y del motor molecular resultan en fenotipos de actina opuestos que se correlacionan con el defecto en el largo de las cilias. Por lo tanto, con este trabajo aportamos información sobre el mecanismo a través del cual CCDC28B regula el largo de cilias y descubrimos un rol, que no se conocía, de una proteína motora en este proceso.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Síntesis de *N*-fenilbenzamidas como potenciales fungicidas (#0021)

Mauricio Cardoso [1]; *Gabriel Sagrera* [1]

1 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química.

Resumen:

Los hongos fitopatógenos causan una serie de enfermedades en distintas etapas de la vida de las plantas. Además causan la podredumbre o manchado de distintos productos vegetales, ocasionando grandes pérdidas económicas. Según la FAO, más del 25% de las cosechas a nivel mundial se pierden por ataques fúngicos. Anualmente se aplican miles de toneladas de agroquimicos en todo el mundo. El uso excesivo de fungicidas provocó el desarrollo de cepas resistentes. Como consecuencia, se usan mayores cantidades para combatir el mismo hongo lo que causa un aumento de residuos tóxicos en los alimentos y el medio ambiente. Por otra parte algunas especies de hongos producen micotoxinas. En vista de estos problemas, es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos, mas seguros y efectivos. Un grupo de antifúngicos agroquímicos es el de las amidas de ácidos carboxílicos. En este trabajo se describe la síntesis de una pequeña biblioteca de amidas, del tipo Ph_A-CO-NH-Ph_B (donde Ph_A y Ph_B representan grupos fenilo sustituidos con diferentes grupos), algunas de ellas no descritas aún en la literatura. Las mismas fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (ácidos carboxílicos y aminas) con buenos rendimientos y caracterizadas por RMN y EM. Su actividad biológica será posteriormente evaluada contra un panel de hongos patógenos de vegetales, utlizando cepas de colección internacional.

Estudio del rol de los genes TTL en la capacidad de recuperación del crecimiento radicular en condiciones de estrés osmótico. (#0034)

María Belén Cuadrado Pedetti [1]; *Omar Borsani* [1]; *Mariana Sotelo-Silveira* [1]

1 - Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, UdelaR.

Resumen:

El crecimiento y desarrollo del sistema radicular requiere la regulación coordinada de programas de desarrollo en conjunto con señales medioambientales, sin embargo se desconoce la interconexión entre ambos. Las proteínas Tetratrico-peptide Thioredoxin-Like (TTL) pertenecen a una familia nueva de proteínas que se han identificado como componentes que potencialmente podrían estar involucrados en dicha interconexión, ya que los mutantes ttl presentan un fenotipo de arresto del crecimiento radicular y expansión radial exacerbada en condiciones de estrés osmótico. Este proyecto busca comprender si esta familia de genes tiene un papel en la elongación celular durante el crecimiento de la raíz o un rol más general en las respuestas frente al déficit hídrico. Esta información es valiosa ya que permite identificar nuevas fuentes de tolerancia al déficit hídrico a ser incorporadas como caracteres de utilidad en el mejoramiento de cultivos de interés económico.

Transformación de plantas de soja mediante *Agrobacterium rhizogenes* para la obtención de polisomas de raíz por la técnica TRAP. (#0036)

Maria Martha Sainz [1]; Sofía Zardo [1]; Eugenia Zanetti [2]; José Sotelo Silveira [3]; Omar Borsani [1]

1 - Laboratorio de Bioquimica, Facultad de Agronomía, UdelaR. 2 - Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad de la Plata. 3 - Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
La sequía es uno de los factores ambientales que más inciden en el rendimiento del cultivo de soja. Se ha observado que la tolerancia a sequía varía según la planta esté o no nodulada y que genotipos identificados como tolerantes pueden perder esta característica cuando se nodulan. Esta respuesta diferencial de la planta al déficit hídrico podría explicarse por cambios en la expresión génica. Estudios previos han demostrado falta de correlación entre los niveles de ARN mensajeros (mARN) y de proteínas; esto se debería a que la exposición de las plantas a condiciones ambientales estresantes causa una inhibición global de la iniciación de la traducción que se visualiza como una disminución del porcentaje de mARN asociados a polisomas. Nos proponemos caracterizar los cambios en los mARN asociados a la maquinaria traduccional en raíces y nódulos de plantas de soja, en respuesta a sequía. Esto permitiría identificar nuevos genes candidatos involucrados en las respuestas de la planta al estrés. La primera etapa y más crítica, para lograr este objetivo, es obtener las fracciones polisómicas. En este trabajo se generaron plantas silvestres con raíces transgénicas por transformación con *A. rhizogenes.* A partir de ese tejido se purificaron polisomas mediante la técnica TRAP (Translating Ribosome Affinity Purification) que se basa en la adición de un pequeño epítope (FLAG) al extremo de la proteína ribosomal L18 (RPL18). Hipocotilos de plántulas de soja se transformaron con la cepa K599 de *A. rhizogenes* conteniendo la construcción 35S:FLAG-RPL18 entre los bordes derecho e izquierdo del T-DNA. Una vez que las raíces transgénicas fueron capaces de sostener el crecimiento de las plantas, éstas se nodularon y se sometieron a la condición de estrés elegida. Este constituye el material de partida para realizar la purificación de los polisomas.

La interacción entre los ribosomas y el motor molecular Myo 5a es regulada por variaciones en el calcio intracelular. (#0051)

Camila Bardier [1]; *Lucía Canclini* [1]; *Aldo Calliari* [2]

1 - IIBCE. 2 - Fac. Veterinaria-UdelaR.

Resumen:
El transporte de ARN mensajero (ARNm) hacia regiones celulares específicas y su posterior traducción local se ha revelado como un mecanismo importante para localizar las proteínas y asegurar el desarrollo y la identidad de los diferentes territorios sub celulares. Aunque los mecanismos subyacentes al transporte y la localización de los ARNm están en gran medida caracterizados, los mecanismos responsables de la movilización de ribosomas han sido mucho menos estudiados. Actualmente sabemos que los ribosomas presentes en los axones pueden formar complejos de ribonucleoproteína (RNPs) asociados a la miosina 5a (Myo 5a), una proteína motora dependiente de microfilamentos. Al menos algunos de los ribosomas empaquetados en RNPs están organizados como polisomas. La miosina 5a no parece ser crucial para la translocación del ribosoma desde el núcleo hasta la periferia celular, ya que los fibroblastos KO para *Myo 5a*, exhiben una distribución ribosomal citoplásmica esencialmente igual a la de las células de tipo salvaje. Sin embargo, el motor puede separarse de los ribosomas cuando los complejos de ribonucleoproteínas están expuestos al calcio, in vitro e in vivo. Sugerimos que la miosina Va no sería responsable del transporte ribosomal de largas distancias en el citoplasma, aunque sí podría comportarse como un interruptor molecular sensible al aumento del calcio intracelular y capaz de anclar o liberar ribosomas del citoesqueleto de actina en respuesta a una señal externa específica.

Primeras evidencias de presencia de *Neorickettsia* en muestras de campo de *Fasciola hepatica* (#0307)

Ma. Fernanda Dominguez [1]; Sabina Wlodek [1]; Juan Albistur [1]; Peter U. Fischer [2]; Jose Tort [1]

1 - Departamento de genética-Facultad de Medicina -UdelaR. 2 - Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Washington University School of Medicine,.

Resumen:
El impacto de la fasciolosis en la salud animal se asocia a pérdidas económicas importantes (por pérdida de peso, lana, calidad leche, entre otros). Su relevancia en la salud humana es creciente y se ha incorporado a la lista de enfermedades parasitarias desatendidas por la OMS. Sumado a la importancia que presentan este tipo de parasitosis, existen reportes de que algunos trematodos digenéticos, como *Fasciola,* presentan bacterias endosimbióticas del género *Neorickettsia*. Algunas especies de *Neorickettsia*, pueden transmitirse a los huéspedes resultando en enfermedades serias e incluso fatales en mamíferos. Recientemente, mientras estudiábamos su genoma identificamos la presencia de este parásito intracelular en *F. hepatica*, lo que fue confirmado por PCR e inmuno-localización. Un *screening* por PCR sobre organismos adultos de *F. hepatica* obtenidos a partir infección experimental con metacercarias positivas para *Neorickettsia* detectó la presencia de esta bacteria en algunos de esos organismos, indicando posible transferencia vertical en el ciclo del parasito. Actualmente no se dispone de información sobre la presencia de la bacteria en infecciones naturales de *F. hepatica*, por lo que realizamos un *screening* sobre organismos adultos obtenidos de infecciones naturales de *F. hepatica* distribuidos en diferentes puntos del país. Identificamos por PCR y secuenciación la presencia de la bacteria en varios aislados de distinta localización, sugiriendo que esta es una presencia esporádica pero no infrecuente en nuestros campos. Claramente tanto la relación de simbiosis entre *F.hepatica* y *Neorickettsia,* y la posibilidad de su trasmisión al huésped permanecen sin resolver. Investigar estos aspectos es fundamental para determinar si la presencia de Neorickettsia en las infecciones de *F. hepatica*, se encuentra vinculada o no a los parámetros de pérdidas económicas.

Expresión de neuropéptidos en el ciclo de vida de Cestodos: evidencia de roles nerviosos y reproductivos. (#0061)

Matías Preza Perez [1]; *Estela Castillo Presa* [1]; *Uriel Koziol Antmann* [1]

1 - Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias (UDELAR).

Resumen:

Los cestodos son platelmintos parásitos de importancia sanitaria y económica que infectan al hombre y animales domésticos. Estos parásitos tienen ciclos de vida complejos, que presentan diferentes estadios dentro de sus hospederos. El modelo de cestodo *Hymenolepis microstoma,* que recientemente hemos introducido al país, presenta ventajas para el estudio de estos organismos. Tiene un ciclo de vida de fácil mantenimiento en el laboratorio y brinda accesibilidad a todas las etapas de su ciclo de vida para poder realizar aproximaciones experimentales. Se trabajó en la puesta a punto de este organismo en nuestro laboratorio logrando, entre otras cosas, la activación de los estadios de cisticercoide y oncosfera *in vitro*, lo cual es fundamental para realizar diversas aproximaciones. En este proyecto utilizamos este organismo para el análisis de los roles de la señalización por neuropéptidos en los diferentes estadios de cestodos. Estos sistemas de señalización se basan en la producción de pequeños péptidos maduros por clivaje proteolítico de propéptidos por proproteín-convertasas. En este trabajo se estudió la expresión de genes de neuropéptidos y de la proproteín-convertasa PC2 en los diferentes estadios del ciclo de vida de *H. microstoma.* Se encontró que todos los estadios expresan PC2 y varios neuropéptidos, mientras que genes relacionados a neurotransmisión clásica no son expresados en oncosferas sugiriendo un rol importante de los sistemas peptidérgicos en este estadio. A través de hibridación *in situ* para PC2 en adultos, demostramos no sólo la expresión esperada en el sistema nervioso, sino también expresión en la vesícula seminal externa y en células individuales que muestran diferencias entre segmentos, sugiriendo roles en la reproducción y en el desarrollo de la segmentación. Esta es la primer caracterización global de los sistemas de señalización peptidérgicos en cestodos, sugiriendo roles nerviosos, en la reproducción y en el desarrollo por parte de estos sistemas.

La expresión de ligandos e inhibidores de la vía Wnt revela un estadio conservado entre el desarrollo de cestodos y otros animales. (#0062)

Uriel Koziol [1]; Francesca Jarero [2]; Peter Olson [2]; Klaus Brehm [3]

1 - Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 2 - Natural History Museum. 3 - University of Würzburg.

Resumen:
El desarrollo temprano de los platelmintos parásitos es evolutivamente divergente y difícil de comparar con otros animales. Esto ha llevado a que aspectos básicos de su desarrollo, como ser la verdadera orientación del eje antero-posterior (AP) en cestodos, hayan sido debatidos desde su descubrimiento hasta hoy. En platelmintos de vida libre, se ha descrito un rol de la vía de señalización Wnt/beta-catenina en la especificación del eje AP. En este trabajo, hemos encontrado similitudes profundas entre la metamorfosis de cestodos y el desarrollo temprano de otros animales mediante estudios comparativos de los patrones de expresión de factores Wnt en los cestodos *Hymenolepis microstoma* y *Echinococcus multilocularis*. Junto al análisis de expresión de otros marcadores clásicos del eje AP, estos resultados demuestran que el escólex es el verdadero extremo anterior de los cestodos. *E. multilocularis* tiene una forma larvaria derivada consistente en vesículas larvales que generan múltiples escólices por reproducción asexual. En estas larvas existe una expresión generalizada de factores Wnt y otros marcadores de tejidos posteriores en las vesículas larvales, y el desarrollo de escólices es precedido por la expresión local de inhibidores de la vía Wnt. Estos resultados sugieren que la larva de E. multilocularis es el resultado de una posteriorización generalizada de los tejidos larvales, que es revertida localmente en diversos focos de desarrollo anterior que generan los escólices. Los factores Wnt son secretados por células musculares, en forma similar a lo descrito en platelmintos de vida libre, lo cual provee una explicación para la retención evolutiva de estas células en la larva inmóvil de *Echinococcus*. Los receptores tipo Frizzled requeridos para la señalización de ligandos Wnt son expresados en diversos tipos celulares, incluyendo en las células madre larvales, sugiriendo que estas señales pueden influir directamente en su proliferación y diferenciación.

Atomic Force Microscopy study in *ttl1,3,4* Arabidopsis mutant stress reveals a role of these genes in root cell expansion orientation during osmotic stress adaptation. (#0063)

Mariana Sotelo-Silveira [1]; Ines Rauschert [2]; Miguel A. Botella [3]; Omar Borsani [1]

1 - Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología Vegetal, FAGRO, UdelaR. 2 - Laboratorio de Señalización Celular y Nanobiología, IIBCE. 3 - Universidad de Ma´laga-Consejo Superior de Investigaciones Cientı´ficas, Departamento de Biologı´a Molecular y Bioquı´mica, Facultad de Ciencias.

Resumen:

Growth and development of the root system requires the coordinated regulation of developmental programs together with environmental signals, however little is known about its interconnection. One of the ways the mechanics of root growth is managed is through the regulation of cell wall expansion of elongation zone cells, and the changing mechanical properties of the cell wall play a major role on it. Mutations in the Arabidopsis *Tetratrico-peptide Thioredoxin-Like 1, 3, 4* (*TTL1,3,4*) cause reduced tolerance to osmotic stress evidenced by an arrest in root elongation, meristem disorganization and root swelling, which makes it an interesting model to explore how root growth is controlled under stress conditions. Here we studied through atomic force microscopy the stiffness of epidermal cell walls in the root elongation zone of *ttl1,3,4* mutants under osmotic stress conditions. The apparent elastic modulus (AEM) for live Col-0 and *ttl1,3,4* mutant grown in control conditions was measured using the atomic force microscopy nanoindentation method. In plants grown in control conditions, the mean AEM was 105 % higher for live Col-0 cell walls than for *ttl1,3,4* mutant. This differences were more than three times higher for plants grown under osmotic stress conditions. Moreover, AFM images obtained in scan asyst mode evidenced an alteration in the organization pattern of cellulose microfibrils in epidermal cells of the elongation zone of *ttl1,3,4* mutants grown in control conditions. These findings suggest a role for these genes controlling cell expansion orientation during osmotic stress adaptation.

Señal de localización nuclear no clásica en la proteìna intestinal de unión a ácidos grasos de *Danio rerio*. (#0069)

Mariana Suárez [1]; *Lucía Canclini* [2]; *Adriana Esteves* [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:

Las Fabps (fatty acid binding proteins) son proteínas intracelulares, que unen en forma no covalente ácidos grasos de cadena larga y otros ligandos hidrofóbicos. Se distinguen unas de otras, no sólo por su distribución tisular, sino también por la especificidad y afinidad por sus ligandos. La función específica de cada una está aún bajo investigación. Algunos de sus miembros estarían implicados en la modulación del crecimiento y proliferación celular, así como en la regulación de la expresión génica lo cual incluye su ingreso al núcleo. Distintas experiencias sugieren que una vez en el núcleo, estas proteínas interaccionarían con receptores nucleares de tipo Ppar (peroxisome proliferator-activated receptors) para transferirles el ligando activándolos, y así regular la expresión génica mayoritariamente de genes involucrados en el metabolismo lipídico. Antecedentes de nuestro grupo indican que la I-Fabp (Intestinal fatty acid-binding protein) de *Danio rerio* se trasloca al núcleo. En este trabajo nos hemos propuesto determinar si esta proteína posee una señal de localización nuclear no clásica (ncNLS), similar a la propuesta para otros miembros de la familia. Propusimos que los residuos K17, K28 y R29 localizados en la región helicoidal de la proteína podrían conformar la ncNLS de I-Fabp. Realizamos en primer lugar, mutagénesis dirigida para luego clonar tanto el gen salvaje como el mutante en el vector de expresión pCDNA3-EGFP apto para su utilización en células Caco-2. Las células transfectadas con una y otra construcción se analizaron mediante inmunomicroscopía confocal. Finalmente se cuantificaron las relaciones núcleo-citoplasma de la señal fluorescente; los resultados indican que la señal propuesta sería la responsable de la translocación de la I-Fabp al núcleo celular.

La exposición aguda a Carbofurano tiene efectos deletéreos sobre la función cardíaca en concentraciones de rango 1 - 50 uM (#0076)

Mariana Alonso [1]; Florencia Savio [2]; Romina Cardozo [1]; Carlos Costa [1]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos. 2 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratoro Canales Iónicos.

Resumen:
El carbofurano (CAF) es un agroquímico sintético insecticida del grupo de los carbamatos, clasificado por la OMS de acuerdo a su toxicidad y riesgo ambiental como clase Ib (altamente peligroso para la salud). Su modo de acción es por inhibición reversible de la acetilcolinesterasa. Si bien comparte este mecanismo de acción general con los organofosforados, los sitios de acción a nivel molecular en la acetilcolinesterasa, son diferentes. Dado que hemos encontrado que la exposición aguda a organofosforados es capaz de originar daño directo a nivel cardíaco, independientemente de su acción anticolinesterasa (Alonso et al, 2015), nos preguntamos si CAF es capaz de ejercer también efectos directos a nivel de corazones aislados. Nuestros resultados muestran que CAF alcanza el estado estacionario de sus efectos tras aprox. 3 min de aplicación. Respecto a la amplitud de la contracción, CAF tiene un marcado efecto inotrópico negativo. La curva dosis respuesta decae de manera monofásica con dosis crecientes, teniendo un IC50 aprox de 6 + 3 uM (n=3), con un coeficiente de Hill de aprox. 6 uM. El tiempo medio de activación disminuyó 20% y el de relajación aumentó 38%. El nivel basal de tensión diastólica aumenta moderadamente con dosis crecientes de CAF. Produce también cronotropismo negativo con un IC50 de aprox. 12 uM (n=3). Interesantemente, las dosis comprendidas entre 10 y 20 uM, provocan alternancias mecánicas marcadas, con cambios de ritmo cardíaco asociados. Estos resultados son consistentes con una acción directa de carbofurano a nivel cardíaco, sugiriendo que a nivel de miocardio contráctil interfiere con los mecanismos de homeostasis del calcio intracelular, especialmente a dosis intermedias. A nivel de nodo sinusal, la disminución de frecuencia sugiere interferencia con los canales que intervienen en la generación del potencial de acción. Financiado por CSIC I+D 146 a GF

Mercaptotión potencia los efectos cardíacos deletéreos producidos por isquemia y reperfusión en corazones aislados. (#0077)

Mariana Alonso [1]; Marcelo Santos [1]; Florencia Savio [1]; Romina Cardozo [1]; Verónica Bassaizteguy [1]; Carlos Costa [1]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos.

Resumen:
El Mercaptotión (MPT) es un agroquímico sintético insecticida organofosforado, clasificado por la OMS de acuerdo a su toxicidad/riesgo ambiental como clase IIa (moderadamente tóxico). MPT en los organismos es oxidado a Malaoxón, con efectos inhibidores de acetilcolinesterasa. Hemos reportado que MPT en concentraciones de decenas de uM, tiene efectos deletéreos directos a nivel cardíaco (Alonso et al., 2015). En este trabajo estudiamos si la exposición aguda a este pesticida es capaz de contribuir a incrementar el daño cardíaco en condiciones de isquemia y de reperfusión. La amplitud de la contracción durante un episodio isquémico decae en mayor tiempo cuando existe exposición aguda a MPT y la reperfusión se enlentece hasta menor amplitud. La tensión diastólica aumenta aproximadamente el doble, entre control y MPT. MPT baja/aumenta tiempos medios de activación y relajación 40 a 60% respectivamente, respecto a los cambios provocados por la isquemia en situación control. Ambos tiempos se restablecen por la reperfusión en situación control. En presencia de MPT solamente lo hacen 20%. Durante la isquemia, la frecuencia cardíaca disminuye con alargamiento del potencial de acción. MPT potencia estos cambios. Durante la reperfusión, en 50% de los experimentos MPT en dosis uM conduce a fibrilación ventricular. El anestésico opioide cardioprotector Remifentanilo (RFT) en dosis nanomolares, revierte en aproximadamente 70 a 80%, los efectos en isquemia y reperfusión, observados en MPT. Interesantemente, al igual que con otros organofosforados, reperfusiones en presencia de RFT aumentan significativamente la fibrilación ventricular. En suma, los resultados con consistentes con efecto directo de MPT sobre canal de Calcio-L y Ryr2/SERCA, en situaciones de isquemia y reperfusión. La preexposición a MPT condiciona alteraciones de excitabilidad cardíacas conducentes a fibrilación ventricular, potenciadas por RFT, que podría explicarse por alteraciones a nivel de canales Kir.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Identificación de PAMs en *Cynara cardunculus* var. *scolymus* mediante análisis de su transcriptoma. (#0340)

Matías Maidana [1]; Matías Feijoó [1]; Silvia Garaycochea [1]; Marco Dalla Rizza [1]

1 - Laboratorio de proteínas, Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas..

Resumen:
Los PAMs (péptidos antimicrobianos) son efectores del sistema inmune de las plantas encargados de contener infecciones microbianas. La actividad de los PAMs es principalmente dirigida contra hongos y bacterias, incluso cepas multirresistentes. Las propiedades químicas y biológicas de estos péptidos hace que sean interesantes para el desarrollo de nuevas estrategias para el control de patógenos tanto en sanidad humana como animal y vegetal. *Cynara cardunculus var. scolymus* (alcachofa) es una planta ampliamente cultivada en el mundo principalmente para fines culinarios. Trabajos previos, realizados en la Unidad de Biotecnología de INIA Las Brujas, reportan la presencia de al menos un péptido antimicrobiano purificado a partir de semillas. Con el fin de estudiar la distribución y producción de estos péptidos, se analizó el transcriptoma en dos etapas del desarrollo de un mismo órgano, semillas inmaduras y semillas germinadas. La búsqueda de los PAMs presentes para *C. cardunculus* var. *scolymus* se realizó mediante la identificación de motivos de cisteína en los transcriptos ensamblados, según se reporta en *Silverstein* et al. (2007) y *Slavokhotova* et al. (2015). Esto permitió identificar 15 motivos (de los 146 escrutados) en 95 péptidos diferentes. De estos motivos, solo 1 no se encuentra en semilla germinada mientras que está presentes para semilla inmadura. Los PAMs encontrados comparten homología con péptidos validados experimentalmente tales como Dm-AMP1 (defensina), Snakin-1, Vv-AMP1 (defensina), Snakin-2.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desarrollo de método de captura de proteínas glutationiladas (#0085)

Florencia Orrico [1]; Ana Denicola [2]; Leonor Thomson [1]; Matías Moller [2]

1 - Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 2 - Laboratorio de Fisicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

La glutationilación es una modificación post-traduccional que se da en las proteínas con tioles libres, principalmente como resultado del estrés oxidativo. Se ha observado un aumento en los niveles de proteínas glutationiladas en varias condiciones patológicas caracterizadas por desregulaciones redox (enfermedades cardiovasculares, pulmonares, inflamatorias, neurodegenerativas y cáncer), y en particular durante el proceso de envejecimiento. Resulta entonces interesante identificar las proteínas que sufren esta modificación y establecer su rol en la patología. En el presente trabajo se buscó capturar y detectar proteínas glutationiladas por medio de la enzima glutatión S-transferasa (GST), teniendo en cuenta que esta se utiliza normalmente como módulo en proteínas de fusión recombinantes para facilitar la purificación usando columnas con glutatión inmovilizado. Se realizaron ensayos de captura de albúmina y hemoglobina glutationiladas con GST de *Echinococcus granulosus* anclada a distintas resinas de sefarosa, obteniéndose en todos los casos resultados negativos. Un segundo ensayo de captura se realizó en forma de dot blot, empleándose como sonda de detección GST de *Schistosoma japonicum* biotinilada. Se observó una señal positiva de la GST con la hemoglobina glutationilada, pero no con la reducida. A partir de este resultado se abre la posibilidad de usar esta GST como herramienta de detección. En particular, podría ser posible la captura de péptidos glutationilados obtenidos a partir de la proteólisis de hemoglobina y, más adelante, del lisado de glóbulos rojos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio del patosistema *Diaporthe*-Soja: especies involucradas y primeros estadíos de infección (#0087)

Eilyn Mena Méndez [1]; Silvina Stewart Soneira [2]; Marcos Montesano Quintas [3]; Inés Ponce de León Tadeo [1]

1 - IIBCE. 2 - INIA La Estanzuela. 3 - CIN, Facultad de Ciencias, UDELAR.

Resumen:
La soja *Glycine max* (L.) Merr. es una leguminosa de ciclo anual extensamente cultivada en América latina por la importancia económica de sus granos. El complejo *Diaporthe/Phomopsis* constituye un grupo de hongos patógenos del cultivo, comprendiendo dos variedades de *Diaporthe phaseolorum; D.p.* var *meridionalis* (sin. *D. aspalathi)* y *D.p.* var. *caulivora* (Dpc), ambas agentes causales del cancro del tallo. Estudios anteriores evidenciaron que la variedad *Dpc* es el principal agente causal de la enfermedad en Uruguay. El objetivo de este trabajo consistió en determinar las especies del complejo *Diaporthe/Phomopsis* asociadas a la soja en Uruguay y analizar los primeros estadíos de infección de Dpc en tallo y hojas de la planta. Para ello se analizó la variabilidad genética a nivel de la región ITS del ADNr utilizando los primers ITS4 e ITS5 de 84 aislados del complejo *Diaporthe/Phomopsis*. Por otro lado, se inocularon hojas y tallos de una variedad susceptibles de soja con Dpc, bajo condiciones controladas y se analizó la colonización y proliferación del patógeno. Se encontraron cinco especies asociadas al complejo *Diaporthe/Phomopsis*, de ellas *D. phaseolorum* var. *caulivora y D. longicolla* fueron las predominantes. El proceso de infección fue efectivo en tallo y en hojas desprendidas de soja. En los tallos los síntomas se evidenciaron a partir de los 3 días posteriores a la infección (dpi). En los ensayos en hojas los primeros síntomas observados fueron clorosis y necrosis en el sitio de infección a los 5 dpi. Se observaron hifas asociadas a tricomas como potencial punto de entrada y en haces vasculares dentro de los tejidos. Se observó además una fortificación de la pared celular luego de la infección. Este trabajo permitió generar conocimiento sobre las especies involucradas en el complejo *Diaporthe/Phomopsis* y los primeros estadíos de infección con Dpc en soja.

Incidencia de la radiación lumínica en el uso del nitrógeno en arroz (#0088)

Pedro Silva Lerena [1]; *Pedro Díaz Gadea* [1]; *Omar Borsani Cambon* [1]

1 - Facultad de Agronomía.

Resumen:
El arroz es el tercer cultivo mundial, y es la base de la dieta de la mitad de la población mundial. El Uruguay destina un % 1 de su superficie al cultivo de arroz, los buenos rendimientos de producción hacen que sea el quinto rubro de exportación y ubican al país como primer exportador de américa latina. Sin embrago, estos rendimientos aún están alejados de los rendimientos potenciales, el mejor uso de la energía y de los nutrientes podría ser un paso para reducir la brecha existente. En este trabajo se busca identificar parámetros fisiológicos y bioquímicos que ayuden a comprender mejor la relación entre la radiación lumínica y el uso del nitrógeno. Para lograr este objetivo se analizó la respuesta de cuatro genotipos de arroz a alta y baja radiación lumínica y en condiciones de alta y baja disponibilidad de nitrógeno. En estas condiciones de crecimiento se midió en la parte área de las plantas: peso seco, % nitrógeno, contenido de nitrato, así como actividades enzimáticas relacionadas con la asimilación de nitrato y amonio. Se encontraron diferencias significativas entre los genotipos en el PS, en %N, así como en la concentración de nitrato. El análisis de los datos muestra una interacción entre la condición de nitrógeno y la radiación lumínica. Los valores de actividad para las enzimas de la asimilación de nitrógeno presentaron algunas diferencias entre genotipos y se afectaron por los tratamientos de nitrógeno y radiación. Financiación: ANII_FMV_SNB_104895

"Aproximación al estudio funcional de fragmentos derivados de ARNt a nivel extracelular como posible mecanismo de comunicación célula-célula" (#0344)

Fabiana Gámbaro [1]; *Juan Pablo Tosar* [1]; *Julia Sanguinetti* [1]; *Alfonso Cayota* [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Los pequeños ARNs reguladores (*sRNAs*) constituyen una familia de ARNs que cumplen un rol fundamental en la regulación de la expresión génica y su desregulación ha sido asociada a distintas patologías como el cáncer. Desde hace años nuestro grupo ha puesto especial interés en el estudio de las mitades de ARNt (*tRNA-h*), como nuevas familias de sRNAs. Así, hemos podido validar la presencia de *tRNA-h* a nivel tanto intracelular como extracelular, ya sea en microvesiculas, exosomas o en la fracción no vesicular, con un enriquecimiento especifico en esta última. Además, la presencia de tRNA-h ha sido descrita en el torrente sanguíneo. Sin embargo, tanto el mecanismo de secreción como la función a nivel extracelular de los *tRNA-h* se desconoce por completo. Mediante el uso de técnicas de ARN interferencia, transfecciones de ARNs marcados y microscopia confocal, hemos logrado la puesta a punto de distintas metodologías que nos permiten abordar el estudio funcional de las tRNA-h a nivel intra- y extracelular. Hemos visto que al transfectar células MCF-7 con tRNA-h sintéticas, las mismas se acumulan en forma de gránulos en el citoplasma, que resultan mucho más estables que la transfección con secuencias irrelevantes. Si bien los ARNs sintéticos no son capaces de ser internalizados en las células por sí mismos, la secreción de los ARNs transfectados ocurre en estructuras que sí son absorbibles por otras células. De este modo, hemos generado un sistema que nos permite manipular los niveles extracelulares de los complejos conteniendo tRNA-h, obteniendo los mismos en su forma biológicamente activa, y demostrando además su capacidad de ser transferidos de una célula a otra. En paralelo, estamos avocados a la caracterización funcional y estructural de estos complejos extracelulares conteniendo tRNA-h, con énfasis en su rol como mediadores de la comunicación intercelular.

IDENTIFICACION DE UN RECEPTOR NUCLEAR PERTENECIENTE A UNA NUEVA SUBFAMILIA EN *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS.* (#0097)

Ximena Riera Nikicer [1]; *Gabriela Alvite* [1]; *Adriana Esteves* [1]

1 - Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias (UdelaR).

Resumen:

Nuestro grupo de investigación se ha centrado en el estudio de la estructura y función de las proteínas de unión de ácidos grasos (FABPs), en particular del platelminto parásito *Echinococcus granulosus.* Estos organismos son incapaces de sintetizar *de novo* ácidos grasos (AG), dependiendo de transportadores para la captura y distribución intracelular de los mismos. Ha sido descrita la presencia de FABPs en el núcleo celular y su interacción con receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), para transferirles el ligando, y así actuar como reguladores de la expresión génica. Recientemente hemos demostrado la presencia de EgFABP1 en el núcleo de células de larvas de *E. granulosus*, siendo esta proteína un firme candidato para transportar AG hacia este compartimento. En este contexto, nos propusimos estudiar la posible interacción entre EgFABP1 y un receptor nuclear tipo PPAR en *E. granulosus*. En primera instancia, utilizando RT-PCR a partir de ARN de protoescólices clonamos parte de la región codificante correspondiente a un receptor nuclear (RN) perteneciente a una nueva subfamilia de RN. Dicha subfamilia, denominada 2DBD o VII, está caracterizada por poseer dos dominios de unión al ADN y un dominio de unión al ligando conservado. Este tipo de RNs ha sido descrito únicamente en algunos Platelmintos, Artrópodos y Moluscos, esto convierte a estos factores en moléculas muy interesantes ya que podrían ser candidatas a blancos vacunales o de drogas para combatir la Hidatidosis, enfermedad causada por el parásito en estudio. Hemos clonado el fragmento obtenido en el vector de expresión pET22b(+) y expresado la proteína recombinante (Eg2DBD) en la cepa de *E. coli* Rosetta(DE3). El RN fue purificado mediante cromatografía de afinidad a partir de la fracción insoluble y se generó un suero policlonal en ratón contra dicha proteína. Estas herramientas nos permitirán abordar estudios de interacción EgFABP1-Eg2DBD.

Disecando el rol de BBS4 en adipogénesis (#0105)

Victoria Prieto-Echagüe [1]; Sukanya Lodh [2]; Laura Colman [3]; Natalia Bobba [3]; Leonardo Santos [3]; Nicholas Katsanis [4]; Carlos Escande [3]; José L. Badano [1]

1 - Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Division of Endocrinology, Diabetes, and Nutrition, University of Maryland School of Medicine. 3 - Laboratorio de Patologías del Metabolismo y Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo. 4 - Department of Cell Biology and Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center.

Resumen:

El Síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es una enfermedad hereditaria categorizada como una ciliopatía. La cilia primaria es considerada un organelo central en la transducción de señales de proliferación y diferenciación. A la fecha se conocen 21 genes (*BBS 1-21*) causantes de BBS pero la función de muchas de las proteínas BBS es desconocida. La caracterización de las proteínas BBS ha evidenciado que además de su participación en la cilia primaria presentan funciones independientes de la cilia. Con el objetivo de entender la base celular de BBS, caracterizamos una relación funcional entre BBS4 y una proteína secretada involucrada en diversos procesos incluyendo inflamación y adipogenésis: FSTL1. Mediante el knock-down de BBS4 y de un componente del transporte intraflagellar (IFT88) estudiamos el efecto de BBS4 y la cilia sobre la expresión, secreción y localización subcelular de FSTL1. Nuestros resultados sugieren que BBS4 y la cilia regulan la expresión de FSTL1 pero que además BBS4 participa en su secreción. Encontramos que FSTL1 es un nuevo regulador de ciliogénesis revelando una regulación recíproca entre FSTL1 y cilia. Como ensayo funcional de la interacción BBS4-FSTL1, estudiamos la diferenciación de preadipocitos. Nuestros resultados indican que durante la adipogénesis la cilia primaria y los niveles de FSTL1 y BBS4 están coordinados y que FSTL1 participa en ese proceso al menos en parte como modulador de la ciliogénesis. En conjunto, nuestros datos sugieren que BBS4 regula el tráfico intracelular de FSTL1 y que un defecto en la secreción de FSTL1 participa en la patogénesis de BBS.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

NUEVO COMPLEJO DE Cu(II) CON GLY-GLY-ILE, ACTIVO FRENTE A CÉLULAS TUMORALES DE MELANOMA MURINO (#0377)

Lorena Aguilar [1]; Gianella Facchin [1]; Silvia Chifflet [2]; María H Torre [1]

1 - Química Inorgánica (DEC), Facultad de Química, UdelaR, Gral. Flores 2124. 2 - Bioquímica, Facultad de Medicina, Gral. Flores 2125, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

Como parte del desarrollo de compuestos bioinorgánicos con potencial actividad farmacológica, se han sintetizado numerosos complejos con aminoácidos y péptidos activos frente a células tumorales.(1) En el marco de esta línea de trabajo se ha obtenido un nuevo complejo de Cu(II) con el tripéptido Gly-Gly-Ile el cual se sintetizó en solución acuosa utilizando $CuCO_3Cu(OH)_2$ como sal de partida. Se caracterizó mediante análisis elemental y termogravimetría, permitiendo comprobar la estequiometría $[Cu(GlyGlyIle)_{4(-2H)})]\cdot 10H_2O$. Los espectros electrónicos en estado sólido e infrarojo mostraron un entorno del Cu(II) octaédrico, donde uno de los ligandos actúa de forma bidentada ($N_{peptídico}$, $N_{amínico}$), mientras que los restantes lo hacen de forma monodentada. El EPR en estado sólido mostró un espectro correspondiente a especies acopladas indicando la existencia de caminos atómicos cortos permitiendo acoplamiento Cu/Cu, mientras que en solución las bandas hiperfinas del Cu(II), indican unidades monoméricas. Los efectos antiproliferativos de células tumorales de melanoma murino B16F1 en cultivo se estudiaron con concentraciones crecientes del complejo (50, 100 y 200 μM), en un tiempo de incubación de 48h, utilizando PBS como control. Se cuantificaron las células viables marcadas con FDA (di acetato de fluoresceína) por conteo en cámara de Neubauer con microscopio de fluorescencia. Se realizó la identificación de células no viables marcadas con ioduro de propidio (PI). Se observó un efecto creciente de la actividad al aumentar la concentración del complejo (a 200 μM, 20,5% de células viables y a 100 μM 58%), mientras que a 50μM no se observó diferencias con el control. Se verificó también un efecto importante en la morfología celular a 100 y 200 μM. En vista de estos resultados, se piensa que este complejo amerita ser estudiado en otras líneas celulares normales y tumorales. -Facchin, G. et al., J. Inorg. Biochem. 162, 52-61, 2016. -Iglesias, S et al. Struct. Chem. Cryst. Commun., 2015

Caracterización de la primera glutatión transferasa heterodimérica descrita en helmintos parásitos. (#0127)

Verónica López González [1]; *Paula Arbildi* [1]; *Verónica Fernández* [1]

1 - Cátedra de Inmunología. Facultad de Ciencias-Facultad de Química.

Resumen:
Las glutatión transferasas (GSTs) constituyen una superfamilia de proteínas multifuncionales involucradas en la detoxificación celular de componentes citotóxicos, principalmente conjugándolos al tripéptido glutatión. Asimismo, las GSTs suelen exhibir otras actividades catalíticas como glutatión peroxidasa y síntesis de prostaglandinas y actuar como proteínas ligandinas (detoxificación pasiva). En los helmintos parásitos, las GSTs representan una de las principales enzimas detoxificantes. Nuestro grupo se ha 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 (primera oligomerización descrita en helmintos). El presente trabajo propone avanzar con la caracterización de las EgGSTs, centrándose en la tipificación de la forma heterodimérica recombinante (EgGST2-3r). Se detallan los estudios de expresión y estabilidad de EgGST2-3r, donde se alcanzó un aumento de un 65% en el rendimiento global de la producción. Además, se realizó la caracterización bioquímica de EgGST2-3r, donde se analizó el panel de actividades que presenta, así como algunos de sus parámetros enzimáticos. La enzima presentó actividad frente a algunos sustratos modelos de las glutatión transferasas y a productos secundarios de la peroxidación lipídica así como actividad ligandina frente a varios compuestos, principalmente drogas antihelmínticas y actividad glutatión peroxidasa. Colectivamente, los resultados obtenidos indican que EgGST2-3 podría contribuir a la sobrevida del parásito en su hospedero a través de mecanismos de detoxificación pasiva y de protección del parásito frente al estrés oxidativo. En suma, el presente trabajo contribuye a la comprensión de la interrelación hospedero-parásito, aportando datos sobre el posible rol biológico de éste versátil grupo de enzimas detoxificantes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización inicial de ondulaciones lamelipodiales en queratocitos de pez (#0129)

Miguel Arocena [1]; Andrés Di Paolo [2]; José Sotelo Silveira [1]

1 - Facultad de Ciencias, UDELAR, IIBCE. 2 - IIBCE.

Resumen:
La capacidad de las células de migrar en una dirección persistente es una de sus propiedades fundamentales, que requiere, entre otros procesos, de la extensión de estructuras especializadas de la membrana plasmática, capaces de formar interacciones reversibles con el sustrato, y sustentadas en el citoesqueleto subyacente. Una de estas estructuras es el lamelipodio, una proyección membranosa amplia y chata en el frente de la célula, basada en una red de filamentos de actina ramificados cuya polimerización propulsa a la célula. Uno de los modelos celulares más usados para estudiar la migración celular y la estructura del lamelipodio son los queratocitos de pez, células de la epidermis capaces de cerrar rápidamente heridas in vivo y de migrar a grandes velocidades in vitro. En queratocitos de pez migratorios, hemos observado frecuentemente dentro del lamelipodio estructuras vistas en contraste de fase como arcos fase oscuros altamente dinámicos. Mediante reconstrucciones ópticas por microscopía confocal, observamos que estas estructuras son ondulaciones de la membrana lamelipodial y el córtex subyacente, que representan cambios marcados en la altura del lamelipodio. Usando microscopía lateral, hemos podido confirmar cambios dinámicos en la altura del lamelipodio en células migratorias. A su vez, estas ondulaciones lamelipodiales están frecuentemente flanqueadas por filamentos de actina no ramificados, y en ellas no se observa la presencia de los filamentos de actina ramificados típicos del lamelipodio. Estos resultados iniciales sugieren que el lamelipodio está sometido a cambios dinámicos y marcados en su topografía y en la conformación de su citoesqueleto de actina, posiblemente vinculados a las fuerzas que operan durante la migración celular.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Identificación de nuevas proteínas miembros de la superfamilia CAP en protoescólices de *Echinococcus granulosus*. (#0134)

María Cecilia Silvarrey [1]; Soledad Echeverría [1]; Alicia Costábile [1]; Estela Castillo [1]; Margot Paulino [2]; Adriana Esteves [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Facultad de Química.

Resumen:

La Hidatidosis, causada por el cestodo *Echinococcus granulosus*, es una zoonosis parasitaria extendida mundialmente. Además, es una de las zoonosis parasitarias más importantes reportadas en Uruguay, Argentina, Brasil, Chile y Perú. Las pérdidas causadas por la hidatidosis se miden en términos de pérdidas económicas, en pérdidas de vidas y de inhabilitación para trabajar. Si bien existen drogas tenicidas con buena eficiencia en perros, para el hombre el tratamiento actual es el quirúrgico. En las últimas 5 décadas, se ha intentado con escaso éxito, la generación de vacunas contra la hidatidosis. Las proteínas de la superfamilia CAP se han propuesto como buenos candidatos vacunales contra la infección de helmintos. En este trabajo hemos identificado dos nuevas proteínas de esta superfamilia expresada en protoescólices, llamadas EgVAL1 y EgVAL2. Se dedujeron los marcos de lectura abiertos. La secuencia aminoacídica de cada una se analizó y se confrontó con las secuencias de proteínas de los vertebrados y helmintos ya conocidas, para inferir las posibles funciones. Por otro lado, se realizaron estudios de inmunolocalización y modelos de homología. Los datos obtenidos sugieren que estas proteínas podrían estar implicadas en la inhibición de la actividad de la proteasa.

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MATERIAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO EN ALIMENTOS COMERCIALIZADOS EN MONTEVIDEO (#0138)

Mailén Arleo [1]; Benavente Patricia [2]; Cardozo Viviana [2]; Katz Aline [2]; Vazquez Sylvia [2]; Da Silvia Tavares Adriana [2]; Legnani Marcela [2]; Martínez Debat Claudio [1]

1 - Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, UdelaR.. 2 - Servicio de Regulación Alimentaria-Laboratorio de Bromatología, Intendencia de Montevideo..

Resumen:
El Departamento de Montevideo, a través de su Decreto Departamental Nº 34.901, establece la obligatoriedad del etiquetado de los alimentos genéticamente modificados, posicionando a nuestro país dentro de los 65 que han incorporado este tipo de reglamentaciones. El Servicio de Regulación Alimentaria, en su rol de policía sanitaria, a través de su Laboratorio de Bromatología, en convenio con el Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria de Facultad de Ciencias (UdelaR), realizó el análisis de 206 productos elaborados con ingredientes derivados de maíz y/o soja, en el período 2015-2016, dentro del marco del cumplimiento del mencionado Decreto. La estrategia utilizada consistió en la aplicación de técnicas moleculares (PCR en Tiempo Real), para la detección de secuencias comunes presentes en los eventos transgénicos de soja y maíz más comunes y la posterior cuantificación del contenido de material GM, en relación a un umbral establecido. Se encontró que el 36,9% de los alimentos analizados presentaron secuencias derivadas de organismos vegetales genéticamente modificados; y en el 95% de los casos su contenido superó el umbral establecido para su etiquetado. El estudio realizado hasta la fecha, constituye la primera aproximación al conocimiento y control de la distribución de distintos elementos transgénicos en parte de los alimentos que se comercializan en Montevideo. Estos resultados aportan información valiosa al consumidor para la toma de decisiones sobre los alimentos a consumir. Este tipo de trabajo ha demostrado, una vez más, la importancia de la interrelación entre la academia y los organismos estatales, en la generación de conocimiento y en la implementación de nuevas metodologías analíticas, así como en la formación de recursos humanos calificados y en el cumplimiento de las normativas vigentes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

La proteína Pdcd4 como posible regulador traduccional en crecimiento y regeneración axonal (#0142)

Andres Di Paolo [1]; Guillermo Eastman [2]; Joaquina Farias [1]; Federico Dajas Bailador [3]; José Roberto Sotelo Sosa [1]; José Roberto Sotelo Silveira [4]

1 - Departamento de Proteínas y Ácidos Nucleicos, IIBCE. 2 - Departamento de Genómica, IIBCE. 3 - School of Life Sciences, University of Nottingham. 4 - Departamento de Genómica, IIBCE. Departamento de Biología Celular y Molecular Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:
La síntesis proteica local (SPL) axonal es importante para la respuesta del axón a los cambios que suceden en su entorno y una de sus formas de regulación es a través de la vía mTOR, estudiada principalmente en modelos *in vitro*. Uno de sus componentes río abajo es la proteína *Programmed Cell Death 4* (Pdcd4), un represor traduccional con efecto supresor de tumores. Actualmente son pocos los trabajos que relacionen Pdcd4 con el sistema nervioso y ninguno lo ha hecho aún con los axones. Esto nos motivó a caracterizar el posible rol de Pdcd4 como regulador en procesos de crecimiento y regeneración axonal donde la SPL axonal es importante. Evidenciamos que Pdcd4 disminuye su expresión en axones periféricos *ex vivo* en regeneración pre-condicionados por una lesión. Además, modulando la vía mTOR *ex vivo* mediante drogas, modificamos los niveles axonales de Pdcd4 y observamos una notoria co-localización entre las señales fluorescentes de Pdcd4 y su proteína reguladora en la vía mTOR, fosfo-p70S6K. Posteriormente y como forma de analizar que sucede al modular específicamente Pdcd4, lo silenciamos mediante ARNs interferentes. Observamos un aumento del crecimiento axonal en neuronas DRGs cultivadas en cámaras compartimentalizadas e identificamos el ARNm de Pdcd4 en estos axones. Adicionalmente y analizando neuronas corticales *in vitro*, observamos una mayor distribución de Pdcd4 en el núcleo en etapas de crecimiento activo y un aumento de su expresión en el cono axónico a los 12 días de cultivo, sugiriendo posibles mecanismos para regular la traducción de mensajeros importantes en el crecimiento neuronal. Finalmente, confirmamos que Pdcd4 es sintetizado localmente en axones *ex vivo* mediante un novedoso ensayo de ligación por proximidad llamado *PURO-PLA*. Estos resultados sugieren que Pdcd4 es un regulador traduccional que participa en procesos de crecimiento y regeneración axonal, pudiendo ser modulado localmente.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Rol de CD38 en la actividad eléctrica cardíaca (#0178)

Guillermo Agorrody [1]; *Carlos Escande* [2]; *Paola Contreras* [1]

1 - Facultad de Medicina, UdelaR. 2 - Institut Pasteur Montevideo.

Resumen:

CD38 integra una familia de ADP - ribosil ciclasas que tienen una importante función en diversas células del organismo. Estas enzimas catalizan la producción de un mediador químico denominado ADP ribosil cíclico, que es capaz de regular la liberación de calcio desde un reservorio intracelular especializado de las células musculares denominado retículo sarcoplásmico. Dado que el retículo sarcoplásmico cumple un rol fundamental en la génesis de la actividad eléctrica cardíaca, es presumible pensar que CD38 pueda cumplir algún rol en este proceso. El objetivo de este proyecto es estudiar, por lo tanto, la relación entre CD38 y la actividad eléctrica cardíaca, estudiando parámetros claves como frecuencia, ritmo y variabilidad de la frecuencia cardíaca. Se utilizaron ratones adultos C57Bl6 *wild type* (WT) y CD38 *knock out* (KO) criados en la Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación del Instituto Pasteur de Montevideo. Se registró la actividad eléctrica cardíaca de los roedores a través del uso de la telemetría, técnica que permite mediante la implantación de un transmisor subcutáneo obtener registros del animal consciente sin restricción del movimiento. Se observó que los ratones CD38KO tienen una frecuencia cardíaca basal más baja que los WT, y además, presentan un patrón electrocardiográfico compatible con *disfunción del nodo sinusal*. Como perspectivas nos planteamos analizar la actividad eléctrica cardíaca de corazones aislados de ratones CD38KO y compararlos con los ratones WT, utilizando la técnica de Langendorff. Además, nos proponemos estudiar el mecanismo por el cual la ausencia de CD38 determina los trastornos de frecuencia y ritmo cardíaco, para lo cual se utilizarán técnicas moleculares como Western Blot, inmunohistoquímica, etc. Por último, se procederá al aislamiento de miocitos cardíacos CD38KO y WT para el análisis de la dinámica del calcio a dicho nivel.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación de 1-4- di-*N*-oxido de quinoxalinas con diversidad química como inhibidores de dos catepsinas esenciales para *Fasciola hepatica*: potenciales nuevos fármacos antihelmínticos (#0202)

Florencia Ferraro [1]; *Alicia Merlino* [2]; *Mauricio Cabrera* [3]; *Ileana Corvo* [3]

1 - 1-Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay;2- Laboratorio de moléculas bioactivas, CENUR Litoral Norte – Sede Paysandú, UdelaR, Uruguay. 2 - 1-Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. 3 - 2- Laboratorio de moléculas bioactivas, CENUR Litoral Norte – Sede Paysandú, UdelaR, Uruguay.

Resumen:

La fascioliasis, cuyo agente etiológico es *Fasciola hepatica*, es considerada una de las parasitosis más importantes del ganado, fundamentalmente a nivel de bovinos y ovinos. Entre los efectos más devastadores producidos por esta enfermedad se destacan el detrimento en la producción de carne, lana y leche, así como interferencias en la fertilidad y susceptibilidad a adquirir nuevas infecciones bacterianas. Además, es considerada una enfermedad emergente en humanos por la OMS. El uso indiscriminado del triclabendazol para el tratamiento de esta parasitosis derivó en la aparición de cepas resistentes en varios países (Kelley, 2016). En la búsqueda de nuevos blancos moleculares para el tratamiento de la fascioliasis se destacan dos catepsinas esenciales para el desarrollo de *F. hepática*: *Fh*CL3, que es fundamental para la invasión del estadio juvenil recientemente desenquistado (JRD) y *Fh*CL1 involucrada en la alimentación y evasión de la respuesta inmune del hospedero. En este trabajo se presenta la evaluación de veintiocho 1,4-di-*N*-óxidos de quinoxalina en ambas enzimas, caracterizando la inhibición de los mejores compuestos mediante ensayos de reversibilidad, concentración inhibitoria media máxima (IC_{50}) y *slow binding*. Ocho compuestos muestran un porcentaje de inhibición mayor a 50% para alguna de las dos enzimas, así como IC_{50} menores que chalconas previamente descritas (Ferraro, 2016). Estudios *in silico* de los complejos enzima-inhibidor mediante *docking* y dinámica molecular han permitido identificar patrones estructurales determinantes para la inhibición. Asimismo, se observaron comportamientos diferenciales en cuanto a reversibilidad que se condicen razonablemente con resultados obtenidos *in silico*. A modo de prueba de concepto, se han realizado ensayos *in vitro* incubando a los JRD en presencia de los mejores inhibidores. Cabe destacar que tres de estos compuestos afectaron la morfología y motilidad de los parásitos, mostrando actividad fasciolicida.

Estableciendo relaciones estructura-función en CCDC28B, un modificador del Síndrome de Bardet-Biedl (#0210)

Matias Fabregat [1]; Magdalena Cárdenas Rodríguez [1]; Felipe Trajtemberg [2]; Agustín Correa [3]; Alejandro Buschiazzo [2]; José Luis Badano [1]; Florencia Irigoín [4]

1 - Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Unidad de Cristalografía de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Unidad de Proteínas Recombinantes, Institut Pasteur de Montevideo. 4 - Departamento de Histología, Facultad de Medicina.

Resumen:
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, una proteína de 200 aminoácidos sin homólogos de función conocida. Datos de nuestro laboratorio han vinculado a CCDC28B con la proteína SIN1, regulando tanto ciliogénesis como la vía de señalización de mTORC2. Sin embargo, se desconoce las características de la interacción entre ambas proteínas. Nuestro objetivo es obtener información funcional sobre CCDC28B a través de la elucidación estructural de la proteína. Luego de intentos fallidos de obtener cristales con la proteína recombinante entera obtuvimos dos construcciones que parecen adecuadas para un nuevo intento de cristalogénesis: una proteína a la que le faltan los primeros 16 aminoácidos y a la que se puede eliminar la etiqueta de 6-Histidinas utilizada para su purificación, y una proteína de fusión con CelD (endoglucanasa). Esta última presenta la ventaja de que CelD cristaliza fácilmente y podría colaborar para la obtención de cristales y elucidación de la estructura de CCDC28B. En paralelo, nos interesa determinar si residuos/regiones de la proteína con predicciones funcionales derivadas del análisis in silico de la secuencia primaria son importantes para la actividad de CCDC28B en ciliogénesis. Para ello generamos una línea celular estable knockdown para CCDC28B a través de la tecnología de CRISPR/Cas9. Esta línea tiene una menor proporción de células ciliadas que las células control y nos servirá para estudiar la capacidad de diferentes mutantes de CCDC28B de recuperar el fenotipo de ciliación.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Búsqueda de moléculas bioactivas en cáncer de próstata de plantas utilizadas en medicina tradicional Maya. (#0231)

Juan Trinidad [1]; Rafael Fort [2]; Francisco J. Aguirre Crespo [3]; María Ana Duhagon [2]; Guzmán Alvarez [4]

1 - Laboratorio de Moléculas Bioactivas CENUR Litoral Norte; Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.. 2 - Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.. 3 - Universidad Autónoma de Campeche. 4 - Laboratorio de Moléculas Bioactivas CENUR Litoral Norte, Universidad de la República..

Resumen:

El cáncer de próstata es el cáncer más común en hombres en Uruguay y es una enfermedad compleja y heterogénea. Es de resaltar, que tanto los andrógenos como el receptor de andrógenos juegan un papel crucial en la progresión y desarrollo de éste cáncer. El tratamiento actual para el cáncer de próstata, es una combinación de cirugía, radiación y quimioterapia. Los agentes terapéuticos comúnmente utilizados en la clínica incluyen antiandrógenos esteroideos, tales como el acetato de ciproterona. Estos pocos agentes presentan múltiples efectos adversos y no son 100% efectivos. Actualmente, en la búsqueda de nuevas terapias se apunta a la búsqueda de moléculas de origen natural, mayoritariamente de plantas. Nosotros preparamos una extractoteca de plantas de uso en medicina tradicional Maya. Estas plantas se seleccionaron por su uso en las comunidades Maya en diferentes tipos de enfermedades y tratamientos. Estos extractos se evaluaron mediante un screening fenotípico a dosis fija en células LNCaP (sensible a andrógenos) de cáncer de próstata. Producto de este ensayo, se identificaron 10 plantas de las 11 evaluadas con actividad citotóxica en estas células. Con los extractos activos, se inició el fraccionamiento bioguiado y posterior evaluación, obteniéndose inhibición del crecimiento celular a 50 μg/mL de varias subfracciones. Con los extractos subfraccionados que mostraron actividad, se realizará una nueva selección basada en citotóxicidad que presenten en espermatozoides de mamífero. Adicionalmente, se calculará el IC50 de los extractos activos y se procederá a la identificación de las posibles moléculas presentes en estos subextractos.

Control biológico de *Diaphorina citri* con *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en condiciones de semicampo (#0216)

Belén Corallo [1]; Lina Bettucci [1]; Gabriela Asplanato [2]; Susana Tiscornia [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Facultad de Agronomía.

Resumen:

Diaphorina citri es un insecto vector que transmite eficientemente la bacteria *Candidatus* Liberibacter que causa la enfermedad de los cítricos conocida como Huanglongbing (HLB). Esta enfermedad es considerada la más destructiva a nivel de los cítricos y se encuentra presente en la región (Argentina y Brasil), sin embargo, en Uruguay no se ha reportado la presencia del HLB. Una de las alternativas para el control de este insecto vector es el uso de hongos entomopatógenos que infectan eficientemente a algunos insectos. Se conocen aproximadamente 700 especies de hongos entomopatógenos de las cuales *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* son las más frecuentemente utilizadas a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue seleccionar una cepa fúngica que sea eficiente para controlar a *D. citri* en plantaciones de cítricos. Se aplicó mediante aspersión una suspensión de $1x10^7$ esporas viables/mL de una cepa de *M. anisopliae* y una de *B. bassiana* sobre plantines de cítricos infectados con *Diaphorina citri*. Se realizaron 10 réplicas por tratamiento. El control se realizó aplicando agua Tween80 (0,02%). Las macetas con los diferentes tratamientos se cubrieron con una malla y se colocaron debajo de árboles de *Citrus* en un campo otorgado por INIA. Luego de 5 días se contaron todos los individuos vivos y muertos y se observó la presencia de micelio sobre los insectos. Se calculó el porcentaje de mortalidad como: número de insectos muertos con desarrollo de entomopatógenos/ total de insectos tratados. Se analizaron un total de 1657 individuos, obteniendo el mayor porcentaje de mortalidad con la cepa de *M. anisopliae* (79%). La cepa de *B. bassiana* fue capaz de infectar y matar al 51% de los individuos de *D. citri*. Debido a estos resultados se seleccionó la cepa de *M. anisopliae* para los ensayos de bioproducción y evaluación a campo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Bioactividad de aceites esenciales de plantas nativas de Uruguay contra fitopatógenos (#0272)

Pamela Lombardo [1]; Eduardo Dellacassa [2]; Elena Pérez Faggiani [3]

1 - Facultad de Agronomía, CenUR Litoral Norte Salto, UdelaR. 2 - Laboratorio de Biotecnología de Aromas-DQO-CYTAL, Facultad de Química, UdelaR. 3 - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Salto.

Resumen:

La sustentabilidad de la citricultura uruguaya depende de la exportación de fruta *in natura,* pero las enfermedades de postcosecha son controladas esencialmente por agroquímicos, esta forma de manejo presenta importantes inconvenientes. Por lo que es necesario buscar medidas inovadoras y mas naturales para el manejo de las enfermedades. En este trabajo se estudió la posibilidad de utilizar aceites esenciales (AE) con actividad antimicrobiana como alternativa al uso de agroquímicos de síntesis. El criterio fue seleccionar plantas nativas productoras de AEs, identificar sus componentes y evaluar *in vitro* la capacidad inhibitoria contra los hongos *Phyllosticta citricarpa* (mancha negra de los cítricos) y *Penicillium digitatum* (moho verde). Los AEs se obtuvieron por hidrodestilación utilizando una trampa tipo Clevenger. La composición química se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se evaluó la inhibición de los AEs usando los test de fase volátil y de dilución en agar; además para *P. digitatum* se utilizó el test de microdilución en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) previa selección de los aceites por bioautografía. Los resultados de los análisis químicos de los AEs presentaron en general una marcada dominancia de mono y sesquiterpenos. Los bioensayos mostraron que existen AEs con efectos fungistáticos y fungicidas, sobre ambos fitopatógenos. Los AEs de *Chenopodium ambrosioides, Conyza bonariensis, Pluchea sagittalis, Blepharocalyx salicifolia, Acca sellowiana, Eugenia uniflora* y *Lippia alba* fueron activos sobre *P. digitatum*, pero sólo el primero de los aceites produjo igual efecto sobre *P. citricarpa*. La CIM determinada para el moho verde fue de 30 y 60 ppm para los AEs de *Ch. ambrosioides* y *C. bonariensis*, respectivamente. Se demostró que existen AEs provenientes de plantas nativas con potencial para el biocontrol de patógenos y que su actividad antifúngica es consecuencia de la mezcla compleja de sus compuestos.

Poli-ADP-ribosilación en la transición de epitelio a mesénquima (#0128)

Laura Lafon-Hughes [1]; Janani Kumar [2]; Gustavo Folle [1]; Sergei Nechaev [2]; Archana Dhasarathy [2]

1 - IIBCE. 2 - UND.

Resumen:

Poli-ADP-ribosilación en la transición de epitelio a mesénquima Laura Lafon-Hughes[1], Janani Kumar[2], Gustavo A. Folle[1], Sergei Nechaev[2] , Archana Dhasarathy[2] [1]Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay, [2]Department of Biomedical Sciences, School of Medicine and Health Sciences, University of North Dakota, Grand Forks, ND, USA La transición de epitelio a mesénquima (TEM) facilita la invasividad de un tumor de origen epitelial. Se caracteriza por cambios de forma, adhesividad y migración celular. A nivel molecular, además de ciertos factores de transcripción, se consideran signos distintivos de TEM las alteraciones de expresión, abundancia y localización de cadherinas (como la E-cadherina; CDH1) y de proteínas del citoesqueleto como la vimentina (VIM). La poli-ADP-ribosilación es una modificación postraduccional catalizada por poli(ADP-ribosil)-polimerasas (PARPs), que consiste en la síntesis a partir del NAD^+ de una cadena de poli-ADP-ribosa (PAR). Las PARPs nucleares modulan la estructura de la cromatina, con consecuencias funcionales sobre la expresión génica y la reparación. Las PARPs citoplásmicas han sido menos estudiadas. Recientemente hemos demostrado que ciertas células epiteliales presentan un cinturón de poli-ADP-ribosa asociado a su cinturón de adhesión (o *zonula adherens*). Hemos utlizado un cultivo en 3D de una línea celular de epitelio mamario de ratón para inducir TEM y detectar cambios en la migración celular correlacionando con disminución de CDH1 y aumento de VIM. Simultáneamente, demostramos que existen cambios en la cantidad y localización de PAR, así como pérdida del cinturón de PAR durante TEM. Asimismo, detectamos cambios en la cantidad de actina filamentosa (F-actina) y vinculina (proteína que participa del anclaje de los microfilamentos de actina al complejo de CDH1). Finalmente, cuantificamos los cambios de forma celular mediante el análisis de la anisotropía. Actualmente estamos caracterizando los efectos de inhibidores de PARPs sobre TEM.

Domingo

14:00 - 15:30 **SBBM**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SBBM - #0218, #0222, #0190, #0264, #0183, #0185, #0274, #0283, #0316, #0111, #0154, #0172, #0189, #0268, #0298, #0326, #0332, #0068, #0193, #0071, #0015, #0022, #0330, #0242, #0099, #0353, #0140, #0193, #0073, #0075, #0168, #0230, #0070,

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Identificación de interactores in vivo de la proteína FhaA en micobacterias (#0264)

Bernardina Rivera [1]; Magdalena Gil [1]; Estefanía Urdániz [2]; Magdalena Portela [3]; Mariana Piuri [2]; Carlos Batthyány [1]; Rosario Durán [1]

1 - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo e Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable Montevideo, Uruguay. 2 - Departamento de Química Biologica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. 3 - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo e Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable Montevideo, Uruguay y Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

Identificación de interactores in vivo de la proteína FhaA en micobacterias *Mycobacterium tuberculosis*, el agente etiológicos de la tuberculosis, es la segunda causa de muerte por un agente infeccioso a nivel mundial. PknG, una Ser/Thr-quinasa de proteínas, es un factor crucial para la sobrevida de esta bacteria en el hospedero. Con el fin de elucidar las vías de señalización medidas por PknG, recientemente estudiamos su interactoma e identificamos nuevos sustratos de esta quinasa (1). En el presente trabajo caracterizamos uno de estos nuevo sustratos, la proteína FhaA, que contiene un dominio de reconocimiento de treoninas fosforiladas. Nos propusimos lacaracterización a nivel molecular de los complejos de señalización formados *in vivo* por FhaA, así como sus cambios dinámicos frente a diferentes estímulos que simulen el ambiente del hospedero. La estrategia experimental utilizada se basa en la sobre-expresión de FhaA conteniendo una etiqueta (Strep-tag) en *M.* smegmatis en combinación con el entrecruzamiento in vivo, purificación por afinidad y espectrometría de masa para obtener una instantánea de los complejos de señalización. Nuestros resultados nos permitieron identificar una lista de 114 interactores directos o indirectos de FhaA, que incluye el único interactor previamente reportado (2). Con el fin de evaluar la contribución de residuos fosforilados en FhaA a las interacciones descritas, nos proponemos estudiar el interactoma de mutantes puntuales de FhaA en los residuos fosforilables. Finalmente obtuvimos el interactoma de FhaA cuando la micobacteria esta sometida a condiciones de hipoxia. La comparación de estos proteomas nos permitirá evaluar el rol de esta proteína en la adaptación al ambiente del hospedero. (1) Gil, M. et al. Submitido JBC, Abril 2017. (2) Roumestand, C. et al. Structure 2011, Structure 19:1525-1534.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Las selenoproteínas de tripanosomas africanos no son esenciales para su supervivencia en un hospedador mamífero (#0299)

Mariana Bonilla [1]; Erika Krul [1]; Florencia Irigoín [2]; Gustavo Salinas [3]; Marcelo Comini [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Facultad de Medicina, UdelaR. 3 - Facultad de Química, UdelaR.

Resumen:

Las selenoproteínas contienen el elemento traza selenio como selenocisteína, 21er aminoácido, incorporado co-traduccionalmente a la cadena polipeptídica en un codón UGA. En ellas, la selenocisteína normalmente funciona como un eficiente catalizador redox. Del relevamiento previo surge que los tripanosomátidos portan un juego completo de genes para la maquinaria de biosíntesis de selenocisteína y su incorporación a tres selenoproteínas: SelK, SelT y Seltryp, siendo esta última parásito-específica. En este trabajo se estudió el selenoproteoma de especies de Kinetoplástidos en genomas recientemente secuenciados y se evaluó la relevancia *in vivo* de las selenoproteínas para los tripanosomas africanos. La búsqueda en bases de datos reveló que los genes para SelK, SelT y Seltryp están presentes en la mayoría de los Kinetoplástidos, incluyendo la especie de vida libre *Bodo saltans*, y que el de Seltryp se perdió en el subgénero *Viannia* de *Leishmania*. La homología y sintenia con persulfuro dioxigenasas y sulfotransferasas bacterianas sugieren un rol para Seltryp en el metabolismo del azufre. Una línea de *Trypanosoma brucei knockout* para la selenocisteína sintasa (SepSecS), incapaz de sintetizar selenocisteína, mostró una sensibilidad similar a la línea salvaje parental frente al estrés oxidativo inducido por exposición breve a altas concentraciones de metilglioxal o H_2O_2. Cabe destacar que la infectividad de la línea *knockout*, evaluada en un modelo de infección murino, no se vio afectada y no se detectaron aumentos en la expresión de proteínas involucradas en el metabolismo redox dependiente de tioles que expliquen efectos compensatorios. En suma, nuestros datos muestran que la supervivencia de los tripanosomas africanos en su hospedador mamífero no depende de la presencia de selenoproteínas y descartan que las mismas tengan un rol en su defensa antioxidante y/o virulencia. Sobre esta base, la idea de que las selenoproteínas puedan ser candidatos a blancos de fármacos para los tripanosomas africanos debe abandonarse.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

FORMACIÓN DE PERSULFURO EN LA PEROXIRREDOXINA ALQUILHIDROPERÓXIDO REDUCTASA E DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS (#0268)

Aníbal M. Reyes [1]; Ernesto Cuevasanta [2]; María Inés De Armas [1]; Mauricio Mastrogiovanni [1]; Rafael Radi [1]; Beatriz Alvarez [2]; Madia Trujillo [1]

1 - Departamento de Bioquímica y Centro de investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina. UDELAR. 2 - Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias y Centro de investigaciones Biomédicas Facultad de Medicina, UDELAR.

Resumen:

Las peroxirredoxinas (Prxs) son peroxidasas dependientes de tioles altamente ubicuas. La primera parte del ciclo catalítico consiste en la reducción del sustrato oxidante (hidroperóxido o peroxinitrito) al reaccionar con el tiolato (RS^-) de la cisteína peroxidática (C_P) que resulta oxidado a ácido sulfénico (RSOH). La reducción del RSOH a tiol en la segunda parte del ciclo depende de la Prx particular. La alquilhidroperóxido reductasa E (AhpE) de *Mycobacterium tuberculosis* tiene una única cisteína cuyo RSOH se reduce por micotiol/micorredoxina-1. *M. tuberculosis* está expuesto a sulfuro de hidrógeno (H_2S/HS^-) endógeno o formado por las células huésped, y se ha sugerido que podría modular su patogenicidad. Una de las formas como el H_2S/HS^- ejerce efectos biológicos es la modificación de cisteínas formando persulfuros proteicos (RSSH). En este trabajo mostramos que la reacción de AhpE-SOH con H_2S/HS^- equimolecular conduce a la formación de AhpE-SSH detectable por espectrometría de masa. Para caracterizar cinéticamente esta reacción se realizaron ensayos de competencia aprovechando 1) el cambio de fluorescencia intrínseco de la enzima que ocurre durante la sobreoxidación del AhpE-SOH (formación de AhpE-SO_2^-) al reaccionar con hidroperóxido en exceso y 2) el cambio de absorbancia que ocurre al reaccionar 5-tio-2-nitrobenzoato (TNB-S^-) con AhpE-SOH formando un disulfuro mixto (AhpE-SS-TNB). Ambos procesos resultaron inhibidos en presencia de H_2S/HS^-. Del análisis cinético surge una constante de formación de AhpE-SSH del orden de $\sim 10^3$ $M^{-1}s^{-1}$ a pH 7.4 y 25ºC, cinco veces mayor que las reportadas para la persulfuración de albúmina humana o micotiolación de AhpE. Además, H_2S/HS^- podría ser un sustrato reductor alternativo al micotiol/micorredoxina-1, ya que se observó consumo catalítico del mismo en presencia de hidroperóxido y AhpE. La cinética del proceso está siendo caracterizada.

Síntesis de análogos del Tocoferol mediante reacciones multicomponente en condiciones amigables con el medio ambiente (#0308)

Lucia Colella [1]; Mariana Ingold [1]; Gloria V. Lopez [1]; Williams Porcal [1]

1 - Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR. Av. General Flores 2124, 11800, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

La aterosclerosis es una patología ampliamente distribuida en las sociedades occidentales, siendo las complicaciones de dicha enfermedad la causa número uno de muerte en nuestro país. En este contexto, nuestro grupo de investigación viene trabajando de forma activa en el desarrollo de potenciales fármacos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y del metabolismo. En ese sentido hemos obtenido resultados muy promisorios con compuestos análogos de alfa-tocoferol, al que se adiciona un grupo funcional nitroalquenilo, para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, en la actualidad continuamos con el desarrollo eficiente de nuevos compuestos híbridos tocoferol-nitroalqueno. En este nuevo siglo, uno de los mayores desafíos de la química orgánica y de la química médica es la obtención de nuevos compuestos orgánicos estructuralmente diversos, de manera rápida, segura y eficiente, para estudiar sistemas biológicos y acelerar el proceso de descubrimiento de potenciales fármacos. Así, utilizamos como enfoque *metodológico* la síntesis orientada a la diversidad, a través de reacciones multicomponente, una de las estrategias sintéticas más prometedoras para la generación de una colección de moléculas pequeñas, ya que se obtienen nuevos compuestos con la diversidad estructural deseada en un paso de reacción con un mínimo de esfuerzo sintético, tiempo y formación de productos secundarios. En este trabajo se presentarán estudios iniciales utilizando las reacciones de Passerini (3 componentes, síntesis de alfa-aciloxiamida) y de Ugi (4 componentes, síntesis de alfa-bisamida) bajo condiciones de Química Verde, las cuales permiten incorporar los farmacóforos alfa-Tocoferol y nitroalquenilo de forma directa en un solo paso de reacción. Con este fin, se prueban diferentes condiciones para llevar a cabo estas reacciones, por ejemplo, utilizando agua como disolvente verde o condición libre de disolvente, tanto a temperatura ambiente como asistidas con microondas o ultrasonido como fuentes de calentamiento eficiente.

Síntesis de híbridos dibenzoilmetano-ácido cinámico como potenciales filtros solares (#0015)

Gabriel Sagrera [1]

1 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República.

Resumen:

La exposición excesiva a los rayos UV ocasiona diversos daños al organismo, entre ellos, quemaduras, fotoenvejecimiento y cáncer de piel. Existen diversos tipos de filtros solares aprobados para su uso sobre humanos. Los filtros UV actualmente autorizados se clasifican en dos tipos: inorgánicos y orgánicos. Dentro del primer grupo se encuentran el ZnO y TiO_2. Los filtros orgánicos se clasifican segun su estructura en ésteres, benzofenonas, dibenzoilmetanos, derivados del alcanfor, bencimidazoles y triazinas. Algunos de los filtros solares utilizados actualmente poseen diversos efectos tóxicos sobre la piel o por absorción percutánea. Por ejemplo, la avobenzona es muy utilizada como filtro UVA pero no es fotoestable. Su irradiación causa fragmentación y formación de arilglioxales y bencilos los cuales son sensibilizantes y citotóxicos. Otro problema importante es el relacionado con la contaminación ambiental. Los filtros solares se formulan para resistir el baño, sin embargo se estima que luego de 20 minutos de inmersión, el 25% de los ingredientes se liberan en el agua. Debido a la creciente demanda de filtros solares, es de gran importancia el descubrimiento de nuevos compuestos, más seguros y efectivos. Como continuación de una línea de investigación relacionada con la síntesis de filtros solares, en este trabajo se describe la preparacion de una serie de híbridos dibenzoilmetano-ácido cinámico, de estructura general Ph_A-CO-CH_2-CO-CH=CH-Ph_B donde Ph_A y Ph_B representan grupos fenilo; algunos de ellos no descritos aún en la literatura. Los compuestos se prepararon por tratamiento de 2'-hidroxiacetofenona con un cloruro de ácido para formar el correspondiente éster el cual luego fue sometido a un rearreglo de Baker-Venkataraman. Los compuestos fueron obtenidos con buenos rendimientos y caracterizados espectroscópicamente y posteriormente serán sometidos a estudios de fotodegradación.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Nuevos derivados de la forma hidrosoluble de la Vitamina E para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares (#0322)

Rosina Dapueto [1]; Jorge Rodriguez [1]; Germán Galliussi [1]; Lucía Turell [2]; Williams Porcal [3]; Carlos Escande [1]; Gloria V. López [3]; Carlos Batthyány [1]

1 - Institut Pasteur Montevideo. 2 - Laboratorio de Enzimología/Facultad de Ciencias - UDeLaR. 3 - Departamento de QuímicaOrgánica/Facultad de Química/- UDeLaR - Institut Pasteur Montevideo.

Resumen:

Este trabajo tiene como objetivo principal la evaluación de derivados del Trolox™ (análogo hidrosoluble de la Vitamina E) como potenciales fármacos antiinflamatorios para la prevención/tratamiento de enfermedades cardiovasculares. El síndrome metabólico juega un rol fundamental en la patogénesis de estas enfermedades y se caracteriza por obesidad central, aumento de la glicemia y resistencia a la insulina, hipertensión arterial y dislipemia. En la base etiopatogénica de este síndrome, juega un rol central la obesidad patológica, caracterizada por la generación de un proceso inflamatorio crónico, estéril, desarrollado a bajo ruido a nivel sistémico, perpetuado por el tejido adiposo. En este sentido, la activación de las vías del inflamasoma está relacionada con la patogénesis de estas enfermedades. El inflamasoma es un complejo multiproteico señalizador que censa una gran variedad de moléculas del sistema inmune innato y que, su activación, produce la liberación de citoquinas proinflamatorias potentes (IL-1β e IL-18). Por este motivo, el desarrollo de nuevos fármacos antiinflamatorios, capaces de inhibir las rutas involucradas en la generación de procesos inflamatorios crónicos, en particular el inflamasoma, resulta fundamental. En nuestro laboratorio, hemos diseñado y sintetizado una nueva familia de fármacos formados por una estructura mimética del α-Tocoferol y un grupo nitroalquenilo que ejerce propiedades antiinflamatorias a través de la inhibición de Nfkb, del inflamasoma NLRP3, y de la activación de vías citoprotectoras (Nrf2/Keap1, HSF-1 y PPAR-g). Sintetizamos y evaluamos un análogo nitroalqueno derivado del Trolox™ (NATx0) que presenta resultados preliminares muy alentadores: posee alta reactividad frente a nucleófilos modelo, elevada inducción de enzimas dependientes del sistema Nrf2/Keap-1 (H0-1 y GCLM), inhibe NfkB, inhibe el inflamasoma NLRP3 en macrófagos THP-1 estimulados con LPS/ATP y disminuye la liberación de IL-1β en modelo de inflamación aguda en ratón por administración de LPS.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis de la relevancia clínica del cluster miR-130b-301b en cáncer de próstata. (#0274)

Rafael Sebastian Fort Canobra [1]; Cecilia Mathó Pacielo [1]; José Roberto Sotelo Silveira [2]; Maria Ana Duhagon Serrat [3]

1 - Facultad de Ciencias, LIM. 2 - Inst. de Invest. Biologicas Clemente Estable. 3 - Facultad de Ciencias, LIM; Facultad de Medicina, Depto. de Genética.

Resumen:
El cáncer de próstata (PCa) es el cáncer de mayor incidencia y el segundo en mortalidad en hombres. Aún no se dispone de marcadores que permitan distinguir entre las formas indolentes y las formas agresivas de la enfermedad, lo que conduce a la sobre-intervención médica que conlleva un aumento innecesario tanto de la morbilidad como de los costos de salud. Debido a su estabilidad, especificidad de expresión, accesibilidad en los fluidos corporales y simplicidad para la cuantificación, los microARNs constituyen una nueva oportunidad como biomarcadores en patología humana, además de presentar valor clínico en la predicción del tratamiento y la terapéutica. Los microARNs que integran el clúster génico compuesto por miR-301b y miR-130b, han sido reportado como oncogénicos y supresores de tumor en diversos tejidos, habiendo en PCa reportes contradictorios. Aquí buscamos dilucidar su significación clínica en PCa, interrogando bases de datos de expresión génica de tumores que están disponibles públicamente. Las mismas incluyen transcriptomas, metilomas, proteomas y diversos datos clínicos asociados a las muestras. Primeramente, se analiza la asociación entre los niveles de expresión de los dos microRNAs y el tipo de tejido prostático (normal, tumoral primario y secundario/metástasis), encontrándose un incremento de los mismos en tejido metastásico respecto al primario y en primario respecto al normal. En segundo lugar, se estudian los niveles de metilación del gen y su asociación con la expresión de los ARNs transcriptos, determinándose que si bien existe un leve incremento de la metilación de ADN del locus en tejido tumoral vs. normal, el mismo no afecta los niveles de microRNAs. Por último, se indaga si el nivel de miR-130b y 301b correlaciona con la evolución neoplásica, encontrándose una asociación con la recurrencia bioquímica y la metástasis. Estos resultados sugieren fuertemente una acción oncogénica de este locus en PCa.

Aislamiento y caracterización de cepas responsables del primer brote autóctono de Leishmaniasis canina en Uruguay (#0346)

Paula Faral-Tello [1]; Gonzalo Greif [1]; Dinora Satragno [2]; Bruno Canneva [2]; Lorenzo Verger [2]; Alejandra Lozano [2]; Edgardo Vitale [2]; Carlos Soto [2]; Yester Basmadijián [2]; Carlos Robello [1]

1 - UBM, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Universidad de la República.

Resumen:
En febrero de 2015 se reportó el primer brote autóctono de leishmaniasis canina en Uruguay, el mismo ocurrió en la localidad de Arenitas Blancas en el departamento de Salto. En la zona, un total de 49 perros fueron muestreados por test serológicos en donde 11 resultaron positivos para *Leishmania sp*; mediante captura entomológica se identificaron individuos de la especie *Lutzomya longipalpis* que posteriormente fueron confirmados positivos para *Leishmania sp.* Se realizó PCR y secuenciación de genes específicos tanto en las muestras caninas como en las muestras entomológicas y esto nos permitió alertar sobre la presencia del ciclo completo en nuestro país. También, mediante PCR-RFLP de tipificación, se logró determinar que la especie involucrada en el brote era *Leishmania infantum*. A partir de las muestras caninas identificadas en el brote, se obtuvieron cultivos axénicos estables de la forma promastigota de las cepas circulantes en medio semi-definido. Se procedió a la caracterización de las mismas mediante curvas de crecimiento y susceptibilidad a fármacos utilizados para el tratamiento de leishmaniasis. En una última instancia, también se logró establecer un modelo de infección en macrófagos humanos el cual representa una herramienta fundamental de trabajo hacia el conocimiento y caracterización de las cepas circulantes en nuestro país.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Avances en la utilización de la estrategia de doble híbrido para la validación de la interacción entre la fosfatasa de tirosina PtpA de *Mycobacterium tuberculosis* y sus potenciales sustratos. (#0298)

Vivian Irving [1]; Mariana Margenat [1]; Ana Ramón [1]; Andrea Villarino [1]

1 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

PtpA es un componente clave en la biología de *Mycobacterium tuberculosis,* tal como se ha demostrado en estudios con cepas mutantes en esta fosfatasa. Durante la infección PtpA alcanza el citosol de macrófagos dónde actúa sobre proteínas eucariotas. Nuestro grupo reportó recientemente cuatro potenciales sustratos eucariotas de PtpA. En este contexto, validar la interacción de la PtpA con estos candidatos a sustrato es fundamental para avanzar en el conocimiento de las vías celulares afectadas por este patógeno. Para ello era necesario disponer de una estrategia que permitiera evaluar en un contexto celular eucariota la interacción entre la PtpA de *Mycobacterium tuberculosis* y los candidatos a sustrato. Así, en este trabajo se logró poner en marcha el sistema de doble híbrido en levadura CytoTrap Vector (Stratagen) y se aplicó al estudio de la interacción entre la PtpA D126A (carnada en el sistema doble híbrido) y la proteína humana ECHA correspondiente a la subunidad alfa de la enzima clave de la beta-oxidación de los ácidos grasos (presa en el sistema doble híbrido). En una primera etapa se insertaron los genes de interés en los plásmidos del sistema de doble híbrido mediante herramientas de biología molecular. Se logró clonar el gen de la PtpA D126A en el plásmido pSos, confirmándose la integridad de su secuencia bacteriana. Para la ECHA, se obtuvo el ADNc, y el producto de amplificación de dicho gen se clonó en el plásmido pMyr, confirmándose que corresponde a la isoforma 1 de la ECHA humana. Posteriormente se realizó el ensayo de doble híbrido, obteniéndose, en un primer experimento, el resultado esperado para los controles del ensayo y un resultado promisorio para la interacción de la PtpA-D126A y la ECHA humana. La etapa siguiente será aumentar el número de réplicas del ensayo para estar seguros de dicha conclusión.

Caracterización de la fase estacionaria del parásito Trypanosoma Cruzi: ¿un nuevo estadío preadaptativo? (#0367)

Fabricio Hernández [1]; Beatriz Garat [1]; Martín Ciganda [1]; Leticia Pérez Díaz [1]

1 - Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:
Trypanosoma cruzi es el agente causal de la enfermedad de Chagas, considerada por la OMS como una enfermedad desatendida y un importante problema socio-económico en Latinoamérica. El parásito presenta diferentes estadíos a lo largo de su ciclo de vida. En el intestino del insecto vector se encuentran los parásitos en forma epimastigota no infectiva que se diferencian en el tracto rectal del insecto en tripomastigotas metaciclicos, estadío no replicativo responsable de la infección en mamíferos. Poco se sabe de la transición entre ambos estadíos. Experimentalmente se ha demostrado que el estrés nutricional desencadena el pasaje de epimastigotas a metacíclicos. Se ha propuesto que parásitos estresados en fase estacionaria constituirían un estadío diferente pudiendo diferenciarse a metacíclicos o volver al estadío epimastigota replicativo según las condiciones de estrés nutricional. Con el fin de caracterizar estos parásitos en fase estacionaria se realizaron curvas de crecimiento y se determinaron puntos claves para evaluar morfológicamente los parásitos mediante microscopía y citometría de flujo. Se estudiaron niveles de compactación de cromatina en los diferentes puntos mediante digestión del ADN con DNasa I a diferentes tiempos y se evaluó contenido de ARN por parásito. Se evaluó la resistencia al complemento de los parásitos mediante incubación con suero humano sin descomplementar y descomplementado por calor, para evaluar si estos parásitos en fase estacionaria son sensibles como los epimastigotas o resistentes como los tripomastigotas metacíclicos. En todos los casos se analizó la viabilidad de los parásitos mediante incubación con calceína y ioduro de propidio y posterior análisis por citometría de flujo. Estos resultados contribuyen a la caracterización de T. cruzi en fase estacionaria, un punto clave del ciclo de vida donde se determina su diferenciación hacia el estadio infectivo en la ampolla rectal del insecto.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

ROL DE LA PROTEÍNA DBC1 EN LA FISIOLOGIA VASCULAR Y RENAL DURANTE LA HIPERTENSION ARTERIAL (#0316)

María Caggiani [1]; Laura Colman [2]; Alejandro Leyva [3]; Adriana Carlomagno [2]; Carlos Batthyany [3]; Paola Contreras [1]; Carlos Escande [2]

1 - Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UdelaR.. 2 - Laboratorio de Patologías del Metabolismo y Envejecimiento, Instituto Pasteur de Montevideo. 3 - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analítica, Instituto Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Los cambios en los estilos de vida han determinado un constante incremento en la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), las que constituyen la principal causa de muerte a nivel mundial. Las complicaciones de la hipertensión arterial (HTA) producen una parte importante de los fallecimientos por ECNT. La injuria vascular constituye una de las principales consecuencias observadas en la HTA mantenida. *Los mecanismos celulares y metabólicos involucrados en la injuria vascular son numerosos, complejos y multifactoriales, dentro de los cuales el sistema renina-angiotensina - aldosterona juega un rol protagónico*. La Angiotensina II (ANGII) presenta un rol clave en la generación de inflamación, fibrosis, y apoptosis; modificaciones que se observan en la HTA. Sin embargo, los mecanismos moleculares que subyacen estos procesos aún no han sido completamente elucidados. Nuestro grupo ha venido trabajando en el rol de la proteína DBC1, un inhibidor de SIRT1, en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares. Los ratones Knock Out (KO) para DBC1 están protegidos contra la aterosclerosis en situación de obesidad experimental. En este contexto, nos planteamos evaluar si DBC1 desempeña un papel relevante en la HTA. Los resultados obtenidos apoyan esta hipótesis. El tratamiento con ANGII *in vivo* induce la expresión de DBC1 tanto a nivel vascular como renal. Sorprendentemente, los ratones KO para DBC1 son más sensibles a la ANGII, mostrando una mayor tasa de mortalidad, mayor incidencia de aneurismas abdominales y alteraciones en la morfologia de la pared arterial. Por otro lado, a nivel renal parece existir una protección contra el daño producido por la AngII. Nuestros resultados sugieren que DBC1 juega un rol preponderante en las enfermedades cardiovasculares, aunque aún debemos comprender en profundidad los mecanismos involucrados.

La compleja interacción *T.cruzi*-cardiomiocito humano a tiempos cortos de infección. (#0369)

Gabriela Libisch [1]; Paula Faral [1]; Rafael Radi [2]; Lucia Piacenza [2]; Carlos Robello [3]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Facultad de Medicina. 3 - Institut Pasteur de Montevideo / Facultad de Medicina.

Resumen:
La miocardiopatía chagásica es la manifestación más severa de la enfermedad de Chagas. A pesar de diversos estudios e investigaciones, su patogenia y los mecanismos biológicos responsables de las lesiones cardíacas no son aún comprendidos en su totalidad. En este trabajo identificamos vías biológicas alteradas en cardiomiocitos humanos a tiempos cortos de infección. Encontramos que a tan sólo 6 horas post-infección las mitocondrias aumentan su capacidad respiratoria junto con un aumento de su biogénesis. Esta respuesta puede deberse a que en los cardiomiocitos infectados se mostró un aumento en la activación de mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*). Si bien un aumento de mTORC1 también supondría un aumento en la proliferación de estas células, no evidenciamos mayor proliferación en las células infectadas. Una de las vías biológicas que encontramos disminuida y que permitiría explicar esta aparente contradicción, es la vía de degradación del ARNm mediada por secuencias sin sentido (más conocido como *NMD-Non sense mediated decay*), dado que su disminución habilita, en el contexto de la infección, la expresión de genes responsables del arresto celular. El presente trabajo evidencia la complejidad de las múltiples interacciones huésped-parásito que ocurren a tiempos cortos de infección, las mismas pueden ayudar a comprender más profundamente la patogénesis de la miocardiopatía chagásica.

Temprana diversificación de metacaspasas en el musgo Physcomitrella patens. (#0326)

Marcel Lucien Bentancor Lado [1]; Bruno Gariazzo [1]; Sabina Vidal Macchi [1]

1 - Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias.

Resumen:
Las metacaspasas fueron descubiertas inicialmente a partir de datos de secuenciación de genomas vegetales, en base a homología de secuencia con caspasas de animales. Al igual que las caspasas, estas proteasas han sido implicadas desempañando roles fisiológicos diversos, más allá de su participación en la muerte celular programada. Su análisis filogénetico permite determinar que son ubicuas en el reino vegetal y que muy tempranamente divergieron en dos grupos estructuralmente diferentes: las metacaspasas de tipo I y II, siendo éste último exclusivo de las plantas. Physcomitrella patens es una briofita, que conserva varias de las características de las primeras plantas que colonizaron la tierra, por lo cual resulta interesante su estudio para el análisis evolutivo de esta familia de genes. En esta planta identificamos dos genes de metacaspasas de tipo I y cuatro de metacaspasas de tipo II, a la vez que también se identificó una secuencia que sería un pseudogen de metacaspasa. Esta temprana diversificación de los miembros de esta familia de proteasas, es apoyada por los diferentes niveles de expresión de los miembros de esta familia y por la diversidad de patrones de distribución subcelular que hemos encontrado. En este trabajo se muestran los estudios de localización subcelular de todas las metacaspasas de P. patens. Mayores estudios están siendo llevados a cabo a fin de contribuir a determinar la probable subfuncionalizacion de los miembros de esta familia.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Generación y caracterización de sensores redox fluorescentes como herramienta para el estudio de procesos celulares en tripanosomátidos. (#0119)

Florencia Sardi [1]; Vanesa Piattoni [2]; Sergio Pantano [3]; Marcelo Comini [1]

1 - Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Laboratorio de Biosimulaciones, Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Las células están expuestas a especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, originadas como subproductos metabólicos o en el medio ambiente. Una producción descontrolada y/o neutralización insuficiente de estos compuestos es capaz de alterar el equilibrio redox celular causando daño en las macromoléculas. Las células están equipadas con distintos sistemas que controlan la homeostasis redox tiol-disulfuro a nivel intracelular. En los tripanosomátidos, el tripanotión (bis-glutationilespermidina, tiol de bajo peso molecular) reemplaza el sistema ubicuo de glutatión. El desarrollo reciente de biosensores basados en proteínas fluorescentes que permiten monitorear el estado redox intracelular en tiempo real e *in situ*, de manera no invasiva, y dinámica, nos ha impulsado a validar el empleo de estas herramientas para estudiar los fenómenos redox que ocurren durante los procesos de respuesta a estrés, diferenciación celular e interacción huésped-parásito. Se han desarrollado variantes redox sensibles de la proteína verde fluorescente (roGFP2) capaces de monitorear el pool de glutatión reducido y oxidado. En este trabajo se utilizó un biosensor de tercera generación, una fusión de la glutarredoxina 1 humana (hGrx) y la GFP2 redox sensible (roGFP2) y se generó un nuevo biosensor con corrimiento espectral hacia el rojo (rxmRuby2). Este nuevo biosensor será de gran utilidad para imagenología *in vivo* sobre animales, tejidos o células, ya que en esa zona espectral no existe interferencia por autofluorescencia de moléculas endógenas. Se realizó la caracterización *in vitro* de la respuesta de la proteína recombinante hGrx-roGFP2 frente a los pares redox más relevantes para el parasito y se generaron las líneas reporteras transgénicas de *Trypanosoma brucei* y de *Trypanosoma cruzi.* El nuevo biosensor rxmRuby2 fue expresado, purificado y caracterizado de manera bioquímica. Análisis espectrofluorimétricos muestran que el biosensor es capaz de responder de manera reversible a estímulos redox a diferentes pH en el rango fisiológico.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Descripción de la acarofauna presente en abejorros nativos *Bombus atratus*. (#0330)

Sheena Salvarrey [1]; Adrian Ortiz [1]; Juan Vazquez [1]; Ciro Invernizzi [2]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Facultad de Ceincias.

Resumen:
Los abejorros del género *Bombus* (Hymenoptera; Apoidea) son insectos eusociales de ciclo anual. En la actualidad, son reconocidos como excelentes polinizadores debido a que presentan características que los hacen eficientes en diversos cultivos de importancia económica. Por tal motivo, sus colonias han comenzado a comercializar en muchos países. Los abejorros pueden albergar un gran número de ácaros de fácil transmisión, que afectan la vida de las colonias. Es posible que los sistemas de cría donde se encuentran en situación de confinamiento, aumente la incidencia de diferentes ectoparásitos. Entre éstos, se destacan diversos ácaros foréticos pertenecientes al amplio grupo Acariforme. En Uruguay, contamos con la presencia del abejorros nativo, *Bombus atratus*, la que ha sido sujeta a exitosas experiencias de cría en condiciones de laboratorio. En este estudio se analizaron abejorros de la especie *B. atratus* (75) criados en laboratorio y se determinaron las especies de ácaros presentes en sus cuerpos. Las diferentes especies encontrados fueron: *Tyrophagus putrescentinae, Kuzinia americana, Pneumolaelaps longanalis P. longipilus.* El 65% de los abejorros presentaron por lo menos un ácaro, dentro de los infectados la gran mayoría (95%) es hospedero de la especie *T. putrescentinae*. Las demás especies de ácaros se distibuyeron en el resto de abejorros analizados, y en un solo abejorro se dió el caso de una coinfección por dos ectoparásitos (*T. putrescentinae* y *K. Americana*). Si bien *T putrescentinae,* el más presente en las muestras, no afecta directamente la salud de los abejorros, está asociado a la falta de higiene de la colonia y puede contribuir a la aparición de otras afecciones como microsporidios, hongos, etc. Este trabajo abre la posibilidad de implementar el estudio de la acarfauna como una herramienta para evaluar el estado sanitario de las especies de abejorros en el país, permitiendo así contribuir en su conservación.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

La fosfodiesterasa FcsR de *P. aeruginosa* regula la síntesis de proteínas de flagelo, sistema de secreción tipo III y quimiotaxis en forma independiente de su actividad enzimática (#0332)

Jessica Rossello [1]; Analía Lima [1]; Magdalena Gil [1]; Jorge Rodriguez Duarte [1]; Agustín Correa [2]; Paulo Carvalho [3]; Arlinet Kierbel [4]; Rosario Durán [1]

1 - Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur/Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Unidad de Proteínas Recombinantes, Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Laboratory for Proteomics and Protein Engineering, Carlos Chagas Institute. 4 - Instituto de Investigaciones Biotecnológicas Dr. Rodolfo A. Ugalde. Universidad Nacional de San Martín.

Resumen:

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista capaz de causar la muerte a individuos inmunocomprometidos. Representa un problema importante a nivel de la salud, ya que es el 3er o 4to aislamiento hospitalario más común. Constituye la principal causa de muerte en individuos con fibrosis quística, siendo la formación de biofilms un factor clave en la resistencia a antibióticos y la cronicidad de la infección. La transición desde una forma de vida planctónica a una asociada a superficie, es un paso temprano crucial en la formación de biofilms y el establecimiento del proceso infectivo. En este sentido, el segundo mensajero 3´,5´-diguanilato cíclico (di-GMPc) juega un rol central en la transición desde un estado móvil y de vida libre a uno sésil, multicelular y asociado a superficie. La síntesis de di-GMPc es, catalizada por diguanilato ciclasas, mientras que su hidrólisis es catalizada por fosfodiesterasas. El genoma de *P. aeruginosa* codifica un gran número de enzimas con actividad diguanilato ciclasa y fosfodiesterasa, y en base a caracterizaciones fenotípicas de cepas donde estos genes han sido individualmente eliminados, se ha postulado que cada una de estas enzimas tiene un rol biológico diferente. En este trabajo caracterizamos una cepa de *P. aeruginosa* que sobreexpresa una fosfodiesterasa específica de di-GMPc. Utilizando estrategias proteómicas cuantitativas y ensayos fenotípicos demostramos que existen cuatro procesos o estructuras afectados en esta cepa: la formación de biofilms, el ensamblaje de flagelo, la expresión de quimioreceptores y la expresión del sistema de secreción tipo III. Mediante el uso de un mutante enzimáticamente inactivo pudimos demostrar que algunos de los procesos afectados no dependen de la actividad fosfodiesterasa. Basados en estos resultados inesperados nombramos a PA2133 como FcsR (Flagellar, chemotaxis and type III secretion Regulator).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Formación de superóxido como mecanismo citotóxico en el control de la infección por *Trypanosoma cruzi* (#0157)

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

1 - Departamento de Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina.

Resumen:
El mal de Chagas es una enfermedad endémica de América Latina, potencialmente letal, y para la cual no existen terapias efectivas y seguras hasta el momento. Se estima que más de 10.000 personas mueren diariamente en el mundo por manifestaciones clínicas de esta enfermedad. El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, el cual cursa un ciclo de vida entre el insecto vector (vinchuca) y el hospedero vertebrado (hombre). La etapa aguda de la infección en el hombre se caracteriza por elevadas parasitemias, invasión tisular e infiltrado inflamatorio. En esta fase la respuesta inmune innata, en particular la acción de las células fagocíticas, es fundamental para neutralizar la invasión del parásito. Entre los principales mecanismos efectores de estas células se encuentra la formación de radical superóxido intrafagosomal por parte de la enzima NADPH oxidasa o Nox2. Este radical puede generar daño oxidativo en el parásito gracias a la formación de especies derivadas como el peróxido de hidrógeno o el peroxinitrito (producto de reacción con óxido nítrico). Evidencias previas en este y otros modelos de infección a macrófagos muestran que la enzima Nox2 es crucial para el control de infecciones por microorganismos. En este trabajo, realizamos infecciones en macrófagos derivados de ratones KO para Nox2 y demostramos que la ausencia de esta actividad enzimática resulta en una pérdida dramática de la capacidad de controlar la infección. Por otro lado, resultados preliminares de infección *in vivo* de ratones KO con *T.cruzi* muestran que, si bien las parasitemias no empeoran, la invasión tisular es mayor en los ratones deficientes en Nox2 y los animales mueren prematuramente. La literatura presenta resultados contradictorios en este aspecto y es importante dilucidar el rol de Nox2 en la infección por *T.cruzi* para entender la biología de la interacción parásito-hospedero.

Aproximación a la síntesis de geosmina para su uso como estandar en técnicas cromatográficas. (#0022)

Gabriel Sagrera [1]

1 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química.

Resumen:
La geosmina es un compuesto generado por diversos microorganismos en la tierra y agua. En el suelo es formado por estreptomicetos y es el causante del olor "a tierra" que surge luego de una lluvia. En el agua existen algas y cianobacterias que producen geosmina, 2-metilisoborneol y otros compuestos que confieren al agua olor y sabor a moho y tierra. Las actividades humanas favorecen la proliferación de algas y cianobacterias por lo que muchas veces aparecen olores y sabores desagradables en aguas de consumo, que son difíciles de eliminar. Químicamente es un derivado trisustituido del biciclo[4.4.0]decano. Como tal, esta estructura posee tres átomos de carbono quirales y por tanto ocho estereoisómeros posibles (cuatro pares de enantiómeros). Específicamente, la geosmina natural es (-)-(4S, 4αS, 8αR)-4,8-dimetiloctahidronaftalen-4-ol. Los humanos pueden detectar este compuesto a concentraciones muy bajas en el agua (del orden de nanogramos en un litro). La cuantificacion de geosmina en aguas se puede realizar por métodos cromatográficos (GC o HPLC). En ambos casos se debe disponer de un estándar, el cual tiene un costo elevado (aproximadamente 500 dolares americanos los 5 mg). En este trabajo, que se encuentra en etapas iniciales en nuestro laboratorio, se describe una aproximación a la sintesis de geosmina. El compuesto se obtuvo (como mezcla de estereoisómeros) en tres etapas: reaccion entre 2-metilciclohexanona con etilvinilcetona para formar un intermedio biciclico el cual se trata con 1,2-etanoditiol para formar un tiocetal y posterior desulfurizacion con níquel Raney. Los intermedios de reaccion y el producto final fueron obtenidos con rendimientos moderados y caracterizados espectroscópicamente (RMN y EM). En una etapa posterior se planea realizar la síntesis de la (-)-geosmina

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Validación de anticuerpos para la caracterización conformacional del receptor de estrógenos en células MCF7 (#0219)

Tamara Fernández [1]; Marcos Davyt [1]; Cora Chalar [1]; Perelmuter Karen [2]; Madelon Portela [2]; Mario Señorale [1]; Ricardo Erlich [1]; Monica Marin [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Instituto Pasteur de Montevideo.

Resumen:

Una cadena polipeptídica en el contexto celular puede adoptar una o mas conformaciones alternativas, sin embargo poner en evidencia las diferentes conformaciones constituye un desafío. En el marco de una línea de investigación de nuestro laboratorio centrado en las variaciones de conformación del receptor de estrógenos en células MCF7, analizamos su perfil de degradación por quimotripsina, mediante electroforesis y western blot. La proteólisis limitada en una aproximación experimental muy sensible y la detección mediante el uso de anticuerpos requiere conocer con precisión su especificidad respecto al receptor de estrógenos. En este trabajo se describen las condiciones de cultivo celular de células MCF7, la preparación de los extractos celulares y de los inmunoprecipitados empleando dos anticuerpos monoclonales desarrollados contra el receptor de estrógenos, para comparar las proteínas reconocidas por ambos anticuerpos y validar los resultados.

Exposición aguda a 2,4-DietiAmina altera en forma bifásica la contractilidad y frecuencia cardíacas en rango de concentraciones submicromolar/micromolar (#0068)

Florencia Savio [1]; Mariana Alonso [1]; Carlos Costa [1]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos.

Resumen:

La 2,4 DiEtilamina (2,4-DE) es un agroquímico herbicida sintético, amina secundaria del ácido-2,4-diclorofenoxiacético (2,4-DCFA). De acuerdo con OMS, derivados del 2,4-DCFA son agroquímicos clase II (moderadamente peligrosos). Su mecanismo de acción comprende oxidación vía óxido nítrico, teniendo como blanco diversas moléculas centrales para la vida celular. Se usa extensivamente en Uruguay (aprox. 1000 toneladas/año/2011). Existen pocos estudios de sus efectos sobre la salud humana. En este trabajo evaluamos el efecto a exposición aguda de 2,4-DE sobre la función cardíaca. La cinética de aplicación de este agroquímico a dosis 1 uM, muestra que alcanza el estado estacionario en efectos en 10-15 minutos. Las curvas dosis-respuesta (CDR) en estado estacionario de amplitud de tensión, muestran un efecto bifásico con un efecto inotrópico negativo entre 0-5 uM e inotrópico positivo entre 5-20 uM. Las CDR de tensión sistólica (TS) y diastólica (TD) muestran también un comportamiento bifásico, disminuyendo ambas hasta 2 uM 2,4-DE. La CDR de tiempo medio de activación decae monofásicamente, con un IC50 de aprox. 13 uM. No se observaron cambios significativos para el tiempo medio de relajación. La frecuencia cardíaca también mostró un comportamiento bifásico, subiendo aprox. 30% a dosis menores a 1 uM, para disminuir y estabilizarse con dosis mayores a 1 uM. A dosis entre 0.5 y 10 uM aumenta marcadamente la generación de comportamientos arrítmicos, consistiendo éstos sobre todo en extrasístoles, pausas extrasistólicas y focos ectópicos, produciendo alteraciones de contractilidad. Estos resultados son consistentes con al menos un blanco de acción en los receptores Ryr-2, dado el cambio en tiempo medio activación y el comportamiento bifásico de la liberación de calcio, ante oxidación de los mismos.

La exposición aguda a azinfosmetil disminuye la contractilidad y excitabilidad cardíacas (#0071)

Mariana Alonso [1]; Verónica Bassaizteguy [1]; Florencia Savio [1]; Carlos Costa [1]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos.

Resumen:

El azinfosmetil (AZM) es un agroquímico sintético insecticida del grupo de los organofosforados, clasificado por la OMS de acuerdo a su toxicidad y riesgo ambiental como clase Ib (altamente peligroso para la salud). Como todos los organofosforados (OF), sus efectos neurotóxicos se deben a inhibición de la acetilcolinesterasa por reacción de su forma Glutaoxón con el grupo hidroxilo de Serina en sitio activo de la acetilcolinesterasa. Al respecto, comparte este mecanismo de acción con el Malatión, que sufre el mismo proceso. Desde el año 2016, por res. 107 del MGAP, su uso en el país se ha prohibido totalmente. Este OF ha sido y es usado también como arma química, a pesar de estar prohibido su uso por la Convención de Ginebra. En este trabajo decidimos evaluar si al igual que otros OF, AZM puede actuar directamente en corazones aislados y retroperfundidos mediante el método de Langendorff. La cinética de acción se da en plazos de perfusión más prolongados que para otros OF, demorando aprox. 10-30 min en llegar al estado estacionario. Nuestros resultados indican que AZM, al igual que otros OF tiene también un efecto inotrópico negativo, con un IC50 de 20 + 10 uM. La tensión diastólica aumenta con dosis crecientes de AZM. Los tiempos medios de activación y relajación aumentan 150% y 40% respectivamente. Tiene también un efecto cronotrópico negativo en dosis similares a las que provocan inotropismo negativo. Se acompaña de trastornos del ritmo frecuentes consistentes en contracciones alternantes y extrasístoles ventriculares frecuentes, especialmente a dosis intermedias. Estos datos sugieren que AZM es capaz de ejercer efectos a nivel cardíaco, independientes de su acción anticolinesterasa, probablemente por efectos en canales de Calcio tipo L/Ryr2 y/o potasio, dada la inestabilidad observada en procesos que dependen de la homeostasis de Calcio intracelular.

La exposición aguda al pesticida organofosforado clorpirifós empeora significativamente las respuestas a isquemia e injuria por reperfusión en corazones aislados en condiciones de cardioprotección por remifentanilo. (#0073)

Mariana Alonso [1]; Romina Cardozo [1]; Florencia Savio [2]; Marcelo Santos [2]; Emiliano Arena [2]; Carlos Costa [2]; Gonzalo Ferreira [2]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos. 2 - niversidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos.

Resumen:
El clorpirifós (CPF) es un insecticida organofosforado (OF) sintético, que tiene efectos directos en la contractilidad y excitabilidad cardíacas, según reportamos en Alonso et al., 2015 y 2017 (ver resumen en este evento). En situación control, la restricción a la retroperfusión con Tyrode 1.8 mM, anula la capacidad contráctil cardíaca en aprox. 4 minutos en cobayos, reestableciéndose en un 100% en aproximadamente 3 min de reperfusión. Cuando se someten los corazones aislados a una dosis de CPF comercial de 13.7 uM, la contractilidad disminuye y aumenta con la reperfusión, con una cinética similar a la situación control. Sin embargo los valores de amplitud contráctil alcanzados en la reperfusión son francamente inferiores (50%), al restablecimiento de 100% que se observa en la situación control. Este porcentaje de recuperación cae a 33% cuando se incrementa la dosis de CPF de 13.7 a 41.1 uM. La frecuencia cardíaca (fc) cae y se recupera de manera similar al inotropismo ante control y CPF comercial. Sin embargo la recuperación de la fc ocurre siempre a un 100% respecto a la situación anterior tanto en situación control como en exposición aguda a CPF comercial. No se observó un incremento de la tasa de arritmias entre la isquemia y reperfusión de situación control respecto a la misma ante exposición aguda a CPF comercial en dosis de 13 a 41 uM. Interesantemente, el uso de cardioprotectores opiáceos (remifentanilo 10 nM), empeora dramáticamente la situación frente a la exposición aguda a CPF comercial, conduciendo a la fibrilación ventricular. Nuestros resultados sugieren que CPF en dosis uM, altera corrientes por canales de Calcio-L u otros pro-contráctiles, (observadas en situación de independencia de isquemia o reperfusión), cambiando el efecto agonista de remifentanilo por un efecto antagonista del mismo cuando ha sido sometido previamente a la exposición aguda de CPF.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

El pesticida organofosforado clorpirifós ejerce directamente efectos tóxicos agudos sobre corazones aislados (#0075)

Mariana Alonso [1]; Romina Cardozo [1]; Florencia Savio [1]; Carlos Costa [1]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos.

Resumen:
El clorpirifós (CPF) es un agroquímico sintético insecticida del grupo de los organofosforados, clasificado por la OMS de acuerdo a su toxicidad y riesgo ambiental como clase II (moderadamente peligroso para la salud). Actúa por inhibición reversible de la acetilcolinesterasa. Previamente, reportamos que la exposición aguda a CPF comercial es capaz de originar daño directo a nivel cardíaco, independientemente de su acción anticolinesterasa (Alonso et al, 2015). Sin embargo, los excipientes sintéticos podrían explicar estos hallazgos. Con el objetivo de demostrar que los efectos observados se deben mayoritariamente al principio activo CPF de los preparados comerciales, repetimos los experimentos con el agroquímico purificado analíticamente. Nuestros resultados en corazones aislados muestran que la cinética de acción de CPF puro ejerce sus efectos a los 3 min de su aplicación extracelular, pudiendo estar limitado por la perfusión del sistema. Al igual que el preparado comercial, CPF puro tiene un marcado efecto inotrópico negativo (IC50∼40μM). El preparado puro al igual que el comercial, aumenta marcadamente la tensión diastólica (aprox. 10 veces). La velocidad de relajación con CPF puro, disminuye aprox. 20% y la de activación aumenta aprox. 20%. CPF puro es también cronotrópico negativo al igual que su preparado comercial con IC50 comparable. Ambos originan arritmias del tipo alternancia mecánico-eléctrica a dosis similares a las observadas para sus efectos crono e inotrópico. Estos resultados muestran que CPF ejerce directamente sus efectos sobre corazones aislados, posiblemente a través de canales de Calcio L, potasio y/o receptores de ryanodina/SERCA, independientemente de su acción anticolinesterasa y que los efectos reportados previamente por nuestro grupo, tampoco se explican por excipientes agregados a los preparados comerciales. Financiado por CSIC I+D 146 a GF

Purificación del dominio I de la albúmina sérica humana en *Pichia pastoris* (#0111)

Martina Steglich [1]; *Rodrigo Lombide* [1]; *Beatriz Alvarez* [1]; *Lucía Turell* [1]

1 - Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:
La albúmina sérica humana (HSA) está formada por tres dominios y contiene una única cisteína libre (Cys34) localizada en el dominio I (DomI). Las escasas defensas antioxidantes del plasma y la alta concentración de HSA la convierten en blanco de especies oxidantes. Este trabajo busca profundizar en la caracterización de los derivados oxidados de la Cys34 utilizando el DomI recombinante producido en la levadura *Pichia pastoris*. La proteína es secretada al medio de cultivo del cual se purificó por precipitación con sulfato de amonio. Junto con el DomI precipitó un pigmento de color marrón que podría corresponder a una mezcla compleja derivada de carbohidratos, con carga neta negativa. Para separar el pigmento del DomI se evaluaron dos cromatografías considerando un punto isoeléctrico de 5.4 para el DomI. Primero se realizó una cromatografía de intercambio aniónico (DEAE sefarosa; amortiguador inicio: acetato de amonio 20 mM, pH 5.2; elución: acetato de amonio 20 mM, pH 5.2, NaCl 1 M). Si bien se logró una purificación parcial del DomI, parte del pigmento quedó fuertemente adsorbido a la resina dificultando su regeneración. Segundo, se evaluó una cromatografía de intercambio catiónico (CM sefarosa; amortiguador inicio: acetato de sodio 20 mM, pH 5; elución: acetato de sodio 20 mM, pH 5, NaCl 1 M). El análisis por espectrofotometría y SDS-PAGE mostró la presencia de la mayor parte del pigmento y proteínas contaminantes en la fracción no unida, mientras que el DomI se encontró en el eluido. Al determinar la concentración de proteína de las fracciones con el método del ácido bicinconínico se observaron interferencias debido al pigmento, mientras que el método de Bradford resultó más adecuado. Actualmente se está trabajando en la reducción y cuantificación del tiol de la Cys34 para posteriormente comenzar con los ensayos cinéticos y estructurales.

Determinación de la actividad anti-proliferativa y liberadora de óxido nítrico de compuestos derivados de furoxano con potencial actividad anti-tumoral utilizando ensayos en tándem de Resazurina/Sulforodamina B/Griess. (#0154)

Florencia Victoria Pérez Lobo [1]; Virginia López [2]; Paola Hernández [1]

1 - Laboratorio de Epigenética e Inestabilidad Genómica. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. MEC.. 2 - Departamento de Química Orgánica. Facultad de Química. UdelaR..

Resumen:

El cáncer, es el resultado de alteraciones en ciertos genes que inducen el crecimiento descontrolado de células malignas. Esta enfermedad es la segunda causa de mortalidad más frecuente en el mundo y en general los tratamientos para combatirlo son poco eficaces y seguros por lo que la búsqueda de nuevos compuestos con acción anti-tumoral es de suma importancia. Recientemente, compuestos con acción liberadora de óxido nítrico (NO) han tenido un gran impacto para su potencial uso como anti-tumorales, y se ha comprobado que su actividad biológica anti-proliferativa está directamente relacionada con la capacidad liberadora de NO. La mayoría de los métodos que se utilizan actualmente para determinar la proliferación celular sólo miden un parámetro celular, por lo que son limitados y propensos al error. Este trabajo describe la determinación de la actividad anti-proliferativa *in vitro* a través de la medida de la actividad metabólica y la masa celular junto con la actividad liberadora de NO utilizando de una serie de ensayos en tándem para la misma muestra empleando los ensayos de resazurina, sulforodamina B y Griess. Adicionalmente, se evaluó el posible mecanismo de acción de los compuestos a través del ensayo cometa. En el presente estudio, se ha logrado desarrollar una forma rápida, sencilla, económica y reproducible para determinar la actividad anti-proliferativa y liberadora de NO en una misma muestra evitando la variación asociada con los diferentes ensayos y cambios de las condiciones externas. Los resultados obtenidos para los compuestos derivados de furoxano que fueron evaluados con esta serie de ensayos en tándem, mostraron una importante acción anti-proliferativa. Se ha demostrado una vez más que la entidad liberadora de NO es fundamental para obtener la actividad biológica deseada y responsable de inducir daño al ADN en células tumorales.

Detección de Electrófilos en Proteínas (#0168)

Ana Clara López [1]; Silvina Acosta [1]; Mauricio Mastrogiovanni [2]; Rafael Radi [3]; Ana Denicola [1]; Matías N. Möller [1]

1 - Lab. Fisicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 2 - Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 3 - Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

Los organismos están constantemente expuestos a especies reactivas de oxigeno (ROS), que se producen como productos secundarios del metabolismo o como efectores, y pueden oxidar proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Cuando la producción de especies reactivas supera la capacidad antioxidante, resulta en un estrés oxidativo que puede contribuir al daño celular y al envejecimiento. Uno de los principales blancos del daño oxidativo son las proteínas, dada su abundancia y reactividad. Recientemente encontramos que ciertas oxidaciones llevan a la formación de productos electrofílicos, particularmente en Tyr, His y Trp, que pueden seguir reaccionando y podrían constituir un mecanismo importante de daño proteico. En este trabajo estudiamos la formación de derivados electrófilos en péptidos y proteínas como indicadores del estado oxidativo. Para ello se sintetizaron distintas sondas nucleofílicas que nos permiten detectar dichos derivados, y se trabajó con glutatión conjugado al grupo fluorescente fluoresceína (FGSH). Las primeras pruebas se realizaron en el dipéptido glicil-tirosina (GY), que cuando se oxida con oxígeno singulete genera el derivado electrofílico glicil-HOCHDA (GH). GH reaccionó con la sonda FGSH, y el aducto fue caracterizado por espectrometría de masa y cuantificado por UV-HPLC. Luego se utilizó la proteína ribonucleasa, esta se oxidó utilizando diferentes sistemas: oxígeno singulete, radical peroxilo (generado por ABAP), radical hidroxilo (peróxido de hidrógeno y Fe^{2+}) y peroxinitrito. En todos los casos se evidenció la formación de productos electrófilos mediante la unión covalente con F-GSH. Los aductos en proteínas se cuantificaron utilizando cromatografía de exclusión molecular con detección UV-vis y fluorescencia. Se observó una variación cuantitativa en la formación de productos electrófilos generados por los distintos sistemas que eventualmente podría usarse como huella dactilar. Se sigue trabajando en la identificación de las modificaciones oxidativas y residuos que llevan a la formación de electrófilos en esta proteína.

PROPAGACIÓN DE MODIFICACIONES OXIDATIVAS PROTEICAS EN AMBIENTES HACINADOS. PROTECCIÓN POR AGENTES ATRAPADORES DE ESPÍN. (#0172)

Adrian Aicardo [1]; *Adriana Cassina* [1]; *Rafael Radi* [1]

1 - Dpto Bioquímica, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina.

Resumen:

La alta concentración a la que se encuentran las macromoléculas en el interior celular, lleva a un hacinamiento molecular que provoca particulares condiciones fisicoquímicas en el citosol y demás compartimientos celulares. En este trabajo proponemos que la alta densidad a la cual las proteínas están presentes en bioambientes celulares, permite reacciones radicalares de propagación entre diferentes cadenas polipeptídicas. En este trabajo estudiamos la propagación de modificaciones oxidativas proteicas en soluciones de albúmina sérica bovina (BSA) a concentraciones que simulan el hacinamiento molecular celular, mediante estudios de oximetría, fluorescencia, y resonancia paramagnética electrónica. Por otro lado, estudiamos el efecto de compuestos derivados de nitronas, tert-butil-fenilnitrona (PBN) y dimetilpirrolina N-oxido (DMPO), sobre los fenómenos de propagación observados. Clásicamente, estos compuestos han sido utilizados para evidenciar la formación de radicales en reacciones químicas o enzimáticas. A su vez, estos compuestos han sido probados en diferentes modelos animales de enfermedad, e incluso en ensayos clínicos, como agentes para la protección de modificaciones oxidativas. Por tanto, utilizamos estos agentes en nuestros experimentos y demostramos que tanto PBN, como DMPO, fueron capaces de interrumpir la propagación de reacciones radicalares. Estos resultados apoyan el concepto de que en ambientes hacinados, el daño oxidativo puede ser inducido y amplificado via reacciones radicalares en cadena, mediados por proteínas y dependientes de oxígeno, y que a su vez, compuestos atrapadores de espín son capaces de interrumpir la propagación de estas modificaciones.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Producción recombinante de la proteína SrpA de Aspergillus nidulans, en Escherichia coli, para la generación de anticuerpos (#0183)

María Agustina González Cifuentes [1]; Manuel Sanguinetti Miralles [1]; Ana Cecilia Ramón Pacheco [1]

1 - Sección Bioquímica - Depto. de Biología Celular y Molecular - Facultad de Ciencias (UDELAR).

Resumen:

Nuestro grupo de trabajo estudia el efecto del uso diferencial de codones sobre la cinética de traducción y su relación con la estructura y funcionalidad del transportador de urea de Aspergillus nidulans, UreA. Dentro de esta línea se generó un mutante de este transportador en el cual dos codones de uso poco frecuente (codones 24 y 25; 24/25) que codifican para aminoácidos presentes en el extremo N-terminal de UreA, se sustituyeron por dos codones de uso frecuente. El resultado fue una disminución en los niveles de UreA en la membrana celular y por ende un crecimiento deficiente sobre urea. Se comprobó que estos efectos no se debían a una mayor degradación del transportador ni tampoco a diferencias en los niveles de ARNm entre la cepa salvaje y el mutante, ni a alteraciones en la estructura secundaria. En base a estos resultados, la hipótesis del grupo es que la mutación sinónima de los codones 24/25 afecta etapas muy tempranas en la síntesis de UreA. Se plantea entonces la posibilidad de que la mutación en los codones 24/25 fuera la responsable de la pérdida de una pausa traduccional. Ésta sería necesaria para la correcta interacción de los complejos ribosoma-cadena polipeptídica naciente que traducen UreA (RNC-UreA) con la partícula de reconocimiento de señal (SRP). Para determinar el posible rol de los codones 24/25 en la interacción de los RNC-UreA con SRP, se están desarrollando experimentos basados en ensayos de traducción in vitro de A. nidulans. Para realizar estos experimentos es necesaria la producción de anticuerpos que reconozcan a SrpA (proteína de A. nidulans homóloga a Srp54, subunidad más conservada del complejo SRP). Para cumplir con este fin se llevó a cabo la producción en forma recombinante de SrpA en Escherichia coli.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Optimización y caracterización de un modelo murino de tumorigénesis cerebral de uso potencial en la investigación diagnóstica y terapéutica (#0185)

Ignacio Mastandrea [1]; Gabriel Otero [1]; Eugenia Isasi [2]; Mauricio Cabrera [3]; Pablo Díaz-Amarilla [2]; Silvia Olivera-Bravo [2]

1 - Neurobiología Celular y Molecular (NBCM), IIBCE/Lab. de I+D de Moléculas Bioactivas, Centro Universitario Región Litoral Norte.. 2 - Neurobiología Celular y Molecular (NBCM), IIBCE. 3 - Lab. de I+D de Moléculas Bioactivas, Centro Universitario Región Litoral Norte.

Resumen:

Los gliomas son los tumores más peligrosos del sistema nervioso central con una alta incidencia de muerte dependiendo de las características y estadío al momento del diagnóstico. La ausencia de marcadores confiables sobretodo en etapas tempranas y terapias anti-glioma eficaces conspiran contra el pronóstico favorable para quienes sufren de esta enfermedad. La investigación en ambas problemáticas es altamente dependiente de modelos animales que reproduzcan fielmente los tumores humanos. Los modelos de trasplante celular son de los más populares, sin embargo, los hallazgos patológicos de los tumores inducidos son a menudo diferentes de los gliomas humanos y la demanda de inmunosupresión que usualmente requiere el trasplante impide reproducir las interacciones tumor-microambiente que ocurren en los pacientes. En este trabajo se presenta el desarrollo tumorigénesis cerebral utilizando el carcinógeno N-metil-N-nitrosourea (MNU) en forma directa o indirecta. La modalidad de trasplante singénico ortotópico de células transformadas con MNU en animales inmunocompetentes logró inducir neoplasmas únicos en el 90% de los animales inyectados, en ubicaciones y a tiempos reproducibles en todos los casos. La caracterización primaria reveló que los tumores desarrollados son infiltrantes y expresan marcadores de células madre tumorales y de precursores de progenitores gliales. La masa tumoral primaria presenta zonas proliferativas con células gigantes que muestran núcleos atípicos multi-lobulados y vasos sanguíneos de apariencia anormal. Todas características, similares a las encontradas en gliomas humanos y difícilmente reproducibles en los modelos usuales. Dado que el modelo desarrollado supera varias de las principales desventajas asociadas a los modelos de trasplante celular proponemos que puede ser una potencial herramienta para el estudio de la biología básica de los gliomas, así como para la investigación diagnóstica y terapéutica.

Preparación y caracterización de persulfuros de cisteína (#0189)

Dayana Benchoam [1]; *Beatriz Alvarez* [1]; *Ernesto Cuevasanta* [1]

1 - Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

Los persulfuros (RSSH) son probables intermediarios en la inducción de los efectos fisiológicos reportados para el sulfuro de hidrógeno (H_2S) en mamíferos. Este trabajo muestra la puesta a punto de un método para obtener preparados de persulfuros con el fin de estudiar su estabilidad y sus propiedades como nucleófilo y electrófilo. Se ha reportado que se obtiene persulfuro de cisteína a partir de cistina por acción de la cistationina β-sintasa (CBS)[1]. En primer lugar, se purificó CBS humana trunca, carente de los 143 aminoácidos C-terminales, a partir de una cepa BL-21 (DE3) de *Escherichia coli* transformada con el plásmido pGEX4T1/hCBSΔC143 que codifica para la CBS unida a la glutatión S-transferasa. La CBS fue purificada por cromatografía de afinidad con glutatión sefarosa y la etiqueta removida con trombina. Una vez obtenida la enzima, se incubó con cistina para formar persulfuros, que fueron cuantificados por el método de cianólisis fría. Este método consiste en la reacción entre cianuro y los persulfuros para formar tiocianato y en la posterior detección del tiocianato formado con cationes férricos en medio ácido que forma un complejo coloreado que absorbe a 460 nm. Se comparó el rendimiento a distintos tiempos y diferentes concentraciones de sustrato y enzima. Además, se evaluó el efecto generado por la adición de piridoxal-5'-fosfato, el cofactor catalítico de la CBS. Si bien este método presenta ciertos inconvenientes debido a la baja solubilidad de la cistina, se logró formar persulfuros de cisteína exitosamente, aunque se obtuvo un rendimiento bajo, 3-4 % respecto a la cistina inicial. Actualmente se está explorando la formación de H_2S a partir de la reacción entre glutatión y el persulfuro de cisteína obtenido a partir de cistina y CBS. [1]Yadav, P.K. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, 138, 289-299.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Secuenciación, ensamblado y anotación del transcriptoma del pez eléctrico autóctono Gymnotus omarorum (#0190)

Guillermo Eastman [1]; Santiago Radío [1]; Harold Zakon [2]; Ana Silva [3]; José R. Sotelo Silveira [1]

1 - Departamento de Genómica, IIBCE – MEC. 2 - Department of Neuroscience, University of Texas at Austin, USA. 3 - Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Resumen:
Gymnotus omarorum es una especie solitaria de pez eléctrico, de descarga débil dulceacuícola, que se distribuye en la región subtropical sudamericana siendo, dentro del orden Gymnotiformes, la especie más ampliamente distribuida y abundante en Uruguay. G. omarorum constituye un tradicional modelo neuroetológico que ha aportado al conocimiento anátomo-funcional de electrorrecepción activa. Recientemente, se ha identificado que esta especie de pez teleósteo despliega agresión exclusivamente territorial, única hasta el momento, lo que lo converte en un modelo de elección para la búsqueda de mecanismos neuroendócrinos que modulan este comportamiento. Un escollo importante para el desarrollo de estas investigaciones es la falta de información genómica de la especie, que imposibilita abordajes moleculares como la evaluación de la expresión génica diferencial. Con dicho objetivo, se secuenciaron de manera masiva muestras de ARN provenientes de cuatro tejidos distintos de dos ejemplares de esta especie, obteniendo 20 millones de lecturas pareadas por tejido. Las secuencias fueron analizadas conjuntamente y se ensambló un transcriptoma de referencia utilizando Trinity. Distintos programas como Transrate, Transdecoder, Blastx, Trinotate, Findorf, GhostKOALA e Interpro fueron utilizados para depurar el ensamblado y corregirlo, así como para encontrar transcriptos codificantes para proteínas y proceder a su anotación. Brevemente, el transcriptoma de referencia cuenta con 284.000 transcriptos, donde 30.000 representan el 90% del total de valores de expresión. Mientras que Transdecoder identificó 94.000 ORFs de más de 100 aminoácidos, Findorf encontró 48.600 proteínas, siendo la mitad full length. Se construyó un archivo de anotación muy extenso, para el transcriptoma generado, con información para casi 50.000 de los transcriptos identificados. Este trabajo aporta por primera vez información genómica de la especie mediante la secuenciación del transcriptoma y la anotación de genes de G. omarorum y se suma al banco de datos de otras 4 especies del orden Gymnotiformes disponibles en www.efishgenomics.integrativebiology.msu.edu. Financiación: ANII-FCE_1_2014_1_104272

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación biológica de un nuevo compuesto basado en vanadio como posible agente antichagásico (#0218)

Florencia Mosquillo [1]; Ignacio Machado [2]; Pablo Smircich [1]; Dinorah Gambino [2]; Beatriz Garat [1]; Leticia Pérez-Díaz [1]

1 - Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias. 2 - Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química.

Resumen:
La enfermedad de Chagas es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, y constituye un importante problema de salud pública principalmente en América Latina, perteneciendo al grupo de las enfermedades desatendidas. En busca de potenciales agentes antichagásicos, se sintetizó y caracterizó un nuevo compuesto basado en vanadio. En este trabajo se evaluó la actividad de este compuesto, el cual muestra valores de IC_{50} en el rango micromolar sobre *T. cruzi* con un buen valor de índice de selectividad. Para evaluar el efecto de estos compuestos en la morfología de parásitos tratados, se tomaron imágenes de microscopía. Se observa en estos parásitos morfología redondeada, pérdida de flagelo y pérdida de movilidad a medida que aumenta la concentración de compuesto. Con el fin de profundizar el estudio del modo de acción del mismo, se utilizaron sondas fluorescentes como marcadores de apoptosis y necrosis, para determinar el mecanismo de muerte celular que induce. En las condiciones analizadas no se observa una tendencia directa a la muerte celular por ninguno de los mecanismos estudiados. La complementación de este ensayo con marcadores de viabilidad y vitalidad celular para determinar el efecto sobre el metabolismo celular, no mostró cambios significativos de la actividad esterasa en parásitos tratados. Además, se observa una disfunción mitocondrial mediada por una inducción del colapso del potencial de membrana. Para ampliar este análisis biológico, se analizaron los cambios globales en el transcriptoma de parásitos incubados con el complejo. Por ontología génica se observan modificadas las funciones oxidorreducatasa y de transporte transmembrana y a nivel celular las mitocondrias. Se espera al profundizar este análisis identificar posibles vías afectadas para entender el modo de acción de este prometedor compuesto. Por otro lado, se pretende complementar estos análisis con estudios proteómicos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Exploración de *Cnesterodon decemmaculatus* como especie centinela de la exposición a floraciones de *Microcystis* sp. (#0230)

Natalia Badagian [1]; Maite Letamendía [2]; Gustavo Saona [3]; Macarena Pírez [4]; Daniel Carnevia [2]; Beatriz Brena [1]

1 - Cátedra de Bioquímica, Facultad de Química Universidad de la República. 2 - Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 3 - Servicio de Evaluación de la Calidad y Control Ambiental, Intendencia de Montevideo. 4 - Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República.

Resumen:

En el Río de la Plata y en los grandes embalses de nuestro país y la región las floraciones de *Microcystis* dominan el fitoplancton especialmente durante la temporada estival, y sus efectos ecosistémicos requieren mayor atención. En estos cursos de agua los niveles de toxinas (microcistinas, MCs) alcanzan máximos estacionales de 10-20.000 μgL^{-1} o más, representando un riesgo muy elevado para humanos o animales tanto por contacto directo como por consumo de agua o alimentos contaminados. Hemos desarrollado métodos inmunoquímicos sencillos, selectivos y económicos para determinar MCs en agua y para el estudio de bioacumulación en tejidos animales. Sin embargo, es necesario complementar estas determinaciones con herramientas bioanalíticas que permitan detectar sus efectos tóxicos en forma sencilla. Para ello, se realizaron dos bioensayos utilizando "madrecitas de agua" *(Cnesterodon decemmaculatus),* especie nativa del Sur de Sudamérica, la cual representa una buena herramienta para evaluar la calidad ambiental de los recursos hídricos. Los bioensayos se realizaron con una floración de *Microcystis* sp. (conteniendo MCs entre 16 y 5500 μgL^{-1}) durante 96 horas (n=10 por duplicado de cada dosis). La concentración de MCs totales de la floración se analizó mediante ELISA y sus variantes químicas fueron identificadas por MALDI-TOF, detectándose mayoritariamente MCLR, acompañada por MCRR. Con los resultados del primer bioensayo (55-5500 $\mu gMCsL^{-1}$) se pudo estimar un valor CL_{50} para esta floración (aprox. 1000 $\mu gMCsL^{-1}$). Los peces se fijaron para análisis histopatológico. Aún a concentraciones subletales, la histopatología mostró efectos notorios en diversos tejidos como edema branquial, alteración de la arquitectura del hígado, intestino con zonas de necrosis y pérdida de unión celular. Si bien se requieren mayores estudios, dado que es una especie presente en numerosos ecosistemas acuáticos, estos resultados sugieren que *C. decemmaculatus* tiene potencial como especie centinela de exposición a MCs.

Viernes

Sala S4 - SUG y BIOF

14:30 - 16:15

SBF

Simposio SBF_1: Modelos de Redes Neurales y de Biología de Sistemas

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

¿Sirven para algo las oscilaciones cerebrales? El caso del lenguaje y de la lectura. (#0255)

Juan Carlos Valle Lisboa [1]; Camila Zugarramurdi [2]; Manuel Carreiras [3]

1 - Facultad de Psicología, Universidad de la República. 2 - Facultad de Psicología, Unviersidad de la República. 3 - Basque Center for Brain and Language.

Resumen:
Las oscilaciones de la actividad cerebral fueron descubiertas por los años '20 del siglo pasado. Desde el comienzo se ha debatido su significación. En concreto, no es claro si los cambios de potencia de las diferentes bandas de frecuencia que acompañan los varios estados mentales son, o bien un epifenómeno, o uno más de los mecanismos cerebrales o la esencia misma del funcionamiento cerebral. En la charla presentaré someramente las tres posiciones y sus razones. Como ejemplo de la posición intermedia, mostraré una aplicación de la idea de que las oscilaciones podrían jugar un papel esencial en el procesamiento del habla, permitiendo a la vez detectar los componentes de la entrada que son relevantes para el habla y empaquetarlos para el procesamiento subsiguiente. Esta idea ha llevado a investigadores en el área de la Neurociencia Educativa a postular que justamente una alteración del funcionamiento de los sistemas oscilatorios lleva a la adquisición de representaciones fonémicas alteradas que dificultan el aprendizaje de la lectura en una buena parte de los casos de dislexia. A los efectos de contribuir a fundamentar esta teoría, diseñamos 25 tareas comportamentales en android para ser ejecutadas en dispositivos móviles. Utilizamos 3 tipos de tareas: a) Tareas que miden la capacidad cognitiva general, b) Tareas de conciencia fonológica, c) tareas de seguimiento de oscilaciones. Utilizando las tablets del plan Ceibal concurrimos a 32 escuelas obteniendo la participación de algo más de 600 niños durante 4 sesiones cada uno. Mediante los puntajes obtenidos en las tareas seleccionamos una sub-muestra de 60 niños para seguir electrofisiológicamente. Si la teoría oscilatoria es correcta, el componente oscilatorio comportamental y el electrofisiológico agregarán sensibilidad y especificidad a la predicción en las dificultades del aprendizaje de la lectura. Presentaré los resultados obtenidos hasta el momento.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Localización robótica robusta mediante la integración de información kinestésica y visual (#0227)

Gonzalo Tejera [1]

1 - Instituto de Computación, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República.

Resumen:
Se ha demostrado que las neuronas grilla y de lugar juegan un rol importante en la cognición espacial de las ratas. Las neuronas grilla proporcionan un odómetro neuronal para la integración de trayectorias a partir de información propioceptiva. Por otro lado, las neuronas de lugar combinan información multimodal, alotética e idiotética, para formar una representación global de la localización en el espacio. En este trabajo se presenta un módulo basado en neuronas grilla y su integración a un modelo de cognición espacial teniendo en cuenta estudios del comportamiento y la neurofisiología de las ratas. Palabras clave: cognición espacial, neuronas grilla, neuronas de lugar, hipocampo, corteza entorrinal, localización robótica

Algoritmos matemáticos para el problema de la Cognición Semántica (#0228)

Jorge Graneri [1]

1 - Instituto de Matemática y Estadística Rafael Laguardia, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República.

Resumen:
La memoria semántica es aquella que tiene que ver con nuestro conocimiento del mundo, los objetos y sus propiedades. Se sabe que dicha memoria está apoyada en representaciones basadas en la percepción y la acción. Nuestro conocimiento de los objetos (ya sea animados o inanimados) se basa en nuestra percepción sensorial de los mismos y, cuando corresponde (por ejemplo para herramientas y utensilios) en el conocimiento de las tareas para las que fueron creados y en la forma de usarlos. Varias teorías han sido formuladas para explicar la forma en la que nuestro cerebro integra la información necesaria y construye nuestra memoria semántica. El presente trabajo muestra algunos modelos matemáticos para este problema. Dichos modelos no pretenden representar el problema en toda su complejidad, sino ir incorporado de una forma más simple y gradual algunas de sus características, a los efectos de emular algunos de los aspectos observados en la realidad. La intención es que dichos algoritmos emulen algunas tareas cognitivas, como por ejemplo, reconocer un conjunto de objetos a partir de sus propiedades. En el contexto en el que nuestros problemas están planteados, un objeto o animal está representado por un vector de ceros y unos en donde los unos indican la presencia de ciertas propiedades y los ceros la ausencia de otras. Interesa ver si los algoritmos en cuestión, realizando una cantidad finita de operaciones son capaces de separar los vectores de entrada correctamente (lo que equivaldría, en el caso de una persona a identificarlos correctamente). Mostramos aquí de qué manera los algoritmos se adaptan a la correcta resolución de las tareas cognitivas y qué formas de deterioro de los mismos podrían ponerse en correspondencia con los deterioros observados en la vida real en pacientes con diversas afecciones cognitivas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Modelos neurales y minería de datos: Una aplicación a la epidemiología del cáncer en el Uruguay (#0229)

Gabriel Slomovitz [1]

1 - Núcleo de Ingeniería Biomédica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República.

Resumen:
El cerebro humano normalmente posee la capacidad de extraer y clasificar datos a partir de informaciones empíricas. Estos datos pueden ser organizados en tópicos con propiedades comunes (v.g. animales cuadrúpedos, teléfonos celulares, automóviles híbridos). Esta capacidad de clasificar la complejidad del mundo exterior en tópicos (conceptos) ha sido una guía en el desarrollo de modelos neuronales. En particular, las memorias matriciales poseen capacidades de clasificación. Es interesante que un procedimiento de minería de datos, el Análisis Semántico Latente (LSA), utilice una estructura matemática análoga a la de las memorias matriciales para procesar extensas colecciones de datos codificados. La posterior aplicación del LSA como modelo del aprendizaje en niños, refuerza aún más esta analogía. El poder computacional actual permite al LSA extraer tópicos a partir de información masiva cuya complejidad excede las capacidades usuales del cerebro humano. Aquí, buscamos analizar la capacidad del LSA para analizar la distribución de distintas formas de cáncer en diferentes regiones de Uruguay (información cordialmente cedida por el Dr. E. Barrios y el Ing. Rafael Alonso de la Comisión Honoraria de Lucha contra el Cáncer). Una primera constatación es que los métodos usuales (v.g. correlaciones estadísticas) quedan en parte sesgados y dominados por la alta prevalencia de ciertas formas de cáncer que oscurecen la distribución de formas menos frecuentes. Esto también limita la habilidad del LSA para determinar si existen agrupaciones regionales de las formas de cáncer de menor frecuencia. Para ello, se estudió un sistema reducido con una matriz de datos que sólo retiene las categorías diagnósticas más raras. En base al uso del LSA en esta matriz reducida, pueden inferirse ciertas variaciones en la correlación entre distribuciones de cáncer no visibles con otros métodos de estudio. Se requiere de futuros trabajos para afinar los resultados y realizar evaluaciones más exhaustivas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Biestabilidad: Estudio de algunos modelos de apoptosis (#0035)

Alejandra Rojas López [1]; *Luis Acerenza* [1]

1 - Laboratorio de Biología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

La apoptosis, un mecanismo de muerte celular programada, puede desencadenarse por señales externas, como ligandos de muerte, privación de factores de crecimiento, o señales internas como estrés oxidativo y daño en el DNA. Sus dos vías principales de activación son la intrínseca y la extrínseca, respectivamente activadas por señales internas y externas. Algunos de los modelos matemáticos de apoptosis reportados en la bibliografía exhiben biestabilidad. En el presente trabajo se utilizaron dos modelos de activación de la apoptosis, uno para la vía intrínseca [1] y otro para la vía extrínseca [2], que presentan biestabilidad. El modelo de la vía intrínseca se redujo, eliminando el inhibidor XIAP, no obteniéndose biestabilidad para ninguna de las leyes de velocidad ni parámetros ensayados. Este resultado resulta llamativo dado que la estructura del modelo presenta varios feedbacks positivos. A su vez se redujo el modelo de la vía intrínseca, eliminando los inhibidores IAP y BAR. En principio, no se obtuvo comportamiento biestable para ningún conjunto de valores de parámetros. Sin embargo, al modificar las leyes de velocidad, elevando al cuadrado las concentraciones de los activadores, se recupera la biestabilidad. Finalmente, al combinar el modelo reducido de la vía intrínseca con el modelo reducido de la vía extrínseca, con leyes de velocidad modificadas, se obtuvo para ciertos valores de parámetros un comportamiento biestable. En otras palabras, se logró recuperar la biestabilidad en la vía intrínseca, aún en ausencia de inhibidores, al incorporar al modelo reducido, un módulo correspondiente a la vía extrínseca con leyes de velocidad modificadas. [1] Legewie S et al. (2006) Mathematical Modeling Identifies Inhibitors of Apoptosis as Mediators of Positive feedback and Bistability. PLoS Computational Biology, 2(9): e120 [2] Eissing T et al. (2004) Bistability analyses of a Caspase activation Model for Receptor Induced Apoptosis. Journal of Biological Chemistry, 279, 36892-36897

Sábado

09:00 - 10:45

SBF

Simposio SBF_2: Calcio intracelular y sus vías de señalización

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Un nuevo rol para la onda fugaz de calcio en la cicatrización del endotelio de córnea (#0030)

Cristian Justet [1]; Julio A. Hernández [2]; Alicia Torriglia [3]; Silvia Chifflet [1]

1 - Facultad de Medicina, UdelaR. 2 - Facultad de Ciencias, UdelaR. 3 - INSERM Paris Descartes University, Pierre et Marie Curie University.

Resumen:

La cicatrización de una herida requiere de la coordinación de varios procesos celulares: migración, proliferación y muerte programada de las células cicatriciales. Uno de los eventos de señalización que ocurre durante la cicatrización de una monocapa celular es una onda fugaz de calcio (OFCa), la que se inicia instantáneamente luego de realizada una herida. Hemos previamente encontrado que, en células de endotelio de córnea de bovino en cultivo (BCEC), la inhibición de la OFCa tiene escaso efecto sobre la migración. En este trabajo mostramos que, durante la cicatrización de BCEC, ocurren dos etapas de apoptosis caspasa dependiente. La primera es independiente de la distancia migrada, tiene un máximo a las dos horas de realizada la herida y finaliza aproximadamente a las seis horas. En la segunda etapa, evidenciable a partir de las seis horas, la tasa de apoptosis es directamente proporcional a la distancia migrada. Por otra parte, nuestros resultados indican que la inhibición reversible de la OFCa reduce la tasa de proliferación (~30%) pero incrementa la tasa de apoptosis (~100%). Además, hemos encontrado que la inducción de un incremento de calcio similar a la OFCa mediante la incubación con ATP restaura los valores control de proliferación y apoptosis. Resultados más recientes de nuestro laboratorio sugieren que las oscilaciones de calcio exhibidas por algunas células durante la OFCa dependen de la concentración de ATP liberado al medio extracelular. Hemos asimismo observado que la inducción de un incremento de la frecuencia de oscilaciones de calcio provoca una reducción de aproximadamente 50% en la tasa de apoptosis durante la primera etapa de muerte celular, sin afectar la segunda. En su conjunto, nuestros resultados indican que, durante la cicatrizacion en BCEC, la OFCa participa en el desencadenamiento de la proliferación celular y en el control de la apoptosis excesiva.

Medida de transitorios de Ca^{2+} mioplasmáticos y dentro del retículo sarcoplasmático en el músculo esquelético de rana. (#0152)

Fernando Olivera [1]; Gonzalo Pizarro [1]

1 - Departamento de Biofísica. Facultad de Medicina (UDELAR).

Resumen:

En células musculares esqueléticas de rana cargadas con Mag Fluo4 AM estudiadas bajo control de voltaje en doble trampa de vaselina luego de 2 horas a temperatura ambiente para permitir la remoción de la forma aniónica del indicador presente en el citoplasma las señales de Ca^{2+} de Mag Fluo4 se originan en el retículo sarcoplasmático (RS). La medida simultánea de señales de Ca^{2+} de origen citoplasmático reportadas por el indicador Rhod2 agregado a la solución intracelular como sal de K permitió estudiar el poder amortiguador de Ca^{2+} del RS que es aproximadamente constante en el rango de cambio de Ca^{2+} libre ($\leq$0.1 mM) durante un pulso a 0 mV durante 100 ms. El estudio del acoplamiento excito-contractor (AEC) con un indicador en el RS permite revisitar el efecto de amortiguadores de Ca^{2+} extrínsicos aplicados a alta concentración citoplasmática, experimento controversial debido a la competencia entre el amortiguador y el indicador citoplasmático. Por estar en distintos compartimientos indicador y amortiguador no compiten, por ello los cambios en la señal fluorescente son debidos exclusivamente a modificación de la liberación de Ca^{2+} desde el RS. Se comparó el efecto de 40 mM EGTA con 20 mM BAPTA, soluciones con igual poder buffer de equilibrio pero por su kon 100 veces mayor BAPTA tiene una distancia de captura 7 veces menor. Ambos amortiguadores reducen el Ca^{2+} libre de reposo del RS de 0.4 a 0.1 mM. BAPTA disminuye significativamente la cantidad de Ca^{2+} liberado por una depolarización de 200 ms, sugiriendo una inhibición de la permeabilidad de Ca^{2+} de la membrana del RS. Simulaciones de AEC con un modelo de dos compartimentos (citoplasma y RS) reproducen razonablemente las observaciones asumiendo una importante disminución de la permeabilidad en presencia de BAPTA. *Financiado por PEDECIBA.*

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desacople despolarización-contracción por alto Ca^{2+} mioplasmático en el músculo esquelético de rana estudiado bajo control de voltaje. (#0171)

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

1 - Departamento. de Biofísica. Facultad de Medicina. UdelaR..

Resumen:
En células musculares esqueléticas sin membrana superficial (mecánicamente removida) la aplicación de una solución con alta [Ca^{2+}] suprime la liberación de Ca^{2+} producida por despolarización de los túbulos transversos resellados. En esta preparación el estado del sensor de voltaje (SV) no puede ser estudiado. Aquí reportamos el efecto de la [Ca^{2+}] intracelular (Cai) elevada sobre el acoplamiento despolarización-contracción en células de músculo de rana con su membrana intacta bajo control de voltaje. Cai se aumentó por: 1) aplicación directa en la solución intracelular, 2) por un ionóforo de Ca^{2+} que facilita su ingreso desde el medio extracelular, 3) por la movilización farmacológica del Ca^{2+} desde el retículo sarcoplasmático (RS). La función de los SV, estimada por el movimiento de carga (MC) se redujo al 57.6+7.1 % del valor de referencia, el flujo de liberación de Ca^{2+} (FL) al 15.6+2.7 %. En las células donde se liberó farmacológicamente el contenido de Ca^{2+} del RS se redujo al 54.7+6.9 %. La reducción del FL corregida por la reducción del contenido y del MC fue al 55.2+5.6 % del valor de referencia sugiriendo que la mitad de los SV que permanecen funcionales están desacoplados de los canales de liberación que normalmente controlan. Este efecto es comparable al reportado en fibras fatigadas y apoya un rol del aumento de Cai en la fatiga. Leupetina, un inhibidor de calpaínas, aplicado intracelularmente previno los efectos descriptos. En el 40 % de las fibras desacopladas la liberación de Ca^{2+} perdió el estricto control por el voltaje de membrana (Vm): Cai continuó subiendo por centenas de milisegundos luego de repolarizado Vm a su valor de reposo sugiriendo que los canales desacoplados son activados por otro mecanismo, probablemente por Ca^{2+}. *Financiado por CSIC y PEDECIBA.*

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

El módulo sensor de voltaje del acoplamiento excitación-contracción en el músculo de mamífero: interacción con el canal de liberación de Ca^{2+}. (#0150)

Juan Ferreira [1]; Germán Pequera [1]; Carlo Manno [2]; Eduardo Ríos [2]; Gustavo Brum [1]

1 - Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina. 2 - Section of Cellular Signaling, Department of Molecular Biophysics and Physiology.

Resumen:

En el músculo esquelético, el módulo sensor de voltaje (VSM) del canal de Ca^{2+}, $Cav_{1.1}$, presenta la particularidad de controlar dos procesos: la corriente de Ca^{2+} de membrana (I_{Ca}) y la liberación de Ca^{2+} intracelular a través de los receptores de rianodina (RyR) del retículo sarcoplasmático. Su respuesta a los cambios de potencial de la membrana puede ser monitoreada registrando los movimientos de carga una vez bloqueadas las corrientes iónicas. A su vez este proceso se correlaciona con la liberación de Ca^{2+} intracelular. El estudio de estos procesos permitió avanzar en la comprensión del acoplamiento excitación-contracción (AEC) en el músculo esquelético, fundamentalmente en músculo de anfibio. En este trabajo mostramos que las propiedades del sensor de voltaje del AEC en el mamífero son cualitativamente similares a las de la rana. A potenciales despolarizados, la liberación de Ca^{2+} se encuentra totalmente inactivada y se acompaña de un desplazamiento de la distribución de carga hacia voltajes más negativos. Estos cambios pueden ser interpretados en base a un modelo de 4 estados del VSM similar al utilizado en el anfibio donde se proponen dos estados activados y dos estados inactivados. Las transiciones entre estos estados producen dos especies de carga, denominadas carga 1 y cara 2, que se interconvierten en función del potencial de membrana. Se realizaron experimentos en donde se midió la inactivación de la liberación de Ca^{2+} en forma simultánea con la de I_{Ca} en respuesta a cambios del potencial de mantenimiento de la membrana. Los resultados obtenidos permiten especular sobre la estequiometria funcional entre el VSM y el RyR. Financiado por CSIC, ANII

Domingo

Carpa C3 - SNU

11:00 - 12:30 **SBF**

Simposio SBF_3: Radiobiología y Genómica

Daño al genoma y epigenoma espermático y su efecto sobre la fertilización. (#0064)

Mariano Eliécer Acosta Lobo [1]

1 - Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

Resumen:
El espermatozoide es una célula particular cuya función es proporcionar el 50% del genoma nuclear que caracteriza un organismo diploide. Para esto, el espermatozoide pierde durante la espermiogénesis la mayoría de su citoplasma y organelas, manteniendo solo las estructuras necesarias para la fecundación. Para que ocurra un normal desarrollo del embrión es crucial que los espermatozoides mantengan la integridad de su cromatina, membrana y un epigenoma, incluyendo algunos ARNs. Se ha establecido que el espermatozoide no solo contribuye con el ADN al desarrollo embrionario sino también con ARNs producidos durante la espermatogénesis y que regulan expresión génica temprana durante las primeras divisiones celulares. Precisamente, en los últimos años ha aumentado la evidencia exhibiendo que los daños a la cromatina o ADN espermático pueden afectar negativamente la fertilidad y por ende el desarrollo embrionario, y que aunque es normal que en un eyaculado haya una proporción de espermatozoides con fragmentación del ADN, los individuos identificados como subfértiles o estériles generalmente tienen una proporción mayor de espermatozoides con ADN fragmentado que aquellos determinados como fértiles. Es por ello que las causas de la fragmentación del ADN espermático y el daño a la cromatina, así como las técnicas para diagnosticarlas se ha convertido en un tema actual en medicina reproductiva. No obstante, a pesar del intenso interés clínico en la célula espermática como un predictor de la fertilidad masculina, la calidad del ADN no se evalúa usualmente en un análisis rutinario de semen. Esto debido principalmente al hecho de que las tecnologías actuales para esta evaluación son logísticamente complejas y tecnológicamente sofisticadas. En esta presentación se mostrará una actualización en las causas de los daños al genoma y epigenoma espermático, su efecto sobre la fertilización y cuáles son las principales técnicas para su evaluación, sus ventajas y desventajas.

Epigenómica del desarrollo embrionario en bovinos (#0260)

Nelida Rodríguez Osorio [1]

1 - Universidad de la República.

Resumen:
Durante el desarrollo embrionario temprano ocurren grandes trasformaciones en el perfil epigenético (metilación global del DNA y modificaciones de las histonas), que determinan la expresión génica embrionaria. Durante los primeros clivajes, el DNA de origen paterno y materno son desmetilados de forma diferencial, para ser metilados *de novo* entre la etapa de mórula y blastocisto. Las múltiples modificaciones en las histonas contribuyen, a su vez al estado de "silenciamiento" o "actividad" de los genes. A pesar de su relevancia desde el punto de vista básico o aplicado, la epigenómica embrionaria aún se enfrenta a serias limitaciones. La primera de ellas, es la escasez de material que puede ser recuperado de embriones tempranos. En segundo lugar, está la variabilidad entre las células embrionarias, las cuales comienzan a diferenciarse para dar origen al trofectodermo y al embrioblasto. Pero la principal limitación es el hecho de que el cultivo *in vitro* de embriones es causante *per se* de alteraciones en las marcas epigenéticas. Usando *pools* de 5 embriones bovinos homogéneos, hemos obtenido suficiente DNA para estudiar el perfil global de metilación o el grado específico de metilación de genes particulares, mediante tratamiento con bisulfito de sodio seguido de *High Resolution Melting* HRM, o secuenciación masiva. Para evaluar la expresión génica, hemos evaluado RNA de *pools* de 3 embriones bovinos homogéneos mediante microarreglos, y PCR cuantitativa. Al comparar los resultados de embriones producidos *in vitro* con embriones en la misma etapa de desarrollo, obtenidos de vacas superovuladas e inseminadas, hemos encontrado diferencias significativas en el perfil de metilación del DNA, en la expresión génica y en las marcas de las histonas. Sin embargo, el modelo *in vitro* sigue siendo la mejor alternativa para estudiar la epigenética del desarrollo embrionario.

Análisis de la capacidad radioprotectora de la infusión de Ilex paraguariensis y sus derivados bioactivos. (#0267)

Burix Mechoso [1]; Lourdes Blanc [1]; Pablo Bracesco [1]; Verónica Sosa [1]; Nelson Bracesco [1]

1 - Fac. de Medicina.

Resumen:
La yerba mate presenta un alto contenido en polifenoles de conocido efecto antioxidante. En Uruguay el 85 % de la población es consumidora de "mate" y actualmente se sabe que esta infusión posee polifenoles, vitaminas y cofactores que podrían interferir en procesos patológicos de óxido reducción. Hipótesis: Los fenoles en ciertas condiciones pueden cortar cascadas redox y disminuir lesiones de ADN con alto potencial letal y mutagénico; además el control del ciclo celular y la reparación de lesiones podría modularse en presencia de fenoles por activación del producto del gen Mec1/hATR. Se analizaron los posibles efectos protectores frente a dos tipos de radiaciones (gamma y UVC) a nivel celular, ya que ciertas longitudes de onda pueden inducir cascadas de óxido reducción, retardos en el tiempo de generación celular y lesiones a nivel genómico. Se utilizaron como modelo eucariote cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en fase exponencial: normales y mutantes deficientes en MEC1 y en la regulación de la sintesis de la ribonucleotido-reductasa: *SC7 Klys 2-3* , **WT** (MATa ade2-101 his3D200 ura3DNco lys2DBgl CAN1), **sml1** (MATa ade2-101 his3D200 ura3DNco lys2DBgl CAN1 sml1D::Kan), **sml1/mec1** (MATa ade2-101 his3D 200 ura3 DNcolys2DBgl CAN1sml1D::Kan mec1D::Hyg). Como agentes con capacidad protectora: infusión de yerba mate, liofilizado de infusión de yerba mate caracterizado (Dra. R. Filip), ácido cafeico, 1,5 dicafeoil quinico. Se observó aumento de la probabilidad de sobrevida, disminución de la mutagénesis inducida y protección genómica con disminución de roturas dobles de ADN frente al daño producido por los diferentes agentes físicos utilizados. Estos resultados indican la interferencia de uno o más componentes de la infusión sobre sistemas redox e interacción con vías de control del ciclo celular y de reparación del ADN (hATR/Mec1). Agradecimientos: Canarias SA, ANII, CSIC, INDT

Espectro de daños de ADN en células con inestabilidad genómica radioinducida (#0247)

Deborah Keszenman [1]

1 - Laboratorio de Radiobiología Médica y Ambiental, PDU Biofisicoquímica, CENUR Litoral Norte, Salto, UDELAR.

Resumen:

El proceso de transformación maligna y la tumorigénesis implican una sucesión de alteraciones celulares, entre ellas la inestabilidad genómica. Esta, al igual que la carcinogénesis, es multifactorial y se propone como un sello distintivo del cáncer. Se caracteriza por diversos cambios que incluyen la reducción de la eficacia de clonación, alteraciones cromosómicas, formación de micronúcleos y aumento de la frecuencia mutagénica. Es más, la inestabilidad genómica es considerada como una fuerza motora de la tumorigénesis. Por tanto, la comprensiòn de los mecanismos subyacentes a la iniciación y perpetuación de la inestabilidad genómica permitirá profundizar en los mecanismos subyacentes a la carcinogénesis. Durante el metabolismo celular normal se genera estrés oxidativo endógeno que puede producir daños aislados y agrupados en el ADN. Mientras que los daños esporádicos presentan alta probabilidad de ser reparados eficientemente, los daños agrupados pueden originar eventos citotóxicos y mutagénicos persistentes y dar lugar a inestabilidad genómica. Basados en la hipótesis de la presencia de signaturas de daños de ADN únicos al fenotipo de inestabilidad genómica, determinamos el espectro de daños agrupados del ADN usando clones celulares derivados de células únicas de la línea celular humano-hamster GM10115 sobrevivientes a diferentes tipos de radiaciones. Se determinaron las frecuencias de roturas dobles, daños agrupados de bases oxidadas y de sitios abásicos en la línea celular parental y clones estables e inestables que presentan inestabilidad genómica radioinducida. Se observó que los niveles de daños totales de ADN fueron similares, sin embargo, cada clon inestable mostró un espectro de daños persistentes únicos. Se especula que este espectro característico se vincula con alteraciones en la señalización y reparación de los daños de ADN subyacentes a la perpetuación de la inestabilidad genómica. Coautores: Lucia Kolodiuk (Stony Brook University, NY, USA), Janet E. Baulch (Department of Radiation Oncology, University of California, Irvine, CA, USA).

Viernes

Sala S4 - SUG y BIOF

18:30 - 19:20 **SBF**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SBF - # 0026,#0038, #0144, #0035

sfdsgds skjgs mm (#0026)

Analia Richeri [1]

1 - IIBCE.

Resumen:
djhfddjd

Análisis matemático de electromiografías uterinas como método paraclínico predictor de maduración uterina en condiciones normales y patológicas. (#0038)

Mariana Alonso [1]; Sebastián Ben Carli [2]; Carlos Costa [1]; Francisco Coppola [2]; Gonzalo Ferreira [1]

1 - Universidad de la República. Medicina, Biofísica. Laboratorio Canales Iónicos. 2 - Universidad de la República. Facultad de Medicina. Clinica Ginecotológica A. CHPR.

Resumen:

El electromiograma uterino mide la actividad eléctrica uterina, la cual esta correlacionada con la fuerza de las contracciones uterinas (Schlembach, Maner, Garfield, & Maul, 2009). Tiene la ventaja de ser un método no invasivo de fácil realización. Sin embargo, su uso en nuestro país es prácticamente inexistente debido al alto costo del equipo. Un tema en plena investigación, es la interpretación de las señales registradas y su posible uso como predictor del trabajo de parto y de diversas situaciones patológicas gineco-obstétricas. En este trabajo exploramos la capacidad predictiva para trabajo de parto del electromiogramas uterinos, usando para ello un sistema de bajo costo diseñado en el Laboratorio de Canales Iónicos, Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina. Nuestros resultados indican que a) Con este dispositivo de bajo costo es posible registrar electromiogramas de superficie y discriminar y analizar la señal uterina, mediante análisis de Fourier. b) Los espectros de frecuencia obtenidos son ergódicos, es decir regulares y predecibles en una misma paciente y entre distintas pacientes de igual edad gestacional. c) Los espectros de frecuencia obtenidos en embarazos normales, correspondientes a distintas edades gestacionales, muestran un pico que se concentran y aumentan con la edad gestacional entre 0.3 a 1 Hz llegando a las 38 semanas. d) En situaciones patológicas como la preeclampsia, el espectro de frecuencias, muestra picos de mayor frecuencia y amplitud en comparación con las situaciones normales en comparación con otro de la misma edad gestacional. *Financiado por PAIE a GF*

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Un modelo simplificado de asociación de proteínas basado en sus interacciones hidrofóbicas y eléctricas (#0144)

Angel Mozo [1]; Juan Cedano [2]; Enrique Querol [3]

1 - Institut de Recerca Biomédica, Universitat de Lleida 25198 Lleida. 2 - Laboratorio de Inmunología "Dr. Alberto Nieto", CenUR Litoral Norte-Salto, UdelaR. 3 - Institut de Biotecnologia i Biomedicina, UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona.

Resumen:

La propensión de muchas proteínas a oligomerizar y asociarse para formar estructuras complejas a partir de sus monómeros constituyentes es analizada en términos de sus vectores de momentos hidrófobos (H) y pseudo-dipolos eléctricos (D). Estos vectores se definen como el producto de la distancia entre sus centroides positivos y negativos. Encontramos que un aumento en la densidad hidrofóbica y una minimización del módulo de este momento dipolar se correlaciona con un aumento de su temperatura de transición. También es posible obtener un perfil para determinar los aminoácidos de una proteína que son más susceptibles de mutación con el fin de aumentar la estabilidad térmica, como se demuestra examinando estos valores en pares de proteínas homólogas mesostables termoestables en mutaciones descritas en la literatura, o mediante un enfoque experimental. Los cambios en las magnitudes y direcciones de H y D se estudian como monómeros asociados para formar complejos más grandes. Además de los dímeros, utilizamos estos descriptores para estudiar similitudes y diferencias en dos grupos de asociaciones: a) asociaciones abiertas, tales como polímeros con un número indefinido de monómeros (por ejemplo, polimerización de actina o amiloide); a) asociaciones simétricas cerradas de tamaño finito, como las cápsides esféricas de virus. La tendencia de los momentos hidrófobos de los monómeros en una asociación es alinearse en disposiciones paralelas siguiendo un patrón similar al de los fosfolípidos en una membrana. Por el contrario, los momentos dipolares eléctricos de los monómeros tienden a alinearse en asociaciones antiparalelas. La combinación final de estas fuerzas, limitada por restricciones estéricas, determina si la asociación estará abierta (número indeterminado de monómeros) o cerrada (número fijo de monómeros). Cualquier estructura multimérica de proteína puede llegar a formarse de acuerdo a combinaciones de las reglas descritas. Estos hallazgos parecen independientes del tamaño y forma de las proteínas.

Sábado

15:00 - 15:55 **SBF**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SBF - #0246, #0373, #0182

Buscando surfactantes pulmonares patología-específicos en la evolución (#0246)

Rosina Toledo [1]; Leonel Malacrida [2]; Carlos Batthyany [3]

1 - UByPA Institut Pasteur; Dpto. de Fisiopatología, Facultad de Medicina, Udelar. 2 - Dpto de Fisiopatología, Facultad de Medicina, Udelar; UCI, Irvine, USA. 3 - UByPA, Institut Pasteur.

Resumen:

El parto prematuro es un problema global que afecta al 11% de los recién nacidos (aproximadamente 15 millones/año); de los cuales se estima que 1.1 millones desarrollan complicaciones respiratorias y mueren entre las 0-4 semanas post-nacimiento. El tratamiento primario para abordar esta problemática médica es la administración de surfactante pulmonar (SP) exógeno,principalmente de origen animal. El SP es una mezcla compleja de lípidos y proteínas que recubre el epitelio alveolar y evita el colapso pulmonar durante el ciclo respiratorio. Está compuesto por una mezcla de lípidos y proteínas(9:1), relación que se mantiene incambiada en todas las especies animales. Las proteínas se dividen en hidrofílicas (SP-A,SP-D) e hidrofóbicas (SP-B,SP-C). Los lípidos mayoritarios son fosfolípidos [fosfatidilcolina(FC),fosfatidilserina (FS),fosfatidillglicerol,fosfatidiletanolamina (FE)],esfingomielina (SM) y 10% en peso de colesterol. La composición lipídica varía sus proporciones según la especie animal, actividad física o clima, entre otras variables. Sin embargo, esta es un área donde la investigación es aún escasa. En este proyecto plantemos estudiar si las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los SP de vaca, oveja, cerdo, caballo y conejo han cambiado con la evolución. El objetivo del trabajo es identificar características que permitan postular mejores preparados de SP-Exógeno para el tratamiento de los recién nacidos. Para ello comenzamos evaluando los niveles de FC, FS, FE y SM de las fracciones lipídicas de cada SP. Los resultados obtenidos se compararon con las características físicas y fisiológicas de los animales en estudio. Además, se midió la concentración de ?-tocoferol para todas las especies y estamos comenzando a analizar el contenido de colesterol. Asimismo, estudiamos la capacidad tensoactiva del surfactante de las distintas especies. Creemos que el avance en este proyecto permitirá postular nuevas mezclas de SP exógeno con características específicas para cada patología respiratoria.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización estructural y funcional de la forma nitrada de la Prx2 humana (#0373)

Lía Margarita Randall Carlevaro [1]; Joaquín Dalla Rizza [1]; Gerardo Ferrer-Sueta [1]; Javier Santos [2]; Ana Denicola [1]

1 - Universidad de la República. 2 - Universidad de Buenos Aires.

Resumen:

Las peroxirredoxinas (Prx) son enzimas altamente conservadas y ubicuas que catalizan la reducción de peróxidos mediante un mecanismo dependiente de una cisteína crítica, la cisteína peroxidática (C_P). En las Prx de 2 cisteínas típicas, la mínima subunidad catalítica son homodímeros cabeza-cola en los que la C_P de una subunidad reacciona con el sustrato para dar ácido cisteinsulfénico, que puede ya sea reaccionar con la cisteína resolutiva de la subunidad adyacente para formar un enlace disulfuro intermolecular, o reaccionar con una segunda molécula de sustrato, sobreoxidándose e inactivándose. Dada la gran velocidad a la que reaccionan las Prx con el peróxido de hidrógeno, han sido postuladas como primera línea de oxidación en las cascadas de señalización dependientes de H_2O_2. En este sentido, la sobreoxidación de estas enzimas ha sido postulada como un mecanismo de regulación de su participación en estas vías de señalización, reforzado por el hecho de que algunas Prx sobreoxidadas pueden ser reducidas nuevamente a su forma activa por la sulfirredoxina en una reacción que requiere de ATP. Recientemente, nuestro grupo reportó que la Prx2 reduce catalíticamente peroxinitrito, un potente agente oxidante que se forma in vivo por la reacción controlada por diffusion entre óxido nítrico y superóxido. Nuestro trabajo se centra en la caracterización estrucutural y functional de la forma nitrada de la Prx2 humana, la cual ha mostrado tener mayor actividad peroxidasa y ser menos sensible a sobreoxidarse por H_2O_2 que la enzima nativa. Estos resultados podrían permitir elucidar un nuevo mecanismo de modulación de estas proteínas en la señalización redox así como el rol de esta modificación post-traduccional en ciertas patologías asociadas a estrés oxidativo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desarrollo de nuevos compuestos de coordinación de cobre con actividad antitumoral. Estudio de su interacción con el ADN. (#0182)

Natalia Alvarez [1]; Sebastián Iglesias [1]; María H. Torre [1]; Eduardo Kremer [1]; Antonio Costa-Filho [2]; Gianella Facchin [1]

1 - Facultad de Química, UdelaR. 2 - FFCLRP, Universidad de San Pablo.

Resumen:

El descubrimiento de la actividad antitumoral del compuesto de coordinación Cisplatino inició una búsqueda de complejos inorgánicos con actividad biológica, dando origen al campo de la Química Inorgánica Medicinal. Nuestro grupo de investigación desarrolla nuevos complejos de metales esenciales con actividad quimioterápica. Se sintetizó diferentes familias de complejos de ligandos mixtos de Cu(I) y Cu(II). Los complejos obtenidos se caracterizan estructuralmente en estado sólido. Se busca también obtener información sobre la estructura en solución acuosa, para conocer la especie responsable de la actividad biológica. Se realizaron estudios de actividad citotóxica en diferentes cultivos de líneas celulares tumorales. Se encontró que las familias [Cu(fenantrolina)(coligando)], [Cu(5-nitro-fenantrolina)(coligando)], [Cu(neocuproina)(coligando)] (coligando= ligando donor NNO) presentan elevada actividad (IC50 1-5 mM), mayor a la del Cisplatino (S. Iglesias et al. J. Inorg. Biochem. 139 (2014) 117-123; S. Iglesias et al. Struct. Chem. Cryst. Commun. (2015) 1-7). Una de las biomoléculas diana para la acción terapéutica de los fármacos inorgánicos es el ADN. En este marco, se evaluó la capacidad de los complejos de unirse al ADN aislado y las características del aducto formado, así como su relación con aspectos estructurales de los complejos. Se estudió el modo de interacción de los complejos con ADN de timo de ternera mediante UV-vis para determinar la constante de unión, espectroscopia EPR para monitorear la interacción a partir de las perturbaciones en el centro metálico y Dicroismo Circular para monitorear las modificaciones en el ADN. Las constantes de unión (*kb*) se encuentran entre $1x10^4$ y $1x10^5$ M^{-1}, valores típicos de intercaladores parciales. Los diferentes tipos de aducto complejo-ADN encontrados responden a intercalación parcial por el ligando heterocíclico con diferente grado de desenrollamiento de hebra, no observándose coordinación a las bases del ADN.

Domingo

Sala S4 - SUG y BIOF

14:00 - 14:45 **SBF**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SBF - #0028, #0164, #0174

Modulación de genotoxicidad por la enzima Topoisomerasa-II (#0028)

Marzia Fasanello [1]; Daniel Martinez [1]; Olga Lillo [1]

1 - Lab de Radiobiologia-Depto Biofisica-Fac de Medicina- UdelaR.

Resumen:
Las Topoisomerasas catalizan corte y unión de las hebras de ADN, permitiendo el pasaje de una sobre la otra para liberar la tensión generada por el super-enrollamiento. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el rol de la Topoisomerasa-II en relación a letalidad y mutagenesis inducidas por radio-quimioterapia tumoral. Los agentes usados fueron: cisplatino (genera principalmente aductos con el ADN y uniones covalentes intercatenarias), y rayos-X (generan principalmente roturas simples y dobles de las hebras de ADN). Se trabajó con poblaciones del eucariota Saccharomyces cerevisiae: cepa silvestre JN-362a y cepa isogénica deficiente en Topoisomerasa-II JN-362a-top2, ambas auxotróficas para adenina. Las dosis fueron: para cisplatino 1mM-3mM y para rX 40-120 Gray. Los tratamientos fueron realizados en medio nutriente líquido y en fase de crecimiento exponencial. La frecuencia relativa de sobrevivientes fue determinada mediante las colonias formadas en medio nutriente sólido y la frecuencia mutagénica (reversión ade□ADE) se determinó mediante el número de colonias formadas en medio sólido sin adenina. Se observó que, sometida a cisplatino, la cepa JN-362a-top2 presento menor sobrevida y mayor mutagénesis que la cepa JN-362a, acorde a lo esperado. Sorprendentemente, expuesta a rX, la cepa deficiente en Topoisomerasa-II presentó mayor sobrevida y menor mutagénesis que la silvestre. Postulamos, para el caso de daños generados por rX, que la presencia en concentraciones normales de Topoisomerasa-II permite un amplio e inespecífico acceso a enzimas de reparación dando lugar a la acción de aquellas error prone. Para el caso de daños generados por cisplatino la presencia de Topoisomerasa-II favorece la acción de enzimas más específicas y eficientes. Estos resultados preliminares sugieren que, además del tipo de daño del ADN, el estado topológico de esta macromolécula determina el grupo enzimático que procesa sus lesiones.

Comparative genomics of miRNAs in Cestodes (#0164)

Santiago Fontenla [1]; *Alicia Costabile* [2]; *Guillermo Lamolle* [1]; *Estela Castillo* [2]; *José Tort* [1]

1 - Facultad de Medicina-UdelaR. 2 - Facultad de Ciencias-UdelaR.

Resumen:

Background: Cestode parasites are responsible for various worldwide zoonosis of great public health concern. Meanwhile, other tapeworms like *Mesocestoides corti* are an interesting model for the study of developmental biology. As genomic sequences of parasitic helminths are becoming available, novel questions regarding gene expression, development and their regulation are now possible. Small RNAs have been proven to modulate the gene expression in different organisms and while they have been sequenced in numerous Cestodes, little is known about their role in development and gene regulation on these species. **Results:** To gain some insights on the expression profile of miRNAs through the life cycle, we compared already published data of six cestode species adding a novel dataset of *M. corti.* We found that, although miRNA expression varies between species and stages, there is a reduced set of miRNAs that are highly expressed at all moments probably acting as regulatory housekeeping. Since draft genomes are available we compared the genomic location of identified miRNAs, and found that while genomic location is conserved within cestode, synteny is less conserved respect to more distant species like trematodes. To further characterize if there are miRNAs conserved among platyhelminthes that have not been reported yet, we made a *de-novo* miRNA prediction on four flatworm genomes. To assess possible functions of the miRNAs detected we used the *M. corti* dataset to predict putative targets on 3'UTRs of annotated transcripts. Then, to verify the functional correlation of predictions, we look the annotation of predicted targets of a set of miRNAs that were reported to be differentially expressed between two developmental stages. **Conclusions:** This work is the first attempt to describe and functionally analyze the miRNA role in the development of cestodes. This will be potentially useful in the design of new strategies of control.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Efectos antiproliferativos de aceite esencial de *Eugenia uniflora L.* (Pitanga) (#0174)

Gabriela Ferragut [1]; Ana Gabriela Sánchez [1]; Pamela Lombardo [2]; María Angélica Severi [1]; Juan Antonio Cedano [1]; Beatriz Vignale [2]; Alvaro Vázquez [3]; Eduardo Dellacassa [3]; Déborah Keszenman [1]

1 - CenUR Litoral Norte-Salto. 2 - CenUR Litoral Norte-Salto-EEFAS. 3 - Fac. Química.

Resumen:

Se estima que 80% de los habitantes de la tierra dependen de la medicina folklórica para sus necesidades de atención primaria que en su mayor parte implica el uso de plantas. En países desarrollados, la medicina basada en el uso de productos naturales ha ganado popularidad en parte por la creencia de que son productos seguros, están asociados a una vida saludable y son "amigables con la naturaleza". A pesar de su potencial uso terapéutico, aún queda mucho por ser estudiado especialmente en relación a sus posibles efectos adversos o tóxicos. Se ha demostrado que diversas plantas presentan un amplio espectro de actividades biológicas antiinflamatorias, antioxidantes y anticarcinogénicas. Entre las enfermedades crónicas que afectan la población mundial, el cáncer constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. Por tanto, la investigación de las plantas o sus derivados como fuente de agentes terapéuticos o preventivos de la carcinogénesis es de alta relevancia. Recientes estudios en células humanas indican que los aceites esenciales de hojas de Pitanga tienen propiedades antioxidantes pero carecen de efectos citotóxicos o genotóxicos. Bajo la hipótesis de que *E.uniflora* constituye una fuente de agentes moleculares que pueden prevenir la iniciación y/o progresión tumoral, hemos estudiado los efectos antiproliferativos del aceite esencial de hojas de Pitanga. Este se obtuvo por hidrodestilación a partir de hojas jóvenes del árbol VIII.7 localizado en la Estación Experimental de Facultad de Agronomía, Salto. Usando *Saccharomyces cerevisiae*, se determinó la cinética de proliferación de poblaciones celulares control y tratadas con aceite esencial de *E.uniflora*. Se observó modificación de la cinética de proliferación celular concentración dependiente. La determinación de la viabilidad celular durante el estudio de proliferación demostró la ausencia de efecto citotóxico. Estos resultados sugieren una alteración del ciclo celular como causa del retardo o inhibición de la proliferación celular.

viernes

Carpa C3 - SNU

10:30 - 12:00

SNU

Presentación de las XVI Jornadas de la SNU 2017 Simposio "PhD en Neurociencia"

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Sueño durante la lactancia de la rata (#0067)

Luciana Benedetto [1]

1 - Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:
Los primeros días del postparto de la rata madre permanece la mayor parte del tiempo en contacto con las crías, abandonando rara vez el nido. Por otro lado, el sueño en ratas habitualmente ocupa la mitad del día. A su vez, ambos comportamientos están asociados tanto desde el punto de vista comportamental, ya que la eyección láctea ocurre únicamente si la madre está en sueño no-REM (NREM) como de las áreas que los controlan, ya que el área preóptica media (mPOA) controla ambos comportamientos. Nos cuestionamos como la rata madre ensambla estos dos comportamientos. Nuestro objetivo fue describir las características del sueño durante las posturas de amamantamiento durante el postparto. Se realizaron registros simultáneos del sueño y la vigilia y el comportamiento maternal durante la fase de luz y oscuridad en la primer y segunda semana postparto en ratas madres previamente implantadas para el registro polisomnográfico. Se analizó la fragmentación y profundidad del sueño, el porcentaje de NREM, REM y vigilia en distintas posturas de amamantamiento y fuera del nido. Los resultados muestran que cada postura de amamantamiento tiene su propio patrón de sueño que se mantiene relativamente estable a lo largo de todas las condiciones estudiadas. A su vez, se evidencia que las ratas madres principalmente duermen en NREM mientras amamantan en la postura más común de amamantamiento. Asimismo, encontramos que el sueño de las madres es más fragmentado cuando amamantan en comparación a cuando están fuera del nido, pero este sueño no es más profundo. Este es el primer estudio que muestra como es el sueño durante el comportamiento maternal de la rata madre.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Flavonas naturales y protección neuronal frente al estrés oxidativo (#0089)

Carolina Echeverry [1]

1 - Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
Existe un creciente interés por el potencial neuroprotector de los flavonoides, una subfamilia de polifenoles naturales. La gran diversidad estructural que poseen ha permitido relacionar sustituciones moleculares en su estructura con diferentes acciones biológicas, pero son escasos los trabajos que se han focalizado en la relación estructura-actividad de flavonas y neuroprotección. En este contexto, venimos trabajando en dilucidar determinantes estructurales en flavonas necesarios para la neuroprotección y los mecanismos implicados, utilizando como paradigma experimental un daño oxidativo en cultivo primario de neuronas granulares del cerebelo, lo que nos ha permitido identificar flavonas protectoras y no protectoras. En el presente trabajo hemos evaluamos la capacidad atrapadora de radicales libres (RL) directa, marcadores de estrés oxidativo (EO) celulares (producción intracelular de especies reactivas del oxígeno y productos de la lipoperoxidación), cambios en la homeostasis del calcio y hierro, y el papel de vías adaptativas al EO (Sirt1 y Nrf2) de flavonas neuroprotectoras y no-neuroprotectoras. En primer lugar corroboramos que la capacidad atrapadora de RL in vitro de las flavonas no se correlaciona directamente con la capacidad neuroprotectora. Además, tanto las flavonas protectoras como las no protectoras son capaces de disminuir los marcadores de EO estudiados. La homeostasis del hierro y la del calcio no parecen estar implicadas en los mecanismos de neuroprotección en este modelo experimental, pero la alteración en los niveles de calcio observada por la flavona no protectora podría explicar su efecto no protector. Por último encontramos que quercetina, flavona protectora, induce cambios en Nrf2 y Sirt1, sugiriendo que estos cambios adaptativos podrían estar implicados en la neuroproteccion. Los resultados de esta tesis contribuyen al entendimiento de los mecanismos subyacentes a la neuroprotección por flavonas naturales y aportan elementos para el diseño de nuevos compuestos destinados a prevenir o tratar patologías que implican la muerte neuronal por EO.

Efectos neuroprotectores y hemodinámicos de nanosomas de Quercetina en un modelo de asfixia perinatal (#0391)

Fernanda Blasina [1]

1 - Depto de Neonatología, Hospital de Clínicas.

Resumen:
La asfixia perinatal es causa mayor de muerte y morbilidad neurológica en recién nacidos y los mecanismos implicados en el daño cerebral son complejos y difíciles de controlar. La Quercetina, un flavonoide ubicuo, muy estudiado por sus efectos neuroprotectores y acción antioxidante directa e indirecta sobre procesos de daño celular, se evaluó como terapia en la patología cerebral provocada por hipoxia aguda severa. Para lograr el acceso de la Quercetina al cerebro, fueron desarrollados nanosomas de lecitina/colesterol/cyclodextrina como un vehículo seguro. Esta preparación nanosomal fue aplicada en forma intravenosa a cerdos recién nacidos de 2000g, de 24hs de vida, sometidos a episodios de hipoxia/isquemia severa de 40 minutos o más de duración (FiO_2 0,08), los cuales fueron seguidos por 8 o 72hs después del evento. El monitoreo de función cerebral mejoró significativamente en el grupo que recibió nanosomas de Quercetina, requirió menor apoyo de inotrópicos para sostener la estabilidad hemodinámica y recuperó con precocidad la capacidad de respirar en forma espontánea en comparación con los animales hipóxicos sin tratamiento. En una etapa posterior, 72hs luego del episodio de hipoxia/isquemia, la succión y la marcha se recuperaron antes en forma significativa en el grupo que recibió nanosomas de Quercetina comparado con los animales del grupo control. Los efectos beneficiosos luego de una asfixia perinatal muestran a la preparación nanosomal de Quercetina como una candidata a ser valorada en siguientes fases, para explorar este tipo de estrategia terapéutica en un contexto con ausencia de tratamiento efectivos que puedan mejorar la evolución de pacientes con encefalopatía hipóxico-isquémica.

14:30 - 16:15

SNU

Simposio SNU_2: Riesgo pre- y postnatal asociado a problemas en el neurodesarrollo: Enfoque multidisciplinario.

Factores ambientales y su repercusión en el neurodesarrollo infantil. (#0292)

Gabriel González [1]

1 - Cátedra de Neuropediatría, Instituto de Neurología, Hospital de Clínicas, UdelaR.

Resumen:
Las circunstancias socio ambientales y los tóxicos presentes desde el primer día de gestación pueden impactar negativamente sobre el neurodesarrollo infantil. Según la OMS, más de 200 millones de niños anualmente no alcanzan su potencial sociocognitivo. La mayoría viven en hogares pobres expuestos a factores teratogénicos que determinaran dificultades de aprendizaje e ingresos económicos insuficientes, perpetuando la pobreza en forma intergeneracional. Los mayores riesgos de trastornos del neurodesarrollo discapacidad intelectual, trastorno del espectro autista no sindrómico, Trastorno atencional con o sin hiperactividad y dificultades de aprendizaje están asociados a factores ambientales, y en muchos casos independientes de factores genéticos, proponiendo autores como Morgan, la hipótesis de "continuum de la causalidad reproductiva, que consiste en daño cerebral durante el embrazo o nacimiento que lleva a un gradiente lesional cerebral que va desde la muerte fetal, trastornos del neurodesarrollo o alteraciones conductuales" No existen en ningún momento de la vida genoma independiente del contexto, siempre son genes en contexto, controladores del neurodesarrollo susceptibles de revertir su expresión por experiencias individuales. Se analizan resultados de depresión materna, apego y drogas durante el embarazo en un estudio de cohorte prospectiva de población vulnerable sobre su frecuencia e impacto en el neurodesarrollo infantil.

Factores asociados a síntomas de depresión y de estrés durante el embarazo. (#0296)

Daniel Olazábal [1]

1 - Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina.

Resumen:
Diversos estudios en diferentes partes del mundo muestran una alta incidencia de depresión y estrés durante el embarazo. Estas alteraciones se asocian a efectos negativos sobre el embarazo y el feto, tales como nacimientos pretérmino y bajo peso al nacer. No han habido estudios sobre la salud mental de la mujer embarazada en la población general uruguaya. En este estudio investigamos factores predictores de depresión y estrés durante el embarazo. Doscientas mujeres embarazadas de una población uruguaya heterogénea captadas en la mutualista CASMU y el Hospital de Clínicas Manuel Quintela fueron invitadas al azar a participar del estudio, ofrecer muestras de sangre, y completar diversos cuestionarios que evaluaban traumas de la infancia, vínculo con sus padres, y síntomas de depresión y estrés entre otros. Se encontró una alta incidencia de síntomas de depresión (26%) y estrés (30%) en la población en estudio. Haber sufrido abuso emocional en la infancia, conflictos en la pareja, y la falta de apoyo social durante el embarazo resultaron los mejores predictores del surgimiento de estas alteraciones emocionales. Nuestro estudio sugiere que el screening de las experiencias tempranas de la mujer embarazada y su contexto presente podría contribuir a prevenir o mitigar los efectos adversos de la depresión y el estrés sobre madres y fetos. El papel de la variabilidad genética en este contexto será también analizado.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Trayectorias de desarrollo de las funciones ejecutivas: impacto del contexto socio-económico. (#0342)

Alejandra Carboni [1]

1 - CIBPsi, Facultad de Psicología, UdelaR.

Resumen:
El ser humano dispone de un conjunto de capacidades cognitivas, motoras, emocionales y sociales que le permiten interactuar de manera eficaz con el entorno. Las funciones ejecutivas (FEs), en particular son procesos mentales de alto nivel que sostienen el razonamiento, la auto-regulación y el ajuste de acciones a metas entre otros. La evidencia sugiere que la primera infancia es una ventana sensible para el desarrollo de estos procesos y que las condiciones psicológicas, biológicas y materiales asociadas al contexto socio-económico modulan el desarrollo de la corteza prefrontal y por ende de las FEs. Si bien en Uruguay el 20.4% de los niños son criados en contextos de pobreza, este fenómeno ha sido poco estudiado y el diseño de estrategias de evaluación del neurodesarrollo cognitivo es aún escaso. El presente proyecto tiene como objetivo (i) determinar la incidencia del contexto socio-económico en el desarrollo cognitivo de niños uruguayos, y (ii) evaluar el efecto de una intervención de estimulación cognitiva basada en videojuegos, mediante el uso de la plataforma Mate Marote. Método: Participaron 142 niños de nivel 5 de educación inicial de escuelas de quintil 1 y quintil 5 de Montevideo. Se evaluaron los siguientes dominios: memoria de trabajo, control inhibitorio, flexibilidad cognitiva, inteligencia lógica, planificación y rotación mental. Resultados: El nivel socio-económico modula el desarrollo de las funciones ejecutivas , los niños de quintil 5 se desempeñan significativamente mejor en tareas de control inhibitorio, flexibilidad cognitiva, planificación e inteligencia fluida. Sin embargo y de forma interesante, la intervención con Mate Marote mejoró el rendimiento de los niños principalmente en el grupo que tenía promedialmente el desempeño más descendido.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Tiempos y discursos del cuidado infantil en Uruguay (#0294)

Karina Batthyany [1]

1 - Departamento de Sociología, Facultad de Ciencias Sociales, UdelaR.

Resumen:
Uruguay, país que se caracteriza por su fuerte legado histórico en materia de protección social, tiene hoy al cuidado en el centro de la agenda pública y como tema insignia en la política pública social. El aumento generalizado de la tasa de actividad femenina, particularmente de las madres, replantea la pregunta acerca de las obligaciones familiares y la forma de compartirlas. ¿Quién asume los costos del cuidado de las personas dependientes, en particular de los niños? ¿Cómo deben repartirse los roles y la responsabilidad entre el Estado, la familia, el mercado y la comunidad? Esta presentación abordará estas preguntas tomando como insumos resultados de investigaciones realizadas en torno al uso del tiempo y el discurso experto en torno al cuidado infantil.

Competencias parentales en situación de riesgo psicosocial (#0355)

Cindy Mels [1]

1 - Departamento de Psicología del desarrollo y Educacional Universidad Católica del Uruguay.

Resumen:

La desprotección y el maltrato son considerado importantes factores de riesgo para el desarrollo infantil: pueden generar consecuencias neurológicas y psicológicas que pueden perdurar a través de toda la vida, afectando al desarrollo cognitivo, emocional y social, además de perjudicar a la salud física. Desde un marco socio ecológico, el riesgo psicosocial en situaciones de crianza responde a la interacción de varios factores, tanto en el sistema de las interacciones directas entre el niño y sus cuidadores, como en niveles superiores (por ejemplo, sistema de servicios y apoyos, normas culturales) que influyen de forma indirecta sobre ellas. Por más que las capacidades del cuidador son un elemento importante en la constitución del riesgo psicosocial para la crianza y el desarrollo de sus hijos, se entiende a las mismas como el resultado de la interacción entre una serie de variables personales y contextuales. En nuestro trabajo nos enfocamos en dos factores de riesgo en particular, asociadas con las competencias y prácticas diarias del cuidador: normas culturales y actitudes y creencias parentales. Presentamos datos de un estudio transcultural sobre el concepto de sensibilidad materna, el cual permite acercarnos a las ideas que suelen tener madres uruguayas sobre que hace y no una buena madre en la interacción con su hijo, y compararlas con madres de otras culturas. También abordamos algunos datos obtenidos en un estudio cualitativo con madres y padres que usan los servicios del plan CAIF, en cuanto a sus actitudes y creencias sobre el uso de castigo físico en la práctica de crianza.

16:45 - 18:30

SNU

Simposio SNU_3: Trastornos mentales y enfermedades neurodegenerativas: mecanismos implicados y posibles estrategias terapéuticas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Hipofunción glutamatérgica vía receptor NDMA y el tálamo en la sintomatología de la esquizofrenia (#0058)

Cecilia Scorza [1]

1 - Departamento de Neurofarmacología Experimental del IIBCE.

Resumen:
La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico crónico y grave, caracterizado por alteraciones en múltiples dominios: percepción, afecto y cognición. La psicosis o sintomatología positiva (ej. alucinaciones, delirios y comportamiento desorganizado) es el cuadro clínico más invalidante, aunque además aparecen síntomas negativos (apatía) y alteraciones en la función cognitiva que condicionan fuertemente la adaptación social y laboral del paciente. La falta de progreso en el tratamiento de la esquizofrenia ha llevado a los investigadores a profundizar en el estudio de la neurobiología asociada a la fisiopatología de la enfermedad. Diversas hipótesis neuroquímicas permiten explicar, aunque parcialmente, la sintomatología de la enfermedad. La hipótesis glutamatérgica basada en que los antagonistas de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA-Rs; ketamina y fenciclidina) producen o exacerban síntomas positivos, negativos y cognitivos en individuos sanos o pacientes esquizofrénicos, proporciona conocimiento sobre la función sináptica del glutamato en la esquizofrenia. Así, los antagonistas NMDA-Rs son considerados modelos farmacológicos de la enfermedad. Continua testeándose si su mecanismo de acción se basa en una disrupción en el balance exitatorio/inhibitorio vía desinhibición de inputs GABAérgica (por bloqueo de NMDA-Rs) sobre neuronas glutamatérgicas corticales y subcorticales. En la presentación mostraré resultados que nos han llevado a postular que el núcleo anterior del tálamo (nAT) es un sustrato anatómico relevante en la inducción de comportamientos psicotomiméticos (tipo-psicóticos) inducidos por MK-801 (antagonista NMDA más potente) en ratas y que una desinhibición GABAérgica sería el mecanismo mediador. Además, datos de la literatura indican que existiría una preferencia de los antagonistas NMDA por bloquear NMDA-Rs talámicos expresando la subunidad NR2C. Mostraré datos preliminares sobre el comportamiento inducido por antagonistas NMDA en ratones *knockout*-NR2C. Nuestros resultados aportan conocimiento en la comprensión de la fisiopatología de la esquizofrenia y en el hallazgo de nuevos blancos terapéuticos.

Estudio de los mecanismos neurales subyacentes a la depresión mediante experimentos conductuales y técnicas de neuroimagen (#0200)

Victoria Gradin [1]

1 - Universidad de la República.

Resumen:
La depresión mayor es un trastorno de alta prevalencia, que puede conducir a un deterioro significativo y al suicidio, y que es considerada una de las principales causas de discapacidad a nivel mundial. De importancia, estamos aún lejos de entender cuáles son los mecanismos neurales que subyacen a la depresión. Uno de los aspectos más críticos de la depresión es que impacta profundamente en el funcionamiento social y las relaciones interpersonales de los individuos, siendo esta una de las principales causas de sufrimiento para quienes padecen el trastorno. A pesar del rol central de los factores interpersonales en los trastornos mentales, tanto la toma de decisiones como la neurobiología asociadas a las dificultades sociales siguen siendo aún muy poco estudiadas. Esto se debe a que el estudio controlado de los intercambios sociales ha sido tradicionalmente un problema desafiante, dadas las dificultades en recrear y cuantificar procesos interpersonales . Recientemente, en el marco de la neuroeconomía, las interacciones sociales han comenzado a estudiarse con tareas de la economía comportamental de la rama de Teoría de Juegos . Estas tareas permiten recrear escenarios interactivos donde es posible cuantificar intercambios sociales. Integrantes de nuestro equipo han llevado a cabo estudios con resonancia magnética funcional (fMRI), donde se investiga la activación cerebral de personas con depresión mientras realizan tareas interactivas de la economía comportamental. Más recientemente, nuestro grupo ha trabajado en montar en el Centro de Investigación Básica en Psicología estudios donde se registra la actividad neural con Electroencefalografía (EEG) mientras los participantes realizan tareas interactivas. En esta presentación se recorrerán estos estudios, que intentan contribuir al entendimiento de las bases neurales asociadas a interacciones sociales en depresión.

Imagen de amiloide en la enfermedad de Alzheimer (#0372)

Andres Damian [1]; Graciela Castellano [2]; Alethia de la Fuente [1]; Bettina Aguiar [3]; Adriana Quagliata [1]; Eduardo Savio [1]; Pablo Buccino [1]; Fabian Cano [2]; Mirta Gonzalez [1]; Sergio Dansilio [3]; Ana Kmaid [4]; Italo Savio [4]; Henry Engler [1]

1 - Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM). 2 - Departamento de Medicina Preventiva y Social. 3 - Departamento de Neuropsicología, Hospital de Clínicas. 4 - Departamento de Geriatria, Hospital de Clínicas.

Resumen:

El estudio de las enfermedades neurodegenerativas ha experimentado un salto cualitativo desde la introducción de la imagen molecular de procesos patológicos *in vivo*. El Compuesto Pittsburgh B (PIB) es un trazador PET lipofílico derivado de la tioflavina usado para detectar el depósito de amiloide y como trazador indirecto de flujo sanguíneo cerebral (CBF) en pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA). Las moléculas de PIB y resveratrol (trans-3,5,40-trihidroxiestilbeno, un polifenol que ha mostrado efectos benéficos potenciales en la EA) tienen similitudes estructurales que pueden indicar interacciones similares con los depósitos de amiloide corticales. Objetivo: Evaluar el posible efecto de un tratamiento acotado con resveratrol en las imágenes de deposición amiloide y de CBF de los estudios PET con PIB. Metodología: Estudio prospectivo que incluyó doce pacientes con EA PIB positivos que se sometieron a un examen clínico y neuropsicológico extenso. Luego del primer estudio PIB, los pacientes fueron tratados con administración oral de 1g de trans-resveratrol al día durante 8 días. Se realizó un segundo estudio PIB el último día de tratamiento. Las imágenes fueron analizadas mediante un análisis estadístico basado en voxeles (SPM8). Resultados: El análisis de los cambios en los depósitos de amiloide no reveló diferencias significativas antes y después del tratamiento con Resveratrol en las distintas estructuras corticales. En las imágenes de CBF se evidenció un aumento relativo de la captación en la corteza occipital bilateral con extensión a la corteza parietal inferior izquierda luego del tratamiento con Resveratrol. Conclusiones: Los estudios PET con PIB permiten identificar alteraciones patológicas y funcionales en pacientes con EA. Si bien se observó un aumento relativo regional del CBF luego de la administración de resveratrol, se necesitan estudios con trazadores específicos para valorar el efecto regional de este compuesto en la perfusión cerebral.

Polifarmacología: Una estrategia de promiscuidad para el tratamiento de patologías del SNC (#0163)

Miguel Reyes-Parada [1]

1 - Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, Universidad de Santiago de Chile.

Resumen:
Por décadas, el desarrollo de compuestos altamente selectivos ha sido el objetivo de investigadores involucrados en el descubrimiento de drogas para tratar patologías del sistema nervioso central (SNC; e.g. los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina). Esto se basa en la idea de que drogas que actúan selectivamente sobre un único blanco farmacológico involucrado en una enfermedad, tendrán alta eficacia y mínimos efectos secundarios. Sin embargo, observaciones recientes indican que drogas polifarmacológicas, i.e. que actúan simultáneamente sobre dos o más proteínas blanco, podrían mostrar mejores perfiles tanto de eficacia como de seguridad. El diseño racional de drogas "promiscuas" (polifarmacológicas) es complejo y se dificulta aún más si los receptores sobre los que se quiere actuar en forma simultánea son ampliamente diferentes en función, origen genético y/o estructura. Los neurotransmisores monoaminérgicos y los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) están involucrados en la fisiopatología de múltiples enfermedades del SNC. Tanto los nAChRs como las proteínas blanco de monoaminas (receptores, transportadores, etc) poseen varios sitios de unión de ligandos (alostérico y ortostéricos), y existen ejemplos de drogas útiles clínicamente que actúan simultáneamente en ambos sistemas. Nuestra hipótesis de trabajo indica que si una droga va a actuar sobre dos o más receptores, esto será posible en la medida que los sitios de unión del ligando presenten ciertas similitudes estructurales. La actual disponibilidad de estructuras cristalinas (o buenos modelos) de estas proteínas, genera una plataforma sin precedentes para evaluar esta hipótesis, y comprender los mecanismos moleculares que subyacen a la acción polifarmacológica de drogas con acciones sobre nAChRs y receptores monoaminérgicos. Se presentará evidencia que sustenta el concepto de polifarmacología y se analizarán resultados que indican que el descubrimiento de drogas promiscuas se puede basar en la existencia de sitios de unión de ligandos similares en receptores significativamente diferentes. Proyectos Fondecyt Chile (1130185;1170662)

Sábado

09:00 - 10:45

SNU

Simposio SNU_4: Ciencias Cognitivas

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Neurobiología del lenguaje: importancia de las predicciones estadísticas durante el procesamiento online de aspectos semánticos y sintácticos en gramáticas naturales y artificiales (#0186)

Alejandro Wainselboim [1]

1 - INCIHUSA, CCT Mendoza.

Resumen:
La generación de predicciones online parece ser un mecanismo generalizado encontradoen diferentes aspectos de la cognición. La habilidad de generar predicciones se basa enla capacidad de adquirir la información estadística presente en el input sensorial querecibe el individuo. El detectar y almacenar estos patrones a lo largo de la experienciaes altamente adaptativo, ya que si la predicción generada coincide con la informaciónrecibida, el procesamiento informacional se acelerará de manera significativa. En elcaso del lenguaje, presentamos resultados que muestran de qué manera la detección yalmacenamiento de la estadística de co-ocurrencia entre información contextual ylingüística media el proceso de adquisición de una gramática artificial, permitiendo elaprendizaje de aspectos semánticos y sintácticos nuevos de manera eficaz.A su vez, la aparición de eventos que no respetan la estadística almacenada generaseñales electrofisiológicas (N400/P600) equivalentes a los vistos ante la aparición deerrores gramaticales en lenguaje natural, mostrando así que la generación depredicciones online basada en el conocimiento estadístico previamente almacenado seencuentra en la base del procesamiento sintáctico del lenguaje. Mostraremos resultadosen los cuales puede observarse que la generación de predicciones online se hallatambién presente durante la computación de la relación jerárquica entre argumentosoracionales (basada en información morfosintáctica previamente conocida), permitiendoun procesamiento del sentido oracional más rápido y eficiente.

"El no y su poder de síntesis" (#0258)

Angel Caputi [1]

1 - IIBCE.

Resumen:
¿Que implica poder negar? Negar dentro de un universo cerrado implica establecer un complemento, es decir referirse a una parte de dicho universo a traves de la exclusión de algunos de sus elementos concretos. Esta exposición busca discutir la hipótesis que el cerebro humano es capaz de negar en un universo abierto. Mostraremos que en un universo casi-abierto, con alto numero de opciones los tiempos de procesamiento para decidir la ausencia (la negación de la presencia) de un elemento son mayores que para decidir la presencia del mismo. Mostraremos también diferencias electroencefalográficas entre los procesos de afirmación y negación discutiendo no solo sus diferencias temporales -bien correlacionadas con los tiempos de decisión- sino además diferencias topográficas en las señales obtenidas y el hallazgo de potenciales post-decision en los cuales la diferencia temporal esta positivamente incrementada. Finalmente discutiremos la importancia de la negación en la sintesis mental de las expresiones lógicas mas complejas , particularmente aquellas basadas en el operador XOR en las cuales existe paridad (donde cada opción válida es una imagen especular de la alternativa). Concluiremos postulando que cualquiera sea la gramatica cerebral utilizada en la toma perceptual de decisiones sobre categorías lógicas, ésta debe ajustarse a un modelo heuristico donde la disyunción exclusiva y la negación tienen un papel preponderante. Poder negar tal vez podría explicar la capacidad humana de concebir cosas imposibles (algunas observables en un universo cerrado i.e. el conjunto vacío, el cero, y la nada), otras anti-intuitivas derivadas de la inabarcabilidad del "todo" (i.e. para cada numeros racional entre cero y puede definirse otro numero correspondiente entre cero y diez millones) y otras, cuyo valor de verdad partiendo de premisas validas es simplemente inevaluable. Filosóficamente implica crear, imaginar y abstraer, con el precio del riesgo a desarrollar conductas patologicas reales o aparentes.

Leyendo oraciones de la cabeza (#0257)

Juan Carlos Valle Lisboa [1]

1 - Facultad de Psicología.

Resumen:
Las Neurociencias Cognitivas se fundan en la idea de que las actividades cognitivas complejas son producto de sofisticados programas neuronales. El lenguaje es un ejemplo paradigmático, debido a su singularidad biológica y su complejidad acompañada de regularidad. En esta charla mostraremos que las representaciones que los linguistas vienen descubriendo desde hace más de 50 años tienen una implementación neural concreta y detectable. Repasaremos estas teorías, las evidencias que las sustentan y nuevos resultados obtenidos a través de registros intracraneanos de la actividad cerebral al procesar oraciones. Mostraremos que los registros experimentales son compatibles con un modelo en el que el procesamiento de las oraciones resperta empaquetamientos en torno a constituyentes linguísticos. Asimismo, presentaremos resultados recientes que muestran de qué forma se activan e integran los rasgos gramaticales en el procesamiento de las oraciones. Colectivamente estos resultados permiten avisorar la construcción de un puente entre las teorías de la competencia cognitiva y su implementación neural.

11:00 - 12:30

SNU

Simposio SNU_5:
Trabajos seleccionados.

Crowding de texturas visuales realistas (#0245)

Daniel Herrera [1]; *Leonel Gómez-Sena* [1]

1 - Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

A pesar de la facilidad aparente con que llevamos a cabo la visión, el acto de interpretarimágenes involucra un procesamiento sumamente complejo de información sensorial. Unaherramienta para estudiar los mecanismos de procesamiento que utiliza nuestro sistemavisual para interpretar las imágenes son los efectos e ilusiones visuales, que se intentanexplicar en base a esos mecanismos y se emplean para ponerlos a prueba. Una clase deestos efectos son los que consisten en cambios en el procesamiento de elementos en unárea del campo visual por cambios en el contexto que los rodea, por lo que se los denominaefectos de modulación contextual, y son particularmente útiles para estudiar los procesos deintegración de la información.El crowding es un efecto de modulación contextual en el que un objeto presente en la visiónperiférica, que es fácilmente reconocible cuando está en forma aislada, se vuelve imposiblede identificar cuando otro objeto se ubica suficientemente cerca del mismo. Dado quetradicionalmente el crowding se ha estudiado utilizando estímulos visuales simples comoletras y líneas, es necesario estudiarlo también con imágenes más similares a las naturalespara determinar sobre su relevancia en el funcionamiento normal del sistema visual. En estetrabajo se desarrolló un diseño experimental para estudiar el crowding utilizando texturasvisuales, que son un componente importante de las escenas a las que nos enfrentamosnormalmente. Las mismas fueron sintetizadas con parámetros extraídos de imágenesnaturales pero, a diferencia de estas, están completamente parametrizadas, facilitando suuso en estudios sistemáticos. Se observó una importante influencia sobre la magnitud delcrowding de dos factores no reportados previamente; la continuidad entre objetos, y elespectro de amplitudes de Fourier, que pueden continuar siendo estudiados con elparadigma desarrollado.

El rol del ATP en la Plasticidad Sináptica Homeostática. Vías purinérgicas implicadas. (#0118)

Alberto Rafael [1]; *Verónica Abudara* [1]; *Nathalia Vitureira* [1]

1 - Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay..

Resumen:
El sistema nervioso se encuentra bajo dos requerimientos opuestos: la necesidad de cambio y la necesidad de estabilidad. La plasticidad sináptica homeostática (PSH) estabiliza la actividad de una neurona o un circuito neuronal mediante la modificación de la función sináptica en dirección compensatoria a las alteraciones del circuito. Dichos ajustes involucran mecanismos pre y postsinápticos. Diversos estudios sugieren que el ATP modula mecanismos plásticos como la potenciación y la depresión a largo plazo (LTP y LTD, respectivamente) actuando sobre receptores purinérgicos ionotrópicos (P2Xr) y metabotrópicos (P2Yr). Sin embargo, la importancia de la señalización mediada por ATP en la PSH no ha sido estudiada hasta el momento. El objetivo de nuestro estudio es investigar el posible papel del ATP y las vías purinérgicas implicadas en la inducción y/o mantenimiento de la PSH presináptica. Para ello utilizamos cultivos disociados de hipocampo de rata y analizamos el efecto de antagonistas/ agonistas de los P2Xr y P2Yr en la inducción y/o mantenimiento de la PSH presináptica mediante el análisis de la abundancia del transportador vesicular de glutamato 1 (Vglut-1) en condiciones control (sin tratamiento) y frente al bloqueo crónico de la actividad sináptica inducido por la administración de tetrodoxina (TTX), un bloqueante de los canales de sodio voltaje dependientes. Nuestros resultados sugieren un rol protagónico del ATP y de las vías de señalización mediadas por los receptores P2X, en particular los P2X7, en la modulación de la PSH. Este proyecto representa una propuesta pionera en proponer un rol para la señalización purinérgica en la regulación homeostática de la función presináptica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Bases neurales de la variabilidad en la respuesta comportamental hacia las crías en hembras inexperimentadas de ratón (C57BL/6) (#0162)

Marcela Alsina-Llanes [1]; *Daniel Olazábal* [1]

1 - Facultad de Medicina.

Resumen:
Existe una importante variabilidad en la respuesta parental exhibida por hembras de ratón cuando son expuestas a las crías por primera vez: completamente parental (CP), parcialmente parental (PP) o no parental (NP). En este estudio, nos propusimos determinar las áreas cerebrales que expresan c-Fos cuando hembras adultas inexperimentadas son expuestas a las crías por primera vez (15 min) y despliegan estos comportamientos. Se analizaron las diferentes subregiones del área preóptica media (MPOA), la corteza prelímbica (PRL) e infralímbica (IF), la amígdala basolateral (AmBL), cortical (AmC) y medial (AmM). No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las subregiones del MPOA, un área clásicamente asociada a la conducta maternal en animales lactantes, por lo que la expresión diferencial de c-Fos en esta área no estaría asociada a la variabilidad fenotípica durante los primeros 15 min. Sin embargo, encontramos una mayor expresión de c-Fos en la corteza PRL de hembras CP o PP en comparación a las NP ($p<0.05$) y Ctl ($p<0.01$) respectivamente. Asimismo, en la corteza IF encontramos niveles significativamente mayores de c-Fos en las hembras CP en comparación a las Ctl ($p<0.05$). Estos resultados sugieren que la corteza prefrontal participaría en el despliegue de comportamiento parental durante los primeros 15 min de exposición a crías. Las hembras PP mostraron mayores niveles de Fos en la AmBL en comparación a las NP ($p<0.05$) y Ctl ($p<0.05$), así como en la AmM en comparación a las Ctl ($p<0.05$), sugiriendo que estas áreas participarían en la transición hacia la parentalidad. Este trabajo presenta por primera vez un análisis de las áreas reclutadas en forma inmediata cuando los animales son expuestos a crías por primera vez y despliegan diferentes comportamientos.
Financiamiento: Iniciación a la investigación CSIC M.A., PEDECIBA.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

El trasplante de células gliales aberrantes en la médula espinal produce reactividad glial y toxicidad para motoneuronas. (#0286)

Sofia Ibarburu [1]; Emiliano Trias [1]; Natalia Lago [1]; Hugo Peluffo [2]; Romina Barreto [1]; Valentina Varela [1]; Luis Barbeito [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Facultad de medicina UdelaR.

Resumen:
Las células gliales juegan un rol fundamental en la progresión de enfermedades neurodegenerativas tales como Alzheimer, Parkinson y Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), contribuyendo de manera importante a la neuroinflamación. Recientemente, nuestro grupo identificó y aisló una subpoblación de células gliales aberrantes, AbAs, en el modelo de rata ELA hSOD1^{G93A}, que aparecen en la fase sintomática de la enfermedad y son específicamente tóxicas para motoneuronas (MTNs). En el siguiente trabajo se estudió el potencial tóxico de estas células in vivo al ser trasplantadas en la medula espinal de ratas Sprague Dawley no transgénicas. Las células fueron inyectadas a nivel lumbar mediante laminectomía, y microglia aislada de ratas hSOD1^{G93A} fue utilizada como control. Mediante el análisis histopatológico observamos que las ratas trasplantadas con AbAs poseen una mayor activación de las células gliales (microglia y astrocitos) que se extiende hacia las regiones cervicales y lumbares próximas al sitio de inyección. También se observó un aumento de la expresión de ubiquitina en MTNs que se encuentran cercanas a las células trasplantadas. Estos resultados muestran que células gliales aberrantes son capaces de producir toxicidad in vivo, desencadenando procesos inflamatorios que llevan al daño de MTNs.

18:30 - 20:15

SNU

Simposio SNU_6: Ritmos Biológicos

Circadian control of locomotor behavior... The Fly perspective. (#0390)

Fernanda Ceriani [1]

1 - Fundación Instituto Leloir.

Resumen:
Oscillations between day and night conditions are dominant, at times neglected, evolutionary driving forces. To cope with such challenges, life on earth has developed biochemical timers that run with periods similar to the earth's rotation, altogether known as circadian clocks. The fruit fly Drosophila melanogaster has been instrumental in understanding how these timekeeping systems work at the molecular level, and to demonstrate that multiple layers of interconnected cellular mechanisms are recruited by the clock to ensure its function. How does a group of neurons in the fly brain orchestrate the animal's activity pattern throughout the day? In principle, presumably identical molecular clocks running at the cellular level are assembled into clusters that could play specific roles. Most of them receive environmental inputs, process information and organize activity of target regions through output pathways. We are beginning to dissect the logic of the circadian system through molecular manipulations of different neuronal populations along will the characterization of the neurotransmitters and neuropeptides relevant for synchronization.

La eterna noche. Nocturnidad y claves ambientales en el pez eléctrico Gymnotus omarorum (#0284)

Adriana Isabel Migliaro Gonzalez [1]

1 - Facultad de Ciencias-IIBCE.

Resumen:
Una de las principales ventajas adaptativas del sistema nervioso es la capacidad de interpretar señales ambientales modificando patrones conductuales en forma contexto dependiente. La sincronización de fases de actividad y de reposo con el fotoperíodo ha permitido la explotación de nichos temporales diferentes dando lugar a especies diurnas y nocturnas. Gymnotus omarorum es un pez eléctrico sudamericano de descarga débil y hábitos nocturnos. Los peces eléctricos se caracterizan por la emisión constante de una señal eléctrica especie específica modulada en forma de onda y frecuencia constituyendo una conducta eléctrica. La conducta eléctrica de G. omarorum aumenta en frecuencia durante la noche junto con la actividad locomotora en peces aislados registrados en cautiverio con un fotoperíodo 12:12 y a temperatura constante. Este aumento nocturno de la conducta eléctrica persiste en condiciones de oscuridad constante. El inicio de la fase de oscuridad genera un aumento rápido de la conducta eléctrica mediado por melatonina. El análisis de los ritmos circadianos de animales silvestres en laboratorio impone restricciones que pueden enmascarar las verdaderas características de su ritmicidad natural. Se analizó la variación de la frecuencia de la conducta eléctrica en animales en libre movimiento en estado natural. Con el objetivo de disociar el aumento eléctrico del locomotor registramos las variaciones diarias en condiciones seminaturales con los animales en reposo locomotor. En ambas condiciones logramos evidenciar un marcado aumento nocturno de conducta eléctrica, poniendo en evidencia la disociación entre el ritmo eléctrico y el locomotor. El registro de intensidad de luz ambiente muestra que estos animales se encuentran en oscuridad constante en su entorno natural, señalando a los ciclos diarios de temperatura como la posible señal sincronizadora ambiental. Parcialmente financiado por ANII FCE_126178; CSIC I+D_2016

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Potencia y coherencia de las oscilaciones de alta frecuencia (HFO: 110-160 Hz) durante la vigilia y el sueño (#0110)

Matías Cavelli [1]; Daniel Rojas-Líbano [2]; Natalia Schwarzkopf [1]; Santiago Castro-Zaballa [1]; Joaquín Gonzalez [1]; Alejandra Mondino [1]; Noelia Santana [1]; Luciana Benedetto [1]; Atilio Falconi [1]; Pablo Torterolo [1]

1 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.. 2 - Facultad de Educación, Universidad Alberto Hurtado, Santiago, Chile..

Resumen:
La actividad sincrónica de grandes poblaciones neuronales, son las responsables de generar la actividad oscilatoria característica del electroencefalograma (EEG). La frecuencia y los patrones de tales oscilaciones varían de acuerdo al estado comportamental del individuo. Recientemente, se ha descrito un nuevo tipo de actividad oscilatoria que se produce entre 100 y 160 Hz ("high-frequency-oscillations", HFO). Las HFO se caracterizan por presentar co-modulación con el ritmo theta hipocampal durante la vigilia y el sueño REM. Sin embargo, la distribución topográfica y la coherencia cortico-cortical de las HFO son aún desconocidas. En el presente estudio, se registró el EEG en ratas durante el ciclo sueño-vigilia y se analizó la extensión espacial de la potencia HFO, así como su coherencia intra e inter-hemisférica. Confirmamos que la amplitud de las HFO y la fase de la onda theta se encuentran fuertemente co-moduladas y que dicha modulación varía de acuerdo al estado comportamental en el que se encuentra el individuo. Durante la vigilia, la potencia HFO fue relativamente alta en todos los electrodos. La misma disminuyó durante el sueño NREM presentando valores intermedios durante el sREM. Por otra parte, la coherencia HFO fue mayor durante vigilia que sNREM. Durante el sREM se observó un patrón más complejo; la coherencia aumenta en las combinaciones intra-hemisféricas, entre los electrodos posteriores y mediales. Este patrón es diferente al de la coherencia gamma (30-100 Hz) que típicamente se reduce durante el sREM en todo el neocórtex. Los datos muestran que existe un importante diálogo cortico-cortical de alta frecuencia durante vigilia. En contraste, durante el sREM, este diálogo se restringe a las regiones mediales y posteriores (sensoriales) intra-hemisféricas. Se necesitan estudios adicionales que combinen electrofisiología, comportamiento y nuevas herramientas analíticas para profundizar en la importancia funcional de las HFO.

Preferencias Circadianas de los jóvenes en Uruguay. (#0306)

Bettina Tassino [1]

1 - Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:
En la adolescencia el sueño se ubica más tarde en la noche y muchos jóvenes duermen menos de lo que necesitan. Dos temas centran el debate cronobiológico actual por su impacto en la salud: la desincronización crónica, especialmente agravada en cronotipos vespertinos, y el aumento de exposición a la luz, fundamentalmente por la luz eléctrica asociada a la vida urbana. La primera caracterización cronobiológica de jóvenes uruguayos arroja cronotipos extremadamente tardíos. En base a esto, investigamos a) cómo afecta la vespertinidad extrema el desempeño académico y b) cómo se ajustan las preferencias circadianas a condiciones ambientales extremas en Antártida. Para investigar las consecuencias de los hábitos de sueño en el desempeño académico, 242 estudiantes del liceo N°10 de Montevideo reportaron sus preferencias circadianas, se estimaron parámetros de sueño y se relacionaron con indicadores de desempeño. Los estudiantes del turno intermedio exhiben el valor de cronotipo más alto reportado para población adolescente en el mundo (7,1±1,6h), y duermen entre semana 8,1±1,4h promedio, mientras que los del turno matutino con cronotipo menos tardío (5,5±1,6h), muestran importante déficit de sueño (6,4±1,3h días de semana). Respecto al desempeño, el cronotipo se correlaciona positivamente con las inasistencias, las que se correlacionan negativamente con calificaciones promedio. En el verano antártico, 20 estudiantes universitarios estuvieron más expuestos a luz solar y disminuyeron su duración de sueño comparado con el equinoccio montevideano. En Antártida, los participantes con cronotipos más tempranos, atrasaron el inicio del sueño, sin modificar el momento de despertar, mientras los más tardíos mostraron un patrón inverso. La intensidad y la mayor exposición a la luz antártica pueden explicar estos cambios en el reloj circadiano, y la medición de melatonina en saliva es clave para confirmar esta hipótesis. Financiamiento CSIC_I+D, ANII becas posgrado, EVIIA Facultad de Ciencias

Sleep disturbances in Parkinson´s disease (#0107)

Marcelo M.S. Lima [1]

1 - University of Paraná.

Resumen:

Parkinson´s disease (PD) is a neurodegenerative condition that usually begins in the fifth or sixth decade of life with an overall crude prevalence (including males and females across the entire age range) between 100 and 200 per 100 000 persons. Considering the United Nations projections, the number of people aged 65 or older in 2010, estimated in 524 million, will grow to nearly 1.5 billion in 2050, with most of the increase in developing countries. A multitude of premotor, that is, early-phase disturbances, has been recently and richly described as neuropathological hallmarks of the disease progression serving as new diagnostic assessments. In view of that, sleep disturbances usually emerge early in the disease course as a product of the degeneration of non-dopaminergic regions, like pedunculopontine tegmental nucleus (PPT), lower raphe nuclei and locus coeruleus. Besides, the occurrence of a dopaminergic lesion within the substantia nigra pars compacts (SNpc), typically impacting in motor disability, is also reported to promote a selective impairment in the generation and maintenance of rapid eye movement (REM) sleep. Also, the PPT and the basal ganglia share substantial amount of anatomical and functional similarities. Among these, there are reports of a role in locomotion, memory consolidation and sleep regulation. Therefore, the conjuncture of elements described engaged us to propose a hypothesis aiming to explain sleep disturbances in PD based on the degeneration of the reciprocal connections between PPT and SNpc during the evolution of the disease. Our findings, collectively, suggest a new circuitry for sleep regulation in PD, involving the so called triad of nuclei composed by PPT, SNpc and striatum, evidencing not only a potential therapeutic target for the sleep disturbances associated to this pathology, but also a remarkable opportunity of premotor diagnosis.

Domingo

09:00 - 10:45

SNU

Simposio SNU_7: Simposio "Tendencias en Neurociencia en Uruguay".

Bases neuroendócrinas de la flexibilidad comportamental durante el posparto (#0389)

Natalia Uriarte[1]

1 - Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

Clásicamente, el comportamiento maternal en la rata, y en mamíferos en general, ha sido entendido como una conducta altamente estereotipada que se extingue gradualmente a lo largo del período posparto. Sin embargo, experimentos de nuestro laboratorio muestran que esta conducta es flexible y que se adapta a las necesidades cambiantes tanto de las crías como del ambiente. Exploramos esta flexibilidad a través de analizar el comportamiento maternal y sus bases neurales a lo largo del período posparto así como el de madres con camadas superpuestas -hembras que cuidan dos camadas de diferentes edades simultáneamente-. Encontramos que la motivación maternal hacia crías con diferentes grados de desarrollo difiere entre el posparto temprano y el tardío. En estos períodos detectamos diferencias en el grado de organización de las redes perineuronales -involucradas en mecanismos de plasticidad- en el área preóptica media, región clave para la expresión de la motivación y el comportamiento maternal. Por otra parte, en experimentos con hembras con camadas superpuestas encontramos que los factores endócrinos -el perfil hormonal de la gestación tardía y el parto- tienen mayor relevancia que la experiencia para la expresión de la flexibilidad y adaptación maternal.

Glía en la Esclerosis Lateral Amiotrófica: del laboratorio a la policlínica (#0388)

Patricia Cassina [1]

1 - Facultad de Medicina.

Resumen:

A pesar de varias décadas de investigación, todavía se desconoce la causa que lleva a la muerte neuronal progresiva en la enfermedad neurodegenerativa humana Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA). Tampoco existen tratamientos efectivos para prevenir o curar esta patología. En la ELA, las motoneuronas superiores e inferiores constituyen la población neuronal afectada. Hasta recientemente, el foco principal de los estudios ha sido precisamente la población de neuronas degenerantes, sin considerar su entorno celular, incluyendo células gliales como astrocitos y microglia. En los últimos 10 años, se ha planteado la hipótesis que los astrocitos jueguen un papel importante en la patogenia de la misma, basados en la observación de que frente al daño, las neuronas mueren pero los astrocitos proliferan y adoptan variados fenotipos adaptativos para proteger y/o dañar a las neuronas. Las transformaciones fenotípicas de los astrocitos están ligadas a alteraciones en la función mitocondrial y un aumento en la capacidad proliferativa comportamiento que se conoce como efecto Warburg. Recientemente, nuestro grupo ha encontrado en roedores SOD^{G93A} utilizados como modelos animales de ELA, revertir este fenotipo mediante el tratamiento con el modulador metabólico dicloroacetato (DCA). Este tratamiento determinó una restauración de la actividad mitocondrial a nivel de la médula espinal, una disminución de la proliferación y neurotoxicidad de los astrocitos, un retraso en la muerte neuronal y persistencia de una mejor actividad motora en los animales. Nuestros proyectos actuales buscan: a) profundizar en los mecanismos de toxicidad de los astrocitos a las motoneuronas, analizando la población de sus vesículas extracelulares b) establecer si los mecanismos propuestos operan también en los humanos con ELA, identificando posibles marcadores biológicos de la progresión de la patología.

Viernes

Carpa C3 - SNU

17:50 - 18:35 **SNU**

SNU

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Cambios estructurales en la corteza somatosensorial de la rata asociados a trastornos del neurodesarrollo (#0359)

Diego Méndez [1]; Natalia Uriarte [2]; Ana Paula Leites [1]; Javier Nogueira [1]

1 - Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UdelaR. 2 - Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:
El desarrollo y maduración del sistema nervioso durante la gestación y el período posnatal temprano es altamente sensible a factores ambientales que modulan las capacidades sensoriales, motoras, cognitivas y sociales de los individuos, incidiendo en la probabilidad de desarrollar patologías psiquiátricas. Los trastornos del espectro autista (TEA) constituyen un conjunto heterogéneo de patologías del neurodesarrollo que se caracteriza por el deterioro de las interacciones sociales recíprocas, dificultades de comunicación verbal y no verbal, comportamientos repetitivos e intereses restringidos. Asimismo, se han reportado alteraciones del sistema somatosensorial aunque existen pocas referencias de las bases estructurales y funcionales implicadas. El tratamiento prenatal de roedores con ácido valproico (VPA) es un modelo ambiental de TEA que presenta un fuerte correlato con la clínica, y se basa en el efecto teratogénico del VPA observado en humanos. En este trabajo nos propusimos estudiar posibles alteraciones del sistema somatosensorial de ratas tratadas con VPA analizando la corteza somatosensorial de barriles mediante la técnica histoquímica para citocromo oxidasa. El patrón observado con esta técnica se asemeja a una malla de manchas oscuras, con una estructura de entre cuatro y nueve barriles por fila separados por regiones más claras (septos). El análisis preliminar de los resultados obtenidos muestra alteraciones en el patrón de organización de los barriles en los animales tratados con VPA, evidenciado por una menor curvatura de las filas de barriles y una disminución de la definición de los septos con eventuales fusiones entre barriles vecinos. Estos cambios no se relacionaron con cambios a nivel periférico (número y distribución de bigotes), ni a diferencias significativas en el número de neuronas del ganglio de Gasser. Concluimos además que el análisis estructural de la corteza de barriles constituye un excelente modelo para el estudio de las alteraciones celulares y circuitales del sistema nervioso asociados a patologías del neurodesarrollo.

18:30 - 20:00 **SNU**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SNU - #0115; #0223; #0248; #0104; #0349; #0153; #0271; #0262; #0201; #0341 #0345;

Diferencias en el perfil de expresión de microRNAs de exosomas de astrocitos SOD1G93A podrían explicar el efecto neurotóxico de los astrocitos en la Esclerosis Lateral Amiotrófica. (#0262)

Soledad Marton García [1]; *Ernesto Miquel* [1]; *Patricia Cassina* [1]

1 - Facultad de Medicina.

Resumen:

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad que afecta a las motoneuronas superiores e inferiores causando daño y pérdida de las mismas. Los astrocitos cumplen una función importante en la progresión de la ELA. En cultivo, los astrocitos que sobreexpresan la enzima SOD1G93A son neurotóxicos para las motoneuronas. Sin embargo, se desconoce la naturaleza del agente neurotóxico. Los astrocitos secretan exosomas que transportan proteínas, ARNm y microRNAs de una célula a la otra. En la actualidad los exosomas de los astrocitos están poco caracterizados y se conoce poco acerca del contenido de microRNAs. Los microRNAs, son pequeños RNAs de 18-25 nucleótidos que participan en la regulación post-transcripcional de la expresión génica. En el presente trabajo tratamos a las motoneuronas en cultivo con exosomas aislados de astrocitos SOD1G93A y no transgénicos. Las motoneuronas tratadas con exosomas de astrocitos SOD1G93A muestran una disminución significativa en la sobrevida así como presentan una disminución en el largo de las neuritas. Adicionalmente, aislamos el ARN total de exosomas de astrocitos SOD1G93A y analizado el perfil de expresión de los exosomas por secuenciación masiva y lo validamos por PCR cuantitativo. Encontramos diferencias en los niveles de expresión de los ciertos microRNAs como el miR-582-3p (disminuido) y miR-155-5p (aumentado). Se ha reportado que el miR-582-3p regula genes relevantes para la ALS como la cadena liviana de los neurofilamentos (NF-L). Esto sugiere que la incorporación de exosomas con diferente perfil de expresión de microRNAs podría resultar en un cambio en el perfil de expresión génica en las motoneuronas que expliquen el fenotipo neurotóxico en la ELA.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Interacción neuro-glial en la plasticidad sináptica homeostática: papel de los hemicanales astrocitarios. (#0271)

Andrea Cairus [1]; *Verónica Abudara* [1]; *Nathalia Vitureira* [1]

1 - Depto de Fisiología, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:
La plasticidad sináptica homeostática (PSH) es un tipo de plasticidad sináptica de desarrollo reciente, que se caracteriza por promover la estabilidad de los circuitos neuronales mediante ajustes compensatorios de la fuerza sináptica. Los mecanismos pre y postsinápticos involucrados en la PSH incluyen cambios en la probabilidad de liberación del neurotransmisor (pr) y en la abundancia de receptores postsinápticos. Las células gliales se erigen como socios activos de las neuronas pre y postsinápticas durante la transmisión de información en la denominada "sinapsis tripartita". En particular, los astrocitos son capaces de sensar la actividad sináptica y modularla a través de la liberación de gliotransmisores (glutamato, ATP, D-serina, TNFalpha). Sin embargo, hasta el momento no se conocen los mecanismos moleculares que median el papel de las células gliales en la regulación homeostática de la función presináptica. En este sentido, esta investigación tiene como objetivos determinar la relevancia de las células gliales en la PSH e investigar si los hemicanales astrocitarios formados por conexina43 (Cx43) y/o panexina1 (Px1), vías para la liberación de gliotransmisores, están implicados en esta forma de plasticidad. Utilizamos cultivos disociados de hipocampo de rata neonata y estudiamos cambios en la pr mediante el análisis de la abundancia del transportador de glutamato vGlut1 en sinapsis individuales utilizando diferentes condiciones experimentales. Nuestros resultados sugieren que: 1) las células gliales son esenciales para la inducción y/o mantenimiento de la PSH inducida por inactividad crónica del circuito, 2) factores solubles liberados por estas células median este proceso, 3) los hemicanales de Cx43 y los canales de Px1 son indispensables para desencadenar el ajuste homeostático de la función presináptica. En conjunto, estos resultados resaltan un rol protagónico de la interacción neurona-glía en la regulación homeostática de la función presináptica, destacando la participación de hemicanales de Cx43 y Px1 en este proceso.

EFECTO DEl ESTRÉS TEMPRANO EN LOS PROCESOS DE MEMORIA DE LA RATA (#0341)

Vanessa Athaide Garcia [1]; María Jose Zuluaga [1]; Natalia Uriarte [2]; Annabel Ferreira [1]

1 - Facultad de Ciencias - Universidad de la República, Sección Fisiología y Nutrición. 2 - Facultad de Ciencias - Universidad de la República Laboratorio de Neurociencias.

Resumen:

Situaciones adversas en períodos tempranos del desarrollo de los individuos provocan cambios duraderos en su fisiología y comportamiento, aumentando la vulnerabilidad al estrés y alterando procesos de memoria en la etapa adulta. La memoria olfativa se adquiere en el peri?odo postnatal temprano y es cri?tica para la supervivencia de las cri?as. La memoria de reconocimiento consiste en cuantificar el comportamiento de exploración de objetos nuevos en detrimento de objetos conocidos y se basa en la motivación natural de los animales de explorar ambientes novedosos. El objetivo de este trabajo fue analizar si el estrés temprano altera las memorias olfativa y de reconocimiento de objetos tanto en la adolescencia como en la etapa adulta. El modelo de estrés temprano consistió en introducir un macho desconocido, en una jaula metalica, dentro de la caja de la madre y su camada, por 4 días durante 8 hs en la fase clara. Con 11 días de vida las crías fueron sometidas a la prueba de memoria olfativa y en la adolescencia y edad adulta a la tarea de memoria de reconocimiento de objeto novedoso. Los resultados mostraron que la exposición al macho intruso no causó daños en la memoria olfativa en los machos, pero sí en las hembras evidenciando un efecto sexualmente dimórfico. En la tarea de reconocimiento de objeto novedoso, los animales presentaron déficits en la retención de memoria de larga duración tanto en la adolescencia como en la edad adulta. En base a estos resultados podemos concluir que eventos de estre?s temprano, como un contexto social adverso en el modelo de exposición a macho intruso provoca alteraciones duraderas en procesos de memoria olfativa y de reconocimiento. Financiación: Becas de Posdoctorado Caldeyro-Barcia, ANII

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Modelo *in vitro* en cámaras de microfluido para el estudio de degeneración axonal en la Enfermedad de Alzheimer (#0349)

Victoria Boix [1]; Juan Andrés Abin-Carriquiry [1]; Federico Dajas-Bailador [2]; Eduardo Savio [3]; Henry Engler [3]; Florencia Arredondo [1]

1 - Depto Neuroquímica, IIBCE. 2 - School of Life Sciences, University of Nottingham. 3 - Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM).

Resumen:
La degeneración axonal es un paso crítico dentro de los mecanismos patológicos que tienen lugar en las enfermedades neurodegenerativas. En particular, actualmente se propone que en etapas tempranas del desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (EA) se dan alteraciones a nivel del axón previo a evidenciarse la muerte neuronal. Por lo tanto, resulta de interés el estudio de los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a la degeneración axonal. Asimismo, estrategias terapéuticas capaces de prevenir la disfunción axonal y la pérdida de la conectividad neuronal, retrasarían el proceso degenerativo en la EA. En este sentido, hemos implementado el uso de cámaras de microfluido (Taylor y cols., 2005) para estudiar los mecanismos de degeneración axonal en modelos de EA y para evaluar potenciales estrategias terapéuticas. Estos dispositivos permiten realizar un cultivo celular compartimentalizado a través de microambientes aislados fluídicamente e interconectados por microcanales que admiten únicamente el pasaje de axones en crecimiento. De esta manera se obtienen dos compartimentos, uno somático y otro axonal. El diseño de estas cámaras permite un control espacio-temporal de los distintos compartimientos celulares que no es posible mediante las metodologías de cultivo en placas convencionales. Esto las postula como un modelo interesante para el estudio de los mecanismos locales de mantenimiento, degeneración y reparación axonal. En este trabajo presentamos la puesta a punto de un modelo *in vitro* en cámaras de microfluido para el estudio de procesos axodegenerativos que tienen lugar en la EA. Agradecimientos: Dra. Silvia Hernández y Lic. Silvana Baletta, Bioterio - Área de Desarrollo Biomédico - CUDIM Referencias bibliográficas: Taylor AM, Blurton-Jones M, Rhee SW, Cribbs DH, Cotman CW, Jeon NL. A microfluidic culture platform for CNS axonal injury, regeneration and transport. Nat Methods. 2(8):599-605 (2005).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Distribución de fibras hipocretinérgicas en el mesencéfalo del gato: relevancia para la modulación de la vigilia activa. (#0104)

Alicia Costa Trigo [1]; *Pablo Torterolo Minetti* [1]

1 - Facultad de Medicina.

Resumen:
Las hipocretinas (Hcrt) 1 y 2 son neuropéptidos sintetizados por un grupo neuronal localizado en el hipotálamo lateral. Esta región es responsable del inicio, coordinación y mantenimiento de comportamientos orientados a la supervivencia. Las neuronas hipocretinérgicas proyectan a todo el sistema nervioso central y ejercen su función a través de dos receptores metabotrópicos Hcrt-R1 and Hcrt-R2, que tienen patrones de distribución distintos pero coincidentes en algunas regiones. A través de estos receptores las Hcrts tienen un efecto excitatorio a nivel pre y posináptico. Las neuronas hipocretinérgicas han sido implicadas en la regulación de la vigilia: están activas durante la vigilia y quiescentes durante el sueño. Previamente, reportamos que la mayor activación hipocretinérgica ocurre durante la actividad locomotora exploratoria y en la locomoción que lleva a recompensa. En este estudio, exploramos la distribución de fibras y terminaciones hipocretinérgicas en el mesencéfalo del gato, en particular en áreas implicadas en este tipo de comportamientos. Hemos observado fibras Hcrt+ en todo el mesencéfalo del gato. De manera interesante, la sustancia gris periacueductal ventral (A10dc), región dopaminérgica implicada en la regulación del *"arousal"*, presenta la mayor densidad de inervación hipocretinérgica. Por otro lado, densidades altas a moderadas de fibras y terminaciones Hcrt+ se encuentran en los núcleos monoaminérgicos del locus coeruleus, área tegmental ventral y los núcleos: central linear, rostral linear e interfascicular. Sin embargo, la sustancia nigra presenta escasa inervación hipocretinérgica. Esta distribución anatómica, sugiere que las Hcrts podrían modular comportamientos con actividad locomotora exploratoria y orientada a un objetivo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio del efecto neuroprotector de quercetina en un modelo celular de Enfermedad de Parkinson. (#0153)

Mariángeles Kovacs Arévalo [1]; Carolina Echeverry [1]; Giselle Prunell [1]

1 - Departamento de Neuroquímica, IIBCE.

Resumen:

La Enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la presencia de alteraciones motoras asociadas a la pérdida selectiva de las neuronas dopaminérgicas de la Sustancia Nigra pars compacta. Actualmente, los tratamientos clínicos disponibles son sintomáticos, por lo que es clave la búsqueda de nuevas terapias alternativas. En este sentido, datos epidemiológicos asocian de forma significativa dietas ricas en flavonoides con una baja incidencia en enfermedades neurodegenerativas. En particular, el flavonoide quercetina ha sido objeto de varias investigaciones por su gran poder antioxidante. Sin embargo, los estudios de su poder neuroprotector en modelos de EP han sido controversiales. En este contexto, este trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad neuroprotectora de quercetina en células catecolaminérgicas PC12 naive y diferenciadas en un modelo de EP por exposición a Rotenona. Los resultados muestran que la exposición a rotenona (48hrs.) produce muerte neuronal dosis- dependiente disminuyendo la sobrevida celular en un 50% a la dosis de 100 nM para las PC12 naive y 40 nM para las PC12 diferenciadas, evaluada por el ensayo con Rojo Neutro. Estas concentraciones fueron utilizadas para evaluar el efecto de un pre-tratamiento con quercetina durante 24hrs. La quercetina mostró ser neuroprotectora tanto en células naive (25-50 μM) como diferenciadas (20 μM). Esta protección se correlaciona con una tendencia a disminuir el aumento en los niveles de radicales libres inducido por rotenona, evaluado con la sonda diclorofluoresceína. Para profundizar en la importancia de la capacidad antioxidante de la quercetina sobre el efecto neuroprotector, evaluamos su participación en un modelo de estrés oxidativo con H_2O_2. Similar a lo observado en el modelo de EP con rotenona, la quercetina resultó ser neuroprotectora (5μM). Los datos indican que la quercetina es neuroprotectora en nuestro modelo celular de EP y que su capacidad antioxidante estaría implicada en esta propiedad.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

EFECTO DE LA EXPERIENCIA REPRODUCTIVA Y MATERNAL PREVIA EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS EN ÁREAS DEL CIRCUITO MOTIVACIONAL DE HEMBRAS EN ESTRO POSPARTO (#0223)

Daniella Agrati [1]; Gabriella Marin [1]; Gabriela Bedó [1]; Marta Antonelli [2]; Annabel Ferreira [1]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - UBA.

Resumen:

Las ratas en estro posparto (EPP) -maternal y sexualmente motivadas- prefieren en una situación de elección a las crías frente a un macho. Sin embargo, esta preferencia es mayor en hembras multíparas (Mult, con experiencia reproductiva y maternal previa) que en primíparas (Prim, sin experiencia previa), indicando que las hembras en EPP Mult poseen mayor motivación maternal. La neurotransmisión dopaminérgica en el núcelo accumbens (NAcc) y en el área preóptica media (mPOA) ha sido implicada en la modulación de ambas motivaciones, aunque se le atribuye un papel más relevante al sistema mesolímbico en el control de la motivación maternal que de la sexual. En base a esta evidencia es posible suponer que el sistema dopaminérgico mesolímbico es diferente en hembras en EPP con y sin experiencia reproductiva y maternal previa. Como primer abordaje para probar esta hipótesis comparamos la expresión de receptores dopaminérgicos D1 y D2 en el NAcc y el mPOA de hembras Prim (n=5) y Mult (n=4) 12 hs luego del parto a través de autoradiografía utilizando [H^3]-SCH-23390 (antagonista D1) y [H^3]-nemonapride (antagonista D2). Las hembras Mult exhibieron una unión mayor a [H^3]-SCH-23390 ($t(7)=-3,4$ y $t(7)=-4,1$, $p<0,05$) y a [H^3]-nemonapride ($t(6)=-2,2$, $p=0,07$ y $t(6)=-2,0$, $p=0,09$) en las subregiones *core* y *shell* del NAcc, mientras que no se detectaron diferencias en la unión de ambos ligandos en el mPOA ($t(7)=-0,5$ y $t(6)=1,4$, p=NS) entre ratas Prim y Mult. Estos resultados sugieren que las diferencias motivacionales entre hembras en EPP con y sin experiencia reproductiva previa pueden asociarse a una expresión diferencial de receptores dopaminérgicos en el sistema mesolímbico de ambos tipos de madres.

CONSUMO DE ALCOHOL EN DOS MODELOS DE MANÍA EN RATAS (#0248)

Paul Ruiz [1]; Aldo Calliari [1]; Ricardo Pautassi [2]

1 - Departamento de Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, UdelaR. 2 - Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra, UNC.

Resumen:

Existe evidencia que vincula la depresión con el consumo de alcohol, siendo mucho menos claro este vínculo con la manía. En roedores, la administración crónica de psicoestimulantes es comúnmente empleada como modelo de estados maníacos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación entre estados maníacos y consumo de alcohol, durante la adolescencia de la rata, en dos modelos farmacológicos de esas patologías. También se indagó el posible desarrollo de sensibilización motora, inducido por estas drogas. La sensibilización motora implica un aumento progresivo en los efectos estimulantes de las drogas, luego de la administración repetida, y usualmente intermitente, de las mismas. Se ha sugerido que este fenómeno reflejaría cambios neurobiológicos asociados a la transición a un consumo patológico de sustancias. Ratas Wistar de 30 días de edad, machos o hembras, fueron administradas con anfetamina (4mg/Kg/día, durante 5 días), metilfenidato (10mg/Kg/2 veces al día, durante 6 días) o vehículo. La respuesta motora a la droga (distancia recorrida en un campo abierto) se evaluaba de manera diaria. Luego fueron evaluadas en una prueba de consumo de alcohol de doble botella de 24hs, por tres días. Ambas drogas ejercieron efectos estimulantes motores durante la fase de administración, pero no se observaron indicios de sensibilización. Las hembras tratadas con anfetamina, pero no con metilfenidato, exhibieron un consumo significativamente mayor de alcohol (gr/Kg y preferencia) que sus pares controles del mismo sexo, en tanto que los tratamientos no alteraron los patrones de consumo en los machos. Estos resultados indican que la exposición repetida a anfetamina en hembras, pero no a metilfenidato, puede ser un factor de vulnerabilidad para el consumo de alcohol en la adolescencia, etapa donde el consumo de esta droga usualmente inicia y escala.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

EFECTO DEL ANESTÉSICO URETANO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA BANDA GAMMA (30-100 Hz) DE FRECUENCIA DEL ELECTROENCEFALOGRAMA (#0115)

Noelia Santana [1]; Matias Cavelli [1]; Santiago Castro [1]; Atilio Falconi [1]; Pablo Torterolo [1]

1 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

Resumen:

Las funciones cognitivas requieren la integración de grandes poblaciones neuronales en regiones corticales y subcorticales. En el electroencefalograma (EEG), que representa un correlato eléctrico de actividad cortical,se distinguen oscilaciones de 30 a 100 Hz (banda gamma de frecuencia). Estas han sido involucradas en la organización temporal y espacial de la actividad neural, necesaria para una actividad cognitiva normal. El uretano es un anestésico que genera, en el EEG de roedores, ciclos con ondas lentas (0.5-4 Hz) y husos de sueño similares al sueño no-REM (sNREM), seguidos de desincronización y ritmo theta (4 a 9 Hz) en el hipocampo similares al sueño REM y Vigilia (V). Estos estados los denominamos sNREMur y sREMur respectivamente. Nuestro objetivo en este trabajo fue estudiar la interacción funcional de las oscilaciones gamma entre diferentes áreas corticales de la rata, durante vigilia, sueño y la anestesia con uretano. Para llevar a cabo dicho objetivo se realizaron estudios polisomnográficos en ratas. Posteriormente, se analizó la potencia del EEG; yla coherencia para la banda gamma de frecuencia durante V, sNREM, sREM y bajo efecto anestésico del uretano (1-1.5 g/kg). Mayor potencia en un área cortical, es indicio de mayor actividad y sincronización local, y mayor coherencia entre dos áreas corticales sugiere mayor interacción funcional entre ellas a una determinada frecuencia. La máxima potencia y coherencia gamma se observó durante V. Éstas disminuyeron durante sNREM, observándose un aumento de potencia, no así de coherencia, en sREM. Los valores mínimos de potencia y coherencia se observaron bajo el efecto del uretano (sNREMur y sREMur). En conclusión, durante la anestesia con uretano existe una marcada disminución de la potencia y coherencia gamma entre áreas distantes de la neocorteza. Dicha disminución podría explicar la reducción de las funciones cognitivas en la narcosis inducida por este anestésico.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Representaciones Imaginisticas de rasgos intírnsecos y extrínsecos de los eventos (#0345)

Maria Noel Macedo Viera [1]

1 - Facultad de Psicología.

Resumen:
Hallazgos actuales muestran que las características intrínsecas de ciertos eventos son capturados rutinariamente mediante imágenes (p. e., CORRER como movimiento sobre un eje lateral en lugar de SALTAR como movimiento sobre un eje vertical). Al mismo tiempo, otros estudios hallaron representaciones espaciales de rasgos extrínsecos de los eventos. Por ejemplo, la asignación izquierda-pasado derecha-futuro o izquierda-potencial derecha-real. Así, rasgos intrínsecos y extrínsecos de los eventos parecen tener una representación modal, es decir, en una modalidad perceptiva (espacio), además de la abstracta o formal (amodal). Nuestro estudio se preguntó cómo es modulada la co-activación de estas representaciones modales: ¿compiten o se fusionan dentro de una representación global? En el interés de dar respuesta a esta pregunta, evaluamos el rol de las demandas atencionales de una tarea experimental. Después de un estudio de normalización, mediante una tarea combinada de elección de esquema y de categorización temporal, se solicitó a los participantes asociar un esquema espacial a un verbo que les apareció en la pantalla de un monitor. Posteriormente, se les pidió decidir si ese verbo estaba en pasado o en futuro. En este caso, los participantes mostraron su decisión al pulsar una tecla izquierda o derecha. Los hallazgos mostraron que las representaciones modales de los rasgos intrínsecos de los eventos modulan la representación modal del tiempo de los eventos en la medida que las primeras se hacen más específicas y refinadas. En este sentido, las representaciones modales de rasgos intrínsecos y extrínsecos de los eventos no parecen configurar a priori una representación modal global, sino interactuar en razón de las demandas de la memoria de trabajo y de la precisión de la categorización de referencia. Palabras clave: espacio, tiempo, eventos, representación modal

Sábado

15:00 - 17:00 **SNU**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SNU - #0053; #0084; #0291; #0090; #0249; #0132; #0106; #0366; #0074; #0042,

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Efectos de la deficiencia de hierro sobre los astrocitos (#0291)

Eugenia Isasi [1]; *Mariana Perata* [2]; *Silvia Olivera-Bravo* [2]

1 - Neurobiología Celular y Molecular, Instituto Clemente Estable; Departamento de Histología y Embriolgía, Facultad de Medicina. 2 - Neurobiología Celular y Molecular, Instituto Clemente Estable.

Resumen:

La deficiencia de hierro (DH) afecta al neurodesarrollo. Los astrocitos participan en procesos claves del neurodesarrollo y están implicados en el metabolismo cerebral de hierro, pero su respuesta frente a la DH es poco conocida. Se analizó la mielinización y el fenotipo astrocitario en hijos de ratas Sprague Dawley alimentadas desde el día 5 de gestación y hasta el día 21 postnatal con una dieta AIN-93G control (C, 40 mg/Kg) o empobrecida en hierro (DH, 4 mg/Kg). Las crías DH de 14 días presentaron anemia microcítica e hipocrómica severa. A los 30 días, se observó una mejora en la anemia, permaneciendo bajos los valores de hemoglobina y hematocrito. A nivel del cuerpo calloso medial se observó una disminución de la marcación de fluoromielina, de la proteína proteolípida y de la densidad de oligodendrocitos maduros CC1+ a los 30 días evidenciando hipomielinización y maduración deficiente de los oligodendrocitos. En esta región, los animales DH no mostraron cambios en la densidad de astrocitos S100β+ o glutamina sintasa+, pero hubo un aumento significativo para S100β y una disminución de la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), evidenciando cambios en el fenotipo astrocitario causados por DH. Los cultivos primarios de astrocitos de animales C y DH no mostraron cambios significativos en la viabilidad, proliferación y expresión de marcadores. Sin embargo, la presencia del quelante de hierro desferroxamina (DFO, 100 μM, 24h) produjo una mayor reactividad glial (aumento de GFAP y S100β) en astrocitos C respecto de los DH indicando una mayor vulnerabilidad frente al quelante. En suma, si bien la DH afecta prioritariamente a los oligodendrocitos, también altera el fenotipo astrocitario *in vivo* e *in vitro*, lo que podría repercutir sobre la señalización hacia los oligodendrocitos y contribuir a la fallas de la mielinización.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Modulación metabólica en astrocitos por silenciamiento génico de la enzima piruvato deshidrogenasa kinasa (#0053)

Rosalía Villarino [1]; Ernesto Miquel [1]; Patricia Cassina [1]

1 - Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa letal de etiología desconocida caracterizada por la degeneración de las motoneuronas. En esta enfermedad las células gliales que rodean a las neuronas participan activamente en el proceso neurodegenerativo. Estudios en modelos animales de ELA portadores de la mutación SOD1G93A mostraron que sus astrocitos presentan una actividad mitocondrial disminuida asociada a una actividad neurotóxica. Nuestro laboratorio demostró que el tratamiento de astrocitos SOD1G93A con dicloracetato (DCA),compuesto que estimula la actividad mitocondrial inhibiendo la enzima piruvato deshidrogenasa kinasa (PDK) restableció su función mitocondrial y redujo su toxicidad hacia motoneuronas. La administración sistémica de DCA a ratones SOD1G93A retardó el comienzo de síntomas y extendió la supervivencia de los animales. Sin embargo,en ese trabajo la administración de DCA se realizó a nivel sistémico, afectando no sólo a los astrocitos,sino a todas las células. Aprovechando la expresión diferencial de las isoformas de PDK en astrocitos y neuronas,en el presente trabajo buscamos una estrategia más específica para estimular la actividad mitocondrial únicamente en astrocitos, mediante silenciamiento génico de la isoforma presente en este tipo celular. Se transfectaron cultivos celulares de astrocitos con ARN pequeño interferente (siRNA) dirigido a la enzima PDK2 y se optimizaron las condiciones de transfección. Se midió la expresión del ARN mensajero para PDK mediante qPCR,observándose una disminución significativa del mismo.Además, se comprobó una disminución en la actividad PDK en los cultivos mediante western blot contra el blanco de fosforilación de esta enzima, la enzima piruvato deshidrogenasa (PDH). Finalmente, el tratamiento de astrocitos SOD1G93A con siRNA contra PDK redujo su toxicidad hacia motoneuronas en cocultivo. Estos resultados refuerzan la idea de que la modulación de la actividad mitocondrial de los astrocitos por distintas estrategias es un blanco promisiorio para extender la vida o mejorar el nivel de vida de los pacientes con ELA.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

AGRESIÓN ENTRE HEMBRAS: UN NUEVO MODELO PARA EL ESTUDIO DEL CONTROL HORMONAL DE LA AGRESIÓN NO REPRODUCTIVA (#0366)

Laura Quintana [1]; Lucía Zubizarreta [2]; Guillermo Eastman [3]; Federico Reyes [1]; Manuel Minteguiaga [4]; José Sotelo [3]; Ana Silva [5]

1 - Unidad Bases Neurales de la Conducta, Dpto. de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Unidad Bases Neurales de la Conducta, Dpto. de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Dpto. de Fisiología, Facultad de Medicina, UdelaR. 3 - Dpto. de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 4 - Plataforma de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 5 - Unidad Bases Neurales de la Conducta, Dpto. de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

En vertebrados, la agresión ha sido asociada a los altos niveles circulantes de andrógenos en machos reproductores. Hay, sin embargo, dos escenarios en los que se está reviendo su rol de modulador principal: la agresión del periodo no reproductivo, y la agresión entre hembras. El pez eléctrico *Gymnotus omarorum* combina ambos aspectos y es entonces un modelo ventajoso para el estudio del control neuroendócrino de la agresión, y en particular el rol que cumple el estrógeno (E), que es clave para la agresión en aves y mamíferos. El valor de este modelo se basa en los siguientes aspectos. A) *G. omarorum* despliega agresión robusta en el periodo no reproductivo, independiente de la gónada (en machos) B) Las díadas hembra-hembra muestran contiendas de alta intensidad (latencia a primer ataque: mediana (MAD) 27 (20.5)s, n=6; tasa de ataques: 0.2 (0.1) ataques/s, n=6) y señalan su sumisión electricamente. C) El resultado de la pelea es predecible por tamaño de contendientes y la jerarquía post resolución no correlaciona con niveles de E circulante D) El bloqueo de la enzima que sintetiza E (aromatasa) causa un aumento de latencia al primer ataque (27 (20.5) comparado a 396 (188)s en tratados) y una disminución de la tasa de ataques (0.2 (0,1) ataques/s comparado a 0.07 (0.017) en tratados), aunque no se observaron cambios en los niveles circulantes de E. E) Se obtuvo la primer secuenciación transcriptómica de la especie, y se identificaron transcriptos de aromatasa en el cerebro femenino. Este el primer pez teleósteo en que se ha reportado un rol del estrógeno en la agresión no reproductiva. Este modelo tiene un gran potencial para contribuir a la identificación de aspectos comunes de la modulación de la agresión en diferentes sexos y taxa. ANII_FCE 104272,PEDECIBA

Neurulación en vertebrados: rol de los genes de la familia *marcks* en el proceso de extensión convergencia de la placa neural en el pez cebra (*Danio rerio*) (#0084)

Antonella Arrieta [1]; Lucia Veloz [1]; Antonella Alba [1]; Gonzalo Aparicio [1]; Flavio Zolessi [1]

1 - Institut Pasteur de Montevideo/Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

Antonella Arrieta*;Lucía Veloz*; Antonella Alba*; Gonzalo Aparicio; Flavio R. Zolessi *Contribuyeron por igual. Laboratorio de Biología Celular del Desarrollo Neural & Sección Biología Celular La neurulación ocurre durante el desarrollo embrionario e implica una reorganización celular que dará lugar a una estructura transitoria denominada placa neural, que se pliega e invagina para formar el esbozo del sistema nervioso central (el tubo neural). Esta reorganización depende en gran medida de los filamentos de actina y sus proteínas moduladoras, como las proteínas de la familia MARCKS. Este trabajo se centró en el estudio del rol de los genes *marcksb* y *marcksl1a* en el proceso de extensión convergente de la placa neural en el pez cebra. Para esto, realizamos experimentos de silenciamiento de éstos y del gen *vangl2* (cuya función en la extensión convergencia es conocida, ya que forma parte de la vía de "Polaridad Celular Planar" o PCP), por separado y simultáneamente, con el fin de determinar si existe una interacción funcional entre ellos. El silenciamiento se logró mediante la microinyección de oligómeros de morfolino específicos en embriones de pez cebra tempranos (hasta las 4 células). Del análisis del fenotipo externo de los embriones, así como de la morfología del tubo neural observada utilizando microscopía confocal, se desprende que las funciones de *marcksb* y *marcksl1a* son distintas, ya que los fenotipos difieren para una misma dosis de morfolino. Por otra parte, los resultados sugieren la existencia de una interacción génica entre el gen de *marcksl1a* y *vangl2*, ya que el fenotipo obtenido de la inyección de ambos morfolinos juntos no es igual a la superposición de los fenotipos de la inyección de cada uno por separado, a idénticas dosis. En conclusión, *marcksl1a* parece ser más importante que *marcksb* en el proceso de extensión convergencia, posiblemente en relación a la vía PCP.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Deleted in breast cancer-1 regula la funcionalidad del hipocampo (#0042)

Andres Benitez [1]; Aldo Calliari [2]; Elisa Poggi [1]; Rocio Varela [3]; Carlos Escande [4]

1 - Facultad de veterinaria. 2 - Facultad de veterinaria, Institut Pasteur. 3 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 4 - Intitut Pasteur.

Resumen:

Deleted in Breast Cancer-1 regula la funcionalidad del hipocampo Andrés Benítez1, Elisa Poggi1, Rocío Varela2, Carlos Escande3, Aldo Calliari1,3 1- Departamento de Biología Celular y Molecular. Fac Veterinaria-UdelaR. 2- Laboratorio de señalización celular y Nanobiología. IIBCE. 3- Laboratorio de Patologías del Metabolismo y Envejecimiento. IP Montevideo. Deleted in Breast Cancer 1 (DBC1) es una proteína ubicua cuya relevancia funcional ha permanecido prácticamente desconocida hasta hace pocos años, cuando emergió como un regulador relevante de SIRT1, una desacetilasa NAD-dependiente. Esta última ha concitado gran interés, pues regula múltiples vías de señalización. Utilizando diversos modelos de enfermedades neurodegenerativas crónicas, se ha observado que SIRT1 puede atenuar el curso de muchas de ellas. Además, SIRT1 modula la ansiedad, el comportamiento exploratorio en roedores y es importante para consolidación de la memoria. Lo anterior sugiere que DBC1 debería desempeñar una función relevante en la fisiología del Sistema Nervioso Central, un aspecto aún no explorado. Resultados preliminares muestran que esta proteína se encuentra enriquecida en el hipocampo respecto a otras regiones del cerebro. El hipocampo es particularmente interesante ya que es el sitio donde se consolida la memoria, fenómeno que depende de dos aspectos: cambios en la conectividad neuronal y neurogénesis. Consistentemente con lo anterior, los animales KO para DBC1, muestran a nivel del Giro Dentado del hipocampo, porcentajes de neuronas inmaduras notoriamente mas bajos que los animales controles, lo cual sugiere tasas neurogénicas menores. Si bien no se detectan trastornos locomotores o de ansiedad en estos animales, hemos detectado diferencias en el desarrollo de memoria espacial y contextual de mediano plazo, según lo revela el test de Reconocimiento de Objetos Novedosos. Por lo anterior proponemos que DBC1 desempeñaría una función relevante en la fisiología del hipocampo, asociada a la formación de memoria y a través del control de la diferenciación neuronal.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

EFECTO DE LA IBOGAINA SOBRE LA VIGILIA Y EL SUEÑO (#0074)

Joaquin Gonzalez [1]; Matias Cavelli [1]; Luciana Benedetto [1]; Natalia Schwarzkopf [1]; Alejandra Mondino [1]; Mariana Pazos [2]; Paola Rodriguez [2]; Atilio Falconi [1]; Pablo Torterolo [1]; Ignacio Carrera [2]

1 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina UDELAR.. 2 - Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, UDELAR.

Resumen:

La Ibogaina es un potente alcaloide extraído de las raíces del arbusto africano "Tabernanthe Iboga" conocido por sus propiedades anti adictivas y oneirofrénicas (generadora de sueños). Las áreas centrales donde ejerce dichos efectos siguen siendo debatidas. A pesar de que uno de los principales sitios de acción de la Ibogaina es a nivel de la Formación Reticulada, área crítica en la generación de la vigilia y el sueño REM, sus efectos sobre la vigilia y el sueño aún se desconocen. El objetivo de este trabajo fue la caracterización de los efectos de la Ibogaina sobre la vigilia y el sueño. Para evaluar estos efectos se realizaron registros polisomnográficos de seis horas durante la fase de luz en ocho ratas previamente implantadas para registros crónicos. Al inicio de cada sesión experimental cada rata recibió una dosis de Ibogaina 20 mg/kg (I_{20}), 40 mg/kg (I_{40}) o vehículo i.p, en diferentes días en forma aleatoria. Los resultados muestran un aumento significativo ($p<0,05$) en el tiempo total de vigilia I_{20} (135,5±9,8 min $p=0,005$), I_{40}(182,6±26 min $p=0,02$), comparado con el control (95,1±7 min). Concomitantemente, se observó una disminución significativa del sueño no-REM I_{20}(162,3±7 min $p=0,002$), I_{40}(127,4±19 min $p=0,01$) en comparación con los controles (197,8±7 min). Como también del sueño REM, I_{20}(22,1±2 min $p=0,009$) I_{40}(11,5±3 min $p=0,003$) comparado con el control (33,6±2 min). Por último se observó un aumento significativo de la latencia a sueño REM con la dosis I_{40}(229,8±43 min $p=0,02$) comparado con control (72,5±5 min).Estos resultados son la primera evidencia de que la Ibogaina promueve la vigilia y que aumenta a expensas de una disminución tanto del sueño no-REM como del sueño REM.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la protección neuronal de los canabinoides, Cannabidiol y Cannabigerol, frente al estrés oxidativo. (#0090)

Carolina Echeverry [1]; Giselle Prunell [1]; Xavier Nadal [2]; Juan Andres Abin [1]; Cecilia Scorza [3]

1 - Departamento de Neuroquímica, IIBCE. 2 - Phytoplant Research. 3 - Neurofarmacología Experimental, IIBCE.

Resumen:

Cannabis sativa contiene más de 400 compuestos cannabinoides algunos de los cuales han mostrado propiedades benéficas para la salud. La mayoría de los estudios se enfocan en el D9-tetrahidrocannabinol, principal cannabinoide psicoactivo de la planta, aunque se han identificado otros cannabinoides no psicoactivos, entre los que se destacan el cannabidiol (CBD) y cannabigerol (CBG). Existe un creciente interés en el estudio de cannabinoides como agentes neuroprotectores debido a que algunos de ellos son capaces de contrarrestar el estrés oxidativo, mecanismo implicado en el daño neuronal en patologías del sistema nervioso. En particular, CBG y CBD al poseer características estructurales que se asocian con una buena capacidad antioxidante podrían ser eficaces agentes neuroprotectores. Existen pocos reportes acerca de dicha propiedad en ambos compuestos así como su posible acción aditiva/sinérgica. En este contexto evaluamos el efecto neuroprotector de CBG y CBD (0-10 μM) y su combinación en células PC12 diferenciadas y cultivos primarios de neuronas granulares de cerebelo (NGC) a diferentes tiempos de pre-incubación (1 y 24 horas) previos a un daño oxidativo por peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La neuroprotección se evaluó morfológicamente y mediante el ensayo del MTT. Asimismo, la capacidad antioxidante se determinó utilizando el ensayo del ABTS. Los resultados muestran que, aunque ambos compuestos presentaron una potente capacidad antioxidante, no previnieron la muerte inducida por H_2O_2 en células PC12 a ninguno de los tiempos ensayados. Incluso, la co-administración de ambos compuestos tendió a aumentar la toxicidad. En contraste, en NGC, tanto CBD (1.25 y 2.5 μM) como CBG (5 μM) y su co-administración (CBD 1.25 + CBG 5; CBD 2.5 + CBG5 μM) indujo una significativa neuroprotección 1 hora previa al H_2O_2. Si bien futuros experimentos deberán realizarse para ahondar en los mecanismos neuroprotectores, nuestros resultados abren posibles perspectivas terapéuticas con estos compuestos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Efecto de la administración aguda de Cannabis vaporizado sobre el ciclo sueño vigilia y la potencia de las bandas de frecuencia del electroencefalograma. (#0106)

Alejandra Mondino Vero [1]; Matias Cavelli [1]; Joaquin Gonzalez [1]; Santiago Fernández [2]; Carlos García [2]; Pablo Torterolo [1]; Atilio Falconi [1]

1 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño Facultad de Medicina. 2 - Farmacognosia, Facultad de Química.

Resumen:

Cannabis spp. es la droga de uso recreativo más consumida a nivel mundial. Existen reportes de que podría ser beneficiosa para el tratamiento de alteraciones del sueño, sin embargo, aún existen discrepancias. Por otra parte, la administración de cannabinoides aislados ha sido asociada a cambios en la actividad del electroencefalograma (EEG). Sin embargo, no hemos encontrado reportes en los que se utilice material vegetal completo. El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos de la administración de cannabis vaporizado sobre el ciclo sueño-vigilia y la potencia espectral de las diferentes bandas de frecuencia del EEG. Para ello, se realizaron registros polisomnográficos de seis horas durante la fase de luz en seis ratas previamente implantadas para registros crónicos. Previo a cada registro, los animales fueron colocados en una caja hermética con placas termostatizadas en las que vaporizamos durante 10 minutos 0, 40 u 80mg de material vegetal con 12,5% THC. Si bien, no se observaron variaciones significativas en el tiempo total de vigilia, sueño lento y sueño REM, sí existieron diferencias en la actividad oscilatoria del EEG durante el sueño. Durante el sueño lento, la administración de Cannabis (40 y 80mg) provocó un incremento significativo ($p<0,05$) de la potencia de las ondas delta, theta, sigma y beta durante la primera hora y gamma durante la segunda hora de registro. Mientras que durante el sueño REM observamos un aumento significativo de la potencia de las bandas gamma y las oscilaciones de alta frecuencia (> 100 Hz, HFO) durante la segunda hora de registro. Estos resultados plantean que la administración de Cannabis generaría una profundización del sueño lento dado el incremento en la potencia de las ondas más lentas del EEG, así como una mayor activación cortical durante el sueño REM (aumento de la potencia gamma y ultragamma HFO).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Identificación del receptor de la hormona concentradora de melanina (MCHR-1) en las cilias primarias de neuronas del SNC de la rata. (#0132)

Sofía Niño [1]; Pablo Torterolo [1]; Patricia Lagos [1]

1 - Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina.

Resumen:

Introducción: La hormona concentradora de melanina (MCH) es un neuropéptido hipotalámico que induce la ingesta y modula el ciclo sueño-vigilia. En roedores se une a su receptor metabotrópico, el MCHR-1, el cual es capaz de internalizarse y así mediar sus efectos. Mediante la técnica de hibridación *in situ* en cortes de tejido, se detectó la presencia del ARNm del MCHR-1 en hipocampo, subiculum, amígdala, nucleo accumbens, tálamo, núcleo arcuato, núcleo pontino y núcleo dorsal del rafe (NDR), entre otros. Estas regiones también reciben una densa inervación de fibras MCHérgicas. La gran mayoría de los estudios sobre los efectos intracelulares producidos por la MCH se han realizado en sistemas heterólogos con sobre-expresión del MCHR-1. Sin embargo, aún no ha sido evidenciada la presencia endógena del MCHR-1 en el SNC de la rata, ni sobre qué fenotipos neuronales se expresa. **Objetivo:** Evidenciar la presencia del MCHR-1 mediante técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia en el SNC de la rata, particularmente en el NDR y determinar el fenotipo neuronal que presenta el receptor. **Metodología**: Ratas Wistar macho fueron anestesiadas y perfundidas (NaCl 0,9% y paraformaldehído 4%). Luego los cerebros fueron procesados, cortados en crióstato y las secciones ensayadas para detectar por inmunohistoquímica o inmunofluorescencia el MCHR-1, tubulina acetilada, GABA o serotonina. **Resultados y conclusiones:** Se verificó la presencia del MCHR-1 en el NDR, hipocampo, hipotálamo y corteza cerebral. Su localización a nivel celular fue en las cilias primarias, ya que se correspondía con la marca observada con la tubulina acetilada, un marcador específico de las mismas. En el NDR, el MCHR-1 estaba presente en algunas neuronas serotoninérgicas y GABAaérgicas. Esto sugiere que estas neuronas son MCH-receptivas y apoya resultados previos sobre la participación de la MCH en comportamientos pro-depresivos y en la inducción del sueño REM al ser microinyectada en el NDR.

NIVEL DE DOPAMINA INSULAR EN DOS MODELOS DE MANIA. (#0249)

Paul Ruiz [1]; Aldo Calliari [1]; Ricardo Pautassi [2]

1 - Departamento de Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, UdelaR. 2 - Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra, UNC.

Resumen:

La administración crónica de psicoestimulantes es comúnmente empleada como modelo de estados maníacos y, asimismo, es la terapéutica de elección en el trastorno por déficit atencional en niños y adolescentes. Así entonces, es importante analizar el impacto de estas drogas sobre el sistema monoaminérgico, alterado en los estados maníacos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la variación de los niveles de dopamina insular en dos modelos de ratas maníacas. Ratas Wistar de 30 días de edad, machos y hembras, fueron administradas con Metilfenidato (0,0 o 10.0 mg/Kg/día, durante 4 días, Experimento 1), o Anfetamina (0,0 o 4,0 mg/Kg/día, durante 5 días, Experimento 2). El efecto estimulante motor de ambas drogas fue confirmado mediante la medición diaria en la prueba de campo abierto. Al finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados, diseccionándose la corteza insular para la posterior medición de dopamina por HPLC. Ambas drogas indujeron actividad motora, la cual fue similar a lo largo del tratamiento. Los animales tratados crónicamente con anfetamina, pero no los tratados con metilfenidato, exhibieron una reducción en los niveles de dopamina insular. Estos resultados sugieren que el uso crónico de anfetaminas, pero no de metilfenidato, durante la adolescencia altera los niveles de neurotransmisores relevantes para los procesos motivacionales.

Domingo

14:00 - 15:30 **SNU**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SNU - #0327; #0102; #0158; #0060; #0059; #0266; #0244; #0078; #0023; #0250; #0020

Caracterización del crecimiento de axones simpáticos postnatales en matrices 3D de colágeno tipo-I: relevancia de la rigidez (#0266)

Gabriela Vierci [1]; Gaby Martínez [2]; Nicolás Unsain [2]; Ma Paula Latorre [1]; Mónica Brauer [1]; Analía Richeri [1]
1 - Lab. de Biología Celular, IIBCE. 2 - Lab. de Neurobiología, IMMF, Universidad Nacional de Córdoba.

Resumen:
Una de las de propiedades físicas que puede cambiar en el microambiente de los axones es la rigidez de la matriz extracelular por donde transitan. Sin embargo, la influencia de la rigidez del sustrato sobre el crecimiento axonal es un campo que ha sido poco explorado. El colágeno-I, componente más abundante de la matriz extracelular, es ampliamente utilizado en ingeniería de tejidos para promover la regeneración de nervios periféricos. En este trabajo nos propusimos estudiar el efecto de la rigidez de matrices tridimensionales (3D) de colágeno-I sobre el crecimiento de los axones simpáticos, utilizando cultivos primarios de explantos de ganglio cervical superior de ratas postnatales. Los axones simpáticos fueron desafiados a crecer en un sustrato rígido generado por el tratamiento del colágeno con glicoaldheído (GA) y se evaluó su crecimiento por microscopía de fluorescencia a las 24 y 48 horas de cultivo. Los explantos crecidos en matrices-3D rígidas presentaron axones más cortos que en matrices controles. Esta inhibición del crecimiento axonal provocada por la rigidez se detecta tanto a las 24hs como a las 48hs. La morfología del cono de crecimiento de los axones (CC) también se vio afectada. A las 24hs, el 72% de los axones crecidos en matrices rígidas presentaba CCs colapsados, mientras que sólo un 40% de los CCs crecidos en matrices control mostraron esta morfología. A las 48hs, esta diferencia se acentuó aún más (CCs colapsados: 80% matrices-3D-rígidas vs 21% matrices-3D-control; $p=0,0001$). Estos resultados ponen de manifiesto la relevancia de la rigidez de las matrices de colágeno demostrando que los axones simpáticos enfrentados a un ambiente rígido crecen menos, a pesar de que este sea permisivo, viéndose afectado también el citoesqueleto de F-actina de la estructura axonal que sensa el ambiente.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Sintesis de derivados de quercetina para su posterior evaluación como antioxidantes (#0020)

Damian Ayala [1]; *Gabriel Sagrera* [1]

1 - Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química.

Resumen:
Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y poseen diversas actividades biológicas, entre ellas antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas. Son componentes importantes en la dieta humana, aunque se consideran como no nutrientes. Se estima que la ingesta diaria de flavonoides oscila entre 50 y 1000 mg, dependiendo del consumo de vegetales y frutas, vino tinto y té, aunque esta cantidad puede ser superior en personas que suplementan sus dietas con flavonoides. Se ha sugerido que los flavonoides deben poseer una toxicidad mínima si son ingeridos en las cantidades de una dieta típica vegetariana. Está ampliamente aceptado que los radicales libres oxigenados, conocidos como especies reactivas de oxígeno (ERO) son causantes de envejecimiento y diversas enfermedades degenerativas (enfermedad cardíaca, cataratas, disfunción cognitiva, cáncer). Los humanos poseen sistemas antioxidantes endógenos que brindan cierta protección contra radicales libres oxigenados. Sin embargo, debido a la eficiencia incompleta de los sistemas endógenos de defensa y la abundancia de algunas situaciones fisiopatológicas en donde se producen ERO en exceso, se necesitan antioxidantes presentes en la dieta para disminuir los efectos acumulativos del daño oxidativo. Con respecto a esto, diversos flavonoles, entre ellos la quercetina poseen actividad antioxidante. En el marco de un proyecto relacionado con la síntesis y evaluación biologica de flavonoides nos hemos propuesto la sintesis de una serie de flavonoles derivados de la quercetina para su posterior evaluacion como antioxidantes. Se prepararon en cuatro etapas: protección de los hidroxilos fenólicos de los precursores, condensación aldólica para formar 2'-hidroxichalconas, ciclación oxidativa y remoción de los grupos protectores. Los compuestos fueron obtenidos con buenos rendimientos y caracterizados por RMN y EM. En una etapa posterior se determinará la actividad antioxidante en una etapa posterior por decoloración del radical difenilpicrilhidrazilo (DPPH) e inhibición de la peroxidación lipidica (TBARS).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

EL HALOPERIDOL PROMUEVE EL SUEÑO DE ONDAS LENTAS DURANTE EL POSTPARTO DE LA RATA (#0023)

Florencia Noel Peña [1]; Mayda Rivas [1]; Joaquín Gonzalez [1]; Annabel Ferreira [2]; Pablo Torterolo [1]; Luciana Benedetto [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.

Resumen:
El estímulo de succión provoca la eyección de leche (EL), un evento que se asocia al sueño de ondas lentas (SWS). La EL se puede medir indirectamente por la ganancia de peso de las crías (GPC), evento que no ocurre si las ratas madres se encuentran privadas de sueño. El Haloperidol (HAL) es un antagonista dopaminérgico que facilita la adopción de posturas de amamantamiento, la EL y la GPC en ratas madres, y promueve el SWS en ratas macho, un efecto que no ha sido determinado en hembras lactantes. Nuestro objetivo es determinar si el HAL promueve el SWS en ratas madres y si existe una correlación entre el SWS y la GPC. Se trataron ratas madres (n=6), previamente implantadas para registros polisomnográficos, con HAL (0.4 mg/kg, i.p.) o vehículo. El tratamiento se realizó tres horas después de la separación de la camada (cuatro machos, cuatro hembras) de la madre y una hora antes de su reunión, entre los días 6-8 postparto. Luego de su reunión, se realizaron registros de sueño-vigilia y se pesó el total de la camada inmediatamente antes y después de los registros. Los resultados preliminares muestran que las camadas de madres tratadas con HAL tienden a ganar más peso (9.1 ± 1.8 g) que las de madres control (5.5 ± 0.7 g, p=0.063). Además, el HAL incrementa el tiempo en SWS (127.5 ± 13.4 min) comparado con el vehículo (87.4 ± 4.7 min, p=0.029). Finalmente, el SWS tiene una tendencia a estar positivamente correlacionado con la GPC después del tratamiento con HAL (r=0.94, p=0.054). Estos resultados sugieren que el HAL podría facilitar la GPC, no solo por promover el amamantamiento, sino porque facilita el SWS.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Respuesta de evitación de interferencia durante el comportamiento agonístico de una especie de pez eléctrico de pulso. (#0059)

Rossana Perrone [1]; *Federico Pedraja* [2]

1 - Unidad Bases Neurales de la Conducta, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Faculty of Biology & CITEC, AG Active Sensing, Bielefeld University.

Resumen:

La descarga del órgano eléctrico (DOE) de los peces eléctricos tiene una doble función: percibir el mundo circundante y comunicarse con sus coespecíficos. Estas dos funciones, al usar el mismo canal, interactúan y pueden generar interferencia. Los peces eléctricos desarrollaron un sofisticado comportamiento eléctrico para evitar la interferencia de DOEs de coespecíficos, la Respuesta de Evitación de Interferencia (JAR por sus siglas en inglés) que ha sido muy bien estudiada especialmente en peces de onda. *Gymnotus omarorum* es un pez eléctrico de pulso, solitario y altamente agresivo que presenta agresión territorial fuera del período reproductivo. En esta especie, al finalizar el encuentro agonístico, el dominante presenta mayor frecuencia que el subordinado, debido a que éste último baja su frecuencia como señal de sumisión eléctrica. Estudiamos la JAR cuantificando número de coincidencias entre las DOEs de ambos peces durante encuentros agonísticos en condiciones de libre movimiento, tomando muestras al azar de pocos segundos de duración antes y luego de resuelto el conflicto. Trabajos previos de nuestro grupo mostraron que la vasotocina, neuropéptido implicado en el comportamiento agonístico, afecta las señales eléctricas de sumisión de *Gymnotus omarorum*. Exploramos la acción de vasotocina y el antagonista del receptor de vasotocina Compuesto de Manning (MC) sobre la JAR. Resultados preliminares mostraron que después de un encuentro agonístico, la tasa de coincidencias de las DOEs es mayor para subordinados que para dominantes en condiciones control, y que este aumento en la tasa de coincidencias para los subordinados es revertido cuando se administra MC a los dominantes. Se diseñó un protocolo experimental que permite analizar las coincidencias de las DOEs de ambos peces en movimiento restringido, antes y después del encuentro agonístico, en condición control y con Vasotocina y MC, con el fin de validar los resultados preliminares mediante registros más estables y de mayor duración.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis cuali-cuantitativo de muestras incautadas de pasta base de cocaína (PBC). Caracterización química del producto de volatilización y su relevancia en la salud humana (#0060)

Cecilia Scorza [1]; Marcela Martínez [2]; Martín Galvalisi [1]; José Pedro Prieto [1]; Juan Andrés Abin Carriquiry [2]

1 - Departamento de Neurofarmacología Experimental del IIBCE. 2 - Departamento de Neuroquímica y Plataforma de Servicios Analíticos del IIBCE.

Resumen:

PBC es una droga de abuso que se comercializa generalmente adulterada y cuya vía de administración es la inhalación pulmonar. Su consumo crónico genera una fuerte dependencia, alteraciones fisiológicas/comportamentales y toxicidad. Se especula que la vía de administración podría explicar dicho perfil aunque hipotetizamos que la influencia de los adulterantes no debe ser desestimada. Datos forenses de la composición química actual de muestras incautadas de PBC no han sido reportados y la presencia de adulterantes y/o productos de su combustión en el humo inhalado por sus consumidores no ha sido comprobada. Mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa (GC-MS) analizamos químicamente 306 muestras de PBC incautadas en 2014-2015, donadas por el Instituto Técnico Forense (Uruguay). Además, determinamos la composición química de muestras de PBC volatilizadas, con y sin adulterar, así como la presencia de los adulterantes encontrados luego de su volatilización. La temperatura de volatilización de las muestras volatilizadas fue registrada mediante Termocupla. El 90% de las muestras analizadas estaban adulteradas. Fenacetina, cafeína y aminopirina aparecieron en un 76, 64 y 27 %, respectivamente. Un 54.2% de muestras estaban adulteradas con la combinación de cocaína, cafeína y fenacetina (30% por cada sustancia). Fenacetina y cafeína se volatilizaron a una temperatura promedio de 327 ^{0}C y 290 ^{0}C, respectivamente, y ambos espectros de masa demostraron su integridad química y la ausencia de productos de pirolisis. PBC adulterada con fenacetina o cafeína se volatilizó 285 y 220 ^{0}C, respectivamente, y PBC no adulterada a 268 ^{0}C. Anhidro-ecgonina-metilester, acido benzoico y carbometoxi-cicloheptatrienos aparecieron en ambos tipos de muestras de PBC volatilizadas. Nuestros datos reflejan lo consumido en el periodo analizado e indican que los adulterantes persisten en el humo sin descomponerse luego de su volatilización, sugiriendo que, en el consumo de PBC es relevante considerar su impacto en la salud humana.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis funcional de la vía Slit-Robo durante la diferenciación de las células ganglionares de la retina (#0102)

Camila Davison [1]; Flavio R. Zolessi [1]

1 - Laboratorio de Biología Celular del Desarrollo Neural, Institut Pasteur de Montevideo/Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

La vía de señalización mediada por los factores Slit y sus receptores Robo regula una gran gama de procesos durante el desarrollo. Una de sus funciones mejor conocidas es como una señal repulsiva para el crecimiento axonal de las células ganglionares de la retina (CGRs), pero su rol en la polarización de estas células no ha sido estudiado adecuadamente. En este trabajo nos planteamos ampliar la caracterización funcional de esta vía de señalización durante la diferenciación de las CGRs en el pez cebra, concentrándonos en Slit2 y Robo2 como principales candidatos en estas células. El bloqueo de expresión de *slit2* fue realizado haciendo uso del sistema CRISPR/Cas9. La mutación de este gen se da en forma de mosaico en la primera generación y, en estos embriones, no ocasiona defectos morfológicos externos notorios. El análisis mediante microscopía confocal revela errores de guía axonal de las CGRs tanto fuera como dentro del territorio retiniano, con una gran proporción de errores en el quiasma óptico y una menor cantidad de errores dentro de la retina. Este fenotipo es muy similar al observado en los embriones homocigotas mutantes de la segunda generación. El bloqueo del receptor Robo2 por medio de una forma dominante negativa también produce errores de guía axonal dentro de la retina, pero más frecuentemente. En este caso, la cantidad de axones desviados es mayor, y los mismos no se extienden más allá de la capa plexiforme interna. En ambos casos, el crecimiento inicial de los axones hacia la lámina basal indica que la orientación neuronal ocurre correctamente. Nuestros resultados indican que tanto Slit2 como Robo2 median la inhibición del crecimiento axonal de las CGRs dentro de la retina en el pez cebra, pero no cumplen un rol esencial en la orientación neuronal, al menos de forma aislada.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización de la actividad neuronal en el área preóptica media durante el período postparto y su modulación por las hipocretinas. (#0078)

Mayda Rivas [1]; Luciana Benedetto [2]; Annabel Ferreira [3]; Claudia Pascovich [2]; Pablo Torterolo [2]

1 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.. 2 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 3 - Sección de Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

El área preóptica media (mPOA) es crucial para la regulación del sueño y el comportamiento maternal. Esta área recibe proyecciones de las neuronas hipocretinérgicas, localizadas en el hipotálamo postero-lateral e involucradas en la promoción de la vigilia. Recientemente hemos demostrado que la hipocretina-1 (HCRT) en el mPOA facilita el comportamiento maternal. El objetivo de este estudio es describir la actividad eléctrica basal de neuronas del mPOA, su relación con las características del electroencefalograma (EEG) y su modulación por HCRT en ratas lactantes. Los registros extracelulares de neuronas en el mPOA se realizaron bajo anestesia con uretano. La microinyección yuxtacelular de HCRT se realizó por presión utilizando micropipetas dobles. Registramos 45 neuronas en el mPOA con las siguientes características electrofisiológicas: duración media del potencial de acción de 2,40 ± 0,09 ms, frecuencia de descarga basal de 5,98 ± 0,98 Hz (rango: 0,27 - 28,29) y coeficiente de variación de 0,77 ± 0,09. Encontramos 12 neuronas con actividad relacionada al EEG, de las cuales 10 aumentaron su actividad durante la desincronización del EEG ("DES-ON") y dos lo hicieron durante la fase sincronizada ("SIN-ON"). De 19 neuronas inyectadas, la HCRT disminuyó la frecuencia de descarga en 10 neuronas de 4,30 ± 0,65 a 2,76 ± 0,47 Hz, aumentó en siete neuronas de 3,05 ± 0,53 a 5,90 ± 0,97 Hz y en dos no tuvo efecto. De las neuronas inyectadas tres se relacionaron con el EEG, dos del tipo "SIN-ON" disminuyeron su frecuencia con HCRT y una neurona "DES-ON" aumentó su frecuencia con HCRT. Nuestros datos preliminares muestran una población neuronal electrofisiológicamente heterogénea en el mPOA de ratas posparto y que los efectos de la HCRT variaron según el tipo de neurona sugiriendo una función promotora de vigilia en las neuronas relacionadas con el EEG.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la expresión de Fra-2 en un modelo de desinhibición GABAérgica en el núcleo anterior del tálamo y su relevancia en la psicosis (#0158)

Ximena López [1]; *Analía Richeri* [1]; *Cecilia Scorza* [1]

1 - IIBCE.

Resumen:
La sintomatología positiva o psicótica es una de las alteraciones más graves de la esquizofrenia. Se han reportado disfunciones en el circuito cortico-talámico-cortical aunque es necesario estudiar la participación específica de las diferentes áreas y sus proyecciones. Mediante el uso del modelo farmacológico de esquizofrenia del antagonismo de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), hemos reportado que el núcleo anterior del tálamo (ATn) es un sustrato clave en la acción sistémica del antagonista NMDA, MK-801, para la inducción de comportamientos tipo-psicotomiméticos. Además, demostramos que un mecanismo de desinhibición GABAérgica del ATn subyacería al efecto comportamental, sugiriendo que existe un balance excitatorio/inhibitorio alterado vía desinhibición de inputs GABAérgicos del núcleo reticular del tálamo, nRT hacia neuronas del nAT (principal input GABAérgico) generando una excitación en sus principales regiones de proyección: corteza retrosplenial (RSC) e Hipocampo (Hc). En este trabajo imitamos la desinhibición GABAérgica del ATn, mediante la microinfusión bilateral de bicuculina (antagonista $GABA_A$; 100 ng/0.2ml/min) en ratas canuladas e investigamos la expresión de Fra-2 (marcador de actividad neuronal) por inmunohistoquímica en la RSC (rostral y caudal) e Hc (giro dentado, GD; CA1 y subículo). Evaluamos las conductas tipo-psicotomiméticas (software Ethovision XT) y los resultados se compararon con los efectos inducidos por la administración sistémica intraperitoneal (i.p.) de MK-801 (0.2 mg/kg) o salino (control). A diferencia de lo observado para MK-801, los comportamientos tipo-psicotomiméticos fueron parcialmente inducidos por bicuculina intra-ATn sugiriendo que el bloqueo $GABA_A$ intra-ATn no modela completamente la acción sistémica de MK-801. Bicuculina intra-ATn no modificó el número de células Fra-2 positivas en la RSC rostral y caudal *vs.* salino intra-ATn (control), mientras que únicamente lo aumentó significativamente en el GD. MK-801 tendió a aumentar levemente la expresión de Fra-2 en RSC y en GD. Nuestros resultados colaboran en la comprensión de la neurobiología que subyace a la sintomatología positiva de la esquizofrenia.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización de cambios estructurales en áreas neurales neurales involucradas en la expresión y flexibilidad del comportamiento maternal en ratas (#0244)

Marcela Ferreño [1]; Natalia Uriarte [1]; Javier Nogueira [2]

1 - Facultad de Ciencias. 2 - Facultad de Medicina.

Resumen:

En los mamíferos, el periparto representa un importante período de plasticidad comportamental. Si bien en la literatura existe información acerca de cambios estructurales plásticos en el sistema nervioso (SN) en ratas lactantes, ésta se centra principalmente en estructuras hipocampales y en momentos puntuales (inicio de la lactancia). Las redes perineuronales (PNNs) constituyen un tipo de matriz extracelular especializada formada principalmente por proteoglicanos que rodea muchos somas, dendritas proximales y los segmentos iniciales de algunos axones del SN central, conformando una estructura tipo red con "agujeros" en los sitios de contacto sináptico. Su formación es detectada relativamente tarde en el desarrollo cuando el circuito sináptico del SNC se establece y madura. Si bien se postula a la maternidad como un período de gran plasticidad, se desconoce cómo es la expresión de las PNNs durante este período. El objetivo de este estudio fue investigar la estructura de las PNNs en regiones del SNC del circuito maternal en ratas madres a lo largo del posparto. Así, se evaluaron los siguientes grupos experimentales: 1) Hembras primíparas en posparto temprano (día 2), 2) Hembras primíparas en posparto tardío (día 22) y 3) Hembras ciclantes en diestro. Encontramos que la estructura de las PNNs difiere entre ratas vírgenes y lactantes en el período posparto temprano a nivel del área preóptica media (mPOA). La marca para glucosaminoglicanos obtenida mediante la utilización de la lectina de *Wisteria Floribunda* es difusa y tenue en las hembras vírgenes en diestro mientras que observamos redes claramente definidas en el día 2 posparto. De forma interesante, hacia el final del período posparto, esta estructura muestra un perfil similar al de las hembras ciclantes. Estas diferencias podrían estar asociadas a cambios en los niveles de plasticidad del mPOA subyacentes a la dinámica de la expresión del CM a lo largo del posparto.

RELACIÓN ENTRE MALESTAR PSICOLÓGICO Y CONSUMO DE ALCOHOL EN JÓVENES URUGUAYOS (#0250)

Paul Ruiz [1]; Angelina Pilatti [2]; Ricardo Pautassi [2]

1 - Centro de Investigación Clínica, Facultad de Psicología, UdelaR. 2 - Facultad de Psicología, UNC.

Resumen:

Poco se sabe sobre la epidemiología del consumo de alcohol en jóvenes uruguayos, y menos sobre los factores que promueven este consumo. El malestar psicológico, una sensación subjetiva de alto nivel de estrés, desmoralización, discomfort o desasosiego, facilita la emergencia de enfermedades mentales, incluidos los trastornos por consumo de sustancias. Este trabajo analizó, en una muestra de 1527 jóvenes uruguayos de 18 a 30 años (74% mujeres), la relación entre malestar psicológico y consumo de alcohol. Esta franja etaria es la de mayor prevalencia de abuso y dependencia al alcohol. Los participantes completaron una encuesta online que incluía instrumentos para medir malestar psicológico (Kessler), patrón perjudicial de consumo de alcohol (AUDIT) y consecuencias negativas derivadas del uso de alcohol (YAACQ). Se observó una correlación significativa entre malestar psicológico y los puntajes de AUDIT y YAACQ. Estos resultados sugieren que el malestar psicológico aumenta la vulnerabilidad al abuso y consecuencias negativas del alcohol.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Acoplamiento local y desacoplamiento de largo rango caracterizan a la actividad gamma (30-100 Hz) cortical durante el sueño REM (#0327)

Matías Cavelli [1]; Giovanna Zoccoli [2]; Alessandro Silvani [2]; Santiago Castro-Zaballa [1]; Natalia Schwarzkopf [1]; Noelia Velásquez [1]; Joaquín Gonzalez [1]; Alejandra Mondino [1]; Noelia Santana [1]; Atilio Falconi [1]; Pablo Torterolo [1]

1 - Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.. 2 - Department of Biomedical and Neuromotor Sciences Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italy..

Resumen:
En mamíferos se distinguen tres estados comportamentales: vigilia, sueño lento y sueño REM (sREM). La vigilia se caracteriza por ondas eléctricas de baja amplitud y alta frecuencia del electroencefalograma (EEG). El sueño lento presenta ritmos eléctricos lentos y de mayor amplitud donde la actividad cognitiva es prácticamente nula. El sREM o "paradójico" en cambio, se caracteriza por una actividad de mayor frecuencia y menor amplitud similar a la vigilia, existiendo una completa pérdida del tono muscular; en esta etapa es donde principalmente ocurren los sueños (actividad onírica). A las oscilaciones del EEG que se observan en el rango de frecuencia de 30 a 100 Hz se le denomina actividad u oscilaciones gamma. Las oscilaciones gamma se encuentran fuertemente vinculadas a las funciones cognitivas e incluso se postula que la coherencia gamma entre áreas distantes de la corteza es un correlato neural de la percepción unificada y consiente. Utilizando los análisis de potencia y coherencia espectral electroencefalográfica entre áreas cerebrales, como índices de sincronización local y de largo rango, respectivamente; mostramos en 3 modelos animales (gato, rata y ratón) que, durante el sREM, a pesar de presentar actividad gamma local similar a la vigilia, existe un desacople entre sitios neocorticales distantes a esta frecuencia.Conclusión. Durante el sREM, a pesar de tener un EEG localmente activado, existe un desacople de la actividad gamma de frecuencias entre áreas de la neocorteza. Por tanto, las interacciones funcionales entre áreas corticales distantes, que son fundamentales para las funciones cognitivas, son diferentes durante la vigilia y el sREM. Dado que este acoplamiento y desacoplamiento de corto y largo alcance entre áreas corticales, en la banda gamma de frecuencias, se observan en felinos, roedores y también en humanos, consideramos que este es un rasgo característico y conservado del sREM en mamíferos.

Viernes

Sala S4 - SUG y BIOF

10:30 - 12:00

SUG

Conferencia inaugural SUG

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Viviendo de arriba con poco: Una perspectiva genómica a las adaptaciones al parasitismo en platelmintos (#0176)

Jose Tort [1]

1 - Facultad de Medicina.

Resumen:
Los platelmintos parásitos implican una importante carga al desarrollo humano, por su impacto en la salud humana y en la producción animal. Los platelmintos son además modelos biológicos relevantes, pues representan el linaje menos estudiado de los metazoarios y uno de los de mayor plasticidad en el desarrollo. La genómica de platelmintos se inició con los Schistosomas que mostraron genomas pequeños con reducción en cantidad de genes y vías metabólicas funcionales. Los cestodos siguieron esta tendencia, pero la creciente disponibilidad de genomas de trematodos comienza a mostrar una creciente diversidad. Con más de 20 especies secuenciadas, entre endoparásitos, ectoparásitos y organismos de vida libre es posible comparar genomas en busca de pistas sobre la evolución de los platelmintos, el desarrollo, la adaptación al parasitismo, la respuesta diferencial a drogas y fármacos, que hasta el momento eran difíciles de contestar. La genómica comparada muestra que los platelmintos han perdido un 20% de genes ancestrales conservados en metazoarios, siendo esto más marcado en parásitos que en especies de vida libre. Sin embargo, este efecto es diferencial entre diversos linajes, siendo las tenias y los schistosomas los más limitados. Así por ejemplo, en los trematodos hepáticos las vías de utilización de lípidos se mantienen, consistentemente con su hábitat en un entorno rico en estos metabolitos. La amplificación de proteasas parece haber ocurrido recurrentemente en diversos linajes, con distintas familias amplificadas. Canales y receptores también están diferencialmente expandidos y/o reducidos. Entre los genes perdidos se destacan algunos vinculados a vías de regulación mediada por ARN pequeños, al tiempo que duplicaciones platelminto-específicas de dicer y argonauta sugieren que mecanismos alternativos pueden ser funcionales. Nuestros resultados muestran cambios adaptativos que varían de acuerdo al nicho ocupado por las distintas especies, resaltando la plasticidad del phylum y sugiriendo una fuerte presión selectiva.

16:45 - 18:30

SUG

Simposio SBBM_3 y Simposio SGU_1: Ciencias "omicas": aproximaciones en distintos modelos de estudio

Sábado

11:00 - 12:30 **SUG**

Simposio SUG_2: Genética en la salud

Edad de menarca y depresión: uso de variantes genéticas en la identificación de relaciones de causalidad (#0165)

Carolina Bonilla [1]; Rebecca Lawn [1]; Maija Sequeira [1]; Sarah Lewis [1]; Carol Joinson [1]

1 - University of Bristol.

Resumen:
Estudios epidemiológicos previos han mostrado que la depresión es más prevalente en mujeres que en hombres y se ha visto que esta diferencia surge en la pubertad y se mantiene durante la vida adulta. La asociación de menarca temprana con síntomas de depresión y depresión en sí misma durante la adolescencia ha sido frecuentemente reportada, sin embargo no es claro que sucede a más largo plazo. Por otro lado, las relaciones causa-efecto son difíciles de establecer en estudios epidemiológicos donde se presentan problemas de interferencia de factores de confusión, causalidad reversa y sesgos varios. Variantes genéticas, identificadas en estudios de asociación genómicos, fuertemente asociadas a la exposición de interés (en este caso, edad de menarca), pueden ser utilizadas para contrarrestar los problemas típicos de los estudios epidemiológicos observacionales. Esta metodología se conoce con el nombre de aleatorización mendeliana y está siendo empleada cada vez más debido a que permite establecer relaciones de causalidad entre factores de riesgo y enfermedades complejas. En este trabajo utilizamos un estudio de cohorte realizado en la ciudad de Bristol (Reino Unido) donde se ha llevado a cabo el seguimiento de cerca de 14000 madres y sus hijos desde principios de la década de los 90. Haciendo uso de información fenotípica y genotípica de madres e hijas se determinó: a) si la menarca temprana está asociada en formal causal con síntomas de depresión y depresión en la adolescencia temprana y media, b) si esta asociación persiste en la adolescencia tardía y c) si esta asociación es aún evidente en la edad adulta. Si bien detectamos evidencia de un efecto causal de la menarca temprana sobre la presencia de síntomas de depresión en la adolescencia media (~14 años), este efecto no parece persistir en la adolescencia tardía (~18 años) ni en la edad adulta.

La proteína DBC1: de la obesidad y la diabetes al control del ciclo celular. (#0146)

Natalia Bobba [1]; Leonardo Santos [1]; Florencia Irigoin [1]; Victoria Prieto [1]; Adriana Carlomagno [1]; Mariana Bresque [1]; Inés Marmisolle [2]; Celia Quijano [2]; Paola Contreras [3]; José Badano [1]; Carlos Escande [1]

1 - Institut Pasteur Montevideo. 2 - Facultad de Medicina. 3 - Institut Pasteur Montevideo y Facultad de Medicina.

Resumen:
La obesidad es una de las principales patologías del siglo XXI, afectando al 40% de la población adulta en Uruguay. Además, es considerada como el principal factor de riesgo para el desarrollo de diabetes y enfermedades cardiovasculares (ECV), constituyendo éstas ultimas la principal causa de muerte en Uruguay y el mundo. Sin embargo, la existencia de individuos obesos pero "metabólicamente saludables" cuestiona la universalidad de ese dogma. Una nueva hipótesis sostiene que la obesidad ocurre como un mecanismo de protección contra la toxicidad del exceso de consumo y generación de ácidos grasos. La expansión del tejido adiposo genera un "buffer" de ácidos grasos, y cuando esta capacidad es desbordada se producen efectos deletéreos como la diabetes y ECV. Nuestros trabajos apuntan a que la proteína DBC1 regula la capacidad buffer del tejido adiposo, contribuyendo a la transición normal-patológica del tejido. Los ratones KO para DBC1 presentan obesidad mórbida pero saludable, estando protegidos contra la resistencia a la insulina, esteatosis hepática y aterosclerosis. En el proceso de comprender cómo DBC1 regula la función del tejido adiposo durante la obesidad, observamos la aparición de una isoforma de la proteína de menor peso molecular y que es predominante en pacientes con obesidad saludable. Esta isoforma carece del dominio N-terminal (DN-DBC1) y se produce por procesamiento proteolítico de la proteína completa. La aparición de DN-DBC1 ocurre únicamente en células que se encuentran en quiescencia (G0) y no así en células en cualquier otra etapa del ciclo celular, independientemente de su estado proliferativo. Finalmente, resultados preliminares nos sugieren que la ausencia de DBC1 produce una desregulación en la entrada y salida de G0 tanto in vitro como in vivo. Nuestros resultados sugieren que la obesidad saludable regulada por DBC1 se encuentra asociada con fenómenos proliferativos diferenciales en el tejido adiposo.

18:30 - 20:15

SUG

Simposio SUG_3: Genética en la Producción Agropecuaria.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

La zoo- genética criolla de Uruguay, Mito o realidad? (#0054)

Silvia Llambí Dellacasa [1]

1 - Facultad de veterinaria.

Resumen:
En estos tiempos donde se discute mucho sobre amenazas y pérdida de biodiversidad debemos saber que los animales domésticos criollos no escapan a esta realidad. Cuando hablamos de animales "criollos" se generan conflictos semánticos pero a modo general podemos definir que son animales que fueron introducidos hace muchos años al País (durante la época de la conquista) y han sufrido mestizaje mediante cruzamientos con animales foráneos pero su genética ha logrado un alto grado de adaptación a una determinada región. Uruguay a diferencia de otros países Sudamericanos tenemos un solo exponente por especie y hablamos del bovino criollo, ovino criollo, cabra criolla, cerdo Pampa Rocha, caballo criollo, perro cimarrón Uruguayo, asnos, gallina criolla. El grado de avance en el estudio de estas especies en cuanto a caracterización genética, productiva, reproductiva, registros genealógicos, estándar racial es desigual. Por ejemplo el caballo criollo y el perro cimarrón son razas que tienen Asociaciones de criadores activas con registros genealógicos e inscripción de animales en la Asociación Rural de Uruguay y en Kennel Club de Uruguay respectivamente. No ocurre actualmente lo mismo con las otras especies de criollos. En cuanto a caracterización genética a lo largo de los últimos 20 años se han logrado avances en forma desigual según la especie utilizando marcadores genéticos bioquímicos y moleculares de distintos tipos (SNPs, microsatélites, ADNmit, RAPDs, RFLPs, grupos sanguíneos). Muchos de estos marcadores fueron utilizados ya sea en la caracterización de estas especies locales así como para estudios filogenéticos comparativos con criollos de América y de Europa a través de consorcios Internacionales de investigación. En la presente ponencia se pretender resumir el estado actual del conocimiento sobre los animales domésticos criollos de Uruguay así como su posible rol productivo con el objetivo final de conservación de este acervo genético.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Diseño de marcadores plastidiales polimórficos en el germoplasma tetraploide del grupo Dilatata (Paspalum, Poaceae) (#0302)

Inés Rebollo [1]; Silvia Garaycochea [2]; Magdalena Vaio [1]; Pablo Speranza [1]

1 - Facultad de Agronomía, UdelR, Uruguay. 2 - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

Resumen:

Paspalum dilatatum es una gramínea nativa apomíctica pentaploide cultivada como forrajera. Pertenece a un complejo alopoliploide que contiene cinco formas tetraploides sexuales de fórmulas genómicas equivalentes que podrían ser explotadas en diferentes combinaciones para obtener cultígenos adecuados a una amplia gama de ambientes y propósitos productivos. En este grupo de especies hasta el momento se ha reportado un único marcador plastidial polimórfico y ha sido utilizado para estudios de hibridación y flujo génico. Con el objetivo de buscar regiones variables se realizó el ensamblado del genoma plastidial de dos de estos taxa (P. urvillei y P. dilatatum Vacaría). Para esto se secuenciaron sus genomas en la plataforma Illumina (paired end, 250pb). Las secuencias seleccionadas como plastidiales fueron aquellas que mostraron un porcentaje de solapamiento de al menos el 98% con los genomas cloroplásticos de 10 gramíneas emparentadas. Se obtuvieron 2.025.178 lecturas totales para P. urvillei de las cuales 57.568 (3%) fueron clasificadas como cloroplásticas. Para P.d. Vacaría de 3.433.130 lecturas totales, 37.132 (1%) fueron clasificadas como de origen plastidial. El ensamblado se realizó con el programa SPAdes 3.10. Para P. urvillei se obtuvieron 22 contigs que representan el 87% del genoma cloroplástico con una cobertura promedio de 72x, mientras que para P.d. Vacaría se obtuvieron 30 contigs que contienen el 86% de su genoma cloroplástico con 37x de cobertura en promedio. A partir del alineamiento de estos ensamblados primarios se encontraron 55 posibles polimorfismos. De éstos, 14 fueron diferencias en la longitud de secuencias poli A/T y 34 sustituciones. Los restantes fueron 4 indels y una inversión. Estos polimorfismos y su distribución entre y dentro de especies serán validados por PCR y secuenciación Sanger. Este número de polimorfismos permitirá responder preguntas demográficas y filogeográficas así como clasificar el germoplasma con mucho mayor potencia que la lograda hasta el momento.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis preliminar de genes asociados a calidad de la canal en ovinos. (#0166)

Lucia Gerpe [1]; Karina Neimaur [1]; Roberto Kremer [1]; Silvia Llambí [1]; Eileen Armstrong [1]

1 - Facultad de veterinaria.

Resumen:
Existe interés en mejorar la calidad de la canal y la carne ovinas. Detectar marcadores moleculares en genes relacionados al crecimiento y desarrollo muscular, así como al metabolismo de los lípidos, es una estrategia interesante para ser analizada, con miras a la selección de los animales que porten los genotipos más ventajosos. En este trabajo analizamos polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en los genes DGAT1, GHRHG, CAST, PPARGC1A, SERPINA 3, GHR y SCD5, que ya se habían visto asociados a calidad de la carne y la canal en estudios previos en la raza Texel del Uruguay. Se seleccionaron 48 SNPs y se genotiparon en 104 corderos cruza Poll Dorset x Corriedale y Poll Dorset x Milchschaf. Con los resultados de los genotipos se realizó un análisis poblacional utilizando Genepop 4.2. Dieciséis SNPs no presentaron variación alélica (MAF < 0.05), indicando que no estarían presentes (o con una frecuencia muy baja) en las razas involucradas. Los marcadores con mayor heterocigosidad observada correspondieron a SNPs de los genes PPARGC1A, GHR y GHRHR. El rango del estadístico FIS fue de -0,005 a -0,43 (promedio: -0,13). Ocho marcadores no están en equilibrio Hardy-Weinberg (p < 0,05), en todos los casos por exceso de heterocigotas. Estos resultados son consistentes con una población fruto de la cruza de diferentes razas. En análisis futuros se estudiará la posible asociación de estos marcadores con los caracteres fenotípicos evaluados en estos animales (peso a diferentes edades, área de ojo de bife, espesor de grasa dorsal, y peso de la canal). Se espera ampliar la muestra con animales de próximas generaciones de esta población.

Domingo

09:00 - 10:45

SUG

Simposio SUG_4: Genética Evolutiva y diversidad

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Zonas híbridas: origen de biodiversidad vs. delimitación de especies y stocks (#0086)

Graciela García de Souza [1]

1 - Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias.

Resumen:

La biodiversidad es el resultado de los procesos de especiación y extinción. Importantes preguntas se generan en torno a determinar cómo un proceso continuo de cambios puede producir grupos discretos a los que denominamos especies. Por este motivo, los procesos y mecanismos que conducen a la formación de estas entidades biológicas están en permanente revisión. Esto se debe a nuevas capacidades de análisis aportadas por la genética molecular, la genómica y otras "Òmicas" y a importantes desarrollos conceptuales en campos como la sistemática y la genética de poblaciones. Los límites específicos pueden ser definidos como fenotipos/genes/regiones genómicas que permanecen diferenciadas en fase de la potencial hibridación e introgresión. Los límites específicos son semipermeables ("porosos"), en dónde la permeabilidad (intercambio genético) es función de la región genómica considerada. Las evidencias tempranas de la existencia de límites específicos semipermeables entre taxones emparentados, proceden de las evidencias de introgresión diferencial en zonas híbridas. Una zona híbrida es un área en donde se encuentran y reproducen poblaciones divergentes, produciéndose al menos en parte de su progenie, mezcla entre diferentes linajes genéticos. Desde el punto de vista de la Biología Evolutiva, las zonas híbridas son áreas consideradas como "laboratorios naturales, "ventanas de los procesos evolutivos". En este trabajo presentamos la contraposición entre 2 modelos de estudio en peces endémicos de la región Neotropical, con evidencia de zonas de contacto primario o secundario, ambos procesos de diferenciación reciente de tipo Post-Pleistocénico. Por un lado, el grupo de especies continentales de peces anuales del género Austrolebias y por otro, peces estuarinos tales como el pejerrey del genéro Odontesthes. En ambos casos, la diversidad genética encontrada y los procesos de hibridación natural detectados, representan un desafío en la diferenciación específica, delimitación de especies y stocks, así como en la definición de Unidades para la conservación.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Sex determination and differentiation genes in the Siberian sturgeon derived from a transcriptome study (#0050)

Christophe Klopp [1]; Santiago Di Landro [2]; André Lasalle [2]; Frédéric Escudié [1]; Clémence Genthon [1]; Denise Vizziano Cantonnet [2]

1 - INRA. 2 - Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:
Sturgeons are target species for caviar production and are considered among the most valuable commercial fishes. Studying sex determination and differentiation is an important issue to understand their biology and has applications both in fish conservation and production. The goal of this work is to identify genes involved in Siberian sturgeon sex determination and differentiation. A gonad transcriptome database has been build after sequencing and assembling 15 samples of gonads coming from fish at undifferentiated stages (critical period of sex change) from 3 to 5 months old, mo) and differentiated male and female (>8 mo). A candidate gene strategy approach was applied to identify pro-testis and pro-ovarian genes involved in sex differentiation as well as sex determinant genes described for vertebrates. Expression level of genes selected in reads per million was compared statistically between stages and sexes. Sex determinant genes searched were not present at stages studied. A first set of pro-testis genes involved in somatic cell proliferation and androgen synthesis and regulation had maximum expression levels at 3 mo (sox9, irr, dhh, sdr5a2, cyp11c), while a second set dax1, gata 4, fog2 were highly expressed later at 5-6 mo together with lhx9, sf1 and mfge8 which are involved basically in Sertoli and Leydig cell development. In putative females, beta-catenin is highly expressed at undifferentiated stage while a second set of pro-ovarian genes were over expressed (aromatase, fst, foxl2, hsd17b1) at 5-6 mo. Steroid synthesis genes expression shows an early potentiality these hormones. Our data shows that pro-ovarian genes and estrogen synthesis potentiality appear very early in ancient fish and remain conserved in modern fish, but pro-testis genes detected in sturgeons are more closely related to male pathways described in mammals than those described in modern

Carpa C3 - SNU

18:35 - 19:20

SUG

SBF

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

ESTABILIZACIÓN POR AUTOACOPLAMIENTO EN REDES DE DISTINTA TOPOLOGíA (#0226)

Jannik Luboeinski [1]; Luis Claro [2]; Andrés Pomi [2]; Eduardo Mizraji [2]

1 - Drittes Physikalisches Institut - Biophysik, Universität Göttingen. 2 - Sección Biofísica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:
Vivimos en un mundo pleno de sistemas altamente interconectados. Los sistemas nerviosos, las redes metabólicas, las interacciones entre las especies biológicas, los contactos sociales o las redes tecnológicas de comunicación como la internet o la WWW, son sólo los ejemplos más evidentes. La estabilidad de cualquiera de los anteriores sistemas es de importancia fundamental para su adecuado funcionamiento. La influencia de la conectividad entre las variables sobre la estabilidad de un sistema dinámico ha sido tema de controversia especialmente en el campo de la ecología. Originalmente se creía que al aumentar las interacciones los sistemas se hacían más estables, pero los resultados de experimentos computacionales llevados a cabo por Gardner y Ashby, publicados en 1970, mostraron que el incremento de la conectividad disminuía la estabilidad de un sistema conectado al azar. Estos resultados fueron confirmados en un trabajo teórico del ecólogo Robert May en 1972, pero resistidos por la comunidad ecológica, encendiendo el debate conectividad-estabilidad. En el presente trabajo comenzamos por reproducir los resultados ya conocidos para sistemas dinámicos lineales conectados en forma aleatoria y estudiamos la estabilidad de redes con topología "small-world" y "scale-free" obteniéndose resultados consistentes con la bibliografía reciente. En una segunda etapa, realizamos exploraciones numéricas sobre las condiciones de estabilización de sistemas de diferente topología, tamaño y conectividad, al reforzar el autoacoplamiento entre sus componentes. Los principales resultados encontrados son: (1) la existencia de un umbral de estabilización al incrementar el autoacoplamiento; (2) que en el rango estudiado, el umbral de estabilización crece mucho menos que el tamaño de la red, en una relación que aparenta logarítmica, y (3) que las redes de tipo "small world" requieren aproximadamente la mitad de intensidad de autoacoplamiento que las redes "scale-free" para lograr la estabilidad global.

Viernes

19:25 - 20:00 **SUG**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUG - #0312; #0116; #0371

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio preliminar de heterocromía iridal e hipocromía de coroides en ovinos. (#0116)

Elena Cardozo [1]; Eileen Armstrong [1]; Orestes Leites [2]; Ana Camacho [1]; Graciela Pedrana [1]

1 - Facultad de veterinaria. 2 - Ejercicio libre.

Resumen:
La heterocromía iridal consiste en variaciones de coloración del iris, pudiendo afectarse uno o ambos ojos. Es considerada una anomalía congénita de la úvea anterior. Se han reportado casos en diferentes especies animales. Sin embargo, hasta donde sabemos no se han reportado casos en ovinos. En el presente estudio se examinó el globo ocular de un cordero faenado de la raza Milchschaf. Se procedió a su disección, obteniéndose muestras de diferentes zonas, las cuales fueron fijadas en paraformaldehído al 10%, para su posterior procesamiento histológico e inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes histológicos de 5 um de espesor, que fueron teñidos con hematoxilina-eosina. Macroscópicamente se visualizó hipocromía en la región medial del iris, y en la zona de la coroides no tapetal, de forma simétrica en ambos ojos. Dicha despigmentación se caracterizó por ser circunscripta, redondeada, límites definidos y de 0,5 cm de diámetro. A nivel histológico en dichas zonas despigmentadas se observó escasos melanocitos en el estroma iridal y ausencia de los mismos en la coroides. Hasta donde sabemos, este es el primer registro de heterocromía iridal en ovinos. Estos hallazgos podrían estar relacionados con el síndrome de Waardenburg, una anomalía del desarrollo descripta en varias especies. En humanos se relaciona con otras características patológicas siendo de herencia autosómica dominante. Se ha propuesto como posible causa de este síndrome a mutaciones en los genes MITF, TYRP1 y EDNRB. Se plantea el estudio a futuro de estos genes, tanto en sus progenitores como en sus congéneres, para detectar posibles mutaciones que contribuyan a una más efectiva selección de reproductores sin estas características.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis citogenómicos de la fracción repetitiva del genoma de los biotipos sexuales del grupo Dilatata (Paspalum, Poaceae) (#0312)

Magdalena Vaio [1]; Inés Rebollo [1]; Sandra Mendes [2]; Pablo Speranza [1]

1 - Facultad de Agronomía, UdelR, Uruguay. 2 - Universidad Federal de Pernambuco, Brasil.

Resumen:

Paspalum dilatatum es una gramínea nativa cultivada como forrajera, sin embargo, el mejoramiento convencional es dificultoso debido a su reproducción apomíctica. Esta especie pertenece a un complejo alopoliploide que contiene cinco formas tetraploides sexuales que podrían ser explotados en diferentes combinaciones para obtener cultígenos adecuados a una amplia gama de ambientes y propósitos productivos ya que poseen fórmulas genómicas equivalentes. Debido a la escasa variabilidad cariotípica, no es posible identificar cromosomas individuales ni diferenciar homeólogos. El objetivo de este trabajo fue identificar secuencias repetidas en tándem para diseñar marcadores citogenéticos. Para ello se secuenció el ADN genómico de cuatro taxa tetraploides y sus progenitores diploides utilizando la plataforma Illumina. Las secuencias (paired end, 250pb) fueron analizadas mediante el pipeline RepeatExplorer (RE). Se detectaron 18 familias de repeticiones en tándem con unidades de repetición entre 156 a 540 pb que constituyen entre un 10 a 16% de la fracción repetida del genoma. Se encontraron secuencias exclusivas de los diploides y los tetraploides y compartidas entre los poliploides y cada uno de sus progenitores diploides. Tres de las secuencias identificadas fueron utilizadas en hibridación in situ. La familia más abundante en todas las especies (PaspSat1) presentó un 93% de identidad con la secuencia centromérica de maíz y se localizó en la región centromérica variando en número de loci e intensidad. Las secuencias PaspSat2 y PaspSat25 se localizaron en las regiones teloméricas variando entre 8 y 26 sitios en los tetraploides. Los resultados obtenidos sugieren distintas dinámicas evolutivas de estas secuencias en el proceso de diploidización del complejo. Las diferencias encontradas entre los taxa tetraploides muestran un alto potencial en estas secuencias para ser utilizados como marcadores cromosómicos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

LAS FRACCIONES REPETIDAS DE LOS GENOMAS DE ESPECIES DEL GÉNERO SOLANUM (#0371)

Paola Gaiero [1]; Magdalena Vaio [1]; Lidija Berke [2]; M Eric Schranz [2]; Hans de Jong [2]; Pablo Speranza [1]

1 - Facultad de Agronomía, UdelaR. 2 - Wageningen University.

Resumen:
El género Solanum cuenta con especies de importancia económica, como el tomate (Solanum lycopersicum) y la papa (Solanum tuberosum) junto con parientes silvestres, que son útiles para el mejoramiento. El tomate y sus parientes forman un clado definido y con diferenciación genómica a nivel de macro y microsintenia, mientras las papas y otras especies de la sección Petota presentan complejidad en sus relaciones y baja diferenciación genómica. Además S. etuberosum (sección Petota, sin tubérculos) tiene una posición debatida. El objetivo de este trabajo es comparar las fracciones repetitivas de especies de ambos clados y S. etuberosum, para identificar diferenciación genómica y dilucidar si los repetidos de S. etuberosum tienen más similitud con los del clado de los tomates o de las papas. Se usaron secuencias Illumina en baja cobertura que fueron analizadas en el pipeline RepeatExplorer. Todas las familias de elementos móviles son compartidas por especies de ambos clados siendo los retrotransposones los más abundantes (hasta 28% del genoma). Sin embargo, la abundancia de cada linaje permite reconocer dos grandes grupos, los tomates y por el otro las papas y S. etuberosum. Otros repetidos como los Helitron están presentes en el primer grupo y ausentes en el segundo, reafirmando este agrupamiento. Se identificaron 6 familias de secuencias satélite. La familia DNAsat-CL34 previamente identificada como única del clado de las papas no está presente en S. etuberosum. Sin embargo se identificóun DNAsat de 163 pb de unidad de repetición está presente en este clado y S. etuberosum y representa menos del 0.002% del genoma en los tomates. Nuestros resultados indican diferencias cuali y cuantitativas en los repetidos que distinguen ambos clados y agrupan a S. etuberosum con las papas. Las diferencias en satélites podrán tener aplicaciones en la identificación genómica en híbridos interespecíficos naturales y artificiales, con utilidad en mejoramiento.

Sábado

16:00 - 17:00 **SUG**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUG - #0197; #0336; #0363; #0196; #0273; #0280

Variantes genéticas en Lipoproteina a (LPa) y enfermedad cardiovascular. (#0196)

Nicolás Dell'Oca Runco [1]; Ximena Reyes [1]; Graciela Fernandez [1]; Andres Ressia [1]; Pablo Lopez [1]; Mario Stoll [1]

1 - CHSCV.

Resumen:
Introducción. La LPa es un conocido marcador genético de riesgo cardiovascular (Clarke. et.al.,2009). Concentraciones elevadas de LPa se asocian a mayor incidencia y severidad de enfermedad cardiovascular (ECV) (Santos et al., 2014). Dos polimorfismos en el gen LPA, rs10455872 y rs3798220 están relacionados con los niveles de LPa y con el riesgo de sufrir ECV. En el programa GENYCO comenzamos a evaluar la utilidad del valor de LPa y del genotipo en estos polimorfismos para identificar pacientes de alto riesgo cardiovascular. Metodología. Determinamos los genotipos en estos polimorfismos mediante secuenciación Sanger en 27 pacientes con LPa medida de entre 14 y 65 años, 7 de ellos con hipercolesterolemia familiar confirmada por diagnóstico molecular. Utilizamos 50 mg/dl como limité de normalidad en LPa para realizar nuestras comparaciones. Resultados. La media de LPa en portadores de alguno de los polimorfismos es mucho mayor a la de los no portadores 94 y 24 mg/dl respectivamente. Aproximadamente 75% de los pacientes con LPa alta son positivos para uno de los polimorfismos. Solo el 25% de los pacientes con LPa baja es positivo. El porcentaje de pacientes con ECV precoz (ECP) es mayor en el grupo LPa alta (40% versus 16%). En la mitad de los pacientes con ECP el único factor de riesgo identificado fue la LPa alta. Los mayoría de los pacientes con ECP manifestaron la enfermedad entre los 43 y 55 años. Conclusiones. Demostramos que la estrategia de monitorear los niveles de LPa junto con el genotipado de polimorfismos relevantes es útil para identificar pacientes de alto riesgo cardiovascular. Nuestros datos confirman lo reportado en la literatura sobre la importancia de la LPa como factor de riesgo cardiovascular y reafirman la importancia de incorporar este marcador a la predicción del riesgo cardiovascular de enfermedades aterogénicas, especialmente la patoltogía coronaria.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

La acumulación de glicotoxinas en el tejido prostático glandular induce una transición epitelio-mesenquimal. (#0197)

Claudia Chiale [1]; Fernanda Ameigeiras [1]; Guillermina Etchandy [1]; Mercedes Rodríguez-Teja [1]

1 - Facultad de Medicina.

Resumen:
El cáncer de próstata es el tumor con mayor incidencia en hombres mayores de 65 años, siendo la edad el principal factor de riesgo para desarrollar esta enfermedad. A lo largo de la vida, el tejido prostático sufre un progresivo crecimiento y endurecimiento, variando sus propiedades visco-elásticas. Se ha visto que la pérdida de elasticidad del tejido prostático se debe a la acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGEs o glicotoxinas) con el paso de los años en la membrana basal que rodea a los acinos glandulares. La acumulación de glicotoxinas genera fuerzas tensionales sobre la superficie de la célula epitelial, desencadenando un cambio en el fenotipo epitelial (pérdida de la polaridad apico-basal y uniones adherentes) y aumento de su capacidad migratoria. En este trabajo nos planteamos determinar si las señales activadas por la acumulación de los AGEs en la membrana basal induce una transición epitelio-mesenquimal en el acino glandular prostático. Para ello se utilizó un modelo de cultivo en 3D de acinos glandulares prostáticos, los cuales se generaron sobre una membrana basal nativa o rica en AGEs (ambiente glicotóxico). Luego se determinó por RT-qPCR los cambios en la expresión génica de genes marcadores del fenotipo epitelial (por ejemplo: molécula de adhesión E- caderina) y del fenotipo mesenquimal (por ejemplo: molécula de adhesión N-caderina y factores de transcripción SNAI1 y SNAI2). Los resultados muestran una tendencia hacia una disminución de la expresión de genes marcadores epiteliales con un aumento en la expresión de genes característicos del fenotipo mesenquimal en los cultivos sobre una membrana basal rica en AGEs versus cultivos sobre una nativa. En su conjunto los datos sugieren que un ambiente envejecido, el cual ha sufrido acumulación de AGEs (glicotoxinas), favorece la transición epitelio-mesenquimal y contribuye con el inicio del cáncer prostático.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización de la crianza de Lymnaea viatrix en el laboratorio optimizando la producción de metacercarias y estadios intra-caracol de Fasciola hepatica. (#0280)

Sabina Wlodek [1]; María Fernanda Dominguez [1]; Valeria Gayo [2]; José Tort [1]

1 - Departamento de Genética, Facultad de Medicina. 2 - División Laboratorios Veterinarios, Ministerio de ganadería, agricultura y pesca.

Resumen:

Fasciola hepatica (Linnaeus, 1758) es un parásito trematodo agente de la Fasciolasis o Distomatosis, una de las parasitosis más importantes entre los animales alimentados de pasturas a nivel mundial, ya que produce grandes pérdidas productivas. F. hepatica posee un ciclo biológico heteroxeno con un huésped definitivo mamífero y otro intermediario, moluscos gasterópodos del género Lymnaea. Para Uruguay se han descrito dos especies: Lymnaea columella (Say, 1817) y Lymnaea viatrix (d'Orbigny, 1835), solo se han identificado infecciones naturales en L.viatrix. Estos caracoles viven y se desarrollan en aguas poco profundas como orillas de manantiales, tajamares y cañadas de corriente suave. La infección de los caracoles ocurre a partir de miracidios, larvas ciliadas que emergen del huevo. En el caracol ocurre un proceso de amplificación asexual que genera cientos de metacercarias (las formas infectantes del mamífero) a partir de un único miracidio. Nuestro laboratorio busca comprender estos procesos de desarrollo, para lo cual es necesario caracterizar las condiciones óptimas para la cría e infección de caracoles y la obtención de metacercarias y estadios intermedios intra-caracol de F. hepatica. Se seleccionaron caracoles juveniles de aproximadamente 0.3 mm de largo, los que se mantuvieron en el laboratorio en dos condiciones, un grupo en barro, y el otro solo en agua mineral. Ambos grupos fueron infectados con 2 a 3 miracidios y mantenidos con lechuga a temperatura constante. Se siguió el desarrollo de la infección con disecciones periódicas, contabilizándose el tiempo hasta la emisión de metacercarias y cantidad de éstas. Se observaron diferencias interesantes, con una buena producción de metacercarias en el grupo de barro y un aumento en la producción de redias en los mantenidos en agua. Lo cual sugiere que algún nutriente presente en el cultivo con barro es esencial para progresar en el ciclo, sugiriendo un switch de desarrollo a investigar.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

CCR5-delta32 en la población de Tacuarembó, Uruguay (#0336)

Rafael Bisso-Machado [1]; Mónica Sans [2]; Pedro C. Hidalgo [1]

1 - PDU: Diversidad Genética Humana. Centro Universitario de Tacuarembó. UDELAR. 2 - Departamento de Antropología Biológica. Facultad de Humanidades y Cs. De la Educación. UDELAR.

Resumen:

La molécula C-C quimiocina receptora de tipo 5 (CCR5) es un co-receptor importante para el VIH (virus de inmunodeficiencia humana), largamente expresada por células inmunes que son responsables por respuestas inflamatorias. Una deleción de 32bp en el gen CCR5 (CCR5-delta32) produce una proteína no-funcional truncada que no es expresada en la superficie de la célula. Ella previne la invasión de la célula por el VIH. Homocigotos para la mutación son resistentes a la infección. La consecuencia del estado heterocigoto no es clara, pero ello puede retrasar la progresión de la SIDA en individuos infectados. Variación inter-poblacional en la frecuencia de CCR5D32 puede ser un factor significante en la predicción de endemia de SIDA. En el presente estudio se analizaron las frecuencias genotípicas de 52 individuos sanos de la población de Tacuarembó, Uruguay. Se obtuvo la frecuencia por conteo directo. Fueron también analizados en conjunto las frecuencias genotípicas de 5.812 individuos de 86 poblaciones obtenidos de la literatura. Para los análisis estadísticos se utilizaron AMOVA y Fst por pares. Las frecuencias genotípicas encontradas en Tacuarembó fueron de 88,5% CCR5/CCR5, 11,5% CCR5/ccr5d32, 0% ccr5d32/ccr5d32. Semejantes a europeas, más específicamente España y Italia. El AMOVA en grupos continentales muestra que la mayor parte de la variación genética se encuentra dentro de las poblaciones (91%). Cuando se compara las poblaciones por pares el Fst muestra que la población de Tacuarembó está genéticamente más próxima a poblaciones de sur de Brasil.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

BÚSQUEDA DE MARCADORES MOLECULARES EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA DE URUGUAY (#0363)

Nicolás Dell´Oca [1]; Victoria Elizondo [2]; Gonzalo Manrique [2]; Verónica Pérez [2]; José Tort [1]; María Noel Zubillaga [2]; Mónica Cappetta [1]

1 - Departamento de Genética, Facultad de Medicina, UDELAR. 2 - Laboratorio de Técnicas Especializadas, Sector Biología Molecular, Asociación Española Primera en Salud.

Resumen:

La leucemia aguda mieloblástica (LAM) es la leucemia aguda más común diagnosticada en adultos. La mayoría de los pacientes con LAM fallecen posteriormente a una recaída. Aunque muchos estudios en las últimas 4 décadas han identificado alelos asociadas a la enfermedad, recientes estudios genómicos y de genes candidatos han identificado mutaciones somáticas recurrentes adicionales en pacientes con LAM con importancia biológica, clínica y terapéutica. En Uruguay la caracterización de LAM se realiza mediante la integración de la citomorfología, inmunofentotipo, citogenética y biología molecular (mutaciones en genes FLT3, NPM1, c-KIT y CEBPA). Permitiendo la estratificación de nuestros pacientes en grupos de riesgo y la correcta racionalización terapéutica. Sin embargo, un grupo de pacientes queda sin estratificar por falta de detección de marcadores. Con el objetivo de buscar nuevos marcadores genéticos para LAM en pacientes de nuestro país, en una primera etapa se estudió un panel de 30 genes asociados a cáncer por secuenciación masiva en muestras de ADN de 13 pacientes adultos al debut de la enfermedad. Mediante el análisis en BaseSpace Sequence Hub (Illumina) se detectaron en total 54 variantes candidatas a patogénicas ubicadas en 22 de los genes evaluados. Todos los pacientes presentaron al menos una variante. 17 de estas variantes están reportadas en COSMIC, estando presentes en 12 pacientes. El número de variantes oscila entre 1 y 7 por gen, siendo los genes con más variantes SH2B3 (7 variantes) y JAK3 (6 variantes). Actualmente estamos procesando un nuevo grupo de pacientes con LAM para continuar caracterizando las variantes génicas asociadas a esta patología en nuestra población.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis de variantes alélicas de predisposición hereditaria al cáncer de colon por Next-Generation-Sequencing, en una cohorte de 40 familias uruguayas (#0273)

Cecilia Mathó [1]; Santiago Chávez [2]; Adriana Della Valle [3]; Florencia Neffa [3]; José Roberto Sotelo-Silveira [4]; Nora Artagaveytia [5]; María Ana Duhagon [2]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC; Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, UdelaR. 2 - Departamento de Genética, Facultad de Medicina, UDELAR. 3 - Unidad de Oncogenética, Hospital Central de las Fuerzas Armadas (H.C.FF.AA.).. 4 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC. 5 - Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, UdelaR.

Resumen:

El cáncer colo-rectal (CCR) representa la 3ª y 2ª causa de muerte por cáncer en hombres y en mujeres respectivamente en Uruguay; 5-10% de los casos presentan predisposición hereditaria, implicando que el portador tiene una probabilidad de 85-90% de desarrollar cáncer tempranamente. El Cáncer de Colon Hereditario No Polipósico o Síndrome de Lynch (SL) representa entre el 1-7% de todos los CCRs. La susceptibilidad heredada al CCR se debe a mutaciones germinales en genes que intervienen en la reparación del apareamiento erróneo del ADN. El diagnóstico de SL se basa en criterios clínicos que consideran la historia familiar, la edad y los sitios anatómicos involucrados (Amsterdam I y II, Bethesda), la presencia de inestabilidad de microsatélites a nivel tumoral y la identificación de mutaciones germinales. La detección de estas mutaciones es imprescindible para un adecuado asesoramiento oncogenético dado que cambian las estrategias de control, seguimiento y tratamiento de los pacientes y su núcleo familiar. Para contribuir a conocer las variantes alélicas presentes en la población uruguaya que padece SL, se seleccionaron 40 pacientes no emparentados, que reciben asesoramiento en la Unidad de Oncogenética del H.C.FF.AA. Se diseñó una estrategia de secuenciación por Next-Generation-Sequencing abarcando 9 genes relevantes en CCR hereditario: MLH1, MSH2, MSH6, EPCAM, FAN1, MUTYH, PMS1, PMS2, APC. Se amplificaron estos genes a partir de ADN genómico de sangre, se generaron bibliotecas y se secuenciaron usando el sistema Ion AmpliSeq de Ion Torrent. Las variantes alélicas encontradas, fueron analizadas para determinar su valor patogénico. En 15 pacientes se identificaron 14 variantes relevantes en las regiones codificantes de MLH1(5), MSH2(3), MSH6 (2), MUTYH (2), APC (1) y PMS1(1). Cuatro no fueron reportadas previamente y otras dos tienen significación incierta (VUS). Estos resultados incidieron en la conducta oncológica de las familias diagnosticadas.

Domingo

14:45 - 15:30 **SUG**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUG - #0048; #0049; #0324; #0303; #0123

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Analysis of transposable elements expressed in the gonads of the Siberian sturgeon (#0049)

Frédéric Brunet [1]; Alexia Roche [1]; Domitile Chalopin [1]; Magali Naville [1]; Christophe Klopp [2]; Denise Vizziano Cantonnet [3]; Jean Nicolas Volff [1]

1 - Université de Lyon. 2 - INRA Toulouse. 3 - Universidad de la República Fac. Ciencias.

Resumen:

Sturgeon caviar has become seafood production with strong economic production in aquaculture (Diana 2009). Along with any economy raising, illegal and deceitful products might be encountered, e.g. mix caviar of different species sold to the price of the most expensive one. Knowing transposable elements (TEs) repertoire can be used as a strategy to figure out whether caviar is made of only one or various sturgeon species using different approaches: phylogenetic studies as made in the present work, inventory of non active TE at species-specific positions along the orthologous genomic regions of sturgeons, TE PCR amplification and sequencing looking for TEs specificity. Transposable elements (TEs) are mobile and repeated sequences that are major factors of diversity and evolution in genomes. We report here through the analysis of gonad transcriptomes of the Siberian sturgeon Acipenser baerii, a non-teleost ray-finned fish, that sturgeon genomes contain many families of TEs, which are expressed in gonads and might be involved in the evolution of this divergent fish lineage. The high diversity of TEs observed in sturgeons, which is also found in teleost fish, coelacanth and amphibians but not in birds and mammals, strongly supports that many TE families were present in ancestral vertebrate genomes. Two types of transposable elements potentially differing in their evolutionary dynamics have been further characterized: DIRS-like retrotransposons, with a single lineage mainly transmitted vertically, and Tc1/mariner DNA transposons, with multiple lineages and the possible involvement of horizontal transfer. This first global analysis is a new step toward the understanding of TE evolution and evolutionary impact in non-teleost ray-finned fish, and will help to annotate the upcoming sequences of the large sturgeon genomes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Siberian sturgeon multi-tissue transcriptome database (#0048)

Christophe Klopp [1]; Andre Lasalle [2]; Santiago Di Landro [2]; Cedric Cabau [1]; Frederic Brunet [3]; Jean Nicolas Volff [3]; Denise Vizziano Cantonnet [4]

1 - INRA. 2 - Facultad de Ciencias. 3 - Université de Toulouse. 4 - Universidad de la República.

Resumen:
Sturgeons are target species for caviar production and considered among the most valuable commercial fishes. They are found and cultured in the northern hemisphere and were introduced for production in the southern hemisphere > 20 years ago. They are also important to study vertebrate genomes evolution because their genome probably underwent a Whole Genome Duplication enabling the emergence of new gene functions. Their large genomes are still difficult to assemble. Multi-tissues transcriptomic resources are therefore an alternative to study physiological and molecular controls of different process such as reproduction, growth or nutrition. A multi tissue database (stomach, liver, kidney, heart, muscle, brain, hypophysis, gonads, skin, swimming bladder) was built for Acipenser baerii. Four different transcriptome de novo assemblies have been produced with DRAP with two assemblers (Trinity and Oases) and two strategies: read sets merging and per tissue assembled contigs merging. The resulting assemblies have been compared on several metrics including contigs count, total nucleotide count, read realignment rate, number of Lepisosteus oculatus proteins reconstructed with at least 80% identity and 80% protein length, BUSCO and transrate scores. The best assembly includes 71,263 contigs for a total length of 118,836,837 bases and a mean contig size of 1,667 nucleotides; and between 91% and 98% of the reads map to the contigs depending on the tissue. It includes 95% of the 2586 searched BUSCO genes. This assembly has been annotated with different databases such as Uniprot-Swissprot, refseq-protein, Gadus morhua, Lepisosteus oculatus, Danio rerio, Oryzias latipes, Homo sapiens Ensembl proteins. It has also been processed with InterPRoScan, RNAmmer and tRNAScanSE. Reads have been realigned on the contigs to produce expression levels as well as SNPs and INDELs. The variations have been functionally annotated. All the results have been uploaded in an RNABrowse instance which will be accessible at http://sturgeontissuedb.sigenae.org.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización Morfológica y Molecular de Variedades Italianas de Olivo (Olea europea L) instaladas en el Jardín de Introducción de INIA "Las Brujas". (#0123)

Jennifer Bernal [1]; Jorge Pereira [2]; Paula Conde [3]

1 - Facultad Agronomía. 2 - Facultad de Agronomía. 3 - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

Resumen:
Caracterización Morfológica y Molecular de Variedades Italianas de Olivo (Olea europea L) instaladas en el Jardín de Introducción de INIA "Las Brujas". 1Bernal, J., 2Conde, P., y 1Pereira, J. 1Departamento Biología Vegetal, Facultad Agronomía, Av. Garzón 780, 12900 Montevideo, , Uruguay 2Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Las Brujas. Uruguay. La olivicultura se desarrolla en Uruguay desde fines del siglo XVIII, y a partir de 1990 adquiere una gran expansión con nuevas plantaciones y variedades introducidas desde el área Mediterránea. En el año 2002, el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, comienza la instalación de un Jardín de Introducción de Variedades de diversas procedencias, con la finalidad de evaluarlas agronómicamente en las condiciones de nuestro país. Con el objetivo de asegurar la identidad genética a esas variedades, se realizaron, análisis que permitieran corroborar los nombres de las mismas. Este requisito es corriente en cualquier Banco de Germoplasma o Jardín de Introducción, a los efectos de darle mayor seguridad a los resultados de las evaluaciones de estos materiales genéticos, ya que son frecuentes en el proceso de importación, errores de etiquetado o nomenclatura. En este trabajo se caracterizaron diez y seis variedades procedentes de Italia, plantadas en el año 2005. Se analizaron características morfológicas de hoja, fruto y endocarpo a 40 muestras por variedad. Asimismo se aplicaron diez pares de microsatélites diseñados para olivos, evaluados en otros ensayos realizados en bancos de germoplasma de referencia como los más discriminantes para el objetivo propuesto. Los resultados morfológicos y moleculares, al ser comparados con la base de datos del Banco Mundial de Germoplasma de Córdoba (España) detectaron algunos errores en los nombres asignados a las variedades analizadas, corrigiéndose la identificación. Esta caracterización confiere mayor certeza a los resultados de las evaluaciones agronómicas en curso. Trabajo financiado por INIA y Fondo de Dedicación Total (CSIC)

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

FRECUENCIAS DE LAS INSERCIONES Alu TPA25, ACE Y APOA1 EN LA POBLACIóN DE TACUAREMBÓ, URUGUAY (#0324)

Yasser Ventura Vega Requena [1]; Pedro C HIdalgo [1]; Sara Flores [1]; Monica Sans [2]

1 - Centro Universitario de Tacuarembó - UDELAR. 2 - Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación - UDELAR.

Resumen:

Introducción. Tacuarembó está ubicado al Nordeste del país, ocupa el territorio más extenso entre los 19 departamentos, fue uno de los asentamientos de las poblaciones indigenas que existieron en el Uruguay (Charruas, Minuanes y Guaraníes). La región ha sido poblada con oleadas sucesivas de migrantes principalmente de origen Español e Italiano y por Africanos y Portugueses, provenientes del Brasil. Los estudios para determinar la ancestralidad de esta población con marcadores clásicos y uniparentales han demostrado su composición tri-híbrida lo que refleja parte de su historia. Las inserciones Alu, son marcadores de ADN estudiados ampliamente en distintas poblaciones a nivel mundial ya que proporcionan una valiosa información para estudios de ancestralidad y diferenciación genética de las poblaciones humanas. El objetivo de este trabajo fue estimar las frecuencias alélicas de tres inserciones Alu (APOA1, ACE y TPA25) en la población de Tacuarembó y su comparación con las frecuencias reportadas previamente en la población de Montevideo. Materiales y Métodos. Se estudió una muestra de 64 individuos no emparentados naturales de Tacuarembó. El ADN fue extraído de sangre. Se determinaron los genotipos por PCR y electroforesis en agarosa. Las frecuencias alélicas y AMOVA se calcularon con el programa GenAlEx v.6.5. Resultados. En la población Tacuarembó se estimó para APOA1 una frecuencia de la inserción de 0,82, para ACE de 0,27 y para TPA25 de 0,367. La mayor diferencia en las frecuencias alélicas al comparar Tacuarembó con Montevideo fue para el locus TPA25 (0.367 vs 0.278 respectivamente). La media del coeficiente de diferenciación (Fst) entre Tacuarembó y Montevideo fue del 0.40%. Conclusión. Los resultados obtenidos en las muestras analizadas para las tres inserciones Alu no indican diferencias significativas entre la población de Montevideo y Tacuarembó.

Viernes

Carpa C5 - SUMI, ATGCU y SUI

16:45 - 18:30

SUI

Simposio SUI: Inmunología I

Fasciola hepatica modula células dendríticas a través de la interacción con receptores específicos de glicanos. (#0082)

Teresa Freire [1]

1 - Depto. Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:
Fasciola hepatica es el agente causal de la fasciolosis en nuestro país, un zoonosis de interés en salud pública y en la producción ganadera. Como otros helmintos, F. hepatica modula la respuesta inmunológica del hospedero induciendo una fuerte polarización de linfocitos T CD4 hacia respuestas de tipo Th2 modificada, constituida por un fuerte componente regulatorio. En este trabajo demostramos el papel de los glicanos parasitarios en la polarización de linfocitos T $CD4^+$ a través de la modulación de la maduración y función de las células dendríticas, las células presentadoras de antígeno más eficientes y capaces de activar linfocitos T vírgenes. Este proceso está mediado por MGL, un receptor de tipo lectina C que reconoce el antígeno Tn (GalNAc-Ser/Thr) presente en los componentes parasitarios. Ensayos en un modelo de infección experimental permitieron identificar células $CD11c^+$ que expresan MGL, las cuales son reclutadas al hígado y al peritoneo de ratones infectados. Estas células expresan citoquinas reguladoras, como IL-10, TNFα y TGFβ así como una variedad de marcadores reguladores. Asimismo, las células MGL^+ $CD11c^+$ expanden linfocitos T $CD4^+$ específicos productores de IL-10 y suprimen una polarización hacia Th1. Estos resultados indican el papel de MGL en la inmunomodulación de células presentadoras de antígeno inducida por F. hepatica y contribuyen al conocimiento de los mecanismos celulares y moleculares que median la inmunoregulación inducida por este parásito.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Salmonella como inmunoterapia para Linfoma no Hodgkin B (#0170)

Sofía Grille [1]; Thais Bascuas [2]; María Moreno [2]; Andreina Brugnini [3]; Amy Mónaco [2]; Carlos Chavez [4]; Nancy Seiler [4]; Daniela Lens [3]; José Alejandro Chabalgoity [2]

1 - Depto de Desarrollo Biotecnológico - Cátedra de Hematología- Depto Básico de Medicina. Facultad de Medicina. UdelaR.. 2 - Depto de Desarrollo Biotecnológico. Instituto de Higiene. Facultad de Medicina. UdelaR.. 3 - Laboratorio de Citometría y Biología Molecular. Depto. Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. UdelaR.. 4 - Cátedra de Hematología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. UdelaR..

Resumen:

Los linfomas no Hodgkin (LNH) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias linfoides. A pesar de los recientes avances para su tratamiento, los resultados clínicos y las tasas de curación obtenidas continúan siendo insatisfactorias. Salmonella demostró ser muy eficaz como agente antitumoral en muchos modelos de cánceres, tanto sólidos como hematológicos. En particular nuestro grupo, hace varios años trabaja en el desarrollo de inmunoterapias basadas en Salmonella para el tratamiento de diferentes enfermedades hemato-oncológicas (melanoma, cáncer de mama, leucemia aguda mieloide y LNH). En lo que respecta a LNH, Inicialmente trabajamos en la aplicación de Salmonella Typhimurium LVR01 intratumoral en un modelo murino de alta carga tumoral donde observamos el desarrollo de respuesta inmune anti-tumoral a nivel local y sistémico con prolongación de la sobrevida global. LVR01 determina reclutamiento intratumoral de neutrófilos y de células NK y T CD8+ activadas. Posteriormente, en un intento de explorar las inmunoterapias en un contexto más similar a la clínica desarrollamos un modelo de LNH en donde se les administra a los ratones un esquema de quimioterapia basado en ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y esteroides (CHOP). Evaluamos la terapia con Salmonella en forma combinada con CHOP. El microambiente tumoral es modificado de forma similar por *Salmonella* y por el tratamiento quimioterápico. Se observa una mejoría en términos de sobrevida global y libre de progresión y una potente respuesta inmune anti-tumoral sistémica y local. Asimismo, la administración de la bacteria mejora en gran medida la condición general de los animales bajo tratamiento quimioterápico. En conclusión, Salmonella es efectiva para el tratamiento de LNH cuando se administra en forma combinada con quimioterapia. Asimismo, la quimioterapia es mejor tolerada cuando se administra en combinación con Salmonella. Es un gran desafío para nuestro grupo encaminar este abordaje terapéutico en la generación de un ensayo clínico en fase I.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Lymphocyte receptors CD5 and CD6 recognize helminth-derived antigens, thus extending their known spectrum of pathogen recognition. (#0096)

Gustavo Mourglia-Ettlin [1]; Sebastián Miles [1]; María Velasco [2]; Noelia Armiger-Borràs [2]; Sylvia Dematteis [1]; Francisco Lozano [3]

1 - Área Inmunología - DEPBIO/IQB - Facultad de Química/Facultad de Ciencias - Universidad de la República. 2 - Group of Immune Receptors of the Innate and Adaptive System - Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer - Barcelona. 3 - Group of Immune Receptors of the Innate and Adaptive System - Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer; Departament de Biomedicina - Facultat de Medicina - Universitat de Barcelona; Servei d'Immunologia – Centre de Diagnòstic Biomèdic - Ho.

Resumen:

CD5 and CD6 are lymphocyte surface receptors that belong to group B members of the ancient and highly conserved scavenger receptor cysteine-rich superfamily. Both receptors are expressed on mature T and B1a cells, where they are known to modulate lymphocyte activation and/or differentiation processes. Additionally, it has been shown that both receptors may also act as pathogen recognition receptors, being able to recognize different conserved microbial structures: while CD5 senses fungal and viral (HCV) components, CD6 interacts with bacterial and viral (HIV) structures. Moreover, pre-clinical results obtained with recombinant soluble forms of CD5 and CD6 ectodomains, support their therapeutic potential in fungal or bacterial sepsis, respectively. Therefore, due to their broad spectrum of microbial ligands, we analyzed their ability to act as pattern recognition receptors for helminth parasites too, using *Echinococcus granulosus* antigens as a model. To that end, we worked with soluble recombinant forms of human CD5 and CD6 ectodomains (termed rshCD5 and rshCD6, respectively). Protein binding assays presented here indicate that both receptors recognized different antigenic preparations obtained from *E. granulosus* protoscoleces, showing a significant preference for an extract enriched in tegumental antigens (named PSEx). Therefore, we also performed co-precipitation assays with whole and viable protoscoleces and rshCD5/rshCD6, showing a direct interaction between the receptors and the native parasite tegument. Further flow cytometry experiments using fluorochrome-labelled PSEx, showed that membrane forms of CD5 as well as CD6 retain their PSEx-binding ability. Finally, through an immuno-proteomic approach (2D-GE plus Western blot, followed by MALDI-TOF/TOF) we successfully identified some parasite ligands for rshCD5 and rshCD6 present in PSEx. In conclusion, our work represents the first report on the ability of CD5 and CD6 receptors to recognize helminth-derived antigens, which extends their known spectrum of pathogen recognition.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Condicionamiento de células dendríticas por partículas de la capa laminar de *Echinococcus granulosus: análisis de mecanismos dependientes e independientes de contacto* (#0236)

Yamila Martínez [1]; *Álvaro Díaz* [1]; *Cecilia Casaravilla* [1]

1 - Cátedra de Inmunología, Facultad de Química/Ciencias (UDELAR).

Resumen:

Echinococcus granulosus es el parásito helminto que causa la hidatidosis. Su larva está rodeada por una capa rica en mucinas, llamada capa laminar (LL). La LL interacciona directamente con el medio interno del hospedero, contribuyendo a la fuerte regulación de la respuesta inflamatoria que caracteriza a la infección por este parásito. En este contexto, estudiamos los efectos de partículas de la LL (pLL) sobre células clave para la iniciación y regulación de la respuesta inmune, las células dendríticas, utilizando como modelo células dendríticas derivadas de médula ósea (BMDC). En éstas células la exposición a pLL induce un aumento selectivo de la expresión de la molécula co-estimuladora CD86, sin inducir CD40 ni citoquinas. Además, pLL modifica las respuestas a agonistas de TLR, inhibiendo la expresión de CD40 e IL-12, y potenciando la de CD86 e IL-10. Por tanto, pLL en presencia de agonistas de TLR induce un fenotipo semi-maduro, posiblemente tolerogénico. El objetivo de este trabajo es estudiar si los efectos de pLL dependen exclusivamente del contacto de las células con las partículas o si existen factores parácrinos (FP) involucrados. Utilizando un sistema de *transwell*, determinamos que el contacto con las partículas es indispensable para la inducción de CD86, así como necesario para el efecto global descrito, pero también existen contribuciones de FP. En particular, encontramos que la IL-10 contribuye a la inhibición de IL-12, y marginalmente a la de CD40. Observamos también que la IL-10 modera la inducción de CD86 causada por el contacto directo con las partículas de pLL. Conjuntamente, los resultados muestran que los efectos de pLL sobre BMDC dependen fuertemente del contacto célula-partícula. Además revelan que ciertas de las señales intracelulares inducidas por dicho contacto son lo suficientemente fuertes para causar efectos fenotípicos observables aún cuando paralelamente se inducen factores solubles con efectos contrapuestos, como la IL-10.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desarrollo de una nueva estrategia para el tratamiento de aterosclerosis y otras enfermedades inflamatorias (#0208)

*Jorge Rodríguez [1]; Germán Galliussi [1]; Gerardo Ferrer Sueta [2]; Horacio Botti [3]; Adriana Carlomagno [1]; Paola Contreras [1]; Marcelo Hill [1]; Carlos * Escande [1]; Gloria Virginia * López [4]; Carlos * Batthyány [1]*

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Facultad de Ciencias. 3 - Facultad de Medicina. 4 - Facultad de Química.

Resumen:

*-Declaran conflicto de interés. Son socios fundadores y accionistas de Eolo Pharma. La aterosclerosis es una enfermedad epidémica y una de las principales causas de muerte en el mundo. Hay dos eventos bien reconocidos en su patogénesis: inflamación crónica y acumulación de lípidos derivados de la formación de células espumosas. La activación del inflamasoma por cristales de colesterol o LDL modificada es el evento previo a la acumulación masiva de lípidos y subsecuente formación de la lesión, siendo esto el foco principal de atención en nuestra investigación. El objetivo es el desarrollo de una nueva estrategia farmacológica para el tratamiento de la aterosclerosis y para esto hemos diseñado, sintetizado y caracterizado un nuevo compuesto híbrido con propiedades antiinflamatorias. Este compuesto es un derivado del α-tocoferol (Vitamina E) que le adicionamos un grupo funcional nitroalqueno y la hipótesis de trabajo es que éste se incorpora selectivamente en las lipoproteínas debido a que mantiene la estructura de reconocimiento bioquímico del α-tocoferol. Estas partículas lipoproteicas lo transportan hacia todos los tejidos incluyendo las placas de ateroma, donde la presencia de receptores "scavenger" en los macrófagos produciría una captación masiva de LDL cargada con el compuesto y éste ejercería los efectos antiinflamatorios/antiaterogénicos. En este trabajo describimos la síntesis y caracterización biológica del nitroalqueno análogo del α-tocoferol y sus derivados, demostrando que son electrófilos capaces de incorporarse en lipoproteínas inhibiendo NF-κB (factor de transcripción proinflamatorio) y al inflamasoma NLRP3, además de inducir la expresión de enzimas de fase 2 reguladas por el sistema Nrf2-Keap1. También hemos demostrado en modelos animales de aterosclerosis e hipertensión arterial que este compuesto previene la formación de placa de ateroma en un modelo de ratones apoE-/- alimentados con dieta rica en grasas e inhibe el desarrollo de hipertensión arterial inducida por angiotensina II.

Sábado

09:00 - 10:45

SUI

Simposio SUI: Imnmunología II

Impacto del pH extracelular sobre el curso de la respuesta inmune (#0159)

Jorge Geffner [1]

1 - Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Resumen:

Una amplia variedad de procesos inflamatorios transcurre a valores acídicos de pH extracelular, en un rango de pH comprendido entre 6.0 y 7.0. Los procesos infecciosos de naturaleza bacteriana tienden a desarrollar ambientes acídicos en tejidos periféricos. Los procesos alérgicos y, particularmente, el asma alérgico, así como también diferentes afecciones autoinmunes suelen inducir la acumulación de protones en los tejidos afectados. El crecimiento de tumores sólidos se asocia también al desarrollo de ambientes acídicos, cuyos valores de pH han mostrando extenderse en el rango 5.5-7.0. Pese a la multiplicidad de procesos que transcurren en entornos acídicos, es poco lo que comprendemos acerca del impacto que imponen altas concentraciones de protones a la respuesta inmune. El objetivo de la presentación será brindar un resumen de nuestra experiencia en este campo, centrado en el análisis del impacto que impone el pH extracelular a la función de neutrófilos, monocitos y células dendríticas, así como también a diferentes sistemas humorales que participan en el desarrollo de procesos inflamatorios.

Tras las huellas de los Linfocitos T helper de salmonidos. (#0195)

Mónica Imarai [1]; Kevin Maisey [1]; Ruth Montero [1]; Felipe Reyes-López [1]; Alvaro Sequeida [1]; Daniela Ruiz [1]; Felipe Barraza [1]; Catalina Rivera [1]; Valentina Wong [1]; Agustín Trujillo [1]; Geraldine Dennett [1]; Andrés Castillo [1]

1 - Laboratorio de Inmunología, Centro de Biotecnología Acuícola, Universidad de Santiago de Chile.

Resumen:
Los Linfocitos T CD4+ (Th) pueden diferenciarse a una variedad de subpoblaciones efectoras que producen citoquinas involucradas en la regulación de la respuesta inmune. En los peces, la existencia y función de los linfocitos Th ha sido muy pobremente caracterizada y la existencia de subpoblaciones no se ha demostrado, principalmente debido a la falta de anticuerpos contra marcadores (i.e. CD4, CD3 entre otros) y contra citoquinas. Para demostrar la presencia de los linfocitos Th y de su respuesta en salmónidos, primero analizamos la expresión de genes de citoquinas, y del procesamiento y presentación de antígenos en salmones de familias resistentes y susceptibles a la infección por el virus IPN (por sus siglas en inglés, *infectious pancreatic necrosis virus*). Los resultados mostraron la expresión de genes como *ifn-g, il-12, il-10* y *tgf-b*, lo que sugirió la presencia y participación de los linfocitos Th en la respuesta a IPNV. Una menor respuesta de los genes de presentación antigénica se correlacionó a susceptibilidad y una respuesta inflamatoria moderada mediada por IFN-g y genes regulatorios se correlacionó a resistencia a la infección. En segundo lugar, desarrollamos anticuerpos anti-CD4 y anti-CD3 de trucha, y analizamos la expresión génica de las células $CD4^{+}CD3^{+}$ aisladas. Los resultados constituyen la primera evidencia directa de la presencia de linfocitos Th en los salmónidos. Además, se encontró que los linfocitos Th residen en el bazo, riñón, branquias y timo de las truchas, responden a antígenos virales, producen IL-4/13A y contienen los receptores de esta citoquina, lo que sugiere la presencia de linfocitos tipo Th2 en los peces. Financian RCUK MR-N02526X-1, Fondecyt1161015, DICYT021640IB_postdoc, Basal USA1498, Basal USA1555-VRIDEI 021743IB_cont.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Rol inmunorregulador del inflamasoma NLRP3 en un modelo de infección por coronavirus (#0328)

Maite Duhalde [1]; Mathias Jeldrés [1]; Cristina Cuturi [2]; Marcelo Hill [3]

1 - Laboratorio de Inmunoregulacion e Inflamación. Institut Pasteur de Montevideo. Montevideo, Uruguay. 2 - 3ITUN, Inserm UMRS 1064, Center for Research in Transplantation and Immunology, Nantes, France. 3 - Laboratorio de Inmunoregulacion e Inflamación. Institut Pasteur de Montevideo/ Departamento de Inmunobiologia, Facultad de Medicina. Universidad de la Republica. Montevideo. Uruguay.

Resumen:

Los inflamasomas son complejos que inducen la liberación de IL1beta. Estos complejos juegan un rol importante en la inmunidad antiviral. Se ha establecido que la IL-1beta es crucial para establecer una respuesta antiviral T CD8 apropiada. Sin embargo, el papel de la activación del inflamasoma en la infección por coronavirus no ha sido estudiado. Nosotros nos hemos enfocado en la asociación entre el inflamasoma y la inmunidad antiviral, en un modelo de hepatitis por coronavirus (MHV-A59). Además, nuestro equipo ha demostrado que Tmem176b es un canal que inhibe la activación del inflamasoma NLRP3. Realizamos infecciones in vitro e in vivo con ratones WT, Tmem176b-/- y caspasa-1 KO. Analizamos diferentes parámetros inmunológicos y la sobrevida de los ratones infectados. Nuestros resultados muestran que BMDC infectadas in vitro secretan IL1beta de manera dependiente de caspasa-1 y NLRP3. Además, las BMDCs Tmem176b-/- producen más IL1beta y caspasa 1 que las BMDC WT. En estudios in vivo, ratones Tmem176b-/- infectados muestran una menor sobrevida, mayores niveles de IL-1beta y caspasa-1 y elevada carga viral en relación a ratones Tmem176b+/+. El bloqueo de IL1beta en animales Tmem176b-/-, extiende su sobrevida significativamente, y esta mejora es dependiente de células T CD 8. Por otra parte, los ratones Caspasa-1 KO son más resistentes a la infección que los WT y muestran una carga viral menor. Estas diferencias también fueron caracterizadas como T CD8 dependientes mediante ensayos de depleción. Finalmente, determinamos que la células T CD8 especificas expresaron mayor porcentaje de PD-1 tanto en ratones Tmem176b-/-, como en los caspasa-1 KO en comparación con los WT. Nuestros resultados sugieren que en la infección por coronavirus la IL1beta antagoniza la respuesta inmune antiviral mediante la inactivación funcional de linfocitos T CD8 a través de PD-1. Entender esta interacción es un paso importante en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Rol del inflamasoma en el efecto anti-melanoma de Salmonella (#0113)

Amy Monaco [1]; *Alejandro Chabalgoity* [1]; *María Moreno* [1]

1 - Depto. de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina.

Resumen:

Salmonella sigue siendo una alternativa para el tratamiento de melanoma dada su capacidad de inducir una fuerte activación de la respuesta inmune, su bajo costo de producción y carencia de efectos secundarios, entre otras tantas ventajas. Si bien ya se ha demostrado su efecto antitumoral en varios tipos de tumor, las bases que lo subyacen no están completamente elucidadas. En este trabajo nos centramos particularmente en el inflamasoma, un complejo multiproteico que dados diferentes estímulos promueve la activación de caspasa-1 que a su vez madura IL1β e IL18. Se sabe que *Salmonella* es capaz de activar el inflamasoma por al menos dos vías: activación de NLRC4 mediante flagelina citosólica, y/o activación de NLRP3 mediante una señal aún no identificada. Si bien la línea B16F1 (melanoma murino no metastásico) no presenta estos receptores, encontramos que nuestra cepa de trabajo (LVR01) induce la activación de caspasa-1 en éstas células. No se observan cambios significativos en la producción de IL18 en sobrenadantes de cultivo por acción de *Salmonella*. Por su parte, a nivel intratumoral encontramos todos los mensajeros correspondientes al inflamasoma, viéndose aumentados por el tratamiento nlrp3, nlrc4 e il1b. Finalmente utilizamos ratones knock out para diferentes componentes del inflamasoma en los que evaluamos el curso del tratamiento de melanoma subcutáneo con una dosis de LVR01. Los resultados muestran que la activación del inflamasoma es imprescindible para que Salmonella pueda ejercer su efecto antitumoral, en vista de que ratones caspasa-1 ko no exhiben mejora alguna luego del tratamiento. Actualmente estamos intentando refinar el mecanismo subyacente realizando estos mismos ensayos con ratones nlrp3 ko. Dado que los tratamientos antitumorales que involucran de bacterias se apoyan en resultados empíricos, esperamos que el conocimiento generado en este trabajo contribuya al diseño más racional de inmunoterapias basadas en *Salmonella*.

Viernes

19:25 - 20:00 **SUI**

PRESENTACIÓN POSTERS - SUI - #0041. #0137, #0173, #0212, #0321, #0199, #0233

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

El antígeno tumoral Tn promueve el crecimiento de tumores vascularizados (#0041)

Valeria da Costa [1]; Karina Mariño [2]; Eduardo Osinaga [3]; Teresa Freire [1]

1 - Grupo de Inmunomodulación y Desarrollo de vacunas, Depto. Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay. 2 - Laboratorio de Glicómica funcional y Molecular del Instituto de Biología y Medicina Experimental, Argentina. 3 - Laboratorio de Inmunología Tumoral y Glicobiología, Institut Pasteur de Montevideo y Depto. Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR..

Resumen:

El antígeno carbohidrato Tn (GalNAc-O-Ser/Thr) se expresa en más del 90% de adenocarcinomas y constituye tanto una herramienta diagnóstica así como un blanco de inmunoterapias anti-tumorales. Trabajos previos demostraron que la presencia de Tn se asocia a la malignidad, y está vinculado con la capacidad de las células de generar metástasis. Sin embargo, hasta el momento no existe un modelo tumoral *in vivo* que haya investigado el papel tumorigénico de este antígeno. Por ello, en este trabajo generamos un modelo tumoral que nos permita investigar el papel del antígeno Tn en el crecimiento tumoral *in vivo*. En particular, se generó y caracterizó una línea murina de cáncer de pulmón (LL2) que expresa el antígeno Tn (LL2-Tn+), mientras que la línea parental no presenta dicha estructura (LL2-Tn-). Posteriormente, comparamos el crecimiento tumoral *in vivo* y la sobrevida de ratones singénicos inoculados con la línea parental LL2-Tn- y la LL2-Tn+. Se observó que los animales inoculados con las células Tn+ presentaron un crecimiento tumoral acelerado en comparación con aquellos inoculados con las células LL2-Tn-. Además los tumores Tn+ presentaron un mayor índice de vascularización. Por otro lado, los tumores Tn+ se caracterizaron por presentar mayores niveles de TNFa y TGFb que los tumores Tn-, y por reclutar células $CD11c^{+}$ que expresan el receptor de lectina tipo C, MGL2, el cual puede interaccionar con el antígeno Tn y participar en procesos de inmunomodulación. Estos resultados indican la importancia del antígeno Tn en el proceso tumoral y sugieren que podría ser responsable de procesos inmunomoduladores desencadenados por las células tumorales.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

TMEM176A impide la muerte celular dependiente de caspasa-1 en la Leucemia Linfoide Crónica progresiva (#0321)

Florencia Rammauro [1]; Daniel Prieto [2]; Noé Seija [2]; Sofía Russo [1]; Pablo Oppezzo [2]; Marcelo Hill [1]

1 - Laboratorio de Inmunoregulación e Inflamación, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Laboratorio de Investigación en Leucemia Linfoide Crónica, Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:
La leucemia linfoide crónica (LLC) es el tipo más común de leucemia en adultos en los países occidentales. Clásicamente se ha descrito que los linfocitos B leucémicos son resistentes a la apoptosis. Sin embargo, otros tipos de muerte programada no han sido explorados en profundidad en esta patología. Los inflamasomas son complejos intracelulares que responden a señales de estrés activando caspasa-1, lo que puede desencadenar un tipo de muerte celular programada llamada piroptosis. En este trabajo, encontramos que células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de pacientes progresores presentan menos células B con caspasa-1 activa comparado con pacientes indolentes y donantes sanos. Este porcentaje aumenta con el tiempo de cultivo, correspondiendo a células que además presentan la membrana permeable y GSDMD. Además, en células de pacientes progresores la inhibición de caspasa-1 utilizando el inhibidor Ac-YVAD-CMK disminuye la muerte celular. Esto sugiere que en la LLC progresiva la activación de caspasa-1 puede desencadenar un tipo de muerte celular compatible con la piroptosis. TMEM176A y TMEM176B son canales intracelulares descritos por nuestro grupo como nuevos reguladores del inflamasoma. Encontramos que TMEM176A estaría presente en las células B tumorales y su sobre-expresión estaría asociada a progresión. Además, demostramos que TMEM176A es capaz de regular la activación de caspasa-1 en la LLC, ya que su silenciamiento aumenta el porcentaje de células B con caspasa-1 activa. De manera interesante, drogas inhibidoras de la actividad de canal ionico deTMEM176A indujeron la muerte de células B leucémicas de manera dependiente de caspasa-1. En base a estos resultados, proponemos que la LLC progresiva podría controlar la activación de caspasa-1, a través de la sobre-expresión de TMEM176A, y esto sería beneficioso para la progresión de la enfermedad ya que impediría la muerte de las células tumorales.

Unión de C1q con activación ineficiente de la vía clásica del complemento sobre la larva del parásito *Echinococcus granulosus*. (#0137)

Leticia Grezzi [1]; Anabella Barrios [1]; Álvaro Díaz [1]

1 - Cátedra de Inmunología,Departamento de Biociencias de Facultad de Química e Instituto de Química Biologica de Facultad de Ciencias.

Resumen:

La capa laminar (CL) es la estructura acelular que delimita la larva del parásito cestode *Echinococcus granulosus*. La CL, constituida por mucinas y depósitos de *myo*-inositol hexakisfosfato (InsP_6) cálcico, ofrece una gran superficie de interacción al sistema complemento del hospedero. Esta superficie podría activar en particular a la vía clásica (VC), ya que la CL resulta opsonizada por anticuerpos. La molécula de reconocimiento de la VC, C1q, es una de las principales proteínas de suero humano retenidas sobre InsP_6 cálcico sintético. En este trabajo se analizó si la misma interacción ocurre en el contexto de la CL y si impacta sobre la activación de la VC. Se trabajó con suspensiones de CL, nativas o pre-tratadas con EDTA para eliminar selectivamente al InsP_6 cálcico, y con InsP_6 cálcico purificado. Se observó que la CL efectivamente retiene C1q, en forma selectiva y mayoritariamente dependiente del InsP_6 cálcico. Si bien el InsP_6 cálcico purificado activa a C1r, C1s, y C2, el aporte del compuesto a dicha activación en el contexto de la CL es pobre o nulo. Esto sugiere que el InsP_6 cálcico compite por C1 con los anticuerpos pero activa C1 más pobremente que éstos. Además, aún en condiciones en las que el InsP_6 cálcico aporta a la activación de C1, el compuesto no contribuye a la activación a nivel de C5, biológicamente más importante. Determinamos que esto se debe a que la activación iniciada sobre el InsP_6 cálcico se continúa de forma también ineficiente a nivel del depósito covalente C4 y C3, coherente con la falta de grupos nucleofílicos en el InsP_6. Estos resultados nos llevan a especular que el papel del InsP_6 cálcico podría ser presentar en forma multivalente a C1q para inducir perfiles anti-inflamatorios en las células fagocíticas en la vecindad del parásito.

Estudio de proteínas de fase aguda y de respuesta al estrés térmico del esturión ruso. (#0173)

Mauricio Castellano [1]; *Valeria Silva* [1]; *Andrea Villarino* [1]; *Ana María Ferreira* [1]

1 - Universidad de la República.

Resumen:
En los últimos años se han establecido en Uruguay varios emprendimientos de acuicultura dedicados a la cría de esturión (*Acipenser spp.*). La granja "esturiones del Río Negro", pionera en este rubro, cría principalmente esturiones rusos (*Acipenser gueldenstaedtii)* obteniendo caviar de excepcional calidad. A pesar del éxito de este emprendimiento, durante los meses de verano ocurre un aumento en la mortalidad de los esturiones. Nuestro grupo pudo determinar que las elevadas temperaturas de verano constituyen un factor de estrés fundamental que afecta componentes claves del Sistema Inmune Innato y repercute negativamente en el crecimiento de estos peces. Esta situación nos ha motivado a desarrollar herramientas que permitan evaluar el estado sanitario de los esturiones y mediante su implementación disminuyan las pérdidas económicas. A tales efectos, el desarrollo de inmunoensayos para detectar en suero posibles marcadores asociados al estrés térmico y a infecciones resulta una solución promisoria debido a su robustez y fácil implementación. Con este objetivo, mediante un análisis bioinformáticao se diseñaron cebadores que permitieron amplificar e identificar la secuencia de varias proteínas de fase aguda (PFA) y de respuesta al estrés térmico (PET) del esturión ruso. Posteriormente, se evaluaron los niveles de expresión relativa de estos candidatos mediante PCR en tiempo real en hígados de esturiones rusos inoculados con *Aeromonas hydrophila* o con tampón salino. Los resultados demostraron que la proteína amiloide A sérica (SAA) fue la que aumentó mayormente sus niveles relativos de ARNm. A continuación, el gen de la SAA se clonó en múltiples vectores para su expresión recombinante en *E. Coli*, lográndosela obtener en forma soluble y en grandes cantidades al fusionarla a las proteínas MBP y TRX. Actualmente se está optimizando su purificación para luego producir anticuerpos específicos que permitan detectar la SAA en muestras de suero mediante inmunoensayos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la proteína amiloide P del suero (SAP) como potencial marcador de inflamación de esturión (#0199)

Valeria Silva-Álvarez [1]; Mauricio Castellano [2]; Elena Fernández-López [3]; Daniel Conijeski [3]; Andrea Villarino [2]; Ana María Ferreira [1]

1 - Unidad de Inmunología, Facultad de Ciencias/Facultad de Química, Universidad de la República. 2 - Sección de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 3 - Esturiones del Río Negro SA.

Resumen:

La acuicultura de esturión en Uruguay ha crecido notoriamente durante las últimas décadas, convirtiendo a nuestro país en uno de los principales productores de caviar en el mundo. No obstante, durante los meses cálidos los esturiones sufren infecciones bacterianas recurrentes que impactan en la producción. Así, la consolidación de este sector productivo requiere el desarrollo de herramientas para monitorear y fortalecer el estado sanitario de los esturiones. Debido al limitado conocimiento sobre la respuesta inflamatoria de esta especie, estas herramientas son casi inexistentes. La proteína amiloide P del suero (SAP) pertenece al grupo de las proteínas de fase aguda, utilizadas como marcadores para la detección temprana de procesos inflamatorios en varios vertebrados. Nos interesó entonces analizar si la SAP podría funcionar de esta manera en el esturión. Obtuvimos una fracción enriquecida en SAP mediante cromatografía de afinidad de suero de esturión sobre agarosa (Sepharose-2B) en presencia de calcio, confirmando su identidad mediante electroforesis bidimensional acoplada a espectrometría de masas. Para valorar el potencial de la SAP como marcador inflamatorio ajustamos un ensayo para su detección en suero por Western Blot usando anticuerpos policlonales de conejo anti-SAP de esturión producidos en nuestro laboratorio. Observamos que los niveles séricos de SAP en esturiones estimulados con bacterias inactivadas disminuyeron significativamente a las 24hs post-estimulación (~30%, ANOVA). Una tendencia similar se observó a las 72hs post-estimulación (~50%), aunque sin alcanzar significancia estadística. Apoyando estos resultados, los niveles de ARNm de SAP en hígado, determinados mediante qPCR, también mostraron una tendencia a la disminución (~30%) en peces estimulados respecto a sus controles. Globalmente, los resultados sugieren que la SAP se comporta como una proteína de fase aguda negativa en esturión, por lo cual no representaría un marcador inflamatorio ideal, aunque podría ser de utilidad si se valorara en conjunto con proteínas de fase aguda positivas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Un nuevo péptido que inhibe la vía de NF-kB: hacia la comprensión de los mecanismos que determinan su actividad anti-inflamatoria. (#0212)

Hellen Daghero [1]; Romina Pagotto [1]; Ana Paula Arévalo [2]; Maribel Guerra Vallespí [3]; Mariela Bollati-Fogolín [1]

1 - Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur Montevideo. 2 - Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación, Institut Pasteur Montevideo. 3 - Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

Resumen:

A partir de un barrido de alanina de la región 32-51 de la proteína antimicrobiana LALF (Limulus anti-LPS factor) se desarrolló un péptido sintético CIGB-552. Este péptido no une LPS y demostró tener capacidad de penetración en líneas celulares, presentar toxicidad selectiva en líneas tumorales y aumentar la sobrevida de animales portadores de tumores. Tras exponerlo a suero murino, el péptido mostró un patrón de degradación produciendo metabolitos de menor tamaño (10, 14 y 17aa). Por otro lado, la proteína COMMD1 fue validada como posible blanco de acción del CIGB552 y se demostró que inhibe la vía NF-kB, factor que promueve la expresión de genes implicados en la supervivencia celular, inflamación y oncogénesis. Bajo la hipótesis que el CIGB552 actúa sobre COMMD1 inhibiendo la activación de la vía NF-kB, en este trabajo estudiamos los efectos anti-inflamatorios producidos por el péptido y los metabolitos derivados en modelos celulares y animales, a fin de comprender su rol en la biología tumoral. Para el abordaje in vitro hemos generado líneas celulares humanas de origen tumoral (HT-29, H460 y T47D) reporteras para la vía de NF-kB. Las células fueron transfectadas establemente con el plásmido pNF-kB-hrGFP y se evaluó por citometría de flujo la capacidad del CIGB552 y los metabolitos de modular este factor tras un estímulo inflamatorio. Para los estudios in vivo se empleó el ratón transgénico NFkB-RE-luc, modelo de inflamación sistémica donde se observa la activación de la vía del NFkB tras un estímulo inflamatorio a través de la medida de luminiscencia registrada mediante un sistema de in vivo imaging. En los modelos in vitro el CIGB552 fue capaz de modular la vía de NFkB, no así los metabolitos derivados. Experimentos en curso aportarán evidencias del efecto de CIGB552 in vivo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la capacidad del Antígeno B de modular la expresión de citoquinas en macrófagos (#0233)

Sofía Lagos [1]; Maite Folle [1]; Valeria Silva [1]; Martín Fló [2]; Federico Carrión [2]; Otto Pritsch [2]; Ana María Ferreira [1]

1 - Laboratorio de Inmunología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR. 2 - Unidad de Biofísica de Proteínas, Instituto Pasteur de Montevideo.

Resumen:
El antígeno B (EgAgB) es la principal lipoproteína (~230 kDa) producida por la larva (hidátide) del parásito *Echinococcus granulosus* s.l.. Sus apolipoproteínas están codificadas por una familia multigénica y polimórfica perteneciente a una familia de proteínas exclusiva de cestodos con capacidad de unir ligandos hidrofóbicos. En el hospedero, la hidátide induce una respuesta inmune tipo Th2 modificada, caracterizada por un fuerte componente regulador. Diversos trabajos sugieren que el EgAgB modula la inflamación asociada a la activación de células innatas y contribuye a inducir un perfil tipo Th2. Sin embargo, en dichos trabajos se utilizaron preparaciones que no son representativas del EgAgB en su estado nativo. Para estudiar el efecto del EgAgB nativo sobre las células innatas se purificaron las partículas lipoproteicas a partir de líquido hidático siguiendo protocolos previamente optimizados. La caracterización de estas partículas mediante SDS-PAGE y DLS mostró que constituyen una población homogénea. Se estudió luego el efecto del EgAgB sobre macrófagos, estimulando macrófagos humanos THP-1 con varios agonistas de PRR, en presencia o ausencia de EgAgB, y analizando la secreción de IL-1β e IL-6 por ELISA. El EgAgB nativo fue capaz de inhibir la secreción de ambas citoquinas pro-inflamatorias inducida por LPS y zymosán, pero no mostró efectos sobre la secreción inducida por mananos, Pam3 y PolyI:C, sugiriendo diferencias en su capacidad de influenciar vías de activación mediadas por diferentes PRRs. Por otro lado, en estos ensayos el EgAgB nativo indujo *per se* secreción de IL-1β e IL-6 de forma dosis-dependiente, pero no se ha podido discriminar si esto representa un efecto intrínseco del EgAgB o deriva de pirógenos (contaminantes derivados de la purificación y difíciles de eliminar dadas la propiedades bioquímicas del EgAgB). Para responder esta pregunta se está trabajando actualmente en la expresión recombinante de las apolipoproteínas del EgAgB en células de insecto.

Sábado

15:45 - 16:20 **SUI**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUI - #0348, #0362, #0083, #0141, #0160, #0203, #0209, #0323, #0335

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Manipulación de la acidificación fagosomal en células dendríticas como un potencial mecanismo patogénico de Leptospira (#0323)

Florencia Rammauro [1]; Leticia Zarantonelli [2]; Cecilia Nieves [2]; Mercedes Segovia [1]; María Cristina Cuturi [3]; Mathieu Picardeau [4]; Alejandro Buschiazzo [2]; Marcelo Hill [1]

1 - Laboratorio de Inmunoregulación e Inflamación, Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Laboratorio de Microbiología Molecular y Estructural, Institut Pasteur de Montevideo. 3 - ITUN, Inserm UMRS 1064, Centro de Investigación en Trasplante e Inmunología. 4 - Unidad de Biología de Espiroquetas, Institut Pasteur.

Resumen:
La leptospirosis es una enfermedad bacteriana zoonótica causada por especies patógenas del género Leptospira. Existe muy poca información relacionada a la interaccion Leptospira/DC y la posterior generación de respuestas celulares T. Nosotros generamos bacterias recombinantes para el antígeno modelo OVA: una saprófita, L. biflexa Patoc-OVA (LBP-OVA), y una patógena, L. interrogans Manilae-OVA (LIM-OVA). Se realizaron ensayos de presentación de las bacterias por BMDCs murinas a células T CD4+ de ratones OT-II. Encontramos que, mientras LBP-OVA es capaz de inducir la proliferación y producción IFN-γ por linfocitos T CD4+, esta respuesta está abolida con LIM-OVA. Sugiriendo que la bacteria patógena es capaz de evitar su presentación a células T CD4+ y/o la proliferación de las mismas. Se demostró que ambas bacterias son capaces de inducir la maduración y producción de citoquinas por parte de BMDCs, y no afectan la proliferación de linfocitos T CD4+ en respuesta a BMDCs pulsadas con el péptido mínimo OVA reconocidos por los linfocitos T CD4+ OT2. Estos resultados sugieren que LIM podría impedir alguna etapa del procesamiento antigénico en la via del MHCII. Resultados de medida del pH fagolisosomal de BMDCs infectadas con las bacterias muestran que LIM es capaz de evitar la acidificación de este compartimiento, un mecanismo que evitaría su presentación y explicaría los resultados encontrados antes. Para profundizar estas observaciones utilizamos BMDCs Tmem176b-/-. Tmem176b es un canal ionico fagosomal que promueve la acidificación de este compartimento. Observamos que las BMDC Tmem176b-/- fallaron en inducir la proliferación de linfocitos T CD4+ OT2 cuando se infectaron con LBP-OVA. Ademas, estas BMDC no lograron acidificar el fagosoma conteniendo a LBP. Las especies patógenas de Leptospira podrían escapar de respuestas T CD4+ al manipular la acidificación fagosomal en DCs.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Pseudotipado de lentivirus con nanobodies (#0335)

Diego Pérez-Escanda [1]; Kam Zaki [2]; Yasu Takeuchi [3]; Mary Collins [2]; Gualberto González-Sapienza [4]

1 - Cátedra de Inmunología, Instituto de Higiene, Montevideo, Uruguay - Advanced Therapies Division, National Institute for Biological Standards and Control, London, UK. 2 - Advanced Therapies Division, National Institute for Biological Standards and Control, London, UK. 3 - Infection & Immunity, University College London, London, UK. 4 - Cátedra de Inmunología, Instituto de Higiene, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

Los vectores lentivirales (LVs) tienen un enorme potencial en medicina para corregir defectos genéticos, modificar o prevenir una enfermedad. En este caso se apunta a utilizar un modelo lentiviral de importancia en vacunas para ser utilizado como vehículo para el direccionamiento de antígenos a células presentadoras de antígeno (APCs). Para lograrlo, se mutan sitios específicos de las proteínas virales anulando su especificidad y se incorporan elementos de unión que confieren un nuevo tropismo. Si bien existen distintos sistemas de pseudotipado, uno que ha cobrado gran importancia últimamente es el pseudotipado con la envoltura viral de sarampión (MV), que consta de una proteína de fusión F y una proteína de unión H que ha sido mutada para eliminar su tropismo natural (Hmut). En este proyecto se propone dirigir el tropismo de LV-MV incorporando el dominio variable (nanobodies o VHHs) de anticuerpos carentes de cadena liviana de camélidos fusionados a Hmut. Actualmente se generaron LV-MV decorados con Hmut-VHH anti-CD11b, anti-CD11c, anti-MHCII y anti-toxina tetánica (control). Se ha optimizado su producción obteniendo títulos de 10^7-10^8 partículas virales/mL mediante RTqPCR. Se ha logrado la transducción dirigida mediada por nanobodies de células dendríticas derivadas de médula ósea y de la línea celular de macrófagos de ratón J774A.1. En general el porcentaje de transducción es bajo y variable respecto al pseudotipado (de amplia especificidad) obtenido con VSVg (proteína de envoltura del virus de la estomatitis vesicular) usado como referencia. A los efectos de mejorar la eficiencia de transducción, estamos optimizando distintas etapas en la generación de los LVs (relación de Hmut/F), controlándolas mediante citometría de flujo y hemos puesto a punto un ensayo para medir en tiempo real la unión de las partículas lentivirales pseudotipadas con VHHs al ligando correspondiente mediante interferometría de biocapa (BLItz).

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Detección de hemoglobina humana en materia fecal, mediante el uso de nanobodies, como herramienta para la detección precoz de cáncer de colon. (#0083)

Triana Delfin Riela [1]; *Martín A. Rossotti Indaburo* [1]; *Gualberto G. González Sapienza* [1]

1 - Cátedra de Inmunología. Facultad de Química. UDELAR.

Resumen:

El cáncer colorrectal constituye un serio problema de salud pública y en Uruguay representa la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres y la tercera en hombres. A pesar de que la detección precoz asegura un alto porcentaje de curación, hoy en día el 55% de los casos es detectado en etapas avanzadas. Actualmente, la detección de hemoglobina en materia fecal es la única prueba no invasiva recomendada para el tamizaje de cáncer de colon. La disponibilidad de herramientas de alta sensibilidad que permita un tamizaje masivo de población asintomática es indispensable. En base a estos antecedentes, hemos desarrollado un ELISA de tipo sándwich basado en el uso de *nanobodies* que permite la detección temprana de hemoglobina (Hgb) humana en materia fecal. Los nanobodies son anticuerpos recombinantes monodominio, derivados del dominio variable de los anticuerpos de cadena pesada de camélido, que se destacan por su pequeño tamaño (15 kDa vs 150 kDa), gran estabilidad y facilidad de expresión en sistemas procariotas. Estas características los convierte en una prometedora alternativa a los anticuerpos monoclonales convencionales (IgG) para diseñar numerosas aplicaciones biotecnológicas. El par de nanobodies utilizado en este ensayo, se aisló a partir de una biblioteca de expresión en fagos filamentosos (phage display) utilizando un sistema de biotinilación in vivo acoplado a un método de *high throughput* lo cual permite evaluar cientos de combinaciones para seleccionar los mejores pares para la detección de antígenos. Con estas herramientas se desarrolló un ensayo de bajo costo, carente de reactividad con hemoglobinas dietarias, altamente estandarizable, con excelente sensibilidad y recuperación analítica en muestras adicionadas con cantidades conocidas de hemoglobina.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

NanoAlphaLisa: Un inmunoensayo homogéneo para la detección de atrazina aplicando Nanopeptámeros sintéticos a la tecnología AlphaLisa (#0348)

Gabriel Lassabe Harguindeguy [1]; Andrés González Techera [1]; Gualberto González Sapienza [1]

1 - Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

La atrazina es uno de los pesticidas más utilizados en todo el mundo y su monitoreo en el agua tiene implicancias relevantes para la salud humana. Nuestro grupo ha desarrollado inmunoensayos no competitivos usando péptidos que reconocen un inmunocomplejo formado por atrazina-anticuerpo monoclonal. Inicialmente los péptidos aplicados se encontraban representados en la superficie de partículas de fagos, pero debido a su carácter de reactivo biológico infectivo, recientemente, desarrollamos inmunoensayos no competitivos con péptidos libres de fagos. El nuevo reactivo lo denominamos Nanopeptámero y consistió en aplicar a los péptidos anti-inmunocomplejos de forma sintética, biotinilados y formando una estructura tetrámerica con estreptavidina. La tecnología "AlphaLisa" es una alternativa de ensayo homogéneo que puede ser aplicado a cualquier inmunoensayo en desarrollo como un formato rápido y automatizable. Se basa en un sistema comercial de dos beads, una aceptora y otra dadora, que generan una señal quimioluminiscente al encontrarse próximas y efectuar la transferencias de energía entre ellas. Durante el desarrollo del AlphaLisa, las beads conjugadas a los reactivos implicados en un inmunoensayo se aproximan al ocurrir el reconocimieno del analito permitiendo la transferencia de energía y consecuente generación de señal, la cual será proporcional a la cantidad de analito en muestra. En este trabajo, empleando la tecnología AlphaLisa desarrollamos un inmunoensayo homogéneo y no competitivo, para la detección de atrazina empleando un anticuerpo monoclonal antiatrazina y los Nanopeptámeros. El ensayo, que denominamos NanoAlphaLisa, permitió la detección homogénea de 0,3 ng/mL de atrazina en muestras de agua luego de sólo una hora de incubación. Dado que los límites aceptados de atrazina en agua potable son de 2 ng/mL, este ensayo puede ser una herramienta válida para el monitoreo de atrazina en aguas, aprovechando las ventajas de la automatización y el análisis de alto rendimiento que proporciona la tecnología AlphaLisa.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Transglutaminasa tisular leucocitaria: expresión de variantes de splicing en la Enfermedad Celíaca. (#0141)

Paula Arbildi [1]; Cecilia Sóñora [2]; Ana Hernández [1]

1 - Cátedra de Inmunología - Facultad de Química/Ciencias - UdelaR. 2 - Cátedra de Inmunología - Facultad de Química/Ciencias - UdelaR, EUTM - Facultad de Medicina - UdelaR,.

Resumen:

La transglutaminasa tisular (TG2) es una proteína multifuncional que participa en diferentes procesos celulares. Además está implicada en la patogenia de la enfermedad celíaca (EC) y otras patologías con componente inflamatorio. La TG2 tiene dos actividades principales: aciltransferasa (TGasa) y unión/degradación de GTP (GTPasa) que están mutuamente reguladas. Se ha reportado la expresión de variantes de splicing alternativo (v2, v3, v4a y v4b) que son versiones truncadas de la TG2 canónica (v1) en su región C-terminal y contribuyen a la diversidad funcional de esta enzima. Se analizó por qPCR la expresión de las variantes de TG2 en leucocitos humanos obtenidos de sangre periférica de individuos sanos y de pacientes celíacos. Los resultados muestran que se expresan todas las variantes con predominio de TG2v1 y TG2v2; este perfil también se observa en las fracciones de neutrófilos y linfocitos de ambos grupos. Al comparar la expresión de las variantes entre estos grupos de estudio, se observaron niveles significativamente superiores de TG2v1 en los pacientes e interesantemente también de TG2v3 ($p=0.005$ y $p=0.009$ respectivamente). Estas diferencias son independientes de la condición clínica de los pacientes (enfermedad activa versus remisión por dieta libre de gluten). En cambio, la mayor expresión de IL1 e IL6 en los leucocitos de pacientes en relación a los controles, parece reflejar el estado inflamatorio asociado a la EC. Los resultados sugieren que la regulación de la TG2 mediante el aumento relativo de la expresión de TG2v3 (que carece del dominio de unión a GTP y cuya actividad TGasa estaría desregulada) podría contribuir a la patogenia de la EC. Nuestro trabajo en marcha está orientado a descifrar los cambios inducidos en la función celular como consecuencia de la expresión diferencial de las variantes de TG2 en tejidos extraintestinales frecuentemente afectados por la EC.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis de los efectos de proteínas tipo Kunitz de *Echinococcus granulosus*, inhibidoras de canales catiónicos, sobre la activación de células dendríticas. (#0160)

Camila Sagasti [1]; Martín Fló [2]; Cecilia Fernández [1]; Cecilia Casaravilla [3]; Álvaro Díaz [1]

1 - Cátedra de Inmunología, Departamento de Biociencias de la Facultad de Química, UdelaR. 2 - Institut Pasteur de Montevideo, Laboratorio de Inmunovirología. 3 - Cátedra de Inmunología, Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

La larva del parásito *Echinococcus granulosus* induce respuestas reguladoras. Nuestro grupo describió en este parásito una familia de proteínas Kunitz (*Eg*KU) potencialmente secretadas, candidatas a contribuir a dicha regulación. *Eg*KU1 y *Eg*KU4, bloquean canales de potasio activados por voltaje (K_v), y con mayor afinidad, canales de sodio activados por pH ácido (ASICs). *Eg*KU3, es un inhibidor de alta afinidad de quimotripsina, que bloquea solo marginalmente ASICs, y en este trabajo incluimos como control. Los K_v regulan la activación convencional de células dendríticas y macrófagos en respuesta a agonistas de TLR, y el eflujo de potasio, a través de canales no identificados, es necesario para la activación del inflamasoma NLRP3. Por otra parte se ha demostrado recientemente que la acidosis extracelular, que en condiciones fisiopatológicas se genera en áreas inflamadas, activa células dendríticas. Se propone que en esta activación participan los ASICs. Nuestro proyecto abarca el estudio de los efectos mediados por la actividad bloqueante de canales de *Eg*KU1 y *Eg*KU4 sobre la activación convencional, activación del inflamasoma NLRP3 y activación producida por acidosis extracelular en células dendríticas de ratón derivadas de médula ósea en presencia de GMCSF. En cuanto a activación convencional con un agonista de TLR (LPS) no se observaron efectos significativos. Para la activación del inflamasoma NLRP3 se observó inhibición marginal, poco reproducible, y presente en las tres proteínas Kunitz, lo que sugiere que los efectos no se deben al bloqueo de canales. En cuanto a la activación por acidosis, hasta el momento se reprodujeron los resultados publicados que informaban que al exponer a las células a una disminución en el pH extracelular, se genera un aumento en la expresión de MHCII, y en menor grado de otras moléculas de superficie. Actualmente estamos evaluando posibles efectos inhibitorios de *Eg*KU1 y *Eg*KU4 sobre esta la activación por acidosis.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Impacto de la enfermedad celíaca materna sobre la composición inmunológica de la leche (#0203)

Emilia Villamil [1]; Arturo Puyol [2]; Claudio Rodríguez-Camejo [1]; Laura Fazio [2]; Lilián Carroscia [2]; Ana Hernández [1]

1 - Cátedra de Inmunología - Facultad de Ciencias, Facultad de Química - UdelaR. 2 - Banco de Leche Humana - Centro Hospitalario Pereira Rossell.

Resumen:
El microambiente de la exposición antigénica en el intestino neonatal incide sobre el desarrollo de respuestas inmunes adecuadas durante la edad adulta y condiciona el desarrollo de patologías con componente inmunológico. La leche materna contribuye con la generación del microambiente adecuado para el establecimiento de la tolerancia oral aportando moléculas inmunomoduladoras y anticuerpos específicos contra proteínas dietarias, entre otros factores. Estas propiedades podrían estar alteradas en la Enfermedad Celíaca, patología inflamatoria caracterizada por la ruptura de la tolerancia a proteínas del gluten (gliadinas); los efectos protectivos de la lactancia para su desarrollo en hijos de madres celíacas es aún controversial. En este contexto estudiamos la composición de leche madura de madres celíacas en dieta libre de gluten y de mujeres sanas con dieta no restrictiva; analizando 27 y 42 muestras extraídas en el primer año. El análisis longitudinal mostró perfiles similares en relación a la disminución de proteínas y aumento de IgG con el tiempo de lactancia; los niveles de IgA e IgM se mantuvieron constantes así como los macronutrientes (grasas y lactosa). Los aportes de IgA (0,27 vs 0,4 mg/ml) e IgM (1,2 vs 5,1 μg/ml) fueron inferiores en las leches de madres celíacas ($p=0,0056$ y 0,010 respectivamente), y en ambos casos las diferencias fueron más evidentes en la lactancia tardía (>6 meses); en contraste, los niveles de IgG fueron comparables. Al analizar la fracción de anticuerpos específicos contra gliadina, la leche de madres celíacas mostró niveles superiores de IgA (115,4 vs. 39,3 UA/ml; $p=0,0009$) y menores de IgG específicos (0,0875 vs. 0,21 UA/ml; $p=0,0004$). Las diferencias observadas en el aporte de componentes inmunológicos potencialmente implicados en el desarrollo de tolerancia oral podrían ser significativos en la programación inmunológica del neonato y son la base de futuros estudios.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Conservación de las propiedades inmunológicas de leche humana donada: métodos innovadores de pasteurización (#0209)

Claudio Rodríguez-Camejo [1]; Agustina Irazusta [2]; Santiago Jorcin [2]; Arturo Puyol [3]; Laura Fazio [3]; Lilian Carroscia [3]; Tomás López-Pedemonte [2]; Ana Hernández [1]

1 - Cátedra de Inmunología, Facultad de Química / Facultad de Ciencias, UdelaR. 2 - Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química,UdelaR. 3 - Banco de Leche Humana, Centro Hospitalario Pereira Rossell, ASSE.

Resumen:

En los Bancos de Leche Humana (BLH), la leche donada es sometida a la pasteurización de Holder (62.5°C/30minutos) para eliminar gérmenes patógenos. Sin embargo, este procedimiento tiene efectos adversos sobre los componentes inmunológicos. Con el fin de optimizar la calidad de la leche, nos propusimos evaluar los efectos de dos métodos innovadores de pasteurización (Altas Presiones Hidrostáticas, APH; Ultra-Altas Presiones Hidrostáticas, UAPH), sobre los anticuerpos como principales componentes inmunológicos. Se procesaron en forma aséptica las muestras correspondientes a pooles de leche extraída por 5 donantes entre los días 13 y 90 post-parto. Cada muestra fue pasteurizada por los tres métodos y al igual que la leche cruda, fueron conservadas a -80ºC hasta el análisis inmunoquímico. Se analizaron varias condiciones de temperatura y presión para cada método: 10-30ºC a 250-600MP para APH y 20°C a 200-300MPa para UAPH para establecer las condiciones óptimas. Los principales resultados obtenidos hasta el momento sugieren que los métodos de APH y UAPH presentan una mayor retención de anticuerpos respecto al método tradicional. Mediante la pasteurización de Holder, la IgA remanente fue del 64%, mientras que con los métodos alternativos se incremento a 99% en las condiciones óptimas (APH:20ºC/350MPa; UAPH:20°C/200MPa). En relación a IgM, con Holder se detectó un nivel de retención del 21%, mientras que con APH sorprendentemente se alcanzó una retención total (100%) en algunas muestras (20°C/350MPa), y del 85% con UAPH (20°C/200MPa). Los procesos fueron validados con los controles microbiológicos que se realizan rutinariamente en los BLH. Los resultados observados permiten visualizar a ambos métodos, tanto APH como UAPH, como una alternativa posible para optimizar la calidad inmunológica de la leche procesada en BLH para su administración a niños prematuros.

Nanobodies contra haptenos: una forma de reconocimiento inusual. (#0362)

Sofía Tabares- da Rosa [1]; David Wilson [2]; Gualberto González-Sapienza [1]

1 - Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, UDELAR, Montevideo, Uruguay.. 2 - Department of Molecular & Cellular Biology, University of California, Davis, CA, USA..

Resumen:

Los anticuerpos de cadenas pesadas (HCAbs), presentes en Camélidos, presentan un sitio de unión a antígeno que consiste en sólo 16 KDa y es denominado nanobody. Como resultado de las características sobresalientes que presentan dichos anticuerpos, como por ejemplo altos rendimientos de expresión soluble en *E. Coli,* termoestabilidad y alta estabilidad fisicoquímica, han sido ampliamente utilizados como herramientas biotecnológicas. Debido a la importancia en generar herramientas de monitoreo para pequeñas moléculas tales como drogas, toxinas, pesticidas, a las que globalmente denominamos haptenos, la generación de nanobodies en esta línea es de gran interés. Actualmente, se han reportado varios ejemplos de nanobodies contra haptenos, si bien no siempre son interacciones de muy alta afinidad, hay ejemplos en donde reconocen a su analito con afinidades de orden nanomolar. Inicialmente se dudaba que el sitio de unión formado únicamente por 3 CDRs presente en los HCAbs fuera capaz de generar una hendidura hidrofóbica para acomodar al hapteno como sí sucede en los anticuerpos convencionales, donde el sitio de unión lo conforman 6 CDRs provenientes de las cadenas livianas y pesadas. Sin embargo, los nanobodies demostraron ser capaces de adoptar diferentes conformaciones con el fin de interactuar con pequeñas moléculas. En este trabajo, se resolvió la estructura cristalográfica de 2 nanobodies libres y en complejo con su antígeno, el antimicrobiano TCC. La forma de reconocimiento de dichos complejos mostró una interacción muy peculiar, descripta previamente como "Tunnel-like binding", donde el sitio de unión a antígeno es un túnel formado principalmente por el CDR1 y una región en el FR3, denominada CDR4. Los residuos que presentan mayor participación en el reconocimiento del TCC visualizados en la estructura, resultaron ser fundamentales para la interacción nanobody-hapteno ya que la generación de mutantes en dichos residuos disminuyó drásticamente la afinidad de los anticuerpos por su antígeno.

Viernes

Sala S1 - SUM

10:30 - 12:00 **SUM**

Simposio SUM: Conferencia Inaugural SUM Palabras a cargo de la directiva.

Genomic features of toxin producing cyanobacteria, the case of *Cylindrospermopsis raciborskii* (#0103)

Mónica Vásquez [1]

1 - Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile..

Resumen:
Cyanobacterial bloom-forming species are a persistent global problem where Cylindrospermopsis raciborskii, has been described as invader species that cause serious problems because of the wide variety of toxic compounds that it produces. Toxic metabolites can be associated with dermal rash, neural disturbance, hepatic and digestive disorder among others. This species has been characterized as a producer of saxitoxin (STX), cylindrospermopsin (CYL), and recently hassallidin (HAS). In order to understand the mechanisms responsible for the synthesis of these toxins and metabolites, representative strains of this species have been characterized both genetically and chromatographically. To provide further data to better understand the genomics and physiology of C. raciborskii, including its high capacity for dispersal, we performed a genome sequence analysis of Australian strain CS-508 and Uruguayan strain MVCC14, including gene annotation using the Clusters of Orthologous Group (COG) database. We conducted a comparative genome analysis on five Australian C. raciborskii strains (CS-505, CS-506, CS-508, CS-509) and the Uruguayan strain MVCC14, in addition to R. brookii D9 (from Brazil) to identify common genes. Interesting features and its implications were deeply and carefully analyzed.

14:30 - 16:15

SUM

Simposio SUM_1 Microbiología ambiental: Eutrofización: causas, indicadores y modelos microbianos

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Aproximaciones funcionales a la ecología de los microrganismos: un viaje con Gulliver (#0124)

Carla Kruk [1]; Claudia Piccini [2]; Angel Segura [1]

1 - Centro Universitario Regional Este Sede Rocha, UdelaR. 2 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:

La ecología funcional estudia los procesos que determinan la estructura y dinámica de lascomunidades biológicas y se aplica a la predicción de los efectos de los cambios ambientales en lascomunidades y ecosistemas. En esta presentación hablaremos de algunas generalidades de lasaproximacion funcionales y de su aplicación a los microrganismos de los ecosistemas acuáticosutilizando al fitoplancton como modelo. Discutiremos las ventajas y desventajas de la ecologíabasada en rasgos y su aplicación a distintos niveles de organización desde los genes e individuoshasta las comunidades y ecosistemas. Tomaremos como ejemplo al fitoplancton y en particular a lascianobacterias formadoras de floraciones nocivas en ambientes duleacuícolas y marinos. Estaaproximación avanza en la comprensión de la relación entre los rasgos y las funciones de losorganismos en el ambiente y su asociación con los mecanismos moduladores y resumen lainformación de muchas "especies", variables ambientales e interacciones biológicas. Estascaracterísticas la convierten en una herramienta útil en programas de monitoreo y gestión de lacalidad de agua.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Modelización matemática para la predicción de floraciones tóxicas (#0120)

Angel Segura [1]; Claudia Piccini [2]; Carla Kruk [1]

1 - Centro Universitario Regional Este Sede Rocha UdelaR. 2 - Instituto de Investigas Biologicas Clemente Estable.

Resumen:

Los modelos matemáticos representan construcciones simplificadas de la realidad que nos permitenacercarnos a comprender la complejidad de la vida. La variabilidad natural ha fascinado a los sereshumanos desde tiempos remotos, y poder comprender sus causas ha sido central a la ecología. Lasfloraciones de organismos microscópicos acuáticos, definidas como el crecimiento abrupto de uno omás grupos de especies, son comunes. En algunos casos, denominados floraciones tóxicas, crecende forma abrupta especies que tienen un efecto nocivo en el ambiente (e.g. disminuye la diversidad)y/o para el ser humano (e.g. toxinas en agua potable). Entender las condiciones y mecanismos quefavorecen las floraciones de especies tóxicas y predecirlas es crucial. Comprender los mecanismospermite diseñar medidas de manejo adecuadas para evitarlas y predecirlas permite tomar medidaspara evitar los potenciales daños. En esta presentación se mostrarán los resultados de diversosmodelos matemáticos aplicados a la comprensión y predicción de floraciones tóxicas desarrolladospor nuestro equipo de trabajo. Se presentará de una forma amigable diversas técnicas de aprendizajeautomático y modelos de simulación y se discutirá su alcance y las principales conclusiones. Lamodelización matemática permite formalizar relaciones conceptuales, generar resultados objetivos eincrementar nuestro poder predictivo en sistemas sumamente complejos. Esta aproximación puedeser utilizada en una variedad de situaciones y extrapolada a otros sistemas y organismos en el áreamicrobiológica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Eutrofización, bacterias y emisiones de carbono (#0385)

Cecilia Alonso [1]

1 - CURE, UDELAR.

Resumen:
El intercambio gaseoso entre los sistemas acuáticos y la atmósfera es uno de los determinantes de la concentración atmosférica de gases de efecto invernadero, como CO_2 y CH_4. En particular, el océano absorbe un tercio del CO_2 antropogénico, mitigando así el calentamiento global. Recientemente ha sido propuesto un mecanismo mediante el cual el océano actúa como sumidero de carbono, basado en el metabolismo microbiano. Dicho mecanismo, denominado Microbial Carbon Pump (MCP) se basa en la producción microbiana de materia orgánica recalcitrante (RDOC) a partir de materia orgánica lábil. RDOC permanece secuestrado en los océanos, formando un reservorio de carbono de tamaño equivalente al reservorio atmosférico. Este proceso en los ecosistemas marinos está influenciado por los aportes terrestres, tanto en materia orgánica como en nutrientes. La alta disponibilidad de nutrientes (en particular N y P) que caracteriza al proceso de eutrofización, redunda en una disminución de los cocientes C/N y C/P, haciendo disponible el carbono para respiración microbiana. De esta manera, los sistemas costeros que están fuertemente influenciados por actividades antropogénicas suelen comportarse como fuente de carbono hacia la atmósfera. En esta ponencia se presentarán los conceptos básicos que permiten comprender este mecanismo de secuestro de carbono y la influencia de la eutrofización en el mismo, abordando ejemplos de su funcionamiento en diferentes sistemas, incluyendo estudios realizados a nivel nacional.

Una aproximación a la microbiota intestinal de las abejas melíferas (#0131)

Loreley Castelli [1]; Belén Branchiccela [1]; Héctor Romero [2]; Ciro Invernizzi [2]; Estela Santos [2]; Pablo Zunino [1]; Karina Antúnez [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Facultad de Ciencias.

Resumen:
Las abejas melíferas son los principales insectos encargados de la polinización, contribuyendo a la producción agrícola así como al mantenimiento de ecosistemas naturales. Durante los últimos años se han reportado episodios de pérdidas de colmenas alrededor del mundo, vinculadas a la intoxicación con agroquímicos, desnutrición (monocultivos) y presencia de patógenos. Las abejas han desarrollado mecanismos de defensa tanto colectivos, como individuales, incluyendo una microbiota intestinal. El objetivo de este trabajo consistió en profundizar en el conocimiento de esta comunidad: analizar su variación durante el desarrollo, su ciclo anual así como el impacto de la alimentación. En una primera instancia se escogieron cinco colmenas experimentales (INIA La Estanzuela) y se colectaron muestras de diferentes estadíos. También se colectaron abejas nodrizas una vez al mes durante un año. La composición de la microbiota se analizó mediante secuenciación masiva de la región V4 del gen de ARNr 16S (Illumina). Los estadios tempranos de desarrollo (huevos, larvas y pupas) presentaron una microbiota intestinal variable, que se estableció en las abejas adultas. El core de esta comunidad, conservado alrededor del mundo, estuvo formado por especies de Gilliamella, Snodgrassella, Lactobacillus y Bifidobacterium. Este grupo se mantuvo todo el año, aunque las abundancias relativas variaron de acuerdo a la estación, posiblemente debido a cambios en las fuentes de polen. En una segunda instancia se empleó un modelo de cría de abejas en laboratorio y se evaluó el impacto de la alimentación (polen polifloral versus polen monofloral de eucaliptus) en la comunidad. Se encontró que el polen polifloral favoreció el desarrollo de Lactobacillus, bacterias potencialmente benéficas. Este trabajo constituye una primera aproximación al conocimiento de la microbiota intestinal de las abejas. Futuros estudios serán realizados con el fin de evaluar el impacto de los agroquímicos en esta comunidad, y sus repercusiones en la salud de las abejas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio comparativo de la virulencia de cepas de *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* aisladas de cultivos de tomate en Uruguay. (#0130)

Carolina Ramponi [1]; Valentina Croce [1]; María Inés Siri [1]; María Julia Pianzzola [1]

1 - Facultad de Química-UdelaR.

Resumen:

Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Cmm) es el microorganismo responsable del cancro bacteriano del tomate. En Uruguay, esta enfermedad es considerada de gran importancia económica ya que ha causado diversas epidemias a lo largo de los años. La principal fuente de inóculo son las semillas infectadas y son las responsables de los brotes de infección. En Uruguay, las mismas son importadas de diversos orígenes y no sufren ningún tipo de control fitosanitario. Un estudio previo basado en el análisis filogenético de cinco genes (MLSA-MLST) permitió agrupar las cepas presentes en Uruguay en 12 variantes o tipos de secuencia (STs). Sin embargo, no se sabe si esta diferenciación genotípica tiene una correlación con aspectos relacionados a la virulencia de Cmm. Este trabajo tiene como objetivo principal realizar un análisis comparativo sobre mecanismos de virulencia y capacidad de infección de estas cepas en plantas de tomate. Para ello, se optimizó un método para la cuantificación absoluta de Cmm in planta mediante PCR cuantitativa (qPCR). Se evaluaron diferentes métodos de extracción de ADN y se obtuvo una curva de calibración con muy buena eficiencia (1.05) y un rango lineal de cuantificación entre 4,3 x 10^2 y 4,3 x10^6 equivalentes genómicos. Este método actualmente se está utilizando para evaluar si existen diferencias en los niveles de colonización en plantas de tomate inoculadas con cepas de Cmm representativas de los 12 STs identificados. Por otra parte, se propuso estudiar la capacidad de formación de biofilm como factor de virulencia de las diferentes cepas de Cmm. Para ello, se evaluaron diferentes medios de cultivo y condiciones de incubación en ensayos en placa de microtitulación, pero hasta el momento, no se ha verificado la capacidad de producción de biofilm en ninguna de las cepas analizadas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación *in vitro* del efecto fungicida de distintos productos sobre *Botrytis cinerea*. (#0167)

Ivanna Karina Marini Enrique [1]; *Susana Maria Tiscornia Córdoba* [1]; *Raquel Marcela Alonso Ariztia* [1]

1 - Laboratorio de Micologia / Facultad de Ciencias.

Resumen:

Botrytis cinerea es el principal agente causal de la enfermedad del moho gris de numerosos cultivos . En Uruguay es el principal causante de las podredumbres de racimos en las uvas, lo que causa grandes pérdidas económicas , de rendimiento y calidad en vinos . El uso de productos fungicidas es la estrategia más utilizada para poder controlar la colonización de este hongo en los viñedos. A través de los años se han desarrollado fungicidas específicos para *Botrytis cinerea* (Botrycidas). En este trabajo se evaluó la resistencia de 13 cepas de *Botrytis cinerea* aisladas de uvas tannat frente a 7 productos comerciales y se determino además el efecto fungicida o fungistático de los mismos. Para ello se tomaron muestra de uvas de parcelas de un viñedo sometidas a distintas técnicas de manejo para el control de Botrytis . Se realizo la suspensión de conidios correspondientes a *B.cinerea* y se sembró en superficie en cajas con medio PDA (Papa Dextrosa Agar) . Luego se colocaron en cada caja de Petri, 3 discos de papel de filtro conteniendo 10 μL de fungicidas. La incubación se realizo por 5 días a una temperatura de 24 +/- 1°C. Al quinto día se evaluó la presencia de halos de inhibición. Se observo bajo el microscopio la presencia de conidios germinados en dichos halos .Se transfirieron conidios de la zona de inhibición a cajas conteniendo medio PDA para evaluar viabilidad de los mismos y determinar el efecto fungicida o fungistático. Las 13 cepas de Botrytis se comportaron de manera similar frente a los distintos fungicidas evaluados. Se observaron diferencias entre el efecto de los diferentes productos, encontrándose actividad fungicida en 6 de ellos, de los cuales dos, mostraron un importante efecto inhibitorio sobre Botrytis.

16:45 - 18:30

SUM

Simposio SUM_2: Biotecnología: Microorganismos en la producción de energías renovables.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Celdas de combustible microbianas: una nueva forma de obtener energía (#0318)

Angela Cabezas [1]; Jorge Wenzel [1]; Mariana Buadas [2]; Javier Menes [3]; Claudia Etchebehere [1]

1 - Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana, Área Ciencias Microbiológicas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC.. 2 - Cátedra de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República.. 3 - Cátedra de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química y Unidad Asociada de Facultad de Ciencias, Universidad de la República,.

Resumen:

Las celdas de combustible microbianas (MFC) son dispositivos donde la energía química presente en un sustrato se convierte directamente en energía eléctrica por la actividad de microorganismos. Las MFC constan de un ánodo (anaerobio) y un cátodo (aerobio) conectados a través de un circuito. En el ánodo se desarrolla un biofilm microbiano capaz de oxidar un sustrato y transferir los electrones obtenidos al ánodo, los cuales viajan a través del circuito al cátodo generando una corriente eléctrica. En nuestro laboratorio comenzamos a estudiar estos sistemas en 2011. Al día de hoy hemos operado celdas de dos tipos. 1) celdas diseñadas para valorizar un residuo (suero de queso) y 2) celdas de sedimento para determinar posibles puntos de aplicación en el país y detectar nuevos grupos electroactivos. Logramos determinar que el suero de queso no es un buen sustrato para obtener energía directamente en una MFC. Sin embargo, la combinación de la producción de bio-hidrógeno a partir de suero de queso y la producción de energía eléctrica a partir del efluente del bio-reactor (rico en ácidos grasos de cadena corta) es una buena estrategia para valorar dicho residuo. Utilizando tres tipos de sedimento, de un humedal artificial de un sistema de tratamiento de efluentes, de la laguna de Rocha y del cultivo de arroz, logramos producir energía eléctrica en MFCs. Detectamos por métodos moleculares el enriquecimiento de un grupo no cultivado clasificado dentro del filo Nitrospirae, no descripto como electroactivo. Logramos aislar varias bacterias potencialmente electroactivas pertenecientes a los géneros *Clostridium, Bacillus, Lysinibacillus, Pseudomonas, Shewanella, Rhizobium* and *Raiyenella*. Muchos de ellos no están descriptos como electroactivos. Actualmente estamos probando su electroactividad con cronoamperometría. Las aplicaciones de los sistemas bioelectroquímicos son diversas además de la generación de energía eléctrica, por lo que su estudio resulta interesante desde varios aspectos biotecnológicos.

Dificultades y alternativas para la producción de bioetanol de segunda generación (#0387)

Francisco Noya [1]

1 - IIBCEq.

Resumen:
La producción de bioetanol así como de otros bioproductos a partir de biomasa vegetal enfrenta distintas limitantes. En primer lugar, la provisión de forma confiable y sostenida en el tiempo de cantidades suficientes de biomasa a precios reducidos ha demostrado ser un desafío mayor al esperado originalmente. En segundo lugar, la utilización de formulaciones enzimáticas comerciales en el paso de sacarificación no sólo tiene un impacto importante en el precio del producto final sino también aumenta la huella de carbono del proceso contrarrestando uno de los argumentos principales para producir biocombustibles de segunda generación. En tercer lugar, los organismos fermentadores tradicionales no alcanzan los rendimientos ni las productividades necesarias para hacer viable el proceso. Nuestra línea de trabajo se enfoca en cada uno de estos aspectos buscando alternativas adaptadas a nuestro país. Por ejemplo, hemos estudiado el potencial de producción de bioetanol en cultivos energéticos adaptados a nuestro clima y a nuestros suelos. También hemos aplicado la metagenómica funcional para identificar nuevas enzimas lignocelulolíticas que puedan ser utilizadas como sustitutos o complementos de las enzimas comerciales. Por último, hemos mejorado a cepas especializadas en la producción de bioetanol para dotarlas de capacidades glicolíticas y así lograr mejores rendimientos en el proceso.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Producción de biodiesel a partir de levaduras oleaginosas (#0213)

Adalgisa Martínez [1]; Gabriela Garmendia [1]; Caterina Rufo [2]; Silvana Vero [1]

1 - Área Microbiología. Departamento de Biociencias. Facultad de Química. Universidad de la República.
2 - Polo Tecnológico de Pando. Facultad de Química. Universidad de la República.

Resumen:
El biodiesel es considerado como una prometedora alternativa a los combustibles fósiles. Sin embargo, los altos costos de obtención de las materias primas vegetales utilizadas y la competencia con el sector alimentario, ha marcado la necesidad de buscar fuentes alternativas de ácidos grasos. En ese contexto, las levaduras oleaginosas se consideran actualmente como una potencial materia prima alternativa. Estas son capaces de acumular en su citoplasma triglicéridos en niveles superiores al 20% de su biomasa, pudiéndose superar el 60%. A su vez la composición de ácidos grasos de los lípidos acumulados es similar a la de los cultivos vegetales oleaginosos. En la búsqueda de ese tipo de microorganismos para ser utilizados como materia prima de un biodiesel utilizable en climas fríos se aislaron, identificaron y caracterizaron levaduras antárticas como fuente alternativa de ácidos grasos. Se recolectaron 80 muestras de suelo y agua de diversos lugares de la isla Rey Jorge, en las proximidades de la península antártica. Se aislaron 65 levaduras, las cuales fueron identificadas molecularmente a nivel de especie. Para los aislamientos obtenidos, se estudió la capacidad de acumular lípidos intracelulares en condiciones de escasez de nitrógeno. La existencia de levaduras oleaginosas en territorio antártico fue confirmada, describiéndose especies no caracterizadas previamente como oleaginosas. Para la obtención del biocombustible a partir de lípidos de estas levaduras, es necesario producir los ésteres metílicos a partir de los triglicéridos acumulados. La extracción de los lípidos y su posterior metilación en procesos separados representaría altos costos y tiempos prolongados por lo cual, en la exploración de un proceso más competitivo se realizaron estudios de transesterificación directa sobre la biomasa microbiana, lográndose optimizar las condiciones de reacción.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Control biológico de *Aspergillus flavus* en mini silos de sorgo (#0315)

Mariana Gonda [1]; Angela León Peláez [2]; Graciela De Antoni [2]; Caterina Rufo [3]; Silvana Vero [1]

1 - Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Udelar. 2 - Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 3 - Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, UdelaR.

Resumen:

Los silos pueden presentar el problema de contaminación fúngica, lo cual es un potencial riesgo para la salud animal ya que los hongos contaminantes pueden ser productores de micotoxinas. Uno de los contaminantes más frecuentes en silos de sorgo en Uruguay se identificó como *Aspergillus flavus*, especie conocida como productora de aflatoxinas.Para inhibir el crecimiento de hongos en los silos se utilizan diversas estrategias, una de las cuales es el uso de control biológico. En este contexto es interesante estudiar como controladores biológicos a los microorganismos presentes en gránulos de kefir, los cuales están formados por bacterias ácido lácticas y levaduras embebidas en una matriz de polisacáridos. El kefir de agua (KA) es una bebida producida por fermentación de soluciones azucaradas utilizando estos gránulos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la capacidad de microorganismos presentes en kefir de agua de controlar *Aspergillus flavus* en mini silos de sorgo. El sorgo para ensilar se trató con KA y KA libre de células (filtrado por membrana de 0.45 micras). A su vez, se realizó un control con agua. El sorgo tratado se secó a 60°C hasta obtener una humedad entre 23% y 40% y se inoculó con una suspensión de *A. flavus*. El ensilado se realizó en tubos de 15mL con un filtro esterilizante en la tapa para permitir la entrada de aire. Los mini silos se incubaron por 7 días a 25°C. El crecimiento de *A. flavus* se cuantificó por PCR en tiempo real. Los resultados mostraron que los microorganismos presentes en el KA fueron capaces de controlar el crecimiento de *A. flavus* en el mini silo, mientras que la solución libre de células no fue efectiva.

Flavonoides en la inoculación de soja: efectos sobre la nodulación y el crecimiento. (#0261)

María Agustina Pereira Anzolabehere [1]; Célica Cágide [1]; Cecilia Herrmann [2]; Rodrigo Lombide [2]; Susana Castro-Sowinski [3]; María Morel [1]

1 - Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). 2 - LAGE y Cía. S.A.. 3 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:
Los flavonoides son metabolitos secundarios vegetales particularmente importantes en las simbiosis leguminosa-rizobio, donde constituyen la primera señal molecular intercambiada entre planta y bacteria. La soja (*Glycine max*), se asocia con cepas de *Bradyrhizobium* en un proceso complejo en el que los flavonoides producidos por la planta inducen la expresión de genes específicos en los bradirizobios; generando la producción bacteriana de factores de nodulación y finalmente la formación de nódulos radiculares fijadores de Nitrógeno. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de pre-incubar a los bradirizobios con flavonoides sobre la nodulación de plantas de soja en condiciones controladas. Para ello se sembraron las semillas en medio semisólido e inocularon con *B. elkanii* 1301 y 1302 crecidos en presencia y ausencia de distintas concentraciones de flavonoides. Las plantas crecieron *in vitro* por 30 días. Durante este período se contaron diariamente los nódulos en raíces primarias y secundarias; y finalmente se cosecharon las plantas y se analizaron de forma estadística los datos de largo y peso seco de la parte aérea (PA). Los resultados indican que las plantas inoculadas con bradirizobios tratados con flavonoides presentaron un mayor número de nódulos por planta, tanto en raíces primarias como secundarias, aunque no se observó una nodulación más temprana en relación a plantas inoculadas con bradirizobios sin pretratamiento. Asimismo, a los 30 días de crecimiento no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento en peso seco de PA entre las plantas inoculadas con bradirizobios con y sin tratamiento previo. La mayor nodulación observada en este trabajo podría explicar el mayor rendimiento obtenido a los 60 días de crecimiento en condiciones de invernáculo (Ver trabajo de Riviezzi y col "Bradirizobios preincubados con flavonoides: una estrategia para mejorar del rendimiento en cultivos de soja"). Agradecimientos/financiación: PIEP (MIEM) y LAGE y Cía. S.A.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

PME-CD y fimbrias tipo IV de *Moraxella* bovis como posibles antígenos protectores contra la Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina (#0180)

Sofía Acquistapace [1]; Ana Umpierréz [1]; Ignacio Ferrés [2]; José Sotelo Silveira [2]; Pablo Zunino [1]

1 - Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avenida Italia 3318. Montevideo, Uruguay. 2 - Departamento de Genómica. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avenida Italia 3318. Montevideo, Uruguay.

Resumen:

La Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina (QIB) es una enfermedad ocular grave que afecta frecuentementeal ganado, y tiene un impacto económico significativo mundialmente. Varios agentes etiológicos están asociados a la QIB, como *Moraxella bovis y Moraxella bovoculi*. El problema sanitario originado por la QIB ha llevado a procurar desarrollar vacunas efectivas para prevenir la enfermedad. Las fimbrias son los factores de virulencia más estudiados de *Moraxella*. Existen dos tipos funcionalmente distintos de fimbrias en *M. bovis*, denominados I y Q como resultado de la inversión de un segmento de ADN por mecanismos de recombinación específica de sitio, lo que genera una gran heterogeneidad antigénica. Sin embargo, esto no se ha observado en *M. bovoculi,* ya que carece de mecanismos de cambio de fase. A su vez, en vista de la importancia que tienen las proteínas de membrana externa (PME) para la supervivencia bacteriana, se podría pensar en considerarlas como posibles componentes de vacunas. En particular PME-CD, ha exhibido potencial como inmunógeno en especies relacionadas como *Moraxella catharralis*. Los objetivos de este trabajo consistieron, en primer lugar, en analizar la base genética de la síntesis de fimbrias en base a PCR, secuenciación y posterior análisis bioinformático. También se evaluó la diversidad genética de PME-CD y la inmunogenicidad de PME-CD recombinante de *M. bovis* Hasta el momento, los resultados permitieron mostrar una alta diversidad intraespecífica entre las diferentes secuencias obtenidas de fimbrias donde se observa que algunas cepas están en la conformación de fimbria Q, otras en I y otras presentan ambas conformaciones. Esto pondría en debate el uso de estos antígenos en vacunas contra la QIB. Por otro lado, *e*nsayos de Western blot indican que sueros y lágrimas de terneros enfermos reconocen en forma específica la proteína. Ensayos en modelos experimentales permitirán evaluar el uso de PME-CD como antígenos protectores.

Sábado

09:00 - 10:45 **SUM**

Simposio SUM_3: Conferencia Spatiotemporal dynamics of dissemination of RNA viruses in Latin America. Simposio SUM_4: Virología y salud humana

Spatiotemporal dynamics of dissemination of RNA viruses in Latin America. (#0251)

Gonzalo Bello [1]

1 - FIOCruz. Rio de Janeiro. Brasil.

Resumen:
Several RNA viruses have been introduced from Africa and Asia into the Americas, which has resulted in deadly epidemics among human populations. Some viruses, like the Yellow Fever Virus (YFV), were probably introduced in the Americas from Africa around 300-400 years ago, coinciding with the slave trade. Other viruses, like the Dengue viruses (DENV) and the Human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1), were introduced at most recent times and mostly spread throughout the Americas since the 1970s onwards. Despite the great importance of those viral pathogens for human health, information about the patterns of viral spread in Latin America and the Caribbean region is scarce. Recent bioinformatics approaches help to uncover the spatiotemporal dynamics of dissemination of fast evolving viruses from information contained in the viral genomes. By combining these recent methodological advances with the large amount of viral sequences available in public databases, we provide new insights about the population dynamics and the geographical diffusion process of major HIV-1, DENV-1, DENV-2 and YFV lineages spreading in the Americas. Our studies reveal that current viral genetic diversity in the Americas mainly originated from a few founder viral strains that were introduced through the Caribbean region (HIV-1, DENV-1 and DENV-2) or South America (YFV) and subsequently disseminated by both sporadic migrations between neighboring countries and frequent transmissions between individuals from the same country.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Virus del Papiloma Humano en HSH, VIH positivos y VIH negativos en Uruguay (#0252)

Cecilia D´Albora [1]; Victoria Frantchez [2]; Ana Serpa [1]; Zaida Arteta [2]; Juan Arbiza [3]; Dora Ruchansky [1]

1 - Departamento de Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina. UdelaR.. 2 - Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. UdelaR.. 3 - Sección Virología. Facultad de Ciencias. UdelaR..

Resumen:

Los Virus del Papiloma Humano (VPH) pertenecen al género Papillomavirus de la familia Papillomaviridae. El VPH es la infección de transmisión sexual con mayor prevalencia a nivel mundial que implica más de 40 genotipos. Se clasifican en dos grupos de acuerdo a su capacidad oncogénica: de bajo riesgo oncogénico (BR), en el que los genotipos 6 y 11 se presentan más frecuentemente, implicados en verrugas genitales, y de alto riesgo oncogénico (AR) donde los genotipos 16 y 18 son los predominantes. Los genotipos AR se asocian a neoplasias intraepitelilales de alto grado precursoras de cáncer invasivo de tipo escamoso, más frecuentemente a nivel cervical y anal. En los últimos años la incidencia de cáncer anal invasor ha aumentado drásticamente a nivel mundial donde las personas con mayor riesgo son los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) VIH positivos. En este trabajo la población en estudio incluyó HSH no vacunados contra VPH, sin lesiones invasivas asociadas a VPH, tanto VIH positivos como VIH negativos. Para analizar la presencia de VPH se realizó extracción de ADN total de muestras clínicas de mucosa anal y posteriormente se procedió a la amplificación de un fragmento de la región L1 del genoma viral de 450pb. De 85 pacientes analizados, 49 resultaron positivos para VPH, de los cuales 42 son VIH positivos y 7 VIH negativos. De las muestras analizadas mediante RFLP, se detectó genotipo 6 en un 32%, genotipo 11 en un 32%, genotipo 16 en un 5% y más de dos genotipos en un 31%. Cada muestra fue analizada citológicamente mediante la técnica de Pap. Este trabajo aporta por primera vez en Uruguay datos epidemiológicos acerca de la prevalencia de VPH en el canal anal de HSH y los distintos genotipos circulantes, para de esta forma poder implementar estrategias de prevención en salud.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Torque Teno Virus Humano en Uruguay (TTV): Detección molecular y Caracterización genética. (#0301)

Florencia Cancela [1]; Natalia Ramos [1]; Juan Arbiza [1]

1 - Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República-Montevideo..

Resumen:
El Torque Teno Virus Humano (TTV), perteneciente a la familia *Anelloviridae* género *Alphatorquevirus*, es considerado un virus emergente distribuido mundialmente.A pesar de ser un virus ADN, TTV presenta una muy elevada variabilidad genética, siendo actualmente clasificado en siete genogrupos.Interesantemente, la patogenicidad de TTV no es conocida con exactitud. Sin embargo, TTV ha sido constantemente asociado a casos de Hepatitis de etiología desconocida (HUE), así como también ha sido extensivamente estudiado en relación a infecciones por Hepatitis B (HBV), Hepatitis C (HCV) y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV-1).En Sudamérica, la información es escasa, involucrando solamente algunos estudios en Brasil, Venezuela, Colombia y Bolivia.El objetivo de este trabajo consistió en analizar por primera vez en Uruguay la presencia de cepas de TTV por un sistema de Nested-PCR y su posterior caracterización molecular por Seminested-PCR en 85 muestras de suero sanguíneo infectados con HBV y/o HCV y/o HIV-1 y en casos de HUE. Notablemente, se detectó la presencia de cepas TTV por primera vez en Uruguay con una frecuencia de infección total del 79% (67/85). Asimismo, la caracterización molecular de las cepas reveló que una de ellas agrupó en el grupo 1, mientras que las restantes formaron clusters separados cercanamente relacionados al grupo 3, lo cual deberá ser confirmado por secuenciación de genoma completo. No obstante, se requiere más investigación acerca de la circulación de cepas de TTV en la población Uruguaya, de forma de proveer información adicional sobre la variabilidad genética y epidemiología de TTV en Sudamérica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Dengue en Uruguay luego de 100 años: ¿Un único brote? (#0337)

Alvaro Fajardo [1]; Martín Sóñora [1]; Daiana Mir [2]; Pilar Moreno [1]; Noel Zubillaga [3]; Susana Boschi [3]; Sergio Pantano [4]; Gonzalo Bello [2]; Gonzalo Moratorio [1]; Juan Cristina [1]

1 - Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares. 2 - Laboratorio de AIDS e Imunologia Molecular, FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 3 - Laboratorio de Técnicas Especializadas, Asociación Española. 4 - Laboratorio de Simulaciones Biomoleculares, Instituto Pasteur.

Resumen:

El virus dengue (DENV) es el agente causal de la principal arbovirosis a nivel mundial. En 2016, luego de 100 años de ausencia de reportes en el Uruguay, se volvieron a registrar casos autóctonos de esta enfermedad con 26 casos confirmados y numerosos sospechosos. Diversos estudios relacionan determinados grados de enfermedad con serotipos, genotipos o linajes particulares. Es por ello que nos planteamos investigar las características genéticas y antigénicas de las distintas variantes de DENV que emergieron en nuestro país. Los resultados obtenidos evidencian una llamativa heterogeneidad genética entre las diferentes cepas obtenidas de casos autóctonos, lo que revela la co-circulación espacio-temporal de al menos 5 sub-linajes del genotipo V de DENV-1 en Uruguay. Podemos confirmar entonces que la epidemia de dengue registrada en 2016 fue producto de diferentes brotes simultáneos causados por múltiples cepas de DENV-1 que se introdujeron y diseminaron independientemente. Estos resultados sugieren que nuestro país es más permeable de lo pensado al ingreso de cepas de DENV, así como a la generación de ciclos de transmisión locales que promuevan la ocurrencia de brotes epidémicos. Esto nos debe alertar sobre la posible emergencia de otros arbovirus circulantes en la región que son transmitidos por el mismo vector (*Aedes aegypti*), como los virus zika o chikungunya. Asimismo, la identificación de variantes importadas de distintos países del continente demuestra la naturalidad de los procesos de dispersión de DENV, que son fundamentales para la introducción de nuevas variantes y la generación de epidemias. En particular, se identificó un caso importado cuyo agente causal era DENV-4, lo que marca a las claras la probabilidad de emergencia de otros serotipos de DENV en el futuro. Estos estudios revelan la importancia de realizar una vigilancia molecular continua contra DENV, así como contra otros arbovirus potencialmente emergentes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis del perfil de resistencia a drogas antivirales directas de las regiones NS5A y NS5B del virus de la Hepatitis C en pacientes uruguayos (#0045)

Fabian Aldunate Caramori [1]; Natalia Echeverria [1]; Fabiana Gambaro [1]; Martin Soñora [1]; Alvaro Fajardo [1]; Nelia Hernandez [2]; Yessica Pontet [2]; Daniela Chiodi [2]; Pablo Lopez [3]; Adriana Sanchez [2]; Gonzalo Moratorio [1]; Juan Cristina [1]; Pilar Moreno [1]

1 - Lab. Virologia Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias. 2 - Clínica de Gastroenterología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República. 3 - Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina.

Resumen:

Introducción: La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) afecta a 150 millones de personas mundialmente. VHC pertenece a la familia *Flaviviridae* y se caracteriza por poseer un genoma de ARN y una polimerasa que carece de actividad correctora de errores, lo que le confiere una alta variabilidad genética. Recientemente el desarrollo de nuevas drogas antivirales de acción directa (DAA) contra proteínas virales ha revolucionado el tratamiento de la infección por VHC. Sin embargo, su uso ha derivado en la emergencia de variantes genéticas resistentes al tratamiento (RAVs). **Objetivo:** Determinar la existencia de RAVs en las regiones que codifican las proteínas virales NS5A y NS5B en pacientes uruguayos infectados por VHC sin tratamiento previo con DAAs. **Métodos:** Se estudiaron las regiones virales NS5A y NS5B provenientes de 30 pacientes uruguayos infectados con VHC genotipo 1, que no habían sido previamente tratados con este tipo de drogas. Utilizando las secuencias derivadas de estas regiones se realizaron árboles filogenéticos con el fin de genotipificar cada muestra. Las secuencias fueron comparadas con secuencias consenso de G1a y 1b y fueron analizadas en búsqueda de RAVs. Otras sustituciones encontradas fueron mapeadas en los dominios proteicos y estructuras de NS5A y NS5B, respectivamente. **Resultados**: De los 30 pacientes, 19 se encuentran infectados con VHC subtipo 1a y 11 con subtipo 1b. Fueron identificadas RAVs en 9 de ellos: tres presentaron RAVs únicamente en NS5A, 5 únicamente en NS5B y solamente uno en ambas regiones. Se identificaron además otras variantes que si bien a priori no confieren resistencia a las DAAs, por su localización podrían tener efecto sobre el *fitness* viral. **Conclusión:** Se encontraron RAVs en NS5A y NS5B en pacientes naïve al tratamiento, lo que resulta de gran importancia a la hora de identificar individuos con menor probabilidad de responder a la terapia.

11:00 - 12:30 **SUM**

Simposio SUM_5: Mesa Virología - Ambiental. Virología ambiental y vegetal. Simposio SUM_6: Mesa "Virus de interés veterinario"

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis de las fuentes de contaminación fecal utilizando indicadores virales en la cuenca del río Santa Lucía y del río Uruguay. (#0181)

Viviana Bortagaray Galluzo [1]; Andres Lizasoain [1]; Rodney Colina [1]; Fernando Lòpez [1]; Matias Victoria [1]; Claudia Piccini [2]; Luciana Gillman [3]; Mabel Berois [3]

1 - CENUR, Litoral Norte. 2 - IIBCE. 3 - Facultad de Ciencias.

Resumen:

La contaminación fecal de cuencas hidrográficas puede originar consecuencias graves para el medio ambiente y la salud pública. Es fundamental que estas fuentes de contaminación fecal sean rápida y precisamente identificadas para desarrollar estrategias de remediación. Este trabajo tiene como objetivo determinar de manera precisa el origen, ya sea humano, bovino o porcino, de las diferentes fuentes de contaminación fecal en aguas de las cuencas del Río Santa Lucía y del Río Uruguay, mediante el uso marcadores moleculares virales especie-específicos. Se realizó un muestreo mensual durante un año en 6 puntos geográficos diferentes en la cuenca del Río Santa Lucía y en 4 de la del Río Uruguay, constituyendo un total de 120 muestras, entre junio 2015 y mayo 2016. Para la concentración viral se utilizó el método de adsorción-elución con membrana cargada negativamente y para la extracción de los ácidos nucleicos el kit *QIAmp Cador Pathogen*. Para rotavirus se realizó la síntesis del cDNA con iniciadores randómicos.. Luego se efectuó detección y cuantificación de adenovirus humano (HAdV) y porcino (PAdV), poliomavirus humano (HPyV) y bovino (BoPyV) y rotavirus del grupo A (RVA) por PCR cuantitativa (qPCR). RVA fue el más frecuente con 37% de positividad (44/120), seguido de HAdV con 18% (21/120), BoPyV con 10% (12/120) y HPyV en un 3% (3/120), mientras que no se detectó PAdV. La concentración media para RVA fue de 1,46E+05 copias/L, para HAdV fue de 1,54E+04 copias/L, para BoPyV fue de 1,1E+04 copias/L y para HPyV fue de 1,8E+02 copias/L. Estos resultados sugieren que esta contaminación fecal impacta negativamente en la calidad del agua de estos ríos, demostrando deficiencias en el descarte de desechos en las ciudades y de las áreas ganaderas de estas cuencas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de virus y viroides en la citricultura del Uruguay (#0169)

María José Benítez Galeano [1]; Estefani Bertoni [1]; Ana Bertalmío [2]; Fernando Ribas [2]; Diego Maeso [2]; Rodney Colina [1]

1 - Laboratorio de Virología Molecular, Centro Universitario Salto, CENUR Litoral Norte, UDELAR.
2 - Programa Nacional de Investigación de la Producción Cítrica, Instituto Nacional de Investigación Agrícola (INIA).

Resumen:
Citrus tristeza virus (CTV) ha sido intensamente estudiado desde hace varias décadas, debido a su capacidad para causar una de las enfermedades más devastadoras en la industria de cítricos en todo el mundo. En Uruguay, se han realizado estudios que describen la presencia de CTV a principios de los años 40, demostrando que este patógeno, junto con Citrus Psorosis Virus (CPsV) y Citrus Exocortis Viroid (CEVd) son responsables de pérdidas anuales de hasta el 30% de la producción nacional de cítricos. Sin embargo, la prevalencia y distribución de estos patógenos en el país aún no se conoce, aunque los estudios en este asunto ya han sido iniciados por nuestro grupo. En los últimos cuatro años, nos hemos centrado en el estudio de la diversidad genética de la CTV en Uruguay a partir del análisis molecular de los genes p25, p20 y p23. Describimos la co-circulación de los genotipos VT, T3 y T36, así como un cuarto linaje NC, altamente representado en los huertos citricos uruguayos. También se describió la presencia de infecciones mixtas dentro del mismo huésped y la presencia de algunos genomas recombinantes. Hoy en día, continuamos con la vigilancia de los huertos de cítricos de todo el país y la presencia de este nuevo linaje está creciendo, así como la presencia de diferentes genotipos, como el RB. Con el objetivo de desarrollar un programa de protección cruzada a largo plazo, que se incorpore al Programa Nacional de Saneamiento en curso, estamos tratando de obtener un profundo conocimiento sobre estas variantes que circulan en Uruguay.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Relevamiento de virus en aguas recreacionales en una localidad vulnerable a enfermedades gastrointestinales (#0382)

Luciana Gillman [1]; Marinela Pereira [2]; Alvaro Alberti [1]; D´Alessandro Bruno [2]; Romina Bolón [1]; Santiago Mirazo [1]; Gabriela Betancourt [1]; Nicolás Marinof [3]; Mabel Berois [1]

1 - Sección Virología, Facultad de Ciencias, UdelaR. 2 - Servicio de Evaluación de la Calidad y Control Ambiental, IMM. 3 - Centro Uruguayo de Tecnologías Apropiadas.

Resumen:

La calidad de agua es la mayor amenaza para la salud humana. Ésta se encuentra influenciada por la contaminación a través de fuentes puntuales y no puntuales. Virus causantes de diversas enfermedades se transmiten por vía fecal-oral pudiendo involucrar al agua como vehículo. Barros Blancos es una zona semi rural, sin saneamiento, que posee una importante proporción de asentamientos irregulares. En este contexto, se analizó la presencia de virus entéricos en aguas recreacionales de Barros Blancos tomadas en tres muestreos entre Octubre y Diciembre de 2011. Mediante ultracentrifugación se concentraron las partículas virales, para ser caracterizadas molecularmente y cuantificadas por PCR cualitativa y cuantitativa, respectivamente. Los datos de cuantificación viral fueron analizados en relación a los valores de concentración de los indicadores microbiológicos de contaminación fecal así como con factores ambientales y la densidad poblacional. Los resultados muestran que el 94% de las muestras fueron positivas para al menos uno de los virus estudiados. Mientras que el 60% de las muestras lo fueron para Norovirus, 56% para Rotavirus, 46% para Adenovirus, 10% para Picobirnavirus y 4% para Virus de la Hepatitis E. Las concentraciones de Norovirus y Adenovirus detectadas disminuyeron a medida que aumentó la temperatura ambiente mientras que para Rotavirus se mantuvieron constantes. Las precipitaciones no provocaron un aumento en las concentraciones virales detectadas, lo cual es, en general, esperable por efecto de la escorrentía y resuspensión de sedimentos. Mientras que Adenovirus y Norovirus no muestran la misma tendencia que los Coliformes Fecales, se observa para la presencia de Rotavirus una correlación positiva con estos indicadores. Los análisis filogenéticos de Rotavirus y Picobirnavirus muestran que la contaminación podría tener origen humano y vacuno. Entretanto, el análisis de HEV indica que la secuencia aislada agrupa con una muestra uruguaya de un paciente con hepatitis viral aguda de 2014.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización genética y evolutiva del virus de la Diarrea Viral Bovina (#0384)

Leticia Maya [1]; Rodrigo Puentes [2]; Franklin Riet-Correa [3]; Federico Giannitti [3]; Rodolfo Rivero [4]; Edgardo Gianneechini [4]; Rodney Colina [1]

1 - *Laboratorio de Virología Molecular Salto, CENUR Litoral Norte, UdelaR, Uruguay. 2 - Laboratorio de Virología, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay. 3 - Plataforma de Investigación en Salud Animal, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. 4 - DILAVE "Miguel C. Rubino", Laboratorio Regional Noroeste, Paysandú, Uruguay.

Resumen:

El virus de la Diarrea viral Bovina (BVDV) es un virus económicamente importante siendo una de las causas más importantes de desórdenes reproductivos y productivos en bovinos mundialmente. El BVDV es un virus envuelto de genoma de ARN simple hebra de polaridad positiva de 12.3 Kb de longitud con un único marco abierto de lectura (ORF). En los extremos 5 y 3 del genoma se encuentran las regiones no traducidas (UTR). Se han reconocido 2 genotipos virales: BVDV-1 que se subdivide en 20 subtipos virales y BVDV-2 que se subdivide en 3 subtipos. Se ha propuesto un nuevo genotipo de BVDV conocido como HoBi-like o BVDV-3. En Uruguay BVDV es un problema importante y solo el 3% de los productores realiza la vacunación ya que no es obligatoria. BVDV fue detectado por primera vez en 1996. Un estudio serológico con muestras del 2000-2001, reveló que todos los predios son seropositivos con una seroprevalencia promedio de 67%. En el año 2016 publicamos la primera caracterización genética de BVDV en Uruguay con muestras de predios con problemas reproductivos colectadas en 2014. La genotipificación de las 16 muestras positivas, por medio de la amplificación y secuenciación de la 5UTR y Npro del genoma viral, mostró que tanto BVDV-1 y BVDV-2 circulan en nuestros rodeos, y parecía haber una supremacía de BVDV-1a. Hemos continuado con la detección y caracterización de BVDV, y al momento tenemos 30 muestras positivas a BVDV, de las cuales el 86,7% son BVDV-1a confirmando en cierta manera su predominancia. Nuestras estirpes de BVDV-1a parecen relacionarse con las cepas de este subtipo de Brasil. Además, muestran intravariabilidad en las regiones de la 5UTR y Npro lo que denota que este genotipo se habría diversificado en nuestro territorio.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización molecular de virus gastroentéricos bovinos en muestras clínicas y ambientales. (#0240)

Matías Castells [1]; Carlos Schild [2]; Dario Caffarena [2]; Federico Giannitti [2]; Martin Fraga [2]; Franklin Riet-Correa [2]; Matias Victoria [1]; Rodney Colina [1]

1 - CENUR Litoral Norte. 2 - INIA.

Resumen:

Las enfermedades que afectan a los terneros en los dos primeros meses de vida son una importante causa de pérdidas económicas a nivel mundial, tanto por las pérdidas directas por muertes, gastos asociados con tratamientos, retardo en el crecimiento y desarrollo, así como también por las dificultades generadas al no obtener suficientes terneras para realizar una reposición adecuada de las vacas. Esta situación perjudica el mejoramiento genético por menor presión de selección, menor crecimiento de los rodeos y por ende la productividad. Una de las principales causas de muerte en terneros de hasta dos meses de edad son las infecciones que causan diarrea neonatal; frecuentemente de etiología múltiple con más de un agente infeccioso (virus, bacterias y/o protozoos) involucrado. Los agentes más prevalentes son: Rotavirus, Coronavirus, *Escherichia coli* cepa K99+ y *Cryptosporidium parvum*. Además de los virus ya mencionados, los Norovirus son también agentes causantes de diarreas en terneros. Debido a que desconocemos la situación a nivel país en relación a la prevalencia y diversidad genética de los mencionados virus, nos plantemos realizar dichos estudios en terneros neonatos y en aguas de consumo. Analizamos la presencia de Rotavirus como indicador de contaminación de las aguas estudiadas. Los principales resultados obtenidos fueron la elevada frecuencia de detección y luego importante diversidad genética de rotavirus, coronavirus y norovirus en diferentes brotes de diarrea, así como también en muestras de terneros muertos. Además detectamos la presencia de Rotavirus en las aguas utilizadas para consumo de los terneros, evidenciando una posible vía de transmisión de los virus. Las aguas analizadas fueron tomadas tanto de los pozos así como también directamente de los bebederos, y es de destacar que en ambos tipos de muestra detectamos la presencia de Rotavirus.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación de la capacidad virucida del ozono contra Parvovirus canino (#0383)

Gabriela Franco [1]; *Rodrigo Puentes* [1]

1 - Virología, Facultad de Veterinaria, UdelaR.

Resumen:

El Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2) es un virus autónomo perteneciente a la familia *Parvoviridae,* subfamilia *Parvovirinae,* género *Protoparvovirus*, especie Parvovirus canino tipo 2. Son virus desnudos con cápside icosaédrica y una sola cadena linear de ADN extremadamente resistentes en el medio ambiente. La forma clínica más característica de CPV-2 es la enteritis hemorrágica, afectando principalmente animales jóvenes de entre uno y seis meses de edad. La tasa de mortalidad en los cachorros puede llegar hasta 70% pero es menor al 1% en perros adultos. La ozonoterapia se ha usado desde hace décadas. Como molécula altamente reactiva, el ozono puede inactivar bacterias, virus, hongos, levaduras y protozoos, estimular el metabolismo oxidativo de los tejidos, activar el sistema inmunológico y ser un potente analgésico. No está claro el mecanismo por el cual el ozono inactiva los virus, pero podría ser al actuar sobre la estructura proteica o sobre los ácidos nucleícos. Varios trabajos han sido publicados demostrando la capacidad del ozono para disminuir la carga e infectividad viral en alimentos, superficies y aguas. Se comprobó su eficacia frente a virus entéricos como adenovirus, calcivirus, noravirus, rotavirus, parvovirus, virus de la hepatitis A, así como frente a herpesvirus e virus de la influenza. Asimismo es efectivo en la modulación del sistema inmune y en la regeneración de tejidos. La ozonoterapia presenta la gran ventaja de no tener efectos adversos en su uso terapéutico. El objetivo de nuestro trabajo es comprobar la eficacia *in-vivo* e *in-vitro* de la ozonoterapia frente al CPV-2. Para ello se realizarán estudios de la capacidad virucida así como de toxicidad del ozono en cultivo de células caninas. Igualmente se realizará trabajo de campo comparando el tratamiento clínico clásico versus el tratamiento clásico más la ozonoterapia en casos clínicos de CPV-2.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Relevamiento serológico de virus suinos de alto impacto sanitario/ económico en establecimientos de producción porcina (#0101)

Natalia Ramos [1]; Santiago Mirazo [1]; Gustavo Castro [2]; Ricardo Segundo [3]; Juan Arbiza [1]

1 - Sección Virología Facultad de Ciencias. 2 - División Sanidad Animal. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. 3 - Veterinario Independiente.

Resumen:

Durante las últimas dos décadas, han evolucionado diversas enfermedades virales que afectan a los cerdos, como el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV), considerado el patógeno de mayor impacto en la producción porcina mundial. En Uruguay, los últimos relevamientos serológicos de PRRSV y otras enfermedades de notificación obligatoria como el virus de la enfermedad de Aujesky (ADV) y el virus de la peste porcina clásica (CSFV) fueron realizados en el año 2000, resultando negativos. En el caso del Virus de la Influenza Porcina (SIV), a pesar de su importancia, no se ha realizado ningún estudio serológico en el país. El objetivo principal de este estudio fue investigar la presencia de anticuerpos específicos para PRRSV, ADV, CSFV y SIV en la población Uruguaya de cerdos de diferentes establecimientos comerciales, a fin de contribuir a la actualización de la situación epidemiológica de estas infecciones emergentes. Un total de 614 muestras de suero recolectadas durante el período 2014-2016 fueron analizadas mediante el empleo de kits de ELISA comerciales. En primer lugar, nuestros resultados revelaron la ausencia de anticuerpos anti-ADV y CSFV en todas las muestras analizadas. En segundo lugar, se identificó por primera vez en Uruguay la presencia de anticuerpos contra SIV en 52 muestras. Finalmente, como hallazgo más relevante de este estudio, se detectó la presencia de anticuerpos anti-PRRSV. Las muestras fueron evaluadas con dos kits de ELISA diferentes, observándose entre ellos diferentes sensibilidades de detección de anticuerpos, pudiéndose confirmar con ambos kits un total de 12 positivos. Posteriormente, se implementó una técnica de detección molecular de PRRSV y se identificó ARN viral mediante RT-PCR en muestras seropositivas y seronegativas. Los datos aquí presentados demuestran la presencia y circulación de PRRSV en Uruguay y también contribuyen a una mejor comprensión de la epidemiología de SIV.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Detección, cuantificación y caracterización molecular de Bocavirus humanos en aguas residuales y superficiales de Uruguay. (#0133)

Matías Salvo Rodríguez [1]; Andrés Lizasoain [1]; Viviana Bortagaray [1]; Matías Castells [1]; Rodney Colina [1]; Fernando López Tort [1]; Matías Victoria [1]

1 - CENUR Litoral Norte, Sede Salto.

Resumen:

Los Bocavirus Humanos (HBoV) pertenecen a la familia *Parvoviridae*, subfamilia *Parvovirinae,* género *Bocaparvovirus* y se clasifican en cuatro subtipos; HBoV 1 se asocia a infecciones del tracto respiratorio y los HBoV 2, 3 y 4 a infecciones gastrointestinales. Pocos estudios documentan la presencia de HBoV en aguas residuales y superficiales a nivel mundial, mostrando valores de positividad elevados. Con el fin de conocer cuál es el estado de situación del país con respecto a la presencia de HBoV en diferentes matrices acuáticas, estudiamos 68 muestras de agua residual de Salto, Paysandú, Bella Unión, Fray Bentos y Melo y 36 muestras de aguas superficiales de Salto, Florida y Santa Lucia. Se realizó un *screening* de las muestras por Multiplex qPCR para detectar los cuatro subtipos, seguido de qPCRs para cuantificar independientemente cada subtipo y amplificaciones cualitativas para la caracterización molecular. El HBoV estuvo presente en una alta frecuencia (71%) en las muestras de efluentes, encontrándose una única muestra positiva (3%) para agua superficial. Para las muestras de efluente, HBoV1 se detectó en 11 de las 48 muestras positivas con una concentración media de 8,21E+04 copias/L, HBoV3 se detectó en 36 muestras con una concentración media de 4,13 E+06 copias/L y los subtipos 2 y/o 4 se detectaron en 39 muestras con una concentración media 7,75 E+06 copias/L. Se obtuvieron 47 secuencias del virus y se realizó, por medio de la metodología Bayesiana un árbol filogenético, el cual permitió observar la presencia de los subtipos 1, 2 y 3. Por otra parte también se observaron secuencias que no agruparon con ningún clado, las cuales se seguirán estudiando. Con el presente trabajo evidenciamos la presencia de HBoV en diferentes matrices acuáticas del país, confirmando la presencia de tres de los cuatro subtipos descriptos.

18:30 - 20:15

SUM

Simposio SUM_8 y Simposio SBBM-PABMB: Educación en Ciencias.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Reflexiones y estrategias para la enseñanza de las ciencias en la educación superior. (#0375)

Elsa Meinardi [1]

1 - Instituto de Investigaciones en Enseñanza de las Ciencias - CeFIECFCEN. Universidad de Buenos Aires.

Resumen:
La docencia universitaria de ciencias está siendo profundamente revisada en los últimos años. Esta tarea no es fácil, y sus dificultades se ven señaladas en todo el mundo. Por un lado, existe aún poca investigación al respecto y, por otro lado, se sabe que en la mayoría de los casos el profesorado universitario no recibe formación profesional específica sobre las tareas docentes que debe desempeñar cuando ocupa un cargo en las instituciones de educación superior. De alguna manera, la mayoría de los y las docentes asumimos la hipótesis de éxito, que se basa en que si hemos logrado ser egresados universitarios con la educación que recibimos, no hay mucho que revisar. Esto conduce a invisibilizar las cifras del fracaso y refuerza la resistencia al cambio. La opinión actual es que si los docentes universitarios cuentan con herramientas para revisar sus prácticas, no solo producen mejores aprendizajes sino una mayor satisfacción con su propio desempeño en la enseñanza. En esta charla haremos una reflexión sobre las dificultades con las que nos encontramos en la compleja tarea de ser docentes y brindaremos algunas ideas concretas para intentar algunos cambios.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Aprender haciendo en la educación superior: ¿Qué se aprende? (#0378)

Ana M. Corbacho Rodríguez [1]

1 - Espacio Interdisciplinario, Udelar.

Resumen:

La discusión del rol de la educación superior en el abordaje de desafíos globales y sociales complejos se acompaña del reclamo de que la universidad debe ser capaz de producir egresados competentes para insertarse en un mundo rápidamente cambiante. Dentro de los diversos abordajes que atienden esta problemática se encuentran las estrategias de aprendizaje activo y centrado en el estudiante (estrategias de *aprender haciendo*), como lo son el aprendizaje basado en problemas o proyectos, el trabajo en equipos pequeños y las pasantías o prácticas pre-profesionales. Estas estrategias articulan el conocimiento explícito y el conocimiento tácito, ambos necesarios pero de distinta naturaleza. Quizás el mayor desafío asociado a la implementación de tales abordajes consiste en la evaluación del aprendizaje del estudiante. Durante esta exposición presentaremos herramientas de evaluación que facilitan un acercamiento al tipo de aprendizaje asociado a las *estrategias de aprender haciendo*.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Reflexiones sobre la educación universitaria en la Argentina: a propósito de una experiencia realizada en la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, en el período 2013-2017 (#0161)

Jorge Geffner [1]

1 - Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Resumen:
El objetivo de la presentación es intercambiar experiencias con el objeto de integrar modalidades de trabajo y herramientas que permitan mejorar la calidad de la actividad docente impartida en el ámbito universitario. Expondré brevemente los cambios que implementamos en los últimos 5 años a fin de aproximarnos a este objetivo, relativos al curso cuatrimestral de "Inmunología Humana" que dictamos como materia de grado en la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, en el tercer año de la carrera, dirigido a un número de alumnos comprendido entre 1300 y 1600/curso.

Domingo

09:00 - 10:45 **SUM**

Simposio SUM_9: Presentaciones de trabajos seleccionados.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

"Análisis de bacterias cultivables aisladas de rocas antárticas" (#0285)

Valentina Carrasco [1]; Lucía Vivanco [2]; Vanesa Amarelle [1]; Leda Sánchez [2]; Elena Fabiano [1]

1 - Dpto. de Bioquímica y Genómica Microbianas. IIBCE. 2 - Instituto de Ciencias Geológicas. Facultad de Ciencias. UDELAR.

Resumen:

Las rocas representan el principal refugio para la vida en algunos de los ambientes más extremos del planeta, como el antártico. Las comunidades microbianas que habitan el interior de las rocas se conocen como endolíticas. Estos microorganismos son capaces de colonizar grietas, poros y fisuras de las rocas así como modificarlas, directa o indirectamente, mediante procesos físicos y químicos. A escala global, estas interacciones afectan los ciclos de los elementos de la biósfera. Nuestro trabajo tiene como objetivo caracterizar la diversidad funcional de bacterias endolíticas antárticas, en concreto, en cuanto a los sistemas involucrados en la homeostasis de metales. Por otro lado, determinar la capacidad de las bacterias para producir pigmentos y evaluar si su síntesis está relacionada a la tolerancia a metales, como otro factor de protección frente a las condiciones del ambiente. Al momento hemos aislado e identificado 76 bacterias cultivables provenientes de dos muestras de rocas antárticas, identificadas como andesitas basálticas. Como se esperaba, el número de unidades formadoras de colonia fue de varios órdenes de magnitud menor que los obtenidos en otro tipo de muestras ambientales del lugar. Se encontraron representantes de Alpha, Beta y Gammaproteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria y Deinococcus-Thermus, de 22 géneros distintos. Asimismo, muchos aislamientos mostraron una baja identidad de secuencia con respecto a aquellas disponibles en las bases de datos públicas, lo que puede estar indicando la novedad de los microrganismos que colonizan este nicho. Además, detectamos aislamientos resistentes a Cu(II) 1mM, Mn(II) 3mM, algunos a Ni(II) y Zn(II) 1mM, Ag(I) 50μM y Co(II) 200μM, e incluso, los niveles de tolerancia de las bacterias se relacionaron con las abundancias de los distintos metales en las muestras de roca. Interesantemente, la mayoría de los aislamientos fueron pigmentados y casi todos estos pigmentos fueron identificados como carotenoides.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación de la capacidad invasiva de mutantes de *Proteus mirabilis* uropatogénica (#0313)

María José González [1]; *Ana Laura Caetano* [1]; *Victoria Iribarnegaray* [1]; *Paola Scavone* [1]; *Pablo Zunino* [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
Las infecciones del tracto urinario (ITU) se encuentran entre las infecciones más comunes que afectan al ser humano. Entre los principales agentes etiológicos se encuentra *Proteus mirabilis*. Este patógeno está implicado en ITU complicadas, principalmente asociadas a la cateterización. *P. mirabilis* tiene la capacidad de formar biofilms, particularmente sobre superficies abióticas como catéteres. Diversos factores de virulencia están relacionados con la capacidad de formar biofilm incluyendo factores de adhesión, captación de hierro y movilidad, entre otros. El objetivo del trabajo fue evaluar el papel que cumplen genes relacionados con la virulencia y formación de biofilms en la capacidad de *P. mirabilis* de invadir células uroepitaliales y formar comunidades bacterianas intracelulares (CBI) como las descritas en *Escherichia coli* uropatogénica. Mutantes de una cepa patógena de *P. mirabilis* de origen clínico que exhibieron una capacidad alterada para formar biofilms fueron seleccionadas para su evaluación. Estas son defectivas para genes relacionados con adhesión (proteína fimbrial SteB y subunidad fimbrial mayor de la fimbria UCA), sistemas de captación de hierro (ferritina y receptor Ton-B dependiente) y sistemas transportadores (PitA). Empleando células de vejiga humana T24, se realizaron ensayos de invasión con una MOI de 5 bacterias/célula, comparando con la cepa salvaje 2921. La cuantificación se realizó por recuento en placa. Aunque se observaron algunas diferencias en la capacidad de invasión celular de las mutantes con respecto a la cepa salvaje, estas no fueron significativas. Por otra parte, las mutantes fueron menos citotóxicas que la cepa salvaje presentando un mayor porcentaje de supervivencia celular. A partir de estos resultados se puede sugerir que los factores bacterianos implicados en la formación de biofilm de *P. mirabilis* no se relacionan con la invasividad celular y que existen otros mecanismos implicados en la misma.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Una mirada hacía la estructura- función de proteínas fúngicas: Análisis de los transportadores de purinas de *Phanerochaete chrysosporium* (#0325)

Mariana Barraco Vega [1]; Juliette Dourron [2]; Florencia Bonaudi [1]; Vanessa Leone [3]; Gianna Cecchetto [2]

1 - Laboratorio de Microbiología Molecular, Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay. 2 - Laboratorio de Microbiología Molecular, Microbiología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias-Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay. 3 - Computational Structural Biology Unit, National Institute of Health, Estados Unidos.

Resumen:

Las purinas son compuestos nitrogenados esenciales para la célula, componen ácidos nucleicos, algunos aminoácidos y coenzimas, participan en el metabolismo energético (ATP, GTP) y son fuente de nitrógeno para muchos organismos. El transporte de purinas es mediado por transportadores sustrato-específicos. Todos los transportadores conocidos, desde bacterias a mamíferos y plantas, pertenecen a tres familias conservadas (NCS1, NAT/NCS2 y AzgA-like). El basidiomycota *Phanerochaete chrysosporium* tiene dos transportadores de purinas: PhU (NAT) y PhZ (AzgA-*like*). *phU* se regula transcripcionalmente como los homólogos caracterizados: se induce por sustratos y cuando estos son fuente de nitrógeno se induce además por carencia de nitrógeno y se reprime por amonio. En el caso de *phZ* a pesar de que sus sustratos son fuente de nitrógeno, la regulación del transportador parece estar ligada al anabolismo: es inducido por sustrato pero no por carencia y no es reprimido por amonio. Estas y otras diferencias lo hacen un candidato interesante para la caracterización funcional y estructural. Las proteínas silvestres y mutantes expresadas en un mismo contexto genético, *Aspergillus nidulans* carece de transportadores propios fueron analizados: ubicación subcelular (fusión a GFP), crecimiento y transporte (*uptakes* competitivos con [^{3}H]-hipoxantina). Los residuos a mutagenizar se seleccionaron mediante análisis comparativo de secuencias y modelado estructural por homología. PhZ transporta hipoxantina (Ki 0,2 μM); adenina, guanina y 8-azaguanina (80-90% de inhibición) y además es capaz de transportar xantina con equivalente porcentaje de inhibición. Mutantes de PhZ (L124M, T429P y A148) mostraron mayor resistencia al tóxico 8-azaguanina y otros (T131A) diferencias de localización subcelular. Concluimos que: PhZ es capaz de transportar xantina, diferenciándose funcionalmente de otras proteínas AzgA-*like.* L124, T429 y A148 interaccionan con el sustrato y T131 tendría una función relacionada a la regulación post-traduccional. PhU transporta los mismos sustratos que otros miembros NAT y determinamos que P456 es clave para su estructura.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Microbiota y drogas de abuso: efecto del tratamiento repetido con cocaína y adulterantes sobre la microbiota intestinal en ratas (#0046)

Claudia Piccini [1]; Cecilia Scorza [2]; Marcela Martínez [3]; Juan Andrés Abín [3]; Pablo Zunino [1]

1 - Departamento de Microbiología, IIBCE. 2 - Departamento de Neurofarmacología Experimental, IIBCE. 3 - Departamento de Neuroquímica, IIBCE.

Resumen:

Varios estudios recientes reportan una red de comunicación bidireccional entre la microbiota del intestino (MI) y el sistema nervioso central. La MI en el adulto humano consiste mayoritariamente en bacterias y disrupciones en la homeostasis de la MI (disbiosis) han sido asociadas con diversas patologías y trastornos emocionales. Varios estudios han mostrado que la modificación de la MI por antibióticosen ratones provoca la aparición de comportamientos anormales en modelos animales de depresión y ansiedad. Sin embargo, un número limitado de estudios han examinado la relación microbiota-adicción. El objetivo de este trabajo fue comenzar a estudiar los efectos inducidos por el consumo de drogas de abuso, tales como la cocaína, en la estructura de la comunidad de la MI utilizando modelos animales que permiten fijar variables como dieta, tipo de droga y tiempo de consumo. Un grupo de ratas macho fue tratado durante 14 días con cocaína base (25 mg) volatilizada y administrada por inhalación pulmonar. Evidencias previas del laboratorio indican que cocaína base se vende adulterada con fenacetina y cafeína. Así, otro grupo de animales fue tratado con cocaína + fenacetina (25 mg) y cocaína + cafeína (25 mg) y con la combinación de los tres compuestos. Grupos control y tratados con fenacetina y cafeína volatilizadas fueron también incluidos. La materia fecal de los animales fue recogida luego de terminado el tratamiento y procesada para la extracción de ADN bacteriano. Análisis de *fingerprinting* basados en el espaciador intergénico del operón ribosomal (ITS) mostraron que los tratamientos indujeron cambios en la estructura comunitaria de la MI en relación a la estructura del grupo control, siendo éstos más evidentes con fenacetina. Aunque son necesarios más estudios para identificar las especies bacterianas afectadas, estos datos muestran un gran potencial para futuros estudios traslacionales en esta área emergente de la comunicación MI-cerebro.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Resistencia a antibióticos y mecanismos de resistencias transferibles en *Escherichia coli* asociada a diarrea en terneros y su papel en la clínica humana en Uruguay (#0187)

Ana Umpiérrez [1]; Inés Bado [2]; Martín Oliver [1]; Sofía Acquistapace [1]; Rafael Vignoli [2]; Pablo Zunino [1]

1 - Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Av. Italia 3318. Montevideo, Uruguay. 2 - Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina. Av. Alfredo Navarro 3051. Montevideo, Uruguay.

Resumen:

Las infecciones causadas por *Escherichia coli* son uno de los mayores problemas sanitarios y económicos de los productores ganaderos mundialmente. Los patotipos *E. coli* enterotoxigénica y enteropatógenica se asocian a diarrea neonatal en terneros, mientras que *E. coli* enterohemorrágica y productora de toxina Shiga son importantes patógenos zoonóticos, siendo los bovinos su principal reservorio. La terapia antimicrobiana se utilizada para tratar enfermedades infecciosas. Lamentablemente, su uso indiscriminado se ha acompañado de un incremento en las resistencias, acarreando complicaciones en los tratamientos. Los antibióticos más comúnmente utilizados en animales son además ampliamente utilizados en la clínica humana y la transferencia de genes de resistencia a betalactámicos y fluoroquinolonas (FQ), debida a contaminación cruzada, es un problema cada vez más frecuente. Además, la creciente resistencia transferible a colistina ha emergido como una gran amenaza para la salud, ya que se utiliza en bovinos pero es de último recurso en infecciones multirresistentes en humanos. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar los mecanismos de resistencia a antibióticos de *E. coli* de origen bovino y su papel como diseminadores de resistencia. El 36% de los aislamientos fueron resistentes a FQ y se constató la ocurrencia de multirresistencia. Se detectó la presencia de genes de resistencia a quinolonas *qnrB2like* y *qnrS1* y se determinó resistencia a betalactámicos por betalactamsas de espectro extendido grupo CTXM14 y betalactamasas tipo AmpC. Por otro lado, se encontró el Integrón1 con arreglos que confieren resistencia a aminoglucósidos y trimetoprim. Finalmente, no se detectó la presencia del gen de colistina *mcr1*. La resistencia a antibióticos es un problema en la ganadería en Uruguay. *E. coli* de origen bovino puede jugar un papel importante en enfermedades en humanos, favoreciendo la trasferencia de resistencias inter-especies y obstaculizando los tratamientos. En este sentido, urge la implementación de la vigilancia en ambos ámbitos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación preliminar de la presencia de integrones y genes determinantes de resistencia a antimicrobianos en aguas residuales de origen humano o animal. (#0303)

Evelyn Haller [1]; Matías Pereiro [1]; Diana Miguez [1]; Gregorio Iraola [2]; Alejandro Ureta [3]

1 - Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) / Fundación LATITUD. 2 - Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur Montevideo. 3 - Gerencia de Agua Potable, Obras Sanitarias del Estado. Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) / Fundación LATITUD.

Resumen:

La presencia de múltiples determinantes de resistencia a antibióticos en bacterias patógenas humanas es reconocida como una de las amenazas mas significativas a la salud pública. Aunque en ambientes naturales el rol principal de los antibióticos es el de servir como transductores en la comunicación e interacción entre microorganismos, la presión impuesta por su uso irracional, sea en el contexto clínico como productivo (a través de su empleo con fines profilácticos o como promotores del crecimiento animal), ha facilitado y promovido la selección, evolución, dispersión y proliferación de genes determinantes de resistencia a los mismos. Su dispersión y proliferación son además favorecidas por su localización en elementos mobilizables horizontalmente como ser plásmidos, transposones y sistemas de integrones. Estos últimos, estructuras modulares con el potencial de contener simultaneamente determinantes de resistencia a múltiples antimicrobianos. En este trabajo se analizaron aguas residuales domésticas y aguas residuales de un tambo experimental con el objetivo inicial de relevar la presencia de sistemas de integrones así como de determinantes genéticos de resistencia a antimicrobianos. Los resultados del mismo revelan la presencia en ambas matrices de integrasas de tipo 1 y 2 así como de integrones de clase 1 y 2. Asimismo, ensayos de PCR dirigidos a determinar la presencia de genes de resistencia a aminoglicósidos (*aac*, *aph*), □-lactámicos ($bla_{\text{CTX-KPC- OXA-TEM-VIM}}$), cloramfenicol (*catA*), trimetoprim (*dhfr*XII), macrólidos (*ermF*), streptotricina (*sat*), tetraciclina (*tetL-M*), vancomicina (*vanA*) así como a aminas cuaternarias (*qacE-G*) y mercurio (*merA*), en este caso por su potencial asociación a integrones clase 1, mostraron en ambas matrices con perfiles diferentes, productos de amplificación con los tamaños correspondientes esperados. Estos resultados preliminares remarcan la importancia del relevamiento ambiental de determinantes de resistencia a antimicrobianos así como la necesidad del aislamiento y la caracterización fenotípica y genómica de microorganismos portadores de integrones.

11:00 - 12:30

SUM

Simposio SUM_10: Mesa "Enfermedades transmitidas por alimentos. Su impacto en el bienestar social y el desarrollo"

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Escherichia coli diarreogénicos asociados a casos de ETA presentes en Uruguay (#0211)

Gustavo Varela [1]

1 - INSTITUTO DE HIGIENE.

Resumen:

Las enfermedades trasmitidas por alimentos (ETAs) constituyen un grupo heterogéneo de patologías asociadas al consumo de agua o alimentos que contienen una gran variedad de agentes infecciosos o no infecciosos nocivos para la salud de los seres humanos. La mayoría de los países que cuentan con sistemas para la vigilancia y notificación de estos casos han documentado durante las últimas décadas aumentos significativos en la incidencia de enfermedades causadas por microorganismos trasmitidos por los alimentos, incluyendo Salmonella spp., Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes y diferentes patotipos/ virotipos de E. coli diarreogénicos (ECD). Hasta el momento se reconocen 6 virotipos clásicos en ECD: EPEC, ETEC, STEC, EIEC, EAEC, DAEC y aislamientos definidos híbridos, como la cepa O104:H4 responsable del brote de SUH en Alemania en 2004. Nuestro grupo de trabajo ha identificado la presencia de EPEC atípicos, STEC, EAEC y EIEC en casos de diarrea en niños y adolescentes. Muchos de estos agentes son trasmitidos por alimentos y se asocian a procesos severos como diarrea con sangre, colitis hemorragia y SUH. Hemos generado a lo largo de estos años datos sobre serogrupos, genotipos y perfiles de resistencia de diferentes ECD y estamos en condiciones de participar en trabajos de colaboración que traten de manera global el diagnóstico etiológico de los casos de ETA.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Listeria monocytogenes en infecciones humanas severas y en alimentos. (#0379)

María Inés Mota [1]; Valeria Braga [1]; Gustavo Varela [1]; Felipe Schelotto [1]

1 - Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

La listeriosis o enfermedad causada por *Listeria monocytogenes*, se sitúa entre las enfermedades transmitidas por alimentos de mayor relevancia para la salud pública y para la industria alimentaria, debido al impacto social y económico que tiene por la gravedad de su cuadro clínico. A pesar de los avances en su conocimiento, la listeriosis continúa siendo un problema importante por varios motivos. En primer lugar por su elevada letalidad, de hasta el 30% en los grupos de riesgo (neonatos, mujeres embarazadas, ancianos e inmunodeprimidos). En segundo lugar, porque *L. monocytogenes* presenta una serie de características que la convierten en un importante amenaza para las metas de inocuidad alimentaria: su ubicuidad en el medio ambiente hace que la diseminación a las instalaciones que elaboran alimentos sea frecuente y su gran capacidad de resistencia al frío, calor, acidez y salinidad favorecen su desarrollo durante el almacenamiento de los mismos. En tercer lugar, porque los grupos de riesgo constituidos por personas mayores e inmunocomprometidos están en continuo aumento. Por último, porque los brotes epidémicos de listeriosis son difíciles de investigar debido a que en general son pequeños, el periodo de incubación puede ser muy largo (hasta 70 días), y los pacientes se encuentran severamente enfermos o fallecidos lo que limita la posibilidad de obtener una historia alimentaria completa. ¿Que hemos hecho al respecto? Hemos estudiado unos 300 aislamientos de *L. monocytogenes* fundamentalmente de origen humano y alimentario realizando la subtipificación molecular mediante determinación de serotipo y pulsotipo. Con ello hemos generado una base de datos importante que nos ha permitido conocer las cepas circulantes, colaborar con los organismos de control y con la industria en el estudio de brotes y en el control de esta bacteria en las plantas de procesamiento y en los establecimientos de venta de alimentos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Del chiquero a la mesa: rol del cerdo doméstico y el jabalí como reservorios del virus de la Hepatitis E (HEV) y su impacto zoonótico (#0217)

Lorenzo Verger [1]; Cecilia D`Albora [2]; Noemi Rovaris [3]; Tatiana Hundewadt [2]; Gustavo Castro [4]; Marcelo Pinto [3]; Natalia Ramos [2]; Juan Arbiza [2]; Alejandra Lozano [5]; Santiago Mirazo [2]

1 - Area de Salud Pública Veterinaria. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.. 2 - Sección Virología, Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.. 3 - Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico, FIOCruz. Rio de Janeiro, Brasil.. 4 - División Sanidad Animal, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Montevideo, Uruguay.. 5 - Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca..

Resumen:
La infección por el virus de la Hepatitis E (HEV) es una de las virosis emergentes que preocupa a la salud pública dada su compleja epidemiología. HEV se transmite principalmente por vía fecal-oral y presenta una mortalidad de hasta el 4 % en la población general y hasta el 20% en mujeres embarazadas. HEV se clasifica en 6 genotipos (G1-6), siendo los G1 y G2 antroponóticos, responsables de las epidemias en zonas endémicas. Los G3 y G4 se asocian a casos esporádicos en regiones no endémicas y países desarrollados y son considerados zoonóticos siendo los suidos los principales reservorios. En 2010 fueron reportados en Uruguay los primeros casos de infección por HEV en humanos, tratándose de casos autóctonos asociados al G3. Estas cepas resultaron estar filogenéticamente emparentadas con aislados suinos y humanos Europeos. Más recientemente se detectó el primer caso autóctono de infección por HEV humano G1 en Uruguay, filogenéticamente emparentado con cepas asiáticas. Este trabajo tiene como objetivo relevar a nivel molecular HEV en cerdos y jabalíes y para lo cual se investigó la presencia de HEV por PCR y Real Time PCR cuantitativa (RTqPCR) en un total de 140 animales. A su vez, se estudió la presencia de anticuerpos anti HEV en 380 muestras de suero de cerdos y jabalíes. En este trabajo se describe por primera vez un amplio relevamiento de HEV en suinos de Uruguay, y se reporta una alta seroprevalencia general de HEV. Se detectó una moderada frecuencia de infección en cerdos y jabalíes, con una notoria prevalencia del G3. Asimismo, por primera vez en América se identificó un aislado de HEV G1 epidémico en cerdos, considerado hasta el momento como exclusivamente antroponótico. Estos resultados sugieren que los cerdos y jabalíes son reservorios de HEV y como tales constituyen un riesgo de trasmisión zoonótica.

Parásitos como agentes de Enfermedad Trasmitida por Alimentos (#0380)

Ana María Acuña [1]; *Anaydé Lena* [1]

1 - Departamento de Micología y Parasitología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

Diversas formas infectantes de parásitos, como esporos, quistes, ooquistes, huevos o larvas, pueden encontrarse en los alimentos ya sea por contaminación de los mismos en cualquier etapa de su producción, recolección, conservación, preparación o consumo, o ya sea porque el alimento es parte en sí, del ciclo de transmisión del parásito, como ocurre con las carnes de diferentes orígenes. FAO/OMS establecieron en 2014 un ranking de parásitos trasmitidos por alimentos a nivel mundial de acuerdo a su impacto sobre la salud pública. De esos 24 agentes parasitarios hay 10 por lo menos que se diagnostican habitualmente en nuestro país. Sin embargo se desconoce su impacto real como enfermedades parasitarias transmitidas por alimentos debido a las numerosas dificultades para su control. Es necesario conocer bien aspectos íntimos de cada parásito, su ciclo y epidemiología para definir el riesgo asociado a su ingestión con alimentos, las formas de prevención y las estrategias de control. Es necesario desarrollar teconologías de diagnóstico de parásitos en alimentos. La notificación no es obligatoria para la mayoría de estas infecciones. Las migraciones, la expansión de hábitos alimentarios exóticos en cada región y las variaciones relacionadas con el cambio climático implican numerosos desafíos que habrá que enfrentar en los próximos años. Indudablemente la prevención, es decir las buenas prácticas asociadas al manejo integral de los alimentos, tanto a nivel familiar como industrial resultan fundamentales, y entre ellas destacamos la educación de la población sobre los riesgos y cómo prevenirlos.

Viernes

18:30 - 20:00 **SUM**

PRESENTACIÓN POSTERS (CARPA C9) - SUM - #0234, #0241, #0269, #0276, #0288, #0289, #281, #0309, #0311, #0334, #0044, #0207, #0277, #0177, #0279, #0027, #0029, #0191

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Influencia de la co-inoculación bradirizobios-*Delftia* sobre el establecimiento de soja (#0311)

Célica Cagide [1]; Braulio Riviezzi [1]; Agustina Pereira [1]; Susana Castro-Sowinski [2]; Maria Morel [1]

1 - Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Av. Italia 3318, 11600, Montevideo, Uruguay.. 2 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR, Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay..

Resumen:
La co-inoculación de leguminosas es una alternativa sencilla y eficaz para mejorar el rendimiento de cosecha, comparado con la inoculación simple. Un ejemplo es la co-inoculación de alfalfa con *Sinorhizobium meliloti* y *Delftia* sp. JD2, que aumenta el exudado de flavonoides y aporta auxinas, incrementando la nodulación, crecimiento radicular y el rendimiento vegetal. Este trabajo propone analizar la respuesta del cultivo de soja (*Glycine max.)* frente a la co-inoculación *Bradyrhizobium*-JD2. Las semillas se inocularon y co-inocularon con *Bradyrhizobium elkanii* (1301 y 1302) y/o *Delftia* sp. JD2, y se incubaron durante 30 días bajo condiciones controladas. Se determinó la tasa de nodulación (número de nódulos por planta) y el crecimiento vegetal. Finalmente, las plantas se cosecharon y se determinó el largo de parte aérea (LPA) y su peso seco aéreo (PSA). La co-inoculación de las semillas incrementó el LPA (16 %) y el PSA (25 %), en relación a la inoculación simple. La tasa de nodulación mejoró significativamente en plantas co-inoculadas, siendo mayor la cantidad de nódulos por plantas, tanto en raíz principal como en raíces secundarias. Estos resultados sugieren un efecto positivo de la co-inoculación sobre el establecimiento temprano del cultivo de soja. Por otro lado, se utilizaron métodos cromatográficos para determinar diferencias en el contenido de compuestos de bajo peso molecular (CBPM) en plantas crecidas en condiciones de invernáculo. Para ello, se cosecharon nódulos, raíces y biomasa aérea en los estadíos de cuarto nudo y floración completa. Resultados preliminares indican que no existen grandes diferencias en los perfiles obtenidos por GC-MS de CBPM, entre los tratamientos. Sin embargo, pequeños cambios en la secreción de algunos metabolitos pueden explicar la promoción del crecimiento observado y la mejor nodulación de soja.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización de bacterias filamentosas en sistemas de lodos activados para el tratamiento de aguas residuales industriales (#0269)

Mariángeles García [1]; Patricia Bovio [1]; Claudia Etchebehere [1]; Ángela Cabezas [1]

1 - Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable", MEC.

Resumen:

Los procesos de lodos activados en tratamientos de efluentes para depurar aguas residuales se ven ocasionalmente afectados por el crecimiento excesivo de bacterias filamentosas, lo cual trae inconvenientes asociados al esponjamiento de lodos como *bulking* y formación de espumas o *foaming*. Esto afecta negativamente las propiedades del lodo causando pérdida de sólidos. Las bacterias filamentosas pueden pertenecer a grupos taxonómicos diversos, entre ellos el filo Chloroflexi. En nuestro país no se conoce cuáles son las causantes de problemas en lodos activados. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las bacterias filamentosas presentes en tres sistemas de tratamiento de aguas residuales: maltería, bebidas no alcohólicas y residuos hospitalarios. Para ello se analizaron muestras de lodos activados por microscopía de contraste de fases e Hibridación in situ fluorescente (FISH) utilizando sondas dirigidas al filo *Chloroflexi*. Se realizó secuenciación masiva del gen de ARNr 16S lo cual se está analizando actualmente con QIIME. La morfología y abundancia de flóculos y de filamentosas fueron diferentes en las diferentes muestras. En las de maltería se distinguieron 2 tipos de filamentos; unos largos y curvados formando puentes interfloculares, y otros rectos y cortos. Para bebidas no alcohólicas se observaron filamentos cortos y rectos en el flóculo y en su superficie. Y para residuos hospitalarios se observaron filamentos torcidos y enrollados en el flóculo y libres. Utilizando FISH se detectó presencia de Chloroflexi en todas las muestras. Sin embargo, para residuos hospitalarios se detectó una alta abundancia mientras que para los otros reactores, la cantidad de *Chloroflexi* fue mucho menor comparando con la abundancia de otros filamentos. Nuestros resultados indican que las bacterias filamentosas son diferentes en los diferentes reactores. Se debe continuar con los estudios para poder relacionar los problemas de sedimentación con el sobrecrecimiento de algún tipo de filamento. Esto permitiría desarrollar estrategias de control.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

¿Es la homoacetogénesis la principal causa de inestabilidad en reactores de mezcla completa (CSTR) productores de H_2? (#0334)

Lucía Braga [1]; Vanesa Rostán [1]; Clara Reino [1]; Laura Fuentes [2]; Elena Castelló [1]; Claudia Etchebehere [2]

1 - Laboratorio de Biotecnología y Procesos para el Ambiente - Facultad de Ingenieria, UDeLaR. 2 - Laboratorio de Ecología Microbiana - Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable".

Resumen:

El H_2 es un combustible limpio que se puede producir de manera biológica, mediante fermentación de materia orgánica por microorganismos anaerobios. La eficiencia del proceso depende de la prevalencia de los microorganismos productores de H_2 sobre los competidores y los consumidores del mismo. Modificando varios parámetros de operación en reactores hidrogenogénicos se ha logrado evitar la metanogénesis, pero no la homoacetogénesis. Ambos procesos consumen H_2 y bajan el rendimiento de producción. Se ha reportado que la homoacetogénesis predomina en reactores con densidad celular (DC) alta. La DC de un CSTR es proporcional al tiempo de residencia celular (TRC). Nuestro objetivo fue relacionar la homoacetogénesis con la inestabilidad de producción de H_2 en CSTR operados a diferentes TRC. Se operaron tres CSTR a TRC 6,10 y 24 horas. Se inocularon con lodo metanogénico, tratado térmicamente. El lodo tratado fue aclimatado mediante operación semi-batch, con alimentación sintética a base de glucosa (15gDQO/L). Para la operación en modo continuo su concentración fue 30gDQO/L. Los CSTR se operaron por 20 TRC, pH y temperatura constantes (5,5 y 37ºC, respectivamente). Se monitoreó la producción de biomasa, de ácidos orgánicos y de H_2. La comunidad microbiana fue analizada por T-RFLP del gen del ARNr de 16S realizado a partir del ADN y del ARN (ADNc). Los homoacetógenos se cuantificaron mediante q-PCR del gen de la THFS. La producción de H_2 fue inestable en todas las operaciones. No se encontró una correlación entre los períodos de baja producción de H_2 y la presencia de microorganismos homoacetogénicos. Este resultado es concordante con las concentraciones de acetato encontradas en las operaciones. El metabolito mayormente producido, fue el lactato, por lo que la producción inestable de H_2 podría deberse a la competencia de los microorganismos productores de H_2 con bacterias lácticas y no a la prevalencia de bacterias homoacetogénicas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación del efecto de incremento de la temperatura en la producción de metano a bajas temperaturas en muestras del Ártico (#0276)

Bruna Martins Dellagnezze [1]; Celine Lavergne [2]; Léa Cabrol [3]; Claudia Etchebehere [1]

1 - IIBCE. 2 - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 3 - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso/Mediterranean Institute of Oceanography (MIO).

Resumen:

Se espera que las comunidades microbianas involucradas en la producción y oxidación de metano, principales contribuyentes a las emisiones de metano en ambientes naturales, se vean fuertemente afectadas por el aumento de temperatura ya observado (y previsto para el futuro) en los ecosistemas de alta latitud, lo que eventualmente resultará en un feedback que incrementará las emisiones de metano. Con el fin de investigar este efecto se tomaron muestras líquidas y sólidas en 9 puntos de muestreo diferentes en el estado de Alaska en julio de 2016. Como primer paso, se realizaron varios análisis físico-químicos, tales como temperatura, pH, mediciones de sólidos volátiles, cationes y aniones, trazas metálicas, así como extracciones de ADN y ARN. Posteriormente, con el objetivo de evaluar la capacidad de producir metano de estos ecosistemas, se realizaron ensayos de actividad metanogénica para cuatro temperaturas diferentes (5°C, 10°C, 15°C y 20°C). Se determinó la producción de metano midiendo la presión generada y midiendo la concentración en el biogás mediante cromatografía gaseosa. Los resultados preliminares muestran que las muestras de la turbera 1, lago 1 y 4 presentaron una producción más rápida de metano que los otros ecosistemas. Para este conjunto, la producción máxima de metano se logró más rápidamente a 20°C, entre 3 a 5 semanas, mientras que a 5°C se observó la producción máxima en un período comprendido entre 14 y 18 semanas. Los resultados permitirán evaluar el impacto del cambio climático sobre las emisiones de gases de metano en un ambiente sumamente vulnerable como el Artico. Este trabajo es parte de un proyecto global en donde se estudiará las emisiones de metano en muestras obtenidas de los alrededores de Punta Arenas en Chile y de una región de Siberia en Rusia.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Actividad antifúngica de quitosano y su aplicación al control de *Penicillium expansum* (#0277)

Eloísa Arrarte [1]; *Robson Di Piero* [2]; *Silvana Vero* [1]

1 - Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, Udelar. 2 - Laboratorio de Fitopatología, Centro de Ciencias Agrarias, UFSC.

Resumen:

En Uruguay se producen alrededor de 53.000 toneladas de manzanas siendo el principal destino el mercado interno para consumo en fresco. Estas permanecen largos períodos de tiempo almacenadas, surgiendo problemas con patógenos fúngicos como el *Penicillium expansum*. El uso de polímeros naturales como antifúngicos ha cobrado interés debido a la necesidad de reducir el impacto al medioambiente y salud humana que provocan los fungicidas sintéticos convencionales. El quitosano es un derivado de la quitina (compuesto natural encontrado en el exoesqueleto de artrópodos y segundo polímero natural más abundante) y se han reportado su capacidad antifúngica y de formación de films. En este estudio se evaluó la actividad antifúngica in vitro de quitosano de dos pesos moleculares contra *Penicillium expansum* así como su capacidad de formar films. Se determinó la inhibición del crecimiento micelial mediante ensayos con quitosano incorporado en PDA en concentraciones 10, 5 y 2,5mg/mL. En el centro de cada placa se sembró un disco de micelio del hongo y se incubó a 25ºC durante 7 días y se determinó el diámetro de crecimiento. Se observó entre 22 y 42% de inhibición del crecimiento micelial para ambos quitosanos. También se evaluó la inhibición de la germinación de esporas, empleando quitosano en concentraciones entre 0,01 y 0,25mg/mL, siendo esta última concentración la que logró una total inhibición de la germinación para ambos pesos moleculares de quitosano. Se elaboraron films de las dispersiones de quitosano de concentración 10 mg/mL mediante la técnica de casting. Para estos films se determinó la solubilidad en agua, contenido de humedad y permeabilidad al vapor de agua, observándose diferencias significativas entre los quitosanos de diferente peso molecular. En base a estos resultados resulta interesante profundizar en los ensayos in vivo en fruta para determinar su posible uso como fungicida.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Selección de elementos conservados en genes de virulencia bacterianos para la implementación de una herramienta de detección de patógenos mediante secuenciación masiva. (#0279)

Álvaro González Revello [1]; Eliana Nervi [2]; Andrés Iriarte [3]; Pablo Zunino [2]; Claudia Piccini [2]; José Sotelo-Silveira [1]

1 - Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). 2 - Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). 3 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

El monitoreo microbiológico del agua con herramientas sensibles que aseguren la identificación de patógenos y sus capacidades patogénicas/tóxicas con alta especificidad asegura el mantenimiento de niveles de calidad adecuados. Actualmente, la detección se basa en cultivos y microscopía contando con claras limitaciones. Los avances en la detección de patógenos y sus regiones de patogenicidad/toxicidad, mediante nuevas técnicas genómicas, apoyan a las técnicas ya aceptadas por organismos de validación nacionales e internacionales. Este trabajo se enmarca en el desarrollo de una herramienta basada en el uso de multiplex PCR y secuenciación masiva capaz de detectar múltiples bacterias nocivas, en forma simultánea, en muestras de agua de ecosistemas acuáticos de nuestro país. Primariamente, nuestro ensayo se focalizó en el diseño de primers sobre regiones conservadas de 73 genes claves, vinculados a 46 regiones de patogenicidad y/o toxicidad perteneciente a más de 15 géneros bacterianos potencialmente patógenos. Dichas regiones se seleccionaron en base a criterios de conservación (análisis comparativo/evolutivo) que definen bloques conservados. En primer lugar, utilizando la secuencia de proteínas de referencia disponible en la base datos de GenBank, se realizó la búsqueda por similitud en base a un criterio mínimo de identidad (≥ 95%) y de cobertura (≥70%). Posteriormente se realizó el alineamiento en base a secuencias (tblastn) y la extracción de bloques conservados mediante la herramienta Gblocks. Para los 73 genes blanco, fue posible identificar al menos un bloque conservado, estos bloques de secuencias conservadas serán base para el diseño de primers del sistema PCR multiplex de Ampliseq. El desarrollo futuro de una herramienta capaz de caracterizar el perfil de patogenicidad/toxicidad bacterianos en muestras de agua, permitirá obtener información fundamental para establecer el grado de contaminación, seguir la evolución del nivel de toxicidad o inferir el posible origen de la misma entre otras aplicaciones.

EFECTO DE SUSTANCIAS "GRAS" (GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE) EM EL CONTROL DE HONGOS FITOPATOGÊNOS (#0281)

ESKÁLATH MORGANNA SILVA FERREIRA [1]; ANA CAROLINE PEREIRA DIAS [1]; PEDRO HENRIQUE BARBOSA FERNANDES [1]; ENYLSON XAVIER RAMALHO [1]; RAPHAEL SANZIO PIMENTA [1]

1 - UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS.

Resumen:
Rhizoupus stolonifer y Botrytis cinerea son hongos fitopatógenos involucrados em um grn número de enfermidades em poscosecha de frutos. El control de estos hongos se realiza actualmente por aplicación masiva de fungicidas. Sin embargo, la búsqueda de métodos alternativos de control se intensifica y dentro de ellos el uso de sustâncias "GRAS" se presenta como uma alternativa eficaz debido a sus efectos fungistáticos o fungicidas sobre fiotpatógenos. El objetivo de este trabajo consistió en estudiar el efecto de cuatro sustancias "GRAS" (bicarbonato de sódio, carbonato de calcio, cloruro de calcio e cloruro de potasio) en el control de crecimiento de R. stolonifer y B. cinerea. Los fitopatógenos se cultivaron em médio PDA suplementado con 1%, 1,5% y 3% de cada una de las sustancias GRAS citadas, excepto en el caso de cloruro de potasio para el cual se utilizaron concentraciones de 0,1%, 0,5% y 1%, conforme al limite adoptado por FAO/FDA como suplemento de alimentos. Luego 7 días de incubación el diámetro del micelio fue medido y comparado com un controle positivo. Los ensayos se realizaron por triplicado. De las cuatro sustâncias analizadas solamente el bicarbonato de sódio resultó efectivo como inhibidor in vitro del crecimiento de los fitopatogenos. Se obtuvo 100% y 60% de inhibición de R. stolonifer en presencia de 3% (BS) y 1,5% de (BS), respectivamente. Con B. cinerea se obtuvieron resultados semejantes, ocurriendo 100% de inhibición en medio suplementado com 3% (BS) y 60% de inhibición en meio suplementado con 1,5% (BS). Las restantes substâncias "GRAS" no fueron capaces de reducir o inhibir el crescimento micelial de los fitopatógenos. El bicarbonato de sódio resultó eficiente em el control de los fitopatogenos estudiados y se presenta como uma posible alternativa para el control de estos hongos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Diversidad y distribución global del filo *Chloroflexi* en reactores UASB escala real de tratamiento de aguas residuales. (#0288)

Patricia Bovio [1]; *Angela Cabezas* [1]; *Claudia Etchebehere* [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
La digestión anaerobia es el proceso por el cual la materia orgánica es oxidada hasta metano, potencial fuente de energía renovable. Diversos estudios han identificado un grupo de microorganismos presentes en todos los reactores formado por: *Chloroflexi*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. El filo *Chloroflexi* también ha sido reportado como grupo predominante, particularmente la clase *Anaerolineae*. Por su morfología filamentosa se ha propuesto un posible rol en la formación de gránulos en reactores UASB, pero su sobrecrecimiento podría estar relacionado con procesos de bulking. A pesar de ser frecuentemente reportados en reactores anaerobios, su rol no está claro debido a que hay muy pocos representantes cultivados. En nuestro laboratorio, se estudiaron mediante secuenciación masiva del gen de ARNr 16S, 5 reactores UASB escala real, donde el filo *Chloroflexi* presentó una abundancia relativa entre 2 y 33%. La mayoría de las secuencias fueron clasificadas dentro de la clase *Anaerolineae* ¸ las OTUs predominantes formaron un cluster con secuencias de miembros no cultivados detectados en otros trabajos. El objetivo del presente trabajo es determinar en diferentes UASB qué grupos dentro del filo *Chloroflexi* están presentes, cual es su abundancia relativa y si existe un grupo que esté presente en todo los reactores. Se realizará la búsqueda en bases de datos de secuencias del gen de ARNr de 16S obtenidas mediante secuenciación masiva de reactores UASB y se analizarán mediante la plataforma QIIME, focalizando el análisis en el filo *Chloroflexi*. Las secuencias mas abundantes serán utilizadas para análisis filogenéticos con el programa MEGA 7. Hasta el momento, se realizó el diseño y puesta a punto del análisis de secuencias obtenidas de Illumina mediante la plataforma QIIME. Este estudio contribuirá en la determinación de la diversidad y abundancia del filo *Chloroflexi* en UASB escala real, para comprender su rol en estos sistemas de tratamiento.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis de comunidades bacterianas en muestras de agua: puesta a punto de un protocolo *in-house* basado en secuenciación masiva del gen ribosomal 16S. (#0289)

Eliana Nervi Faggiani [1]; Álvaro Gonzales Revello [2]; Florencia Bertoglio [1]; Andrés Iriarte [3]; Gabriela Martínez de la Escalera [1]; José Sotelo Silveira [2]; Claudia Piccini [1]

1 - Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). 2 - Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). 3 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:

La intensificación en el uso del agua ha llevado a la pérdida de calidad de este recurso dando lugar a serios problemas ambientales, de salud y económicos en todo el mundo. Es necesario alcanzar óptimas condiciones ecológicas en los cursos de agua para asegurar su uso saludable y sustentable. Algunos microorganismos presentes en el agua son causantes de toxicidad y/o patologías severas, por lo que su monitoreo es fundamental. A causa de la eutrofización ocurren episodios de floración de los órdenes *Chroococcales*, *Oscillatoriales* y *Nostocales*, potencialmente tóxicas en cuerpos de agua dulce y estuarios marinos. Actualmente se acepta que la diversidad bacteriana heterótrofa acuáticase relaciona con la presencia de floraciones, aunque otroscambios en la estructura comunitaria y/o los efectos combinados de la eutrofización y la contaminación,son poco conocidos. Un enfoque interesante para el estudio microbiológico de muestras ambientaleses el uso de la secuenciación masiva, una herramienta altamente sensible, rápida y cuantitativa. Utilizando esta aproximación sobre el gen codificante para el ARNr 16S, en este trabajo caracterizamos la diversidad bacteriana en muestras de agua tomadas en un gradiente espaciala lo largo del río Uruguay y del Río de la Plata. Al mismo tiempo analizamos los resultados en base al origen de las muestras (agua dulce, frente estuarino o marino) y a la presencia de cianobacterias tóxicas, en relación a variables ambientales bióticas y abióticas. Finalmente, determinamos las variables claves relacionadas a la presencia de cianobacterias y otros patógenos en el agua. Los resultados muestran que existen diferencias relevantes en la composición de la comunidad bacteriana dulceacuícola y marina. Observándose una disminución en la riqueza de especies de bacterias heterótrofas en presencia de una floración de *Microcystis aeruginosa*.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Bradirizobios pre-incubados con flavonoides: una estrategia para mejora del rendimiento en cultivos de soja (#0309)

Braulio Riviezzi [1]; Célica Cagide [1]; Cecilia Herrmann [2]; Rodrigo Lombide [2]; Susana Castro-Sowinski [3]; María Morel [1]

1 - Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Av. Italia 3318, 11600, Montevideo, Uruguay.. 2 - LAGE y Cía. S.A. Cno. Carrasco 6948, 11500 Montevideo, Uruguay. 3 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR, Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay..

Resumen:

La soja (*Glycine max*), un cultivo altamente demandante de nitrógeno, puede obtener este nutriente por fijación biológica de nitrógeno (FBN) cuando se asocia simbióticamente con bradirizobios. Esta asociación resulta de una comunicación a nivel molecular entre microorganismos y plantas, y lleva a la formación de nódulos radicales donde ocurre el proceso de FBN. Los flavonoides exudados por las raíces, cumplen un rol clave en el inicio de este diálogo molecular, pues desencadenan la producción de factores de nodulación por los rizobios (y finalmente la formación de nódulos). Nuestros objetivos fueron evaluar el efecto de pre-incubar bradirizobios con flavonoides sobre la nodulación y el rendimiento de soja en condiciones de invernáculo, y la sobrevivencia de los bradirizobios sobre las semillas inoculadas. Las semillas se inocularon con *Bradyrhizobium elkanii* U1301 y U1302 crecidos en presencia y ausencia de flavonoides. Se cosecharon plantas en tres estadios de crecimiento: cuarto nudo (V4), floración completa (R2) y madurez fisiológica (R8). En V4 y R2 se analizó el peso seco (PS) de parte aérea (PA) y raíz, el largo de PA, y número y PS de nódulos. En R8 se analizó la biomasa aérea, el número y peso de chauchas y granos, e índice de cosecha. Los datos se sometieron a análisis estadístico. Se observó que el agregado de flavonoides no afecta la adherencia ni sobrevivencia de los bradirizobios sobre las semillas, y que incrementa la biomasa aérea seca y el número y PS de nódulos en raíces secundarias de plantas en R2. En R8 produjo un mayor número de chauchas y granos, en relación a las semillas inoculadas con bradirizobios sin pre-tratamiento. Estos resultados sugieren que algunos metabolitos involucrados en la comunicación microorganismo-planta pueden ser útiles para la mejora de inoculantes tradicionales. Agradecimientos y financiación: PIEP (MIEM) y LAGE y Cía. S.A.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Aislamiento y caracterización de bacterias en el ambiente de un laboratorio de análisis microbiólogo de aguas (#0027)

Gretel Vivian Duarte Muñoz [1]; *Verónica Prieto González* [1]; *Patricia Draper Pastorino* [1]

1 - OSE.

Resumen:

En el área Bacteriología de la GGL de OSE se procesan muestras de agua de red, de plantas de depuración y de cursos de agua de todo el país. Como parte del aseguramiento de la calidad se controla el ambiente de trabajo por sedimentación en placas con una periodicidad quincenal. Para ello, en cada Control Ambiental se exponen 11 placas conteniendo TSA distribuidas en toda el área, durante 4 horas y se incuban a (36 ± 2) °C por 72 horas. Con el objetivo de conocer la población bacteriana recuperada en el control ambiental se realizó la descripción morfológica de las colonias, tinción Gram, prueba oxidasa y la identificación por secuenciación del gen ARNr 16S en el transcurso de un año. Cepas recuperadas en los controles fueron sembradas en los medios de cultivo de rutina para corroborar que no interfieran en los ensayos de análisis. De 23 Controles Ambientales realizados en un año se analizaron las placas correspondientes a 17, totalizando 187 placas. Se detectaron 22 morfologías de colonia diferentes, de las cuales 4 estaban presentes en al menos una placa en cada Control Ambiental. Se identificaron 17 aislamientos por análisis de secuencia del gen ARNr 16S, obteniéndose 9 géneros diferentes. *Micrococcus, Rathia, Microbacterium y Staphylococcus* fueron los recuperados siempre en al menos una placa de cada control estudiado. De los resultados obtenidos es posible concluir que ninguno de los 9 géneros identificados interfiere en los ensayos de rutina realizados en el área, datos que concuerdan con la bibliografía. Como perspectiva se propone extender el análisis de Control Ambiental a todas las Áreas del Laboratorio de la GGL, así como también la caracterización de la comunidad fúngica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Calidad del agua potable en Uruguay durante la primavera previa al fenómeno climático de El Niño. (#0029)

Soledad Martínez [1]; Gastón Ares [2]; Gabriela Da Rosa [1]; Virginia Ferreira [1]; Cesar Iglesias [1]; Javier Menes [3]; Alexandra Sixto [4]; María Pía Cerdeiras [1]

1 - Cátedra de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química.. 2 - Sensometría y Ciencia del Consumidor, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química. 3 - Unidad Asociada de Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica. 4 - Unidad de Análisis de Agua, Facultad de Química.

Resumen:

La distribución de agua potable segura y los servicios de saneamiento son pilares fundamentales para la sociedad. Existe especial preocupación en cuanto a la calidad del agua, su escasez, el cambio climático, las inundaciones, las sequías, la utilización de la energía y el daño que le pueda provocar todo ello a la salud humana. De esta forma aparecen nuevos e importantes desafíos para la industria del agua. El presente trabajo expone resultados de análisis microbiológicos y fisicoquímicos realizados en 251 muestras de agua tomadas en diferentes lugares de Uruguay durante la primavera del año 2015. Sólo el 9.6% de las muestras no cumplieron con los requisitos microbiológicos. Los incumplimientos debidos a la presencia de coliformes totales, determinados con un kit comercial incrementan dicho resultado hasta un 14%. La confirmación de los resultados positivos obtenidos con dicho kit fue realizada en CLT (caldo lauril triptosa) incubado durante 48hs para observar la producción de gas. Aquellas muestras que no produjeron gas fueron subcultivadas en diferentes medios sólidos a partir de los cuales se obtuvieron 20 aislamientos. Posteriormente, éstos fueron caracterizados mediante pruebas fenotípicas e identificados según la secuencia del gen codificante del ARNr 16S. Los resultados microbiológicos y fisicoquímicos fueron analizados mediante Analisis Multifactorial (AMF), teniendo en cuenta un grupo de variables cualitativas (parámetros microbiológicos) y otro de variables cuantitativas (parámetros fisicoquímicos). Las primeras cinco dimensiones del AMF explican el 83.2% de la varianza de los datos experimentales. Un análisis de cluster de tipo jerárquico fue realizado para identificar grupos de muestras con características similares. Seis grupos de muestras fueron identificados con diferencias en sus características fisicoquímicas y microbiológicas. Tres de los grupos no cumple con los parámetros microbiológicos (9.6% de las muestras), mientras los demás sí los cumplen pero presentan diferencias en cuanto a las características fisicoquímicas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Producción de 6,4 fotoliasa: una enzima de interés dermatológico (#0044)

Juan José Marizcurrena [1]; *Susana Castro-Sowinski* [1]

1 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay.

Resumen:

La irradiación UV proveniente del sol da lugar a la formación de dímeros de ciclobutano de pirimidinas (CPD) y 6,4-fotoproductos a nivel del ADN. La reparación de estas lesiones es de esencial importancia debido a su potencial altamente mutagénico. Existen diversas estrategias para la remoción de los mismos, pero para algunos organismos son particularmente importantes los mecanismos de reparación mediados por las fotoliasas. Estas enzimas son capaces de revertir estas lesiones. Sin bien la formación y la reparación de las lesiones tipo CPD están bien estudiadas, poco se conoce acerca de las lesiones tipo 6,4-fotoproductos y de las 6,4-fotoliasas. Evidencia reciente sugiere que los 6,4-fotoproductos también juegan un rol importante en la generación de cáncer de piel en humanos, más que los CPDs. Las 6,4-fotoliasas, enzimas que se creían que estaban restringidas a los eucariotas, usan luz azul para llevar a cabo la reparación, fenómeno conocido como fotorreparación. Actualmente estas enzimas se han empezado a reportar en bacterias. En este trabajo, mediante secuenciación completa de un genoma, identificamos una 6,4-fotoliasa proveniente de una bacteria antártica del género *Sphingomonas*. La secuencia codificante de esta enzima se sintetizó y optimizó para su posterior producción recombinante en *Escherichia coli.* Se puso a punto la producción de la enzima con alto rendimiento, obteniéndose mayoritariamente en la fracción soluble, y se purificó por cromatografía de afinidad a metales (IMAC). La utilización de 6,4-fotoliasas aún no es un nicho explorado en el mercado dermatológico, pero esta enzima tendría el potencial de reparar las lesiones causadas por la irradiación UV, que derivan en la formación de cáncer de piel. Como perspectiva se espera emplearlas en conjunto con CPD-fotoliasas, para así ampliar el espectro de acción de las cremas fotorreparadoras.

Identificación y caracterización de bacterias antárticas productoras de carotenoides (#0177)

Florencia Risso [1]; *María Eugenia Vila* [1]; *Verónica Saravia* [1]

1 - Facultad de Ingeniería.

Resumen:

Los carotenoides son isoprenoides sintetizados por todos los organismos fotosintéticos y algunos no fotosintéticos como bacterias y hongos. Los seres humanos, incapaces de sintetizar carotenoides de novo, deben incorporarlos mediante la dieta ya que son importantes antioxidantes. Las bacterias antárticas de naturaleza psicrotolerante, han desarrollado estrategias como la producción de pigmentos para sobrevivir en condiciones extremas. El aislamiento y la alta presión selectiva a la que esos microorganismos han sido sometidos motiva el estudio de las bacterias antárticas como productoras de pigmentos naturales. Este trabajo tiene como objetivo aislar, caracterizar e identificar bacterias antárticas productoras de pigmentos. Se aislaron 20 cepas de muestras recolectadas en Isla Rey Jorge, seleccionándose para su identificación aquellos en los que se detectó producción de pigmentos coloreados amarillos y anaranjados. La identificación de las cepas se realizó por TP-RAPD fingerprinting y secuenciación del ADNr 16S. El análisis filogenético evidenció la presencia de cuatro géneros, mostrando un predominio del género *Arthrobacter.* Para caracterizar las cepas se evaluó su crecimiento en placas de TSA a cuatro temperaturas. Éstas crecieron a 4, 10 y 24°C, no observándose crecimiento a 37°C. Con el fin de caracterizar los pigmentos producidos, se analizaron las muestras extraídas mediante espectrofotometría (UV-visible) y HPLC. De acuerdo a la longitud de onda de los máximos de absorción y la estructura fina de los espectros de todos los extractos analizados, se presume la presencia de carotenoides. Del análisis en HPLC, se pudieron identificar tentativamente por coelución con estándares, la presencia de zeaxantina y luteína en los extractos de las cepas de *Flavobacterium antarcticum* y *Chryseobacterium marinum.*Considerando que dichos carotenoides tienen interés comercial, se continuará el estudio con fermentación en matraces para optimizar de las condiciones operativas y el diseño del medio de cultivo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

¿El tamaño importa? (#0191)

Susana Deus Alvarez [1]; Carla Kruk [2]; Gabriela Martínez de la escalera [1]; Claudia Piccini [1]

1 - Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE).
2 - Ecología Funcional de Sistemas Acuáticos, CURE-Rocha.

Resumen:
Las floraciones de cianobacterias son una seria amenaza para la salud humana y para los ecosistemas acuáticos debido a su producción de cianotoxinas, siendo las especies del complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) las generadoras de floraciones más frecuentes a nivel mundial. Las especies del CMA son coloniales, productoras de microcistinas y algunos estudios sugieren que existen diferencias en la producción de cianotoxinas relativas al tamaño de la colonia, sugiriendo que podría usarse como un bio-marcador de la calidad del agua. Se ha propuesto que las colonias más tóxicas serían aquellas mayores a 100μm, aunque la relación tamaño-toxicidad no sería lineal y la toxicidad disminuiría en colonias mayores a 270μm. El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación entre diferentes fracciones de tamaño de colonias del CMA y su toxicidad. Para ello, las muestras de agua se tamizaron en cuatro fracciones de tamaños y se cuantificó la abundancia y expresión del gen *mcyE* (involucrado en la síntesis de microcistinas) mediante qPCR a cada fracción. Se observó que la mayor abundancia del gen *mcyE* correspondía a la fracción de tamaño intermedio (entre 150 y 50μm) y mediante la generación de modelos estadísticos observamos que el biovolumen de esta fracción fue la principal variable que explicó la abundancia del gen *mcyE*. Ligado a esto se obtuvo que la mayor expresión del gen se dio en las fracciones intermedias y mayores. Finalmente, el análisis de diversidad de genotipos tóxicos (mediante *High Resolution Melting Analysis*) demostró la presencia de dos genotipos, uno que agruparía a las mayores de 50μm y otro a las menores, explicando de este modo las diferencias en la abundancia y expresión del gen. Este trabajo confirmó que existe una relación entre el tamaño y la toxicidad de las colonias del CMA, aunque esta relación no sería lineal.

Probióticos como estrategia para mejorar la salud de las abejas: optimización del protocolo de aplicación (#0207)

Daniela Arredondo [1]; *Pablo Zunino* [1]; *Karina Antúnez* [1]

1 - Departamento de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:
El consumo de probióticos es una estrategia ampliamente utilizada con el fin de mejorar la salud de humanos y animales. En el caso de las abejas melíferas, es una alternativa interesante, ya que a pesar que éstas son afectadas por múltiples patógenos, no es recomendable el uso de antibióticos para su control. En estudios previos de nuestro grupo de investigación se obtuvo un probiótico compuesto por cuatro cepas de *Lactobacillus kunkeei*, aisladas de la microbiota intestinal de abejas. Su administración en modelos de cría de abejas y larvas en condiciones controladas de laboratorio resultó segura; y logró disminuir la infección por el hongo *Nosema ceranae* en abejas y la bacteria *Paenibacillus larvae* en larvas. El objetivo del presente trabajo fue optimizar el protocolo de aplicación del probiótico para su futura aplicación en colmenas. En primer lugar se puso a punto una metodología basada en PCR en tiempo real para la cuantificación de *L. kunkeei* en abejas. Posteriormente se administró el probiótico por vía oral (en jarabe) en un modelo de cría de abejas en laboratorio, en diferentes dosis y frecuencias, y se evaluó la persistencia de estas cepas en el intestino de las abejas. La metodología de PCR cuantitativo nos permitió detectar y cuantificar el número de células de *L. kunkeei* en el intestino. Se encontró que luego de las 72 hs luego de la administración del probiótico comienza a aumentar el número de células de *L. kunkeei* en el intestino. El máximo se alcanza entre el quinto y séptimo día luego de la administración. Resultados similares se obtuvieron al analizar diferentes dosis. Estos resultados fueron tenidos en cuenta en el diseño del ensayo de campo que se está realizando actualmente, con el fin de evaluar el impacto del probiótico en la salud de colmenas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Variables ambientales que determinan la abundancia de cianobacterias tóxicas en el embalse de Salto Grande (Río Uruguay) (#0234)

Facundo Lepillanca [1]; Claudia Piccini [1]; Gabriela Martínez de la Escalera [1]; Facundo Bordet [2]; Inés O´Farrel [3]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Comisión Técnica Mixta de Salto Grande. 3 - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Resumen:

Las floraciones de cianobacterias afectan a los animales y los ecosistemas acuáticos, afectando la disponibilidad de oxígeno, el ciclado de nutrientes, la estructura de las comunidades y la composición de la cadena trófica. Además, algunas especies tienen la capacidad de producir cianotoxinas, constituyendo una amenaza para el consumo de agua. Según su modo de acción las toxinas pueden ser clasificadas en: hepatotoxinas (microcistinas, MCY), neurotoxinas (saxitoxinas, SXT) y otras. El objetivo de este trabajo es dilucidar la potencial toxicidad de muestras del embalse de Salto Grande obtenidas durante seis meses (verano e invierno), las que presentaron especies de cianobacterias potencialmente productoras de microcistinas y saxitoxinas (Microcystis y Dolichospermum, respectivamente). Se evaluó si la presencia y abundancia de dichas especies se correlacionó con la presencia y abundancia de genes involucrados en la síntesis de MCY (gen mcyE) y SXT (gen sxtU). Para ello, se puso a punto un método para extraer ADN de muestras fijadas con lugol durante más de un año y se cuantificó el número de copias de mcyE y sxtU mediante qPCR en tiempo real. La presencia de mcyE se detectó en todos los sitios durante ambas estaciones del año, correlacionándose positiva y significativamente con la abundancia de células de Microcystis, la cual a su vez se asoció positivamente con la temperatura. Por otro lado, sxtU solo fue detectado en un sitio en ambas estaciones del año, asociado positivamente a la temperatura y a la concentración de fosfato. Cuando se usó la concentración de ADN como indicador de la biomasa total, también se encontró una correlación positiva con la temperatura. Nuestros resultados sugieren que a mayores temperaturas se genera una mayor biomasa de cianobacterias, especialmente de especies tóxicas del género Microcystis. En el caso de especies d e Dolichospermum, su abundancia estaría principalmente influída por los nutrientes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Efecto de la salinidad sobre el complejo *Microcystis aeruginosa* (#0241)

Gabriela Martínez de la Escalera [1]; *Carla Kruk* [2]; *Ángel Segura* [2]; *Susana Deus* [1]; *Claudia Piccini* [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Centro Univesitario Regional Este, Sede Rocha, UdelaR.

Resumen:

Las especies de cianobacterias del complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) generan floraciones tóxicas típicas en ecosistemas límnicos, reportándose que el aumento de salinidad afecta negativamente su crecimiento. Diversos trabajos han demostrado que algunas especies del CMA responden diferencialmente a los aumentos de salinidad, ocurriendo lisis celular a salinidades similares a las estuarinas. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de la salinidad sobre especies del CMA típicas de ecosistemas límnicos. Para ello, una muestra de agua del embalse de Salto Grande dominada por organismos del CMA y se incubó 10 días en salinidades de 5, 10 y 25. Se analizó la abundancia y expresión del gen *mcyE,* involucrado en la síntesis de microcistinas, mediante qPCR. La biomasa del complejo MCA se mantuvo constante en las tres condiciones de salinidad pero la abundancia de genotipos tóxicos aumentó luego de diez días de incubación a salinidades de 5 y 10, pero no a 25. La expresión del gen *mcyE* aumentó significativamente luego de cuatro horas de incubación a salinidades de 5 y 10 y se inhibió completamente en la salinidad de 25. Estos resultados muestran que las especies del CMA pueden tolerar salinidades similares a las estuarinas y que su toxicidad está relacionada con la magnitud del estrés salino. El análisis de diversidad de genotipos tóxicos mediante *High Resolution Melting Analysis* demostró que diferentes salinidades seleccionan distintas poblaciones del CMA. Se propone que cuando las especies del CMA son transportadas de un ecosistema de agua dulce a agua salobre enfrentan un estrés salino (salinidades entre 5 y 10) que estimula la síntesis de toxinas y selecciona genotipos específicos y luego inhibirse cuando se enfrenta a salinidades mayores (25).

Sábado

15:00 - 17:00 **SUM**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUM - #0314, #0320, #0343, #0350, #0354, #0368, #0121, #0215, #0114, #0145, #0214, #0254, #0205,

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Efecto inhibidor del kéfir de agua sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* y la biosíntesis de aflatoxina in vitro y en piensos avícolas. (#0314)

Angie Alvarez [1]; Ángela León [2]; Raúl Gamba [2]; Gabriela Garmendia [1]; Andrés Caro [2]; Graciela De Antoni [2]; Silvana Vero [1]

1 - Facultad de Química. 2 - Facultad de Ciencias Exactas.

Resumen:

La aflatoxina B1 es una micotoxina cancerígena producida por cepas de *A. flavus*, por lo que el suministro de dietas contaminadas con aflatoxina ocasiona serios problemas en la salud de las aves de corral. En este trabajo se evaluó el efecto inhibidor del kéfir de agua, obtenido mediante fermentación con solución de "panela", sobre el crecimiento de *A. flavus* y sobre la biosíntesis de aflatoxina in vitro y en piensos avícolas. Para ello se mezcló ración de aves, previamente esterilizada, con producto fermentado o con sobrenadante libre de células. Como control se utilizó una mezcla de ración con igual volumen de agua estéril. Las mezclas se secaron hasta alcanzar una actividad de agua de 0.96 y se inocularon con una suspensión de conidias de *A. flavus* de forma de obtener 10^4 conidias/g. Se incubaron a 28 ^{0}C durante 5 y 10 días. Luego de la incubación, el crecimiento de *A. flavus* se cuantificó por PCR en tiempo real y la producción de aflatoxina mediante un kit comercial. Los resultados indican diferencias significativas en el crecimiento de *A. flavus* y en la producción de aflatoxina en muestras tratadas cuando se compara con las muestras control, después de los 10 días de incubación. Al décimo día de incubación se encontró que la cantidad de ADN de *A. flavus* en el control era 100 veces mayor que en el tratamiento con kefir. Las aflatoxinas en el control superaron las 100 ppb (límite superior del método), mientras que en el tratamiento llegaron a 2 ppb. Los resultados obtenidos muestran el potencial del kéfir de agua como biopreservador de piensos avícolas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

PRESENCIA DE GENES DE VIRULENCIA EN *SALMONELLA ENTERICA* AISLADAS DE CASOS DE DIARREA Y MORTALIDAD EN TERNEROS DE TAMBOS DE URUGUAY (#0320)

María Laura Casaux [1]; Carlos Schild [1]; Darío Caffarena [1]; Federico Giannitti [1]; Franklin Riet-Correa [1]; Martín Fraga [1]

1 - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

Resumen:

Salmonella enterica causa diarrea neonatal, septicemia y muerte en terneros. Los serotipos más frecuentes, Dublin y Typhimurium, poseen factores de virulencia que intervienen en la patogenicidad. El objetivo de este trabajo fue detectar genes de virulencia (GV) de aislamientos de *Salmonella* de tambos de Uruguay. Se evaluaron 28 aislamientos: 16 de órganos entéricos y extraentéricos, 8 de materia fecal de animales con diarrea y 4 sin diarrea. Se determinaron los serotipos mediante antisueros polivalentes y se evaluó por PCR la presencia de los GV *spvB, iroN, pefA* y *msgA.* Veintitrés aislamientos fueron *S.* Typhimurium, dos *S.* Dublin, dos *S.* Anatum y uno *S.* Enteritidis. Veinticinco aislamientos presentaron el gen *spvB*, 21 el gen *pefA*, 28 el gen *msgA* y ninguno el gen *iroN.* El gen *spvB* se detectó en los serotipos Typhimurium (23), Dublin (2) y Enteritidis (1), pero no en Anatum. El gen *pefA,* estaba presente en Typhimurium (20) y en una cepa Dublin, pero no en Enteritidis y Anatum. El gen *msgA* se detectó en toda la colección. Los 8 aislamientos provenientes de animales con diarrea presentaron los 3 genes detectados, 2 aislamientos de animales sin diarrea presentaron todos los genes mientras que 2 no portaban ninguno. Los resultados concuerdan con la bibliografía en que el gen *spvB* sólo se encuentra en algunos serotipos. La presencia de *msgA* se asocia con la supervivencia dentro del macrófago. La determinación de adhesión e invasividad por el gen *pefA* en *S.* Typhimurium determina uno de los factores de producir enfermedad septicémica. La ausencia de *iroN* justifica el estudio de otros mecanismos de adquisición de hierro. La presencia de GV cromosómicos y plasmídicos, evidencian los atributos que tienen las cepas circulantes para producir enfermedad entérica y septicémica. Estos resultados alientan al estudio de los factores de virulencia de salmonelas bovinas en Uruguay.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Búsqueda de interactores intracelulares de la proteína de cápside del virus de la leucemia bovina (#0343)

Natalia Ibañez [1]; Mariana Margenat [1]; Federico Carrión [1]; Gonzalo Obal [1]; Natalia Olivero [1]; Martin Fló [1]; Sergio Bianchi [1]; Andres Addiego [1]; Otto Pritsch [1]

1 - Laboratorio de Inmunovirología, Instituto Pasteur Montevideo.

Resumen:

El virus de la leucemia bovina (VLB), perteneciente al género Deltaretrovirus, causa una enfermedad linfoproliferativa denominada Leucosis Enzoótica Bovina (LEB), que afecta principalmente a los linfocitos B bovinos, ocasionando linfocitosis y/o tumores malignos. Es la enfermedad neoplásica más frecuente del ganado bovino lechero y causa importantes pérdidas económicas en el sector agropecuario. En el virión maduro de VLB, el genoma se encuentra protegido dentro de la cápside viral, formada mediante el auto-ensamblado de una única proteína, la proteína de cápside (CA). En otros retrovirus, se ha reportado que la proteína CA interacciona con múltiples proteínas celulares que posibilitan la replicación del genoma, el desensamblado de la cápside, el pasaje al núcleo y la integración del genoma viral al genoma de la célula hospedera. Asimismo, la proteína CA también interacciona con proteínas del sistema inmune innato, que cumplen un rol antiviral. El objetivo del proyecto es identificar y caracterizar moléculas presentes en linfocitos bovinos, que interactúen con la proteína de la cápside viral de VLB. Utilizaremos para ello distintas estrategias experimentales de pull-down. En primer lugar, basándonos en el conocimiento adquirido por el grupo de trabajo sobre la estructura 3D de la cápside y su capacidad de ensamblar y desensamblar experimentalmente in vitro, utilizaremos directamente la proteína autoensamblada formando multímeros, que sedimentan en solución. Se utilizarán para ello diferentes extractos citosólicos de linfocitos obtenidos a partir de bazos bovinos normales. En segundo lugar, se inmovilizará covalentemente la proteína CA a diferentes matrices comerciales. Otra estrategia que utilizaremos será la búsqueda de interactores mediante el uso de agentes entrecruzantes. El análisis de los posibles interactores se realizará mediante espectrometría de masa. Identificar los factores que interactúan con la cápside de VLB resulta fundamental para comprender la biología del virus, conocimiento que resulta primordial para pensar estrategias para su erradicación.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Enteropatía por *Escherichia coli* enteropatogénica y *Cryptosporidium* spp. en una ternera de un rodeo lechero, con circulación de rotavirus grupo A en Uruguay (#0350)

Virginia Aráoz [1]; Ana Umpierrez [2]; Martín Fraga [1]; María Laura Casaux [1]; Darío Caffarena [1]; Matías Castells [3]; Magalí Fernández [2]; Noelia García [4]; Rodney Colina [3]; Pablo Zunino [2]; Franklin Riet-Correa [1]; Federico Giannitti [1]

1 - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay. 2 - Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay. 3 - Laboratorio de Virología Molecular, Universidad de la República, Salto, Uruguay. 4 - Veterinaria de Actividad Liberal.

Resumen:

La diarrea neonatal (DN) bovina es un síndrome multifactorial que puede ser causado por varios agentes infectocontagiosos, incluyendo bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*), virus (rotavirus A -RVA-, coronavirus bovino -BCoV-) y protozoos (*Cryptosporidium*). Su importancia radica en la alta frecuencia que tiene en rodeos lecheros, las pérdidas económicas asociadas y el potencial zoonótico de algunos de estos agentes. Se registró un episodio de DN, con 36 terneras afectadas y 3 muertes, en una crianza de 42 terneras en un tambo de Soriano. Se autopsió una ternera diarreica (A) y muestras de tejidos fijadas en formalina fueron procesadas para histopatología. Se recolectaron muestras de materia fecal (MF) del animal autopsiado y de otras 4 terneras afectadas (BCDE). Las 5 MF se cultivaron en aerobiosis en agar McConkey y medio selectivo para *Salmonella,* y se realizó ELISA para detección de coproantígenos de *Cryptosporidium*, rotavirus, BCoV y *E. coli* F5, y PCR para detección de RVA y BCoV. La histopatología reveló extensa colonización de cocobacilos en la superficie apical, con efecto de adhesión y barrido, en los enterocitos colónicos, y colonización superficial con protozoos compatibles con *Cryptosporidium* en el intestino delgado. Se aisló *E. coli* de los 5 terneros, la genotipificación de colonias obtenidas del caso A reveló los genes *eae* (intimina), *ehxA* (enterohemolisina) y *saa* (adhesina autoaglutinante), indicando un patotipo enteropatogénico (EPEC). Se detectó *Cryptosporidium* en los terneros AB y DE, y rotavirus en los casos CD por ELISA, mientras que la PCR fue positiva a RVA en los casos BCDE. Las restantes pruebas fueron negativas. Los resultados permiten confirmar un diagnóstico de enteropatía por EPEC y *Cryptosporidium*, con circulación de RVA en el rodeo, y resaltan la complejidad etiológica del síndrome de DN. Estudios más amplios son necesarios para evaluar la importancia relativa de los agentes causales de DN en Uruguay.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Variabilidad genética del virus Distemper Canino en Sudamérica (#0354)

Eddie Fuques [1]; Yanina Panzera [1]; Ruben Perez [1]; Maila Barcellos [1]

1 - Facultad de Ciencias.

Resumen:
El virus Distemper Canino (CDV) (*Paramyroviridae-Morbillivirus*) es el agente causante de una importante infección multisistémica. Se encuentra distribuido a nivel mundial y es capaz de afectar a todas las especies de carnívoros, terrestres y marinos. CDV cuenta con un genoma de ARN no segmentado (15.7 KB) de polaridad negativa que codifica para seis proteínas estructurales. Diversas regiones del genoma han sido utilizadas para clasificar las variantes genéticas de CDV circulantes en el mundo. La presencia de regiones sujetas a una variación genética más elevada que el resto, como el gen H y la región del péptido señal de la proteína de Fusión (Fsp) llevaron a que la clasificación se centrara fundamentalmente en estas regiones. Análisis filogenéticos anteriores revelan la existencia de al menos doce linajes hasta el momento en todo el mundo. Cuatro de ellos circulan en Sudamérica: EU1/SA1, SA2, SA3 y SA4. Estos han sido registrados en Argentina, Brasil, Colombia, Ecuador y Uruguay. El número de linajes presentes en nuestro continente, y la elevada tasa de mutación que presentan los virus ARN, justifican la gran importancia del constante relevamiento de las cepas circulantes en la región. Mantener un seguimiento del curso evolutivo de CDV puede ser utilizado como herramienta para evaluar la efectividad de vacunas y/o detectar casos de reversiones de las mismas. A su vez resulta útil el análisis de más de una región del genoma, que permitan detectar eventuales casos de recombinación. En el presente trabajo se establecieron las relaciones filogenéticas entre todas las cepas registradas hasta el momento en Sudamérica, utilizando la región Fsp, un fragmento del gen H, y finalmente el gen H completo. Los resultados obtenidos aportan información acerca de la gran variabilidad que presenta CDV en Sudamérica, siendo uno de los continentes donde este patógeno cuenta con mayor diversidad.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

RELEVAMIENTO DE ESPECIES DE *CAMPYLOBACTER* PRESENTES EN EL TRACTO GENITAL DE BOVINOS EN URUGUAY (#0368)

Maila Barcellos [1]; Ruben Pérez [2]; Laura Betancor [3]; Caroline Da Silva [4]; Rafael Delpiazzo [5]; Martín Fraga [4]; Eddie Fuques [2]; Gregorio Iraola [6]; Melissa Macías [4]; Lucía Calleros [2]

1 - Sección Genética Evolutiva, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.. 2 - Sección Genética Evolutiva, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 3 - Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 4 - Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria INIA, La Estanzuela, Plataforma de Salud Animal. 5 - Departamento de Salud de los Sistemas Pecuarios, EEMAC, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay. 6 - Institut Pasteur de Montevideo, Institut Pasteur de Montevideo/ Unidad de Bioinformática.

Resumen:

Las especies del género *Campylobacter* son bacterias Gram negativas de gran importancia sanitaria. La mayoría coloniza el tracto genital y gastrointestinal de vertebrados. En humanos, las infecciones con *Campylobacter* son zoonosis cuyo factor de riesgo más importante es el contacto directo con animales infectados. En bovinos, la especie que causa mayores problemas sanitarios es *Campylobacter fetus,* que también infecta humanos. La subespecie *C. fetus* subsp. *fetus* puede provocar abortos esporádicos en vacunos y se contagia vía fecal-oral, mientras que *C. fetus* subsp. *venerealis* es la causante de la Campylobacteriosis Genital Bovina, una enfermedad endémica que produce infertilidad y grandes pérdidas económicas. En este trabajo se realizó un relevamiento de *Campylobacter* spp. encontradas en el tracto genital de vacunos con problemas de fertilidad en Uruguay. Se aplicó una metodología estandarizada en nuestro laboratorio para el diagnóstico del género mediante amplificación por PCR de un fragmento de 816 pb del gen que codifica para el ARNr 16S. Los amplicones fueron secuenciados para la identificación de especies. El 90% de las muestras en las cuales se logró detectar *Campylobacter* provenían de raspajes prepuciales, el resto eran muestras de mucus vaginal. El 41% de los amplicones obtenidos correspondió a especies de *Campylobacter* ya descritas (*Campylobacter. fetus*, *Campylobacter. corcagiensis*, *Campylobacter. ureolyticus*, *Campylobacter. curvus*, *Campylobacter. concisus*, *Campylobacter. sputorum*, *Campylobacter. hyointestinalis*), el 38% no se pudo asignar a ninguna especie conocida presentando una identidad menor al 97%. El 21% presenta identidad con *Arcobacter cryaerophilus* que causa abortos en porcinos. Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio de la prevalencia de *Campylobacter* en el tracto genital bovino. Es importante continuar con el análisis para el correcto diseño de metodologías de diagnóstico que eviten reacciones cruzadas con *Arcobacter* y para aportar conocimiento de especies novedosas y del rol que cumplen en la salud reproductiva de los bovinos.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Aplicación de un activador biológico para disminuir del uso de agroquímicos en cultivos de soja y cítricos (#0254)

Agustina Queirolo [1]; Daniella Senatore [1]; Gastón Carro [2]; Nelson Diez [3]; Natalia Bajsa [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Centro Uruguayo de Tecnologías Apropiadas (CEUTA). 3 - Clínica del Suelo, Paysandú.

Resumen:
El rápido deterioro de los suelos en Uruguay ha sido producto de la intensificación agrícola, el uso de agroquímicos y la falta de diversificación productiva, entre otros. La búsqueda de alternativas que provean sustentabilidad al sistema agrícola y hortifrutícola es necesaria, apuntando a alimentos de mejor calidad y más sanos. Los microorganismos son un componente clave para el funcionamiento y la sustentabilidad de los suelos, contribuyendo a la nutrición y bienestar de las plantas. La actividad y composición de sus comunidades son ampliamente afectadas por las prácticas agrícolas. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la aplicación de un producto agrícola (FoliarBlend) que estimula la actividad biológica del suelo mejorando el ciclado de nutrientes, que contiene carbohidratos, aminoácidos, micronutrientes quelatados y ácido salicílico. Se establecieron ensayos en cultivos de soja y cítricos con dos tratamientos (y 3 repeticiones): aplicación del producto y uso convencional de agroquímicos. Se tomaron muestras de suelo para realizar una línea de base determinando parámetros microbiológicos y químicos, y su estado de salud por cromatografía. Se determinó la abundancia de poblaciones cultivables de bacterias heterótrofas aerobias, actinobacterias, hongos y levaduras (mediante recuento en placa), y se cuantificaron las bacterias amonificantes (por la técnica de número más probable). Además, se determinó la actividad microbiana por respirometría y se midieron las siguientes variables: carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo disponible, hierro, azufre, zinc, magnesio, bases, pH y CIC. Mediante cromatografía de suelos se realizó un análisis integral (estructura, minerales, materia orgánica, actividad y humus). Luego de 6 meses de aplicados los tratamientos se evaluarán las mismas variables además de parámetros productivos y de sanidad vegetal. Se busca promover el rendimiento y sanidad de los cultivos, disminuyendo la carga de insumos de síntesis química aplicados y mejorando la calidad nutricional y microbiológica del suelo. Financiación: AgriGro.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Determinación de los organismos causales de las enfermedades bacterianas que afectan en la cosecha y poscosecha de cebolla en Uruguay. (#0121)

Stefanie Isabella De Armas Falcone [1]; María Julia Pianzzola Alvarez [1]; María Inés Siri Tomás [1]; Guillermo Alesio Galván Vivero [2]

1 - Facultad de Química, Universidad de la República. 2 - Facultad de Agronomía, Universidad de la República.

Resumen:

El abastecimiento del mercado de cebolla presenta variaciones interanuales causadas principalmente por pérdidas que ocurren durante la conservación poscosecha. Existen varias causas que inciden en las variaciones en la conservación poscosecha, siendo una de ellas las enfermedades bacterianas que afectan en la cosecha y poscosecha. En este trabajo nos propusimos determinar los patógenos bacterianos que causan pudriciones en la poscosecha de cebolla. En una primera etapa, se realizó el aislamiento de los cultivos bacterianos y la identificación de los mismos a nivel de género basada en: observación microscópica y tinción de gram, pruebas bioquímicas primarias y amplificación y secuenciación del gen del ARNr 16S. Se obtuvieron varios géneros entre los cuales se encuentran *Burkholderia*, *Pantoea*, *Enterobacter* y *Pseudomonas* los cuales han sido reportados como fitopatógenos en la poscosecha de cebolla en la literatura. En una segunda etapa, se probó la habilidad patogénica de los aislamientos correspondientes a dichos géneros en plantas y bulbos de cebolla. Se inocularon discos, bulbos y plantas de cebolla mediante diferentes métodos y posteriormente se evaluó el nivel de severidad de la enfermedad en base al porcentaje de pudrición en los discos y bulbos y en base a una escala diagramática de enfermedad en hojas en las plantas. Como resultado se obtuvieron niveles de severidad elevados en algunos aislamientos específicos dentro de los géneros evaluados, por tanto podemos deducir que existen cepas más agresivas que otras dentro de un mismo género. En el género *Burkholderia* se presentó la cepa más agresiva. Se continuará con el análisis de nuevas muestras y se profundizará en la identificación de los aislamientos a nivel de especie. Este trabajo se enmarca dentro del proyecto titulado "Estabilizando la oferta nacional de cebolla: mejora del manejo y la sanidad durante la cosecha y curado".

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Emisión de metano e intermediarios metabólicos de la fermentación de exudados de plantas de arroz en rotaciones con otros cultivos. (#0145)

Luciana Pereira Mora [1]; *Ana Fernández Scavino* [1]

1 - Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, UdelaR, Montevideo, Uruguay..

Resumen:
Los cultivos de arroz presentan un gran interés ambiental, dado que al inundarse, se generan condiciones anaerobias propicias para la emisión de dos gases de efecto invernadero (GEI): CH_4 y N_2O. Estos gases son emitidos en momentos distintos y son producto de la actividad microbiana involucrada en los ciclos biogeoquímicos del carbono y del nitrógeno respectivamente. El gas que más contribuye al efecto invernadero es el metano, que es producido por archaeas metanogénicas que utilizan como sustratos productos de la hidrólisis y fermentación bacteriana de compuestos carbonados más complejos. El cultivo de arroz se alterna con pasturas y soja en secano. Esto cambia la complejidad de la materia orgánica, los nutrientes del suelo y la exposición de oxígeno de estos microorganismos. La hipótesis del trabajo es que las rotaciones de cultivo seleccionan poblaciones bacterianas que suministran diferentes metabolitos a las archaeas metanogénicas, y esto impacta en la velocidad o cantidad de emisión de dicho GEI. El objetivo de este trabajo es comparar el metano y los metabolitos acumulados en tres rotaciones de cultivo de arroz (arroz continuo, arroz-pasturas y arroz-soja) cuando se suministran sustratos similares a los exudados de plantas. Para ello se utilizaron suelos de un ensayo con 3 bloques para cada rotación de la estación experimental de Paso de la Laguna - INIA Treinta y Tres. Se realizó un ensayo de microcosmos, en anaerobiosis y se suministraron ácido succínico y ácido tartárico a cada tratamiento en paralelo. Las medidas de metano se realizaron por Cromatografía gaseosa con detector FID y los metabolitos se midieron por Cromatografía Líquida de Alta Presión con detectores UV e índice de refracción. Los resultados indican que hay diferencias significativas en el metano acumulado por los distintos tratamientos y que se generan diferentes intermediarios metabólicos de esos sustratos, sugiriendo poblaciones fermentadoras diferentes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Impacto del uso de diferentes cebadores en la abundancia y diversidad de comunidades diazótrofas asociadas a plantas de arroz (#0114)

Cecilia Ghiazza [1]; *Lucía Ferrando* [1]

1 - 1- Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Departamento Biociencias, Facultad de Química, UdelaR, Montevideo, Uruguay;.

Resumen:

La fijación de nitrógeno (reducción del N_2 atmosférico a NH_3 que es asimilable por las plantas) está ampliamente extendida entre los taxones procariotas incluyendo, bacterias y arqueas muy diversas. Pese a las diferencias morfológicas y fisiológicas de todos ellos, el proceso de fijación y el complejo enzimático nitrogenasa que lo lleva a cabo es similar. La nitrogenasa reductasa, está codificada por el gen nifH, marcador funcional utilizado. Las tasas de fijación de nitrógeno se han asociado tanto con la abundancia como la diversidad del gen nifH, y el conocimiento de la estructura y la dinámica de la comunidad diazótrofa son de gran importancia para comprender este proceso en distintos ecosistemas. Con este fin, se han diseñado diversos cebadores de PCR con el propósito de amplificar la secuencia de estos genes a partir de muestras ambientales. De acuerdo al relevamiento de cebadores disponibles y análisis *in silico* realizado por otros autores, muchos de los cebadores utilizados no presentan una buena cobertura de la diversidad de secuencias depositadas en las bases de datos, en particular de microorganismos anaerobios. En este trabajo se evaluaron dos pares de cebadores (PolF/PolR y F2/R6) como alternativas metodológicas para comparar la estructura de las comunidades diazótrofas de rizósfera y raíces de arroz de diferentes sistemas agrícolas, utilizando técnicas cuantitativas (qPCR) y de evaluación de la diversidad de comunidades bacterianas (T-RFLP). Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas en la abundancia de genes nifH relevada utilizando los diferentes cebadores para muestras de rizósfera y raíces de arroz, tanto para el muestreo en la etapa seca (condiciones aerobias), como inundada (condiciones anaerobias) del cultivo. Sin embargo, la diversidad bacteriana no parece verse afectada por los cebadores utilizados. Para ambos cebadores, las comunidades diazótrofas establecidas en raíces presentan mayor similitud entre sí que aquellas de rizósfera o suelo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

APROXIMACION GENOMICA A LA INTERACCION ENTRE BETA-RIZOBIOS Y LEGUMINOSAS NATIVAS (#0205)

María Cecilia Rodríguez [1]; Andrés Iriarte [2]; Laura Sandes [1]; Jose Sotelo [3]; Elena Fabiano [1]; Raúl Platero [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico. Instituto de Higiene. Facultad de Medicina. 3 - Departamento de Genómica.

Resumen:
Los rizobios comprenden un grupo reducido de bacterias pertenecientes a la subdivisión de alfa y beta de proteobacterias, cuya característica más notable es formar asociaciones simbióticas con plantas de la familia *Fabaceae*. Dicho establecimiento requiere un diálogo molecular el cual esta finamente regulado, exigiendo una expresión génica coordinada entre ambos organismos. Esta coordinación comienza cuando los organismos se reconocen mutuamente mediante el intercambio de señales en la rizósfera y culmina con la formación de órganos especializados en la raíz de las plantas hospederas, en los cuales las bacterias llevan cabo el proceso de fijación biológica de nitrógeno. Actualmente, la información sobre los factores implicados en el establecimiento de la simbiosis entre el rizobio y sus leguminosas hospederas provienen mayoritariamente de modelos en los que se han empleado alfa-rizobios. En base a esto, nos preguntamos cuales son las particularidades y similitudes del proceso simbiótico entre ambas. El objetivo de este trabajo es estudiar la expresión diferencial génica bacteriana en tres estadíos particulares utilizando una aproximación de genómica funcional, el RNAseq. Como modelo de estudio se eligió la cepa *Cupriavidus necator* UYPR2.512 y como planta hospedera *Mimosa pudica*. Para el estudio de la expresión génica de cada estadío, se utilizó ARN total proveniente de cultivos en medio líquido, cultivos en presencia de flavonoides y de nódulos de las raíces. Con el fin de obtener ARN mensajero para el armado de las librerías de cDNA, se realizó la depleción de las subunidades 16S y 23S del ARN ribosomal, utilizando un kit comercial. La calidad de los ARN mensajeros obtenidos fueron evaluadas mediante el cálculo del RIN. La secuenciación masiva de las librerías y su posterior análisis bioinformático permitirá la descripción de genes y rutas metabólicas expresadas durante la interacción, contribuyendo al entendimiento del proceso simbiótico entre beta-rizobios y leguminosas hospederas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

PRESENCIA, ABUNDANCIA Y DINÁMICA DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS DE RELEVANCIA AMBIENTAL ASOCIADAS A PLANTAS DE ARROZ DE DIFERENTES SISTEMAS DE INTENSIFICACIÓN AGRÍCOLA (#0214)

Andrea Martínez [1]; *Luciana Pereira* [1]; *Lucía Ferrando* [1]

1 - Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, UdelaR..

Resumen:
La producción arrocera uruguaya presenta uno de los mayores rendimientos a nivel mundial que hace difícil pensar en prácticas agrícolas tradicionales que permitan superar este techo. En los últimos años, se han buscado alternativas de intensificación que permitan aumentar los márgenes de ganancia. La sustitución de la pastura en rotación con arroz por otros cultivos como la soja, implica una mayor demanda de nutrientes. Estudios previos realizados mostraron que bacterias fijadoras de nitrógeno anaerobias, de muy diversa fisiología se encontraban asociadas a las raíces de arroz en la etapa anegada, predominando los microorganismos reductores de sulfato y desnitrificantes que participan en el reciclado de C y N y en las emisiones de gases de efecto invernadero en arrozales. En este trabajo se estudió la presencia, abundancia y dinámica de tres grupos microbianos anaerobios de relevancia ambiental y microbiológica en suelos, rizósfera y raíces de arroz (microorganismos reductores de sulfato, desnitrificantes y metanogénicos) de tres sistemas productivos (arroz intensivo, rotación tradicional con pasturas, y rotación con soja). Para ello se utilizó la PCR cuantitativa de genes marcadores funcionales de estos procesos (*dsrA*, *nirS*, *nirK*, *mcrA*). Los resultados obtenidos muestran que los tres grupos microbianos estudiados se encuentran como endófitos de raíces de arroz. Sus abundancias en las raíces de las distintas rotaciones agrícolas no mostraron diferencias significativas. La abundancia de los genes *dsrA*, *nirS* y *mcrA* en raíces fue menor que en rizósfera y suelo. En la etapa seca, la abundancia de desnitrificantes tipo *nirK* fue significativamente superior en suelo proveniente de la rotación con soja respecto a los demás suelos y rizósferas. Durante la inundación, las poblaciones desnitrificantes, sulfato reductoras y metanogénicas de raíz (genes *nirK, dsrA* y *mcrA*) aumentaron significativamente. El análisis multivariado realizado para esta etapa permitió diferenciar las comunidades microbianas provenientes de raíces, rizósfera y suelo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Reciclado de carbono y nitrógeno en sistemas de intensificación arrocera: Abundancia de genes y función de los grupos tróficos involucrados (#0215)

Daniela Oreggioni [1]; Andrea Martínez [1]; Ana Fernández [1]; Gabriela Illarze [2]; Pilar Irrisarri [2]; José Terra [3]; Silvana Tarlera [1]

1 - Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Departamento Biociencias, Facultad de Química, UdelaR. 2 - Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, UdelaR. 3 - INIA Treinta y Tres, Treinta y Tres.

Resumen:

El cultivo de arroz irrigado presenta gran interés ambiental ya que, debido a sus características redox (permanece inundado dos tercios de su ciclo), es considerado un emisor de metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O), dos de los principales gases de efecto invernadero (GEI), productos de procesos microbianos involucrados en los ciclos del carbono y del nitrógeno. La intensificación de los sistemas de producción arrocera respecto a la tradicional rotación con pasturas, que alternan arroz con otros cultivos de verano de secano, podría llevar a una variación en la disponibilidad de nutrientes que afecte tanto la estructura como la actividad de las poblaciones microbianas involucradas en la emisión de CH_4 y N_2O. Para este trabajo se utilizó el ensayo de rotaciones instalado desde 2012 en la Unidad Experimental Paso de la Laguna en INIA Treinta y Tres. Se estudiaron tres sistemas contrastantes respecto a su intensidad del uso del suelo (arroz intensivo, arroz-pastura y arroz-soja) y se seleccionaron distintas etapas del ciclo del arroz durante el verano (macollaje, floración y madurez), y pasturas en invierno. Con el fin de conocer la dinámica poblacional de los grupos microbianos del suelo relevantes para la producción y consumo de CH_4 y N_2O, se determinó mediante qPCR (PCR en tiempo real) la abundancia de genes funcionales involucrados en el proceso de desnitrificación (*nirK*, *nirS* y *nosZ*), nitrificación (*amoA*), metanogénesis (*mcrA*) y metanotrofía (*pmoA*). Para conocer la abundancia relativa de estos genes se cuantificó además el gen de la subunidad *16S* ARN ribosomal tanto del Dominio *Bacteria* como *Archeae*. Asimismo, se realizaron ensayos en microcosmos para determinar las actividades potenciales microbianas correspondientes. Los resultados revelaron diferencias significativas entre los sistemas, teniendo en cuenta las distintas variables: estadio del ciclo del arroz, tipo de cultivo y el grado de intensificación.

Domingo

14:00 - 15:30 **SUM**

PRESENTACIÓN POSTERS (CARPA C9) - SUM - #0235, #0293. #0319, #0331, #0338, #0347, #0108, #0040, #0194, #0239, #0297, #0300, #0305, #0155, #0204, #0206

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación de métodos basados en PCR y MLST como reemplazo para la serotipificación de Salmonella enterica (#0293)

Julieta Bisio [1]; Victoria Pérez [1]; Adriana Martinez [2]; Bruno D'Alessandro [1]; Arací Martinez [3]; Lucía Yim [1]; Alejandro Chabalgoity [1]; Laura Betancor [3]

1 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR. 2 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaRDepartamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR. 3 - Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen:
Salmonella enterica es una de las principales causas de enfermedad transmitida por alimentos a nivel mundial, existiendo alrededor de 1500 serotipos diferentes. Estos serotipos se determinan en base a las distintas combinaciones de 46 antígenos O (somáticos) y 85 antígenos H (flagelares de primer y segunda fase). Clásicamente la tipificación de Salmonella se realiza mediante técnicas de aglutinación con anticuerpos, lo cual resulta caro y requiere una gran cantidad de tiempo y personal entrenado. Como alternativa se han propuesto métodos moleculares que, basándose en la secuencia de ADN, permiten una tipificación de Salmonella enterica comparable a la serotipificación. En este trabajo realizamos la tipificación de una colección de 58 cepas de Salmonella de origen humano y alimentario obtenidas en Bolivia entre 2008 y 2016, y comparamos los resultados obtenidos por el método clásico, por MLST usando el esquema de Achtman de 7 genes y por un método basado en 3 PCR múltiples que, mediante la amplificación de regiones variables de los genes wzx, fliC y fljB, permiten la determinación de 5 antígenos somáticos, 8 antígenos flagelares de primera fase y 7 de segunda fase, respectivamente. Los métodos de PCR permitieron la completa caracterización de 36 cepas de 9 serovares distintos. Al combinarlos con la secuenciación del gen FliC, se alcanzó la identificación de 15 serovares y un total de 54 cepas. Estos resultados fueron validados mediante técnicas serológicas y actualmente estamos realizando MLST a una selección de cepas para completar su caracterización. Con los métodos combinados se logró identificar 57 de 58 cepas: 55 corresponden a 16 serovares diferentes dentro de la subespecie enterica, y 2 a la subespecie diarizonae. Creemos que dichos métodos resultan actualmente más aplicables, sobre todo en laboratorios donde no existe la posibilidad de realizar serotipificación mediante métodos clásicos. Agradecimientos: Red CYTED-Salmoiber y CSIC

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Selección de probióticos y ensayo de persistencia en el tracto gastrointestinal de terneros (#0297)

Sofía Fernández [1]; Martín Fraga [2]; Estefanía Silveyra [1]; Nicole Trombert [3]; Ana Rabaza [1]; Marcelo Pla [4]; Pablo Zunino [1]

1 - Dpto de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 2 - Unidad de Salud Animal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. 3 - Centro de Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor. 4 - Unidad de Lechería, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

Resumen:

El uso de microorganismos nativos con capacidad probiótica es una herramienta alternativa para el tratamiento y prevención de diversas patologías animales, como la diarrea neonatal de terneros (DNT). Los probióticos son seleccionados siguiendo una serie de criterios que permiten determinar in vitro e in vivo su potencial a partir de una colección de cepas. Las pruebas in vitro que se realizan incluyen evaluación de resistencia a condiciones similares a las encontradas en el tracto gastrointestinal, formación de biofilm, efecto antimicrobiano ante patógenos y adhesión a mucus y células epiteliales. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de colonización y persistencia en el tracto gastrointestinal de terneros de 4 cepas de *Lactobacillus* spp. nativas seleccionadas según su potencial in vitro. La evaluación de la persistencia implicó un ensayo in vivo de administración oral y cuantificación en heces por qPCR de las bacterias administradas, con primers dirigidos a cada especie. El estudio se realizó con 15 terneros (1 mes de vida), divididos en 5 grupos de 3 animales, de los cuales 4 grupos fueron de animales tratados con las 4 distintas cepas y el restante fue el grupo control, que recibió el vehículo sin bacterias. Se determinó que todas las cepas tuvieron una buena capacidad colonizadora, y particularmente la cepa *L. reuteri* 1.3B logró persistir en los 3 animales tratados hasta 5 días luego de finalizado el período de administración. Este resultado indica que las cepas fueron capaces de llegar de forma viable al intestino, siendo éste un requisito necesario para que puedan ejercer un efecto beneficioso en el hospedero.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desarrollo de un test de ELISA para el diagnóstico de la Leucosis Bovina Enzoótica en suero y en leche (#0300)

Andres Addiego [1]; Lorena Tomé [1]; Federico Carrión [1]; Natalia Olivero [1]; Martín Fló [1]; Mariana Margenat [1]; Natalia Ibáñez [1]; Otto Pritsch [1]; Sergio Bianchi [1]

1 - Laboratorio de Inmunovirología, Institut Pasteur de Montevideo.

Resumen:

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad infecciosa de alta prevalencia en nuestro país que afecta principalmente al ganado lechero. Esta entidad se asocia a pérdidas económicas y un menor rendimiento productivo, existiendo una preocupación creciente sobre sus implicancias sanitarias. Es causada por un Deltarretrovirus denominado Virus de la Leucemia Bovina (VLB) que infecta principalmente linfocitos B. La LBE se caracteriza por presentar tres estadíos evolutivos: una primera fase de infección asintomática; una fase de linfocitosis persistente, y finalmente el desarrollo de una leucemia/linfoma a células B. La infección viral desencadena en el hospedero una respuesta inmune mantenida, caracterizada fundamentalmente por la presencia de anticuerpos específicos contra la glicoproteína viral de superficie gp51, tanto en suero como en leche. La seropositividad para estos anticuerpos es actualmente el método diagnóstico estándar. En el presente trabajo inicialmente se desarrolló y puso a punto un ELISA indirecto que detecta anticuerpos séricos anti-gp51, empleando una proteína recombinante producida en nuestro laboratorio. Su performance fue comparada con un ELISA comercial de referencia (VMRD Inc., WA). Fueron evaluados 1781 sueros bovinos provenientes de 7 tambos diferentes. En una segunda etapa se obtuvieron muestras pareadas de suero y leche de vacas en producción del tambo INIA-La Estanzuela en dos años consecutivos (231 y 248 muestras respectivamente). Estas fueron analizadas empleando nuestro test así como el kit VMRD. Los valores de especificidad y sensibilidad para nuestro ELISA en suero fueron de 0,96 y 0,94 respectivamente, mientras que para las muestras de leche los resultados mostraron una especificidad de 0,99 y una sensibilidad de 0.95. El test desarrollado en nuestro laboratorio mostró resultados comparables con el test de referencia, tanto empleando muestras de suero como de leche. Cabe destacar que el diagnóstico en muestras de leche respresenta una ventaja sanitaria, logistica y económica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Producción y Caracterización de Inmunógenos contra el Virus de la Leucemia Bovina (#0305)

Natalia Olivero [1]; Lorena Tomé [1]; Federico Carrión [1]; Florencia Rammauro [2]; Sergio Bianchi [1]; Andres Addiego [1]; Martín Fló [1]; Natalia Ibañez [1]; Mariana Margenat [1]; Mabel Berois [3]; Marcelo Hill [2]; Otto Pritsch [1]

1 - Laboratorio de Inmunovirología, Instituto Pasteur Montevideo. 2 - Laboratorio de Inmunoregulación e Inflamación, Instituto Pasteur Montevideo. 3 - Sección Virología, Facultad de Ciencias.

Resumen:
La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad causada por el Virus de la Leucemia Bovina (VLB) que afecta al ganado vacuno. En Uruguay se estima que más de un 50% del ganado lechero está infectado con VLB. La infección por VLB causa pérdidas en el sector productivo asociadas a: muerte por linfosarcoma, disminución de producción y calidad de la leche, incremento en intervalo interparto, mayor índice de refugos. Se han reportados varios trabajos intentando desarrollar inmunógenos que generen respuestas protectoras contra la infección por VLB, sin embargo, hasta el momento no existe en el mercado ninguna vacuna comercial que asegure una protección eficiente contra la infección por VLB. El objetivo general de este trabajo es producir y caracterizar nuevos inmunógenos contra el VLB mediante la expresión de sus dos proteínas más inmunogénicas: Gag y Env, en un sistema de expresión eucariota. Por otra parte, nos interesa caracterizar la respuesta inmune humoral y celular frente a estos inmunógenos en un modelo murino. Para ello proponemos producir "Virus Like Particles" (VLPs) que contengan la proteína Gag en su interior y la glicoproteína Env en la superficie de la partícula, las cuales presentarían y activarían al sistema inmune en condiciones similares a las existentes en los viriones infectantes, pero sin la capacidad infecciosa de estos. Por otro lado, introduciremos mutaciones aminoacídicas en el dominio de inmunosupresión de la glicoproteína Env, con el objetivo de estudiar su contribución en la modulación de la respuesta inmune antiviral. Al final de este proyecto esperamos contar con un conjunto de productos con capacidad de activar una respuesta inmune efectiva y mantenida contra el VLB con potencial aplicación para el diseño racional de vacunas eficaces, lo cual podría representar un aporte mayor en el desarrollo de programas de erradicación de esta enfermedad.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS PROVENIENTES DE MADERAS DE LA ISLA REY JORGE (#0319)

Felipe Clavijo [1]; Paula Sanguiñedo [1]; Silvana Alborés [2]

1 - Facultad de Química. 2 - Fecultad de Química.

Resumen:
De las especies de hongos existentes en la tierra, se estima que muy pocas son conocidas actualmente y sólo un 5% han sido investigadas. Resulta interesante la bioprospección en ambientes poco explorados, con condiciones no tan favorables para la vida, donde puedan encontrarse cepas no identificadas que hayan desarrollado mecanismos adaptativos diferentes para superar las condiciones adversas. Debido a las condiciones extremas, los microorganismos del continente antártico y las islas vecinas han adquirido estrategias de adaptación únicas para poder sobrevivir. Aunque se han descrito nuevos grupos microbianos provenientes de la Antártida, las investigaciones realizadas con eucariotas, en particular con hongos son minoría, y son de utilidad tanto para estudios de biodiversidad así como de diversas aplicaciones. Comparado a los biomas templados, se conoce muy poco acerca de la diversidad fúngica de hongos de madera y la descomposición en ambientes polares. Algunos trabajos previos han demostrado que los hongos son importantes descomponedores a pesar de las condiciones ambientales extremas. Con el objetivo de avanzar en el conocimiento de la biología de hongos y ecología en la Antártida en el presente trabajo se realizó el aislamiento de hongos filamentosos a partir de muestras de madera colectadas en distintos puntos de la Isla Rey Jorge en la Antártida durante las campañas 2016 y 2017. Asimismo se realizó la identificación molecular de los aislamientos obtenidos mediante extracción de ADN, amplificación por PCR de la región ITS, secuenciación de dichos productos de amplificación y comparación con bases de datos. Dentro de la cepas estudiadas se identificaron algunas novedosas en este tipo de muestra y otras frecuentemente encontradas en muestras de madera provenientes de otras regiones de la Antártida, como las pertenecientes a la especie *Pseudogymnoascus destructans*. Agradecimientos: Instituto Antártico Uruguayo, PEDECIBA QUÍMICA, ANII.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Desarrollo de una vacuna polivalente contra Salmonella (#0331)

Victoria Perez [1]; Bruno D'Alessandro [1]; Adriana Martinez [1]; Julieta Bisio [1]; Alejandro Chabalgoity [1]; Lucia Yim [1]; Laura Betancor [2]

1 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR. 2 - Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR..

Resumen:

La salmonelosis es una de las causas más frecuentes de enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo y los alimentos de origen animal son la fuente principal. Basándonos en los datos nacionales y en los existentes a nivel mundial obtenidos de revisiones bibliográficas 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 a nivel nacional y mundial. Para ello, proponemos utilizar una cepa viva atenuada del serovar Typhimurium (LVR01) y además seleccionar un conjunto de proteínas de superficie representativas de los serovares más prevalentes para ser expresados en la cepa vacunal. Con el fin de seleccionar los mejores candidatos para inducir una respuesta inmune, utilizamos un enfoque in silico.Seleccionamos, FlgK, IroE y RcsF como candidatos a ser incluidos en la vacuna ya que son proteínas que difieren respecto a su ortólogos en la cepa LVR01 pero muestran una alto porcentaje de identidad a nivel de aminoácidos entre serovares. Suponiendo que las proteínas de superficie comunes van a estar presentes en LVR01, la hipótesis es que estas 3 proteínas co-expresadas en la superficie de la vacuna podrían provocar una respuesta inmune protectora contra los 5 serovares.Ya hemos clonado estas proteínas fusionadas con el epítopo FLAG, en un plásmido bajo el control del promotor inducible en anaerobiosis, nirB. Hemos evaluado la expresión in vitro mediante Western Blot usando anticuerpos contra el epítopo FLAG y por real time PCR. El potencial de esta cepa recombinante de Salmonella para inducir una respuesta inmune cruzada va a ser evaluado en un modelo murino. Esperamos obtener una cepa vacuna candidata para estudios adicionales en otras especies veterinarias.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Bioarquitectura de biofilms *in vivo* e infectividad de cepas mutantes de *Proteus mirabilis* (#0338)

Ana Caetano [1]; *Victoria Iribarnegaray* [1]; *Pablo Zunino* [1]; *Paola Scavone* [1]

1 - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Resumen:

Los biofilms son comunidades microbianas, adheridas de forma irreversible a un sustrato y entre sí, inmersas en una matriz extracelular polimérica de producción propia. *Proteus mirabilis* es una causa frecuente de infecciones del tracto urinario (ITU). Los biofilms favorecen la supervivencia de *P. mirabilis* en el tracto urinario brindando protección contra la acción del sistema inmunitario del hospedero y el efecto de antimicrobianos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el papel de genes asociados a la formación de biofilms de *P. mirabilis* en la infectividad y en la formacion de biofilms. Para ello se emplearon 5 cepas mutantes en genes para ferritina, un receptor Ton B-dependiente, una subunidad fimbrial mayor, la proteína fimbrial SteB y la proteína transportadora PitA, generadas por transposición a partir de una cepa salvaje de *P. mirabilis*. La infectividad se evaluó en el modelo de ITU ascendente en ratón y la bioarquitectura de los biofilms in vivo se determinó empleando el modelo de cámaras de difusión intraperitoneal en ratas. Las mutantes para ferritina y la proteína fimbrial SteB exhibieron una disminución significativa en la colonización del tracto urinario respecto a la cepa salvaje mientras que las otras cepas no presentaron diferencias significativas. La biomasa de los biofilms formados en las cámaras intraperitoneales por las cepas mutantes respecto a la salvaje fue baja y no presentó diferencias significativas al emplear la técnica semicuantitativa del Cristal Violeta. Por otro lado, los modelos 3D y los parámetros morfotopológicos generados por microscopía confocal mostraron que la cepa salvaje forma biofilms maduros in vivo. En base a estos resultados se sugiere que los factores de *P. mirabilis* asociados a la formación de biofilms también pueden ser relevantes en el establecimiento de la ITU y que el ambiente y las superficies condicionan fuertemente la formacion de biofilms, en particular in vivo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación de la presencia de características promotoras del crecimiento vegetal en cepas del género *Azoarcus*: *Azoarcus* sp. CIB, *Azoarcus indiges* y *Azoarcus communis*. (#0347)

Agustin Bilat [1]; *Cintia Mareque* [1]; *Federico Battistoni* [1]

1 - IIBCE.

Resumen:

El interés en el estudio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PCV), ha aumentado significativamente debido a su potencial uso como bioinoculantes con el fin de incrementar la productividad de cultivos de interés agronómico. Dentro de los mecanismos PCV se encuentran la capacidad de fijar biológicamente el N_2 atmosférico (diazotrofía), de solubilizar minerales (P,K), de producir fitohormonas y de controlar biológicamente fitopatógenos. Particularmente, las bacterias endófitas son aquellas capaces de colonizar los órganos internos de la planta sin causar infección aparente, siendo el modelo más estudiado *Azoarcus* sp. BH72. La misma está estrechamente relacionada con las cepas, *Azoarcus indigens* y *Azoarcus communis,* todas aisladas del pasto Kallar en Pakistán. Por otro lado, cepas del mismo género incluyendo *Azoarcus* sp. CIB y *A. Olearius* DQS-4T, han sido aisladas a partir de suelos o agua contaminada con compuestos aromáticos y poseen diferencias filogenéticas y metabólicas bien distintas a las asociadas a plantas. La cepa diazótrofa DQS-4T en particular, presenta características genéticas y fenotípicas muy similares a la cepa endófita BH72. En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo la caracterización bioquímica y molecular de las cepas del género *Azoarcus*: *A. indigens*, *A. communis* y *Azoarcus* sp. CIB y la evaluación de su actividad PCV. Para eso se evaluarán la presencia de mecanismos directos de PCV incluyendo la solubilización de P y K, la síntesis de Ácido Indol Acético (AIA) y la fijación biológica de N_2 atmosférico. Asimismo se evlauará la presencia de mecanismos posiblemente involucrados en la interacción con la planta incluyendo enzimas celulolíticas, proteasas y producción de biofilms. Adicionalmente se evaluará su efecto como inoculante mediante ensayos de PCV en plantas de sorgo dulce, caña de azúcar, arroz y festuca. Resultados de estas aproximaciones serán presentados.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de interactores del factor de virulencia: la fosfatasa en tirosina del virus Orf (#0040)

Darío Porley [1]; Danilo Segovia [2]; Gwenaëlle Andre-Leroux [3]; Andrea Villarino [2]; Mabel Berois [4]

1 - Sección Virología y Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR. 2 - Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR. 3 - MaIAGE, INRA, Université Paris-Saclay. 4 - Sección Virología, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Resumen:

El virus Orf (género Parapoxvirus, familia *Poxviridae*) es el responsable del Ectima Contagioso, una enfermedad zoonótica de gran importancia económica que afecta principalmente ovinos. Las reinfecciones con dicho virus son frecuentes y plantean la hipótesis de que la expresión de factores de virulencia que permiten evadir el sistema inmune tiene un rol esencial. Entre estos factores se encuentra la fosfatasa en tirosina del Virus Orf (OH1) capaz de afectar el estado de fosforilación del factor de transcripción STAT1 de la vía JAK/STAT, importante en la respuesta inmunitaria mediada por interferón. En este trabajo se buscó profundizar en el estudio del rol de OH1, buscando demostrar si OH1 interacciona directamente con STAT-1 *in vitro* y a nivel celular y evaluando si esta interacción altera el nivel de fosforilación de STAT-1 y su translocación al núcleo. Para ello, se introdujo la actividad OH1 mediante dos estrategias, una clásica y otra utilizando un sistema de transducción basado en vectores herpéticos de tipo amplicón. Los resultados demostraron que OH1 inhibe de forma significativa tanto la translocación de STAT1 al núcleo como su fosforilación. Además, se generó el mutante catalítico OH1-C112S el cual constituye una herramienta para aislar potenciales sustratos. Utilizando este mutante se logró aislar a STAT-1 e identificar nuevos candidatos, entre ellos la proteína GAPDH, vinculada al metabolismo energético, el tráfico vesicular, y la respuesta mediada por interferón. Estos resultados abren nuevas hipótesis de trabajo que buscarán comprender como este tipo de factor de virulencia además de alterar la respuesta inmune también sería capaz de modular la actividad de enzimas implicadas en el metabolismo energético.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio de la robustez del método de filtración por membrana para determinaciónde coliformes respecto a la temperatura de incubación (#0108)

Natalia Rodríguez [1]; Bruno D'Alessandro [1]; Gustavo Saona [1]; Jimena Risso [1]; Marinela Pereira [1]; Beatriz Brena [1]

1 - Servicio ECCA - Intendencia de Montevideo.

Resumen:

La presencia de coliformes en agua es ampliamente utilizada como indicador de contaminación fecal. En nuestro país, la legislación vigente incluye la determinación de coliformes fecales como uno de los parámetros más importantes para evaluar la calidad de los distintos cursos de agua. El método que se utiliza es el recomendado por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, el cual consiste en la filtración por membrana de la muestra y posterior incubación en medio mFC a 44,5 ± 0,2 ºC durante 24 ± 2 horas. Esta temperatura de incubación es importante para la selectividad del método y su estricto rango de variación es un factor crítico para su aplicación en el laboratorio. La robustez de un método analítico se define como una medida de la susceptibilidad del método a pequeños cambios que pueden ocurrir en la rutina del análisis. Para evaluar la robustez, se somete el método a pequeños cambios en el procedimiento y se evalúa su influencia en los resultados obtenidos. En este trabajo ensayamos la robustez del método para determinación de coliformes fecales al variar la temperatura de incubación, a cuatro temperaturas diferentes, realizando en paralelo un control a la temperatura de referencia. Para ello se sembraron diluciones de un cultivo puro de E. coli a tres niveles de concentración y muestras ambientales de playas de Montevideo a dos niveles de concentración. Los resultados se evaluaron mediante ANOVA para los casos en los que se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, y el test no paramétrico Kolmogorov-Smirnov en los casos puntuales que no se cumplieron estos supuestos. Los resultados obtenidos sugieren una tolerancia de ± 0,5 ºC respecto a la temperatura de referencia del método. Se obtuvieron diferencias significativas de recuento cuando se amplió el rango de incubación en 1,5 ºC.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Trabajadores rurales y ambiente infectados con cepas diversas de *Leptospira* (#0155)

PAULINA MENY [1]; CLARA MENÉNDEZ [1]; NATALIA ASHFIELD [2]; JAIR QUINTERO [2]; ELBA HERNÁNDEZ [1]; ILANA BALASSIANO [3]; JULIANA VITAL-BRASIL [3]; CAMILA FEBLE [2]; ESTHEFANI AVILA [2]; FELIPE SCHELOTTO [2]; GUSTAVO VARELA [2]

1 - INSTITUTO DE HIGIENE. 2 - Facultad de Medicina. 3 - INSTITUTO OSWALDO CRUZ.

Resumen:

Los trabajadores rurales, en especial de tambos y predios ganaderos, son en Uruguay los más frecuentemente afectados por *Leptospira*, en niveles variados de severidad. La infección es más común en épocas de intensa lluvia e inundaciones. Afecta especialmente a varones jóvenes por contacto de su piel dañada o aparentemente sana con orina de ganado bovino, principal reservorio y fuente de infección en nuestro país. El diagnóstico de esta enfermedad en el hombre y en animales se ha realizado habitualmente por investigación de la respuesta inmune específica. A partir de 2010 nos propusimos completar el diagnóstico, con finalidad fundamentalmente epidemiológica, mediante el aislamiento y caracterización de las cepas infectantes del ser humano, del reservorio animal y del ambiente húmedo donde pueden sobrevivir extensamente. Reportamos los resultados obtenidos a partir del cultivo entre 2010 y 2016 de 302 muestras de sangre de pacientes presuntamente positivos, extraída en la breve fase leptospirémica inicial de la enfermedad, y de 36 muestras de aguas recogidas en su ambiente de trabajo. Los cultivos se realizaron en medios líquidos EMJH y Fletcher; las bacterias reconocidas en microscopio de campo oscuro se identificaron inicialmente por técnicas de PCR hacia secuencias de ADN que codifican 16S ribosomal y LipL32, lipoproteína superficial de cepas patógenas. La caracterización se complementó por Multilocus Variable number tandem repeat Analysis MLVA, y en algunos casos por PFGE, MLST o secuenciación parcial del genoma. Seis de 8 aislamientos humanos pudieron ser identificados como serogrupos y serovares diversos de *L. interrogans* y *L. kirschneri*. Cinco de 7 aislamientos ambientales fueron de *L. biflexa,* uno de *Leptonema illini* y uno de *Leptospira meyeri*. Los pacientes con hemocultivo positivo compartían el perfil laboral pero tenían edades mayores que la media de los infectados, cursaban enfermedad en general más severa y probablemente bacteriemias más intensas y por eso detectables.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Subtipificación de toxinas tipo Shiga en STEC de origen bovino en Uruguay (#0194)

Déborah Ernst [1]; Magalí Fernández [1]; Ana Umpiérrez [1]; Pablo Zunino [1]

1 - Departamento de Microbiología, Instituto Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avenida Italia 3318.

Resumen:

Escherichia coli forma parte de la microbiota gastrointestinal nativa de humanos y animales de sangre caliente. Sin embargo, existen variantes de *E. coli* altamente adaptadas, las cuales han adquirido atributos de virulencia que le permiten establecerse en distintos nichos y causar enfermedad en individuos sanos. *E. coli* productora de toxina tipo Shiga (STEC) se asocia a enfermedades en los seres humanos, siendo los bovinos su principal reservorio natural. STEC puede causar desde diarreas leves hasta colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH), desencadenando en algunos casos la muerte. El factor de virulencia más destacado de STEC lo constituyen las toxinas tipo Shiga 1 (Stx1) y 2 (Stx2), dentro de las cuales se identifican diferentes subtipos. El grupo Stx1 está subdividido en 3 variantes, mientras que el grupo Stx2 está compuesto por 7 variantes. Particularmente, los subtipos Stx2a y Stx2d se asocian a casos severos de CH y SUH. Por otro lado, las variantes Stx2b, Stx2c, Stx2f, Stx2g y las de Stx1, se asocian a diarreas leves, fiebre, dolores abdominales, entre otros. Stx2e, por su parte, está asociado a enfermedad en cerdos. El objetivo de este trabajo consistió en subtipificar las toxinas Shiga 1 y 2 de una colección de aislamientos de STEC obtenidos de muestras de necropsias y heces de terneros mediante la técnica de PCR múltiple. Hasta el momento hemos detectado los subtipos Stx2a, Stx2c, Stx2d y Stx1a. Asimismo, algunos aislamientos resultaron positivos para la variante usualmente asociada a cerdos, Stx2e. Ningún aislamiento analizado presentó la variante Stx2b. Se observó además la ocurrencia de más de una variante en un mismo aislamiento en simultáneo. Los resultados parciales demuestran la potencialidad de STEC aisladas en bovinos en Uruguay de causar enfermedad severa en el hombre, resaltando el riesgo zoonótico y la necesidad de realizar detección temprana de este patógeno.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

¿S. aureus portadores del gen mecA sensibles a oxacilina (OS-MRSA) o problemas en la identificación de resistencia a oxacilina con sistemas automatizados? (#0204)

Guillermina Giudice [1]; Valeria Braga [1]; Claudia Gutiérrez [2]; Lorena Pardo [3]; Gabriela Algorta [3]; Gustavo Varela [1]

1 - INSTITUTO DE HIGIENE. 2 - Hospital Pereira Rossell. 3 - Instituto de Higiene, Hospital Pereira Rossell.

Resumen:

Introducción: Staphylococcus aureus es un patógeno humano reconocido capaz de adquirir mecanismos de resistencia para distintos antibióticos. La resistencia a oxacilina se debe principalmente a los genes mecA o mecC que determinan CIMs para oxacilina mayores a 4 mg/L (MRSA). La expresión de estos genes es variable y se han descrito aislamientos portadores del gen mecA con CIMs para oxacilina menores a 2 mg/L (fenotípicamente sensibles) denominadas OS-MRSA. Objetivo: comunicar la recuperación de 2 aislamientos de S. aureus con antibiotipos diferentes a partir del mismo caso clínico. Materiales y métodos: se trata de una niña con osteomielitis de rodilla derecha de la cual se obtuvieron 2 aislamientos de S. aureus, uno a partir del líquido articular y otro de sangre. Ambos se identificaron por VITEK y se clasificaron como MSSA (articular) y MRSA (hemocultivo). Los 2 aislamientos fueron enviados al Departamento de Bacteriología y Virología para completar su estudio. La presencia del gen mecA y de algunos genes de virulencia se hizo por PCR. Se realizó ensayo de disco-difusión para oxacilina (OXA) y cefoxitina (FOX) según CLSI. La comparación genética se estableció por SmaI-PFGE. Resultados: Los 2 aislamientos portaban el gen mecA, fueron positivos para ETs A y B, y negativos para PVL y TSST. Ambos mostraron halos de inhibición para OXA > 15 mm (sensibles) y para FOX < 19 mm (resistentes). El aislamiento identificado como MSSA mostró un doble halo para OXA compatible con el fenotipo de hetero-resistencia. Los perfiles PFGE fueron idénticos. Discusión y conclusiones: Este reporte informa sobre problemas para identificar correctamente aislamientos MRSA cuando se utiliza sistema VITEK. Es recomendable que en procesos severos producidos por cepas clasificadas como MSSA por este método se realicen estudios adicionales para identificar correctamente los cultivos MSSA, OS-MRSA o MRSA involucrados.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización de la respuesta inmune innata desencadenada por *Streptococcus pneumoniae* durante la colonización nasofaríngea. (#0206)

María Paula Céspedes Alvarez [1]; Victoria Comas [1]; Juan Martín Marqués [1]; José Alejandro Chabalgoity [1]; Analía Rial [1]

1 - Instituto de Higiene, Facultad de Medicina.

Resumen:

Streptococcus pneumoniae continúa siendo el principal agente etiológico de la neumonía comunitaria siendo responsable de aproximadamente 4 millones de muertes, en el mundo. Nuestro grupo de investigación ha estado trabajando con un modelo murino de colonización nasofaríngea por neumococo serotipo 1. Estudios previos sugieren que IL-17A sería un mediador clave en los mecanismos inmunes responsables de la eliminación de dicha colonización. Por tanto, nos ha interesado dilucidar cuáles son los mecanismos efectores de IL-17A que están involucrados en dicha eliminación. Considerando que ya ha sido descrito que IL-17A induce la producción de péptidos antimicrobianos, citoquinas y quimioquinas reclutadoras de neutrófilos a la zona de infección, decidimos estudiar la expresión de estos mediadores en tejido linfoide asociado a nasofaringe (NALT). Nuestros resultados muestran que la producción, a nivel de ARN mensajero, de péptidos antimicrobianos y citoquinas proinflamatorias es similar en ambas cepas. Sin embargo, sí se observa una diferencia significativa en las citoquinas Il4 e Il10, siendo mayor la expresión en los ratones *Il17a*$^{-/-}$ con respecto a WT. A su vez, en resultados preliminares obtenidos por citometría de flujo, observamos un mayor reclutamiento de células T reguladoras (en muestras de NALT) y un menor reclutamiento de neutrófilos (en muestras de lavado nasofaríngeo) en los animales *Il17a*$^{-/-}$en comparación con la cepa salvaje. En suma, estos resultados sugieren que un "apagamiento" de la respuesta inmune en los ratones *Il17a*$^{-/-}$, dado por una mayor presencia de células T reguladores y una mayor expresión de citoquinas como IL10, podrían favorecer el mantenimiento de la colonización nasofaríngea por neumococo. Estos resultados nos motivan a seguir investigando el mecanismo de acción de esta citoquina, ya que sigue siendo central encontrar el mecanismo molecular que determina que los animales deficientes en IL17A no sean capaces de controlar y eliminar la colonización nasofaríngea por neumococo.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Evaluación de condiciones de biosíntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana frente a fitopatógenos. (#0235)

Belén Estevez [1]; Paula Sanguiñedo [1]; Silvana Alborés [1]

1 - Laboratorio de Biotecnología, Cátedra de Microbiología. Facultad de Química.

Resumen:

Las nanopartículas son agregados de material de dimensiones nanométricas. Dichas dimensiones les otorgan mayor área superficial y propiedades mecánicas, químicas, eléctricas, ópticas, magnéticas, y electro y magneto-ópticas, diferentes a las de sólidos de la misma composición, pero de mayor tamaño. Estas propiedades particulares de las nanopartículas les atribuyen sus muy promisorias aplicaciones. En particular, las nanopartículas de plata son agregados de átomos de plata (Ag^0) cuya característica principal es su eficiencia absorbiendo y dispersando la luz, debido a la Resonancia de Plasmón de Superficie. La absorción de la luz varía significativamente con el tamaño y forma, así como la distancia entre ellas. Estas propiedades ópticas permiten el uso de las partículas metálicas en diversas aplicaciones, como el desarrollo de biosensores, diagnóstico y tratamiento de cáncer, liberación controlada de fármacos, y como agentes antimicrobianos. En este trabajo se realizó la biosíntesis de nanopartículas de plata a partir del caldo extracelular de una cepa de *Phanerochaete chrysosporium,* evaluando distintas condiciones a nivel de la incubación del micelio con el agua y en la reacción de síntesis. Con las nanopartículas sintetizadas se determinó el potencial antimicrobiano mediante ensayos de determinación de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) frente a fitopatógenos pertenecientes a los géneros *Xanthomonas, Fusarium, Penicillium, Rhizopus y Botrytis*. Los resultados obtenidos permitieron determinar las mejores condiciones para realizar la biosíntesis de nanopartículas de plata a mayor escala. A su vez las nanopartículas presentaron valores de CIM muy inferiores a los de la solución de nitrato de plata, demostrando su gran potencial antimicrobiano frente a los fitopatógenos evaluados.
Agradecimientos: APIPES (SUM), CSIC I+D 1500, PEDECIBA Química.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Especies de Fusarium asociadas a granos de sorgo en Uruguay (#0239)

María Oliver Mazzuchi [1]; Sofía Acosta Nabune [1]; Gabriela Virginia Rivero [1]; Belén Corallo Fabiano [1]; Susana Tiscornia Córdoba [1]; Dinorah Pan de la Guerra [1]

1 - Facultad de Ciencias.

Resumen:
El sorgo (Sorghum bicolor L. Moench) es uno de los cereales más cultivados en el mundo. En Uruguay la producción de sorgo en el año 2015 - 2016 alcanzó las 520 mil toneladas con un área plantada de 170 mil hectáreas aproximadamente, siendo su principal destino la alimentación animal y la producción de biocombusibles. La infección de los cultivos con Fusarium spp. genera importantes pérdidas en el rendimiento de las cosechas. Además, algunas especies son capaces de producir micotoxinas, que ocasionan un riesgo para la salud animal y humana. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar las especies de Fusarium presentes en granos de sorgo. Se analizaron 38 muestras provenientes de distintos departamentos. Se inocularon 100 granos de cada muestra en medio agar papa dextrosa y se incubó a 25ºC durante 5 días. Luego se cuantificaron y aislaron las especies de Fusarium presentes. La identificación se realizó por métodos morfológicos y moleculares. El 87% de las muestras analizadas presentaron infección por Fusarium spp. (769 aislamientos correspondientes a 8 especies) observándose diferencias entre las muestras en cuanto a la composición y frecuencia de especies. Dentro de las especies de Fusarium, F. graminearum fue la mas frecuente (79%), seguida de F. nygamai (11%) y F. semitectum (6%). Estos hongos son importantes productores de micotoxinas, a la vez que F. graminearum y F. nygamai son especies fitopatógenas. Por esta razón sería de interés evaluar la capacidad toxicogénica de las cepas aisladas y la presencia de micotoxinas en los granos de sorgo.

Viernes

Carpa C5 - SUMI, ATGCU y SUI

10:30 - 12:00

SUMI

Simposio: Microscopía y Análisis de Imagen en la formación de posgrado

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Imagenología molecular en cáncer usando como agente el aptámero Sgc8-c (#0112)

Estefanía Sicco [1]; Jessica Báez [1]; Marcelo Fernández [2]; Juan Pablo Gambini [3]; María Moreno [4]; Victoria Calzada [1]; Hugo Cerecetto [1]

1 - Área de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias. 2 - Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias. 3 - Medicina Nuclear, Hospital de Clínicas. 4 - Departamento de Desarrollo Biotecnológico-Instituto de Higiene, Facultad de Medicina.

Resumen:

La imagenología molecular consiste en la visualización, caracterización y medida de procesos biológicos tanto a nivel celular como molecular. Entre sus aplicaciones, se encuentra el diagnóstico *in vivo* del cáncer con agentes imagenológicos que reconocen marcadores tumorales específicos. Dichos agentes o sondas, constan de una región que reconoce específicamente un blanco, y la parte generadora de la imagen, que emite algún tipo de radiación permitiendo la detección y valoración externa del proceso en forma cuali-cuantitativa. Los aptámeros son oligonucleótidos que reconocen su blanco con alta afinidad y especificidad, presentando ventajas que los hacen interesantes para su aplicación como agentes de imagen. El objetivo en este trabajo ha sido contar con métodos de control biológico, tanto de biodistribución como imagenológicos, que permitan una evaluación de los aptámeros como agentes de imagen en cáncer. Para ello, se han preparado químicamente dos sondas derivadas del aptámero Sgc8-c, que reconoce receptores PTK7 sobreexpresados en varios tipos de tumores, una fluorescente en el infrarrojo cercano (Sgc8-c-Alexa647) y otra portadora de un emisor gamma (Sgc8-c-NOTA-^{67}Ga). Posteriormente, se verificó el reconocimiento por su receptor realizando ensayos en líneas celulares tumorales. Finalmente, se realizaron estudios *in vivo* en dos modelos tumorales de ratón. Se tomaron imágenes a diferentes tiempos post-inyección de la sonda con el equipo In-Vivo MS FX Pro (Bruker) y se analizaron utilizando el programa FIJI. Los estudios realizados hasta el momento indican que ambas sondas reconocen con alta especificidad su blanco y que junto con la rápida depuración en sangre resultan en una excelente relación tumor/no-tumor. Adicionalmente, a las 24 horas de inyectadas las sondas se observa una biodistribución óptima, acumulándose ambas casi exclusivamente en el tejido tumoral. Continuar estos estudios, permitirá profundizar en la evaluación preclínica a fin de conocer adecuadamente este tipo de sondas y su aplicación para el diagnostico del cáncer.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Sitios neurogénicos en el Bulbo Olfatorio de *Austrolebias charrua* versus rol funcional. (#0184)

Juan Carlos Rosillo Martí [1]; Maximiliano Torres [1]; Gabriela Casanova [2]; Silvia Olivera-Bravo [3]; José Manuel García-Verdugo [4]; Anabel Fernández [1]

1 - IIBCE UNIC-Neuroanatomía Comparada (Unidad Asociada a FCIEN, UdelaR). 2 - FCIEN UMET. 3 - IIBCE NBCM. 4 - Instituto Cavanilles Dpto. Neurobiología Comparada, Universidad de Valencia.

Resumen:
La actividad y desarrollo de los sistemas sensoriales es diferente en cada especie y tiene que ver con su adaptación al entorno. En peces, los avances en la anatomía y la fisiología del sistema olfatorio revelan tres vías paralelas desde el epitelio olfatorio, bulbos olfatorios (BO) hasta el telencéfalo. Estas vías responden a diferentes señales sensoriales: señales sociales, feromonas sexuales y alimentos. En trabajos previos en el BO de *Austrolebias charrua* demostramos la existencia de tres nichos neurogénicos diferentes en la pared ventricular del BO. Conocer las características celulares de cada nicho, y analizar hacia donde van las células generadas constituyen un avance en la correlación funcional. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las diferentes poblaciones de células madre /progenitoras, ubicadas en el BO. Mediante la Microscopía Electrónica de Trasmisión y Barrido se estudió la citoarquitectura de la pared ventricular. Se emplearon marcadores de proliferación como (BrdU, Cloro/ Yodo-desoxiuridina) aplicados a diferentes tiempos experimentales y se combinaron con marcadores específicos de estirpe celular (gliales:BLBP,Vimentina; neuronal:HuC y factores de transcripción:Pax6 y Sox2 para identificar los progenitores celulares mediante microscopia confocal. Como resultado se identificaron tres sitios neurogénicos, dorsal, medial y ventral, con una composición celular característica de cada nicho. En los tres nichos se identificaron: células altamente proliferativas, células proliferantes que no migran y neuroblastos migrantes. En los nichos dorsal y ventral se observaron poblaciones celulares proliferantes con características morfológicas y moleculares de glía radial. Las características celulares de cada nicho, la diferencia en el ritmo de proliferación y las distintas rutas migratorias encontradas, sugieren que estos tres nichos neurogénicos contribuyen al mantenimiento de los diferentes circuitos sensoriales.Estos hallazgos concuerdan con estudios realizados en la vía olfatoria donde se demuestra que hay tres vías sensoriales en el BO de los peces.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Participación de las cilias primarias en la neurogénesis de las células ganglionares de la retina en pez cebra (#0201)

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

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Departameno de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias. 3 - Institut Pasteur de Montevideo y Departameno de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias.

Resumen:
Las cilias primarias son organelos que participan en la recepción y transmisión de señales extracelulares. Si bien hay trabajos que han abordado su función en la generación de neuronas en diferentes regiones del sistema nervioso central, se desconoce si la cilia participa en la neurogénesis en la retina de vertebrados. En este trabajo exploramos la presencia y el rol de las cilias primarias durante la neurogénesis de las células ganglionares de la retina (CGR) en embriones de pez cebra. Por medio de microscopía confocal *in vivo*, observamos que los progenitores neuronales presentaron una cilia en posición apical durante las fases G1, S y G2 del ciclo celular. Si bien en las CGR en diferenciación la cilia se presentó en posición apical la mayor parte del tiempo, notamos que puede tornarse altamente dinámica durante un breve período previo al inicio de la formación de las dendritas. Para explorar la función de la cilia, utilizamos morfolinos destinados a inhibir la expresión de proteínas necesarias para su formación. Al inhibir la formación de las cilias encontramos que los progenitores disminuyen su proliferación al inicio de la neurogénesis y en forma autónoma. Además, observamos una disminución de la generación de todos los tipos celulares de la retina y en particular un retraso en la formación de la capa de CGR, lo cual puede deberse a comportamientos atípicos durante el posicionamiento basal del núcleo. Finalmente, encontramos evidencias preliminares que indican que la vía de Shh actúa a través de la cilia para la formación de la capa de CGR. En resumen, en este trabajo encontramos que las cilias primarias son necesarias para la generación de los diferentes tipos celulares de la retina y en particular para la diferenciación de las CGR, probablemente a través de la transducción de la vía de señalización de Shh.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Mecanobiología del sistema nervioso periferico: implicancias en el desarrollo y la patofisiología. (#0394)

Gonzalo Rosso Vera [1]; Peter Young [2]; Alejandra Kun [3]; Victor Shahim [1]

1 - Institut für Physiologie II, Münster University. 2 - Klinik für Schlafmedizin und Neuromuskuläre Erkrankungen. 3 - Departamento de Proteínas y Ácidos Nucleicos, IIBCE.

Resumen:
Las células de Schwann (CS) juegan un rol muy importante durante el desarrollo, el mantenimiento y la regeneración del sistema nervioso periférico (SNP). Además de producir mielina, las CS secretan una densa matriz extracelular (MEC) denominada lamina basal (LB), la cual es mediadora de muchas funciones durante el desarrollo y maduración del SNP. Utilizando una nueva estrategia basada en la combinación simultanea de microscopía de fuerza atómica y confocal investigamos las propiedades biomecánicas y la integridad de fibras nerviosas periféricas aisladas de ratón. Los resultados obtenidos indican que la LB proporciona a las fibras nerviosas una crucial protección biomecánica a la compresión, y que esta protección se ve afectada en ratones portadores de neuropatía periféricas. Por otro lado, la interacción de las CS con los axones y la LB tiene un carácter bioquímico, así como también físico. Estudios recientes han demostrado que ciertos tipos celulares pueden "sentir" y responder a cambios en las propiedades físicas de la MEC (ejemplo: rigidez), mediante un proceso denominado mecano-transducción. Recientemente hemos demostrado que tanto las CS como las neuronas son mecano-sensibles. En otras palabras, la morfología, la adhesión al sustrato, la migración y la elasticidad de las CS, así como también el crecimiento axonal son severamente afectados por las propiedades mecánicas del sustrato al que son expuestas. Finalmente, implementando un modelo *in vitro* de desarrollo del SNP observamos que la migración de las CS sobre axones en crecimiento es sensible a cambios en la elasticidad del microambiente. En conclusión, estos resultados destacan la importancia del estudio de la mecanobiología de las CS y las neuronas, así como su rol durante el desarrollo, maduración y regeneneración del SNP.

Sábado

11:00 - 12:30 **SUMI**

Simposio SUMI_2: La revolución de la resolución

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

De mamíferos a protozoarios: Lecciones aprendidas de un organelo muy pequeño y la super-resolución (#0356)

Maria Eugenia Francia Viña [1]

1 - Instituto Pasteur de Montevideo.

Resumen:
El centrosoma es el principal centro organizador de microtubulos de la célula. Como tal, cumple roles esenciales en el mantenimiento de su integridad estructural, polaridad, transporte, movimiento y señalización; durante la mitosis, organiza, mueve y segrega los cromosomas. El centrosoma está formado por dos barriles de microtubulos de tamaño definido; los centriolos, rodeados de una matriz proteíca que le adscribe al centrosoma su capacidad de nuclear microtubulos. Por sus roles centrales en la vida de la célula, el número, posición, integridad estructural y composición proteica del centrosoma son altamente regulados. En células de mamífero los centriolos miden 250 x 500 nm, mientras que en eucariotas unicelulares pueden medir 200 x 200 nm. Debido a su pequeño tamaño, la microscopia de súper-resolución (SR) ha permitido avanzar significativamente en el entendimiento molecular, estructural y funcional del centrosoma en múltiples organismos. Defectos del centrosoma han sido asociados a múltiples enfermedades humanas; frecuentemente se observan centrosomas súper-numerarios o estructuralmente aberrantes en cáncer y ciliopatías. Utilizando SIM-SR hemos podido distinguir los extremos basales de centriolos supernumerarios contiguos, indistinguibles por microscopia óptica tradicional, pudiendo determinar que una de las fuentes de generación de centrosomas supernumerarios en líneas celulares cancerígenas deriva de la superproducción de nuevos centriolos, y de la fragmentación de centriolos largos. En parásitos Apicomplexa, agentes causales de malaria, toxoplasmosis, y criptosporidiosis, el centrosoma cumple un rol esencial en la coordinación espacio-temporal de los procesos de división celular. La mitosis nuclear y la generación interna de nuevas células hijas se encuentran coordinadas temporalmente por anclajes físicos al centrosoma. Utilizando SIM-SR hemos podido identificar sub-dominios, funcionalmente distinguibles, dentro del centrosoma Apicomplexa cuya manipulación genética permite desacoplar éstos procesos, derivando en ciclos celulares fútiles. Estas peculiaridades evidencian una divergencia estructural y funcional potencialmente explotable en el desarrollo de estrategias anti-parasíticas.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Sub-estructura nanoscópica de foci de γH2AX por microscopía de súper-resolución tipo dSTORM. (#0109)

Pablo Liddle [1]; Pablo Mateos-Gil [2]; Sebastian Letschert [2]; Fabian Zwettler [2]; Laura Lafon-Hughes [1]; Gustavo Folle [1]; Markus Sauer [2]

1 - Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. 2 - Departamento de Biotecnología y Biofísica, Biocentro, Universidad de Würzburg, Würzburg, Alemania.

Resumen:

El reconocimiento y procesamiento del daño genético implica modificaciones epigenéticas en la cromatina. La más estudiada es la fosforilación de la histona H2AX (variante de H2A) en serina-139 generando γH2AX en respuesta a rupturas de doble cadena en el ADN o regiones simple hebra asociadas a bloqueos de horquillas de replicación. La misma se expande 1-2 Mb alrededor de la lesión permitiendo su inmunodetección como foci de γH2AX. La resolución óptica alcanzable por microscopía de fluorescencia convencional limita la visualización de los foci a regiones nucleares elípticas de intensidad homogénea. En este trabajo investigamos la subestructura de foci de γH2AX a escala nanométrica por dSTORM (*direct stochastic optical reconstruction microscopy*) en cultivos de células HeLa bajo condiciones control o expuestos al agente radiomimético bleomicina. Esta metodología se basa en la lectura temporal aleatoria y el posicionamiento de las emisiones de fluoróforos individuales utilizando colorantes que experimentan *photoswitching* reversible y la posterior reconstrucción de una imagen de súper-resolución a partir de todas las localizaciones de molécula única detectadas luego de múltiples ciclos consecutivos de *photoswitching* y registro. Las imágenes dSTORM revelaron agrupamientos de señal de γH2AX separados por áreas desprovistas de marcación dentro de los foci de γH2AX usualmente observados por microscopía de fluorescencia convencional así como señales tipo *dots* fuera de los foci distribuidos en todo el volumen nuclear, tanto en controles como en células expuestas a bleomicina. Para determinar la especificidad de la señal de γH2AX utilizamos inhibidores específicos para ATM, ATR y DNA-PK, las quinasas que fosforilan H2AX a γH2AX luego de la inducción de daño. Si bien constatamos la eliminación de los foci de γH2AX al inhibir simultáneamente todas las quinasas no observamos una disminución significativa de la marcación pan-nuclear tipo *dots* respecto a la presente en cultivos no expuestos a inhibidores.

Por la razón o la fuerza: La revolución de la resolución y sus huellas en la ciencia biomédica del cono sur (#0056)

Steffen Härtel [1]

1 - Universidad de Chile.

Resumen:
Versatile microscopic techniques have been integrated into the workflow of live science laboratories in recent years, not only in Europe, Asia, or North America, but also within the southern cone. On one side, novel techniques have driven the barrier of resolution beyond the diffraction limit of optical microscopy. On the other side, special illumination techniques like light sheet microscopy have broadened the flied of observation or enhanced the spatial-temporal acquisition frequency for whole organism in vivo observations. This presentation focuses on advances in fluorescence techniques that have been combined with data processing frameworks for storage, analysis, or physical-computational modelling, to broaden the spectrum of available techniques for biomedical research and development within the region. Facilities like the Network for Advances Scientific Equipment (REDECA, http://redeca.med.uchile.cl) provide a variety of scientific techniques and services to foster science, innovation, and education beyond the regional limits. Pros and cons of Spinning Disk Microscopy (SDM), Large Scale Imaging (LSI), Whole Slide Imaging (WSI), and different super resolution techniques will be discussed in combination with benefits and limits of 4-lens Laser Scanning Microscopy (4-lens LSM). Applications will be presented for the observation of migration during epiboly in teleosts and neural crest (NC) cell migration in developmental biology, in addition to applications in the field of neuroscience, microbiology, and cell biology. Finally, a regional platform for tele-pathology and tele-education VirtualMicro (vm.scian.cl) will be presented; the impact of pilot courses for education will be discussed.

Domingo

09:00 - 10:45 **SUMI**

Simposio SUMI_3: Aportes de la Microscopía a la Visualización e interpretación de resultados.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

La neuropatía periférica humana CMT1E, modelizada en el murino Trembler-J, presenta alteraciones estructurales y funcionales en la Sustancia Nigra. (#0358)

Mònica Bube [1]; Carlos Romeo [1]; Karina Cal [1]; Gustavo Costa [1]; José Roberto Sotelo [1]; Gieselle Prunell [1]; Alejandra Kun [2]

1 - IIBCE. 2 - Facultad de Ciencias-IIBCE.

Resumen:

Los ratones Tr-J, modelo murino de Charcot-Marie-Tooth1E (CMT1E), principal neuropatía periférica humana, presentan junto a esta afección, una parálisis espástica y un temblor generalizado (presente desde los 11 días de vida), que podría indicar un compromiso central. La PMP22 ha sido descrita en algunos sectores del cerebro, en el tronco encefálico y en motoneuronas espinales de ratas y ratones. Sin embargo, ni la expresión del gen normal ni la del mutado han sido aun claramente establecidas en el SNC. Se ha demostrado además, que pacientes portadores de neuropatías hereditarias presentan desmielinización de la sustancia blanca. Previamente, observamos niveles de *pmp22 y* su proteína, PMP22, incrementados en el citoplasma y núcleo de neuronas hipocampales y de Purkinje en TrJ respecto del wt. En el presente trabajo evaluamos el fenotipo neurodegenerativo TrJ en la región de la Sustancia Nigra (SN), con dos abordajes: 1) mediante inmunomicroscopía confocal cuantitativa (para los marcadores PMP22, p53, melan A, Tau-1, actina, neurofilamento) y 2) a través de la cuantificación de neurotrasmisores por HPLC. La expresión del fenotipo neurodegenerativo TrJ se manifiesta a nivel de la SN, en la expresión diferencial de PMP22, p53 y Tau-1 y en los niveles de Dopac y dopamina. El fenotipo central muestra también en TrJ una regresión en el desarrollo y distribución de la vasculatura, junto a una notable estenosis. Esta alteración podría indicar, junto al hallazgo, en TrJ, de niveles reducidos del ARNm del citocromo b y alteraciones en los niveles de ADN mitocondrial (que hemos realizado recientemente), la existencia de un metabolismo oxidativo alterado asociado al fenotipo neurodegenerativo. Una exploración de la actividad mitocondrial, podría permitir determinar la repercusión funcional de tales alteraciones. Estos hallazgos sugieren un compromiso sistémico del Sistema Nervioso, cuyas consecuencias podrían modificar el alcance y la comprensión del síndrome CMT.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Localización de células Aromatasa B+ y NADPH-diaforasa+ en regiones neurogénicas del encéfalo de Austrolebias charrua (#0287)

Maximiliano Torres Pérez [1]; Anabel Sonia Fernández Constenla [1]; Juan Carlos Rosillo Martí [2]

1 - UNIC-Lab. Neuroantomia Comparada-IIBCE Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias. 2 - UNIC-Lab. Neuroantomia Comparada-IIBCE Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias/ Depto. Histología y Embriologia FMed. UdelaR.

Resumen:
La Aromatasa B y la NADPH-citocromo P450 reductasa son enzimas de la ruta esteroidogénica que convierten los andrógenos en estrógenos. Diversos estudios reportan altos niveles de expresión de Aromatasa B en la glía radial y gran producción de estrógenos, los que están implicados en la proliferación celular. Estas características pueden representar una adaptación ligada a la neurogénesis continua que se sabe que ocurre a lo largo de toda la vida de los peces. Se ha observado que la actividad NADPH-diaforasa en el encéfalo de los peces está presente en neuronas nitrinérgicas y también en células gliales posiblemente dada por la actividad de la reductasa esteroidogénica. El objetivo de este estudio es analizar mediante inmunorreactividad la presencia de Aromatasa B y la marcación mediante histoquímica de las células con actividad NADPH-diaforasa en el encéfalo del pez teleósteo Austrolebias charrua. Estos marcadores se analizaron en combinación con bromodesoxiuridina (BrdU) como marcador de proliferación celular para determinar si las células Aromatasa B+ y NADPH diaforasa+ son proliferantes. El análisis por microscopía óptica y confocal mostró que algunas células radiales ubicadas en las zonas ventriculares presentan actividad NADPH-diaforasa, inmunorreactividad frente a la aromatasa B y son BrdU+. También se detectaron más profundas en el parénquima, neuronas nitrinérgicas con actividad NADPH-diaforasa. En diferentes protocolos de estudio, se pudo constatar la colocalización de BrdU con células NADPH-diaforasa+ y con células Aromatasa B+; y que algunas células radiales presentan doble marcado para la Aromatasa B y la actividad NADPH-diaforasa. Estos resultados presentan a las glías radiales de *Austrolebias charrua* como células proliferantes con actividad esteroidogénica y con actividad NADPH-diaforasa probablemente resultado de la enzima reductasa de la ruta esteroidogénica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Structural dynamics of the endoplasmic reticulum mediated by cytoskeleton modifies luminal protein transport (#0360)

Jorge Toledo [1]; Francisca Váldes [2]; Claudia Reyes [2]; Pamela Romero [2]; Felix Urra [3]; Victor Zárate [2]; Mauricio Cerda [4]; Felipe Santibáñez [2]; Andrés Couve [5]; Steffen Härtel [4]

1 - Laboratory of Cellular and Molecular Neurobiology, Laboratory of Scientific Image Analysis, SCIAN-Lab, Biomedical Neuroscience Institute (BNI), UChile. 2 - Laboratory of Scientific Image Analysis, SCIAN-Lab, Biomedical Neuroscience Institute (BNI), UChile. 3 - Laboratory of Cellular-Metabolism and Bioenergetics. 4 - Laboratory of Scientific Image Analysis, SCIAN-Lab, Biomedical Neuroscience Institute (BNI), UChile, National Center for Health Information Systems (CENS), UChile. 5 - Laboratory of Cellular and Molecular Neurobiology, Biomedical Neuroscience Institute (BNI).

Resumen:

INTRODUCTION: The endoplasmic reticulum (ER) is fundamental for membrane trafficking and secreted protein synthesis in eukaryotic cells. Membrane-bound ribosomes transfer proteins to the ER lumen for subcellular targeting or secretion. Passive diffusion is believed to be the predominant mechanism for protein transport in the ER. However, since the ER is a continuous network that undergoes major structural changes, we assess the *structural dynamics* as an additional mechanism to control transport of luminal proteins. **MATERIALS AND METHODS:** ER in COS-7 cells was visualized by spinning-disk optical microscopy using transfected mRFP-KDEL or mMaple-KDEL. We modified structural-dynamics through pharmacological treatments that alter cytoskeleton stability, molecular motors, and the energetic metabolism. Through analysis of fluorescence fluctuation, we formulate a *dynamics index* based on autocorrelation and computational simulations. Protein transport was examined by fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) and single molecule tracking (SMT), obtaining a *diffusion coefficient* (D). We evaluated variations in D after modifying the structural-dynamics of the ER network by different drugs. **RESULTS**: Measurements of D indicate that diffusion of luminal proteins in single tubules is slower than in larger regions (microns), and increased with the ER-dynamics, But does not change with network-structure or cell morphology. **DISCUSSION**: We propose that the ER-dynamics generated by local cytoskeletal modifications is an active transport mechanism which, in addition to passive diffusion, is involve in the transport of ER luminal proteins.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Image Processing methods for new generation of high-throughput optical microscopy (#0365)

Mauricio Cerda [1]

1 - Laboratory for Scientific Image Processing (SCIAN-Lab), Biomedical Neuroscience Institute (BNI), Centro de Informática Medica y Telemedicina (CIMT), Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Instituto de Ciencias Biomédicas ICBM, Facultad de Medicin.

Resumen:

In recent years, the use of optical microscopy and medical image processing has become increasingly relevant for research and medical practice. *In vivo* microscopy has contributed to the study of cellular structure and function with previously unattained resolution, setting a basis for a deeper understanding of diseases like Cancer, Alzheimer, or Parkinson. Common goals of computational methods for image processing in this context are the quantification of static or dynamic structures either at cellular level, like nuclei or membranes, or at tissue level. Typical analysis tasks are shape description, and tracking, whose combination leads to dynamics quantification. The new generation of high-throughput optical microscopy operating now in South America includes lightsheet microscopy, super resolution techniques such as PALM, STORM, and automated acquisition setups (tissue scanner, multi-well). These technologies generate large volumes of data with specific optical characteristics which make proper image processing methods critical for the efficient extraction of relevant information. In this talk, I will show current work of our lab in deploying storage and network technologies available to local researchers to promote cutting edge collaborative works at the intersection of Cell Biology, Microscopy, and Image Processing. Examples of these efforts are: large-scale cell tracking in development biology, neuron structure automated descriptions, subcellular protein and cytoskeleton dynamics quantification. Acknowledgement: MC Laboratory is funded by FONDECYT 11161033, CONICYT PIA ACT1402, ICM P09-015-F, CORFO, and DAAD (57220037 & 57168868).

Viernes

18:30 - 19:20 **SUMI**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUMI - #0151, #0072, #0278, #0198

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Análisis de inmunoexpresión de la proteína de shock térmico (HSP90) en tumores mamarios de hembras caninas. (#0072)

Graciela Pedrana [1]; Laura Alsina [2]; Maria Helen Viotti [1]; Ana Laura Camacho [1]; Paula Pessina [3]; Paula Lombide [1]

1 - Área Histología y Embriología, Facultad de Veterinaria. 2 - Área Anatomía, Facultad de Veterinaria. 3 - Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria.

Resumen:

Los tumores de mama presentan elevada incidencia tanto en perros como en humanos. Las proteínas de shock térmico (HSPs) se sobreexpresan en tumores promoviendo la supervivencia celular, y por ende la malignidad y resistencia tumoral. El objetivo del presente estudio fue analizar la inmunoexpresión de la proteína HSP90 en tumores de glándula mamaria de perras ingresadas a cirugía en el Centro Hospital Veterinario (n=20). Los pacientes se categorizaron en hembras con tumores primarios o recidivantes; y con o sin ovariectomía (intactas) previa a la mastectomía, de acuerdo a los registros clínicos. Las muestras fueron fijadas en formaldehido y procesadas para inmunohistoquímica. Se utilizó anticuerpo monoclonal de ratón anti HSP90. Se realizó el análisis de inmunoexpresión mediante software ImageJ. La prevalencia de tumores primarios en hembras intactas fue mayor que en ovariectomizadas (72,7 *versus* 27,3 %). En tumores recidivantes, la prevalencia en hembras intactas fue mayor que en ovariectomizadas (62,5 *versus* 37,5%). El área inmunomarcada de HSP90 tanto en tumores primarios como en recidivantes fue mayor en ovariectomizadas en comparación con las intactas ($p<0,0001$). Asimismo, en ovariectomizadas el área inmunomarcada de HSP90 en tumores primarios fue mayor que en tumores recidivantes ($p<0,03$). Sin embargo, en hembras intactas, el área de HSP90 no registró diferencias entre tumores primarios *versus* recidivantes. Se sugiere un rol de la HSP90 tanto en procesos tumorales primarios como en recidivantes, con énfasis en la acción en primarios, independientemente de su condición hormonal. Dados estos resultados, en hembras con elevada expresión de HSP90 y sin estrógenos ováricos circulantes, la alternativa terapéutica anti tumoral más indicada podría estar representada por vacunas anti HSP. Se requieren estudios posteriores que involucren evaluación de los efectos de tratamientos anti HSP90 en los tumores primarios y recidivantes para determinar si las vacunas contra HSPs representan una terapéutica factible.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Estudio morfológico y cuantitativo en larvas de abejas *Apis mellifera* sanas y afectadas por el Mal del Río en Uruguay (#0151)

Graciela Pedrana [1]; Helen Viotti [1]; Paula Lombide [1]; Maria Laura Presentado [1]; Pablo Juri [2]; Enrique Nogueira [2]; José Manuel Verdes [3]; Daniela Arredondo [4]; Ciro Invernizzi [5]

1 - Área Histología y Embriología, Facultad de Veterinaria. 2 - Área Apicultura, Facultad de Veterinaria. 3 - Área Patología, Facultad de Veterinaria. 4 - Departamento de MIcrobiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. 5 - Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias.

Resumen:
Durante el desarrollo, diversos factores pueden causar daños irreversibles en los individuos. En las primeras etapas del desarrollo larval en abejas *Apis mellifera*, los trofocitos y oenocitos son las principales células observadas. El Mal del Río (MDR) afecta el desarrollo larvario por ingesta de mielatos excretados por un flátido del género *Hemiptera*. El objetivo del presente trabajo fue analizar los cambios morfológicos en larvas afectadas por MDR. Se utilizaron larvas criadas *in vitro* que se alimentaron con néctar sano (n=5) y néctar del colmenas afectadas por MDR (NMDR) (n=5). Las larvas fueron fijadas y procesadas histológicamente. Se capturaron 20 imágenes por larva, a 400 aumentos y se analizaron con el software ImageJ, considerando el número de oenocitos y trofocitos, así como el área y diámetro nuclear. Los resultados fueron expresados como media ± e.e.m, y comparados mediante ANOVA. Los oenocitos de las larvas alimentadas con néctar sano presentaron contornos definidos, citoplasmas acidófilos y núcleos eucromatínicos, mientras que los oenocitos de las larvas alimentadas con NMDR presentaron aspecto irregular y pérdida de forma esférica de su núcleo. El número de trofocitos aumentó significativamente en las larvas alimentadas con NMDR en comparación con las que recibieron néctar sano ($p<0.001$) Histológicamente los trofocitos de las larvas alimentadas con néctar sano presentaron forma redondeada, vacuolas lipídicas, y núcleo eucromatínico, mientras que los trofocitos de las larvas alimentadas con NMDR presentaron carencia de límites celulares y menor número de vacuolas lipídicas. El área y diámetro nuclear de los trofocitos disminuyó significativamente en las larvas alimentadas con NMDR en comparación a las que recibieron néctar sano ($p<0,001$). En conclusión, los trofocitos, encargados de la detoxificación, fueron las células más afectadas por el MDR, lo que sugiere un intento de compensación del daño de la larva afectada.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Expresión de la proteina ABCB5 en celulas progenitoras de la retina de teleósteos (#0198)

Ines Berrosteguieta [1]; Juan Carlos Rosillo [2]; Cristina Bertolotto [3]; Anabel Fernández [2]

1 - UNIC-IIBCE Laboratorio de Neuroanatomía Comparada- Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias.
2 - UNIC-IIBCE Laboratorio de Neuroanatomía Comparada-Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias.
3 - ClusterXStem Inc..

Resumen:
Los transportadores ABC (ATP-binding cassette) son una familia de glicoproteínas integrales de membrana. Estas proteínas participan en el transporte transmembrana dependiente de ATP, de diversas moléculas desde iones a moléculas orgánicas más complejas. ABCB5 pertenece a dicha familia, y su expresión está presente en células cancerígenas, ofreciendo propiedades quimio resistentes. ABCB5 también se expresa en células madres y progenitoras en diferentes tejidos, y regulan procesos de gran importancia como la fusión celular. En el ojo de los mamíferos ésta proteína está presente en células madre del limbo corneal. En la retina de los peces a diferencia de lo que ocurre en mamíferos, presenta regeneración total o parcial de la retina. Si bien existe una zona especializada de la retina para su proliferación y neurogénesis, denominada zona marginal ciliar, es sabido que en otras áreas de la retina, distintos tipos celulares (como la glía de Müller), son capaces de diferenciarse y dar origen a todos los tipos celulares de la retina. Nos preguntamos si la expresión del ABCB5 podría identificar otros progenitores presentes en la retina de los teleósteos. Nosotros investigamos la expresión de ABCB5 en la retina de dos modelos de peces, *Austrolebias charrua* y *Danio rerio*, y en ratas, *Sprague dawley*. Mediante el uso de técnicas inmunohistoquímicas, se pudo observar con microscopía confocal, la presencia de ABCB5 en la capa nuclear externa inmediatamente por debajo de los núcleos de los fotorreceptores. Esta precisa localización muestra que son los fotorreceptores los que contiene dicha proteína. Asimismo en la rata su expresión se vio limitada a las células del limbo corneal al igual que lo descrito en humanos, estando ausente en la retina. Estos resultados sugieren que los fotorreceptores, podrían cumplir el rol de célula progenitora en la retina de los peces.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Morfología mitocondrial espermática e infertilidad masculina (#0278)

María Fernanda Skowronek [1]; Mariana Ford [1]; Adriana Cassina [1]; Mauricio Ramos [1]; Federico Lecumberry [1]; Gabriela Casanova [2]; Rossana Sapiro [1]

1 - Facultad de Medicina. 2 - Facultad de Ciencias.

Resumen:

El 15% de las parejas sufren de infertilidad y en más del 50% de estos casos existe un factor masculino solo o combinado con factores femeninos. Se desconoce si la producción de estrés oxidativo por disfunción mitocondrial espermática puede intervenir en la infertilidad. Esto puede producir daño del ADN, de las membranas y de las propias mitocondrias conduciendo a una disminución de la capacidad fecundante. En este trabajo se analizó la asociación entre la morfología mitocondrial y la función espermática. Para ello se buscó, en espermatozoides humanos y de ratón, la relación entre la morfología mitocondrial y la motilidad del espermatozoide, en condiciones normales y con inhibidores mitocondriales (Oligomicina, FCCP y Antimicina A) utilizando la sonda MitoTracker Red. Luego del tratamiento con los inhibidores, extendidos fijados en paraformaldehído 4% fueron observados mediante microscopía epifluorescente o confocal. La motilidad se analizó mediante un sistema computarizado de análisis de semen. En paralelo se analizó la morfología de las mitocondrias espermáticas mediante MET en pacientes infértiles y en hombres sanos. Cuando los espermatozoides fueron tratados con inhibidores mitocondriales se observó disminución de la motilidad, más marcada en los espermatozoides de ratón. La señalización fluorescente de la pieza intermedia reveló distintos patrones de marcado sugiriendo posibles diferencias en la organización mitocondrial. Se observó una disminución del marcado fluorescente tras la utilización conjunta de más de un inhibidor. Los espermatozoides de ratón mostraron una forma más homogénea de su pieza intermedia. Ultraestructuralmente, las mitocondrias de los pacientes presentaron mayor desorganización, formas más irregulares y aumento del espacio intermembranoso en relación a los controles. El análisis cuantitativo (Fiji) reveló diferencias significativas. Concluimos que la función y forma mitocondrial se asocia con parámetros funcionales espermáticos, aunque esto depende de la especie en estudio. La morfología mitocondrial puede ser un marcador más en la evaluación del hombre infértil.

Sábado

15:00 - 15:40 **SUMI**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUMI - #0093 #0139 #0149 #0310 -

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Subnutrition during lactation decreases heat shock protein HSP90ß expression in adult rat testes (#0093)

Graciela Pedrana [1]; Camila Larrañaga [1]; Helen Viotti [1]; Paula Lombide [1]; Daniel Cavestany [2]; Deborah Sloboda [3]

1 - Área de Histología y Embriología, Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria. 2 - Área de Teriogenología, Facultad de Veterinaria. 3 - Biochemistry & Biomedical Science, McMaster University.

Resumen:
The nutritional status of the mother during gestation can modify fetal development decreasing birth weight that determined long-term alterations in adult life. A restriction of nutrients during pregnancy has been shown to cause infertility in adult males. The effects depend on when subnutrition occurs. However, the mechanisms that trigger fetal programming events have not yet been elucidated. Within the plausible molecules that produced these changes are heath shock proteins (HSPs) that are linked in the testis, to the stabilization and activation of post-meiotic kinases, throughout development of the gonads, with essential role in the process of spermatogenesis. Our hypothesis suggests that subnutrition during key developmental periods, will affects the expression of HSP90ß isoform. The objective was to characterize and quantify the expression of HSP90ß in testis of adult's rats whose mothers were sub nourished during pregnancy, lactation or during both pregnancy and lactation periods. Testes were formalin fixed and paraffin embedded, and processed for immunohistochemical analyses against HSP90ß protein. HSP90ß protein immunostaining area and intensity were measured. The results were expressed as mean ± SEM, $p < 0.05$. The immunoexpression of HSP90ß was localized in the cytoplasm of spermatogonia, spermatocytes and in the acrosome region in round spermatids. The HSP90ß immunostaining area (%) decreased in sub nourished groups compared with control, being even lower in the sub nourished during pregnancy and lactation ($p < 0.001$). Recently it was shown that in HSP90 knockout mice testis, spermatocytes underwent apoptosis. In conclusion the expression of HSP90ß in the testis is modified in subnutrition conditions, resulting in a greater decrease when it is extended during gestation and lactation developmental periods. The decrease observed in HSP90 could compromise the maintenance of spermatogenesis and for survival of spermatocytes in adult testis.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Acercamiento al análisis del ciclo reproductivo de *Alitta succinea* (Annelida, Polychaeta) en la costa uruguaya (#0139)

Jimena Montagne [1]; Gustavo M. Somoza [2]; Nibia Berois [1]

1 - Sección Biología Celular de la Facultad de Ciencias (UDELAR). 2 - Instituto de Investigaciones Biotecnológicas - Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET - UNSAM).

Resumen:

Alitta succinea (Leuckart 1847) presenta las características morfológicas comunes de la familia Nereididae, así como el proceso de epitoquia asociado a la reproducción sexual. Las modificaciones estructurales que se producen en la epitoquia permiten identificar individuos átocos (inmaduros) y epítocos (maduros). En poblaciones del Mar del Norte, la epitoquia y el comportamiento reproductivo se han asociado con el aumento de la temperatura del agua. En Uruguay, se ha documentado la ocurrencia del comportamiento reproductivo en los meses de octubre a marzo en Punta del Este. Con el objetivo de aportar al conocimiento del ciclo reproductivo de *A. succinea* en la costa uruguaya, se realizó un análisis del estado reproductivo entre marzo y diciembre de 2015. Se estudiaron dos poblaciones: una de Punta Ballena (34,91°S 55,05°O) y la otra del Puerto de Punta del Este (34,96°S 54,95°O). Estos dos sitios son lugares cercanos geográficamente, cuya diferencia principal es el sustrato sobre el cual se encuentran los animales. Se cuantificó la abundancia, el tamaño y la proporción de epítocos. Se encontró una relación inversa entre la abundancia y las variables temperatura y conductividad. Se encontraron sólo individuos átocos en las muestras de marzo a julio. La presencia de epítocos en baja proporción, entre agosto y diciembre, se relaciona positivamente con la temperatura. Además, el análisis de tamaños (longitud L3) permite diferenciar las muestras de agosto a diciembre de las anteriores (valor medio mayor y rango más amplio). Al comparar las dos poblaciones, la abundancia es similar en cada mes. El análisis de tamaños, muestra diferencias significativas en el mes de junio: valor medio y rango menores en Punta Ballena. Las muestras de julio, por otro lado, no presentan diferencias significativas. Como perspectiva, se propone complementar el análisis del estado reproductivo con una aproximación histológica.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Herramientas para el análisis y cuantificación de la representación neural de vibrisas de roedores en la corteza somatosensorial (#0149)

Mauricio Ramos [1]; Javier Nogueira [2]; Diego Méndez [2]; Federico Lecumberry [1]

1 - Facultad de Ingeniería (UdelaR). 2 - Facultad de Medicina (UdelaR).

Resumen:

La utilización de la técnica histoquímica para la citocromo oxidasa permite poner en evidencia la representación neural de las vibrisas de los roedores a nivel de la corteza somatosensorial. El patrón observado se asemeja a una malla de manchas oscuras (barriles), con una estructura de entre cuatro y nueve barriles por fila. Esto constituye un excelente modelo para el análisis de los cambios en la organización celular y circuital del sistema nervioso asociados a patologías del neurodesarrollo, y requiere de herramientas informáticas que permitan procesar y cuantificar de forma rápida alteraciones de la estructura y patrón de los barriles en diferentes condiciones experimentales. Este trabajo presenta un procedimiento semi-automático para la medida de parámetros que buscan cuantificar la topología de las diferentes organizaciones de la regiones de interés en la estructura de malla. Primero se propone un método para la segmentación automática de las regiones en la estructura de la malla. Este método obtiene una primera segmentación gruesa de los barriles a través de una ecualización de histograma, filtrado pasabanda y umbralización local. Luego, cada región obtenida limita una curva que es utilizada como condición inicial para un refinamiento de la segmentación mediante Geodesic Active Contours. En esta etapa, el usuario valida la segmentación obtenida y define un barril específico de forma de poder ajustar la malla. Finalmente, una vez obtenidos los centroides de los diferentes barriles y la relación topológica entre ellos se busca cuantificar su organización estructural por medio de diferentes parámetros como son: distancia entre centroides, distancia entre barriles, área, perímetro y forma de los barriles, perfil de variación de intensidad de gris por fila, entre otros. Queda pendiente la extracción de estos parámetros así como su análisis estadístico para evaluar la significatividad de estas medidas en diferente condiciones experimentales.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Caracterización inicial de la cilia primaria en fotorreceptores de pez cebra en diferenciación (#0310)

Magela Rodao [1]; José Badano [2]; Flavio Zolessi [3]

1 - Laboratorio de Biología Celular del Desarrollo Neural, Institut Pasteur de Montevideo / Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 2 - Laboratorio de Genética Molecular y Humana, Institut Pasteur de Montevideo. 3 - Laboratorio de Biología Celular del Desarrollo Neural, Institut Pasteur de Montevideo / Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Resumen:

Las cilias primarias son organelos celulares especializados que funcionan como sensores de señales extracelulares. Resultados recientes de nuestro grupo mostraron que son necesarias para la proliferación y supervivencia de progenitores retinianos y para la generación de células ganglionares de la retina en el pez cebra. Otro tipo celular esencial de la retina, los fotorreceptores, presentan en su extremo apical una cilia modificada que compone el segmento externo y, en humanos, un síntoma recurrente en varias ciliopatías es la degeneración de la retina dada por la muerte de fotorreceptores. La diferenciación del segmento externo se produce hacia el final de la histogénesis retiniana, y la cilia se localiza apicalmente desde que este proceso comienza. Pero, ¿qué sucede en etapas previas en la diferenciación de fotorreceptores? En una primera aproximación, hemos analizado, mediante microscopía confocal y microscopía electrónica de transmisión (MET), la presencia y localización de cilias primarias en progenitores retinianos ubicados en la zona apical de la retina de embriones tempranos de pez cebra (entre 35 y 48 horas post-fecundación). Utilizando un marcador temprano de fotorreceptores (Crx:mCherry-CAAX), y un marcador de cilia (Arl13b-EGFP), hemos observado que los progenitores que dan lugar a fotorreceptores nunca se desprenden de la superficie apical y que, salvo durante la mitosis, siempre presentan una pequeña cilia de localización apical. Paralelamente, mediante MET hemos detectado la presencia de cilias primarias en la región apical de células con morfología de fotorreceptores en desarrollo. Estas cilias suelen carecer de un bolsillo ciliar, a diferencia de lo que se ha descrito para células neuroepiteliales. Nuestros resultados indican que la cilia primaria está presente en etapas tempranas de la diferenciación de fotorreceptores, y nos preguntamos si es a partir de esta cilia temprana que se desarrolla el segmento externo, así como qué función cumple en la diferenciación celular.

Domingo

14:00 - 15:30 **SUMI**

PRESENTACIÓN POSTERS (C9) - SUMI - #0094, #0282, #0364, #0361

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

Subnutrition during pregnancy and lactation increases GDNF immunoexpression at stages VII of seminiferous tubules, affecting spermatogenesis in adult rat testes (#0094)

Graciela Pedrana [1]; Alejandra Díaz Traverso [1]; Paula Lombide [1]; Helen Viotti [1]; Daniel Cavestany [2]; Deborah Sloboda [3]

1 - Área Histología y Embriología, Facultad de Veterinaria. 2 - Área de Teriogenología, Facultad de Veterinaria. 3 - Biochemistry & Biomedical Science, Mc Master University.

Resumen:

During fetal life many programming factors such as subnutrition are able to modify the intrauterine environment determining permanent changes in adult life. Concerning reproduction, growth factors such as glial cell derived neurotrophic factor (GDNF) emerge as a potential factor that could mediate these adjustments. GDNF is known to regulate the decisions of the cellular fate of the spermatogonial stem cells (SSC) through a paracrin regulation. It is not yet determined whether subnutrition during developmental windows periods modulates the expression of this factor. Therefore, the objective was to determine whether subnutrition during pregnancy (UNP), lactation (UNL) or pregnancy / lactation (UNPL) modify GDNF expression in the adult testis. Testicular rat's samples were processed and immunohistochemical technique using rabbit polyclonal anti GNDF was performed. Immunostaining area and intensity of GDNF immunoexpression (%) were measured. In addition, frequency of stages of the seminiferous cycle was determined and correlated with GDNF immunoexpression. In all cases, significance were considered to be $p < 0.05$. The percentage of immunostaining area and the intensity of GDNF immunostaining were higher in the UNP and UNL group compared to the control group ($p < 0.0001$). Our results showed an overexpression of GNDF during stage VII and VIII. Normally, GDNF protein is secreted by Sertoli cells maximized between XIII-I of spermatogenic stage cycle, and decreasing towards stage VII. Previous studies in mice demonstrate that testes over expressing GDNF were infertile, and develop testicular tumors. A complex process, the spermiation occurs at the beginning of stage VII in the rat, and is completed towards the end of stage VIII. Consequently, we suggest that subnutrition during lactation, and pregnancy modified GDNF expression that disturb spermatogenesis, particularly at stages were spermiation occurs within seminiferous cycle in adult animal testes. In conclusion, subnutrition during key periods of development increased GDNF with deleterious consequences on spermatogenesis.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

fH-E: UN MÉTODO RÁPIDO DE COLORACIÓN FLUORESCENTE PARA LA OBSERVACIÓN DE TEJIDOS INTACTOS MEDIANTE MICROSCOPÍA CONFOCAL (#0282)

Marcela Díaz [1]; Daniel Prieto [1]; Camila Davison [2]; Flavio Zolessi [2]

1 - Institut Pasteur de Montevideo. 2 - Institut Pasteur de Montevideo, Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias.

Resumen:

Las técnicas de coloración histológica clásicas permiten una visualización general del tejido a estudiar. Estos métodos, sin embargo, consumen tiempo y pueden causar daño al tejido por la cantidad de pasos requeridos, el uso de solventes y la necesidad de realizar cortes. Por otra parte, las técnicas de marcado fluorescente se han vuelto muy populares, ya que permiten identificar de forma eficiente estructuras específicas a nivel sub-celular. Cuando se combina esta aproximación con la microscopía confocal, se vuelve posible acceder a la estructura fina sin necesidad de realizar cortes histológicos. Contar con un método de contraste sencillo que permita una rápida visualización general de los tejidos, incluso en organismos enteros, sería una herramienta muy poderosa. El verde de metilo (MG) es un colorante básico que se asocia específicamente al ADN. Recientemente hemos caracterizado sus propiedades espectrales y descrito un método para marcar ADN utilizando MG. La fluoresceína es un fluoróforo relacionado con la eosina, de bajo costo y accesible a cualquier laboratorio. El objetivo de este trabajo es poner a punto un protocolo de coloración rápido, sencillo y barato para la visualización por fluorescencia de estructuras celulares, combinando la tinción fluorescente ("f") con MG ("H") y fluoresceína ("E"). Como primera aproximación empleamos embriones de zebrafish de 24 y 48 hpf fijados. Posteriormente se realizó una tinción con MG y fluoresceína, los embriones se montaron en agarosa-glicerol y, utilizando un microscopio confocal, se obtuvieron cortes ópticos de los embriones enteros. La puesta a punto de este protocolo resultó en un método rápido y eficaz para la visualización de la morfología microscópica general de todo un organismo, o el detalle estructural de un tejido en particular, con una alta resolución tridimensional. A su vez, estas técnicas pueden combinarse con marcado sub-celular específico, utilizando anticuerpos u otros marcadores fluorescentes.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

RESPUESTA ASTROCITARIA A LA COEXISTENCIA DE LA DEFICIENCIA DE HIERRO Y ALCOHOL (#0364)

Mariana Perata [1]; Eugenia Isasi [1]; Silvia Olivera-Bravo [1]

1 - IIBCE.

Resumen:
El neurodesarrollo y las células neurales son blancos preferenciales de la deficiencia de hierro (DH) y del alcohol. La DH es la condición nutricional más prevalente afectando fundamentalmente a mujeres en edad fértil y sus hijos desde la gestación hasta la adolescencia temprana. Por su parte, el consumo abusivo de alcohol es responsable del 1% de las enfermedades neonatales no atribuibles a causas genéticas y de casi el 6% de las muertes mundiales. La DH y el alcohol alteran irreversiblemente al sistema nervioso central. Sin embargo son poco conocidos sus efectos combinados sobre las células gliales que son determinantes para la perpetuación del daño al SNC. Nuestro grupo ha analizado los efectos de DH-alcohol exponiendo astrocitos corticales neonatales al quelante de hierro desferroxamina (DFO, 25 μM, 96 h) y a etanol (100 mM, 24 h) y luego co-cultivado con neuronas y oligodendrocitos. La coexistencia DFO-alcohol provocó una disminución significativa del potencial y la funcionalidad mitocondrial además de un descenso en los niveles de glutatión en astrocitos. Sin embargo, DFO-alcohol bloqueó el aumento de estrés oxidativo producido por alcohol y las alteraciones del citoesqueleto de actina ocasionadas por DFO. La sobrevida de neuronas hipocampales co-cultivadas sobre astrocitos DH-alcohol fue la menor de todas las condiciones (80% del control). DFO y DFO-alcohol disminuyeron la sobrevida de oligodendrocitos en igual porcentaje, pero DFO-alcohol afectó además la morfología de los oligodendrocitos supervivientes. Nuestros resultados muestran que la DH y el alcohol alteran el fenotipo astrocitario actuando sinérgicamente sobre algunas respuestas y antagonizando otras. Sin embargo, la co-existencia DH-alcohol en astrocitos tuvo la mayor repercusión negativa sobre la viabilidad de neuronas y oligodendrocitos, lo que podría explicar el agravamiento de los efectos negativos sobre la sinaptogénesis y la mielinización cuando coexisten ambas condiciones.

CONGRESO NACIONAL DE BIOCIENCIAS
12 al 14 de mayo de 2017

AUTOMATIZACIÓN DE LA ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE IMÁGENES DE CÉLULAS DE FROTIS SANGUÍNEOS. (#0361)

Erik Winiarski [1]; Alexandra Ferrer [1]; Mauricio Ramos [2]; Federico Lecumberry [2]; Rossana Sapiro [1]

1 - Facultad de Medicina. 2 - Facultad de Ingeniería.

Resumen:
El análisis de células mediante microscopía óptica (MO) es utilizado en diversas áreas de enseñanza, diagnóstico e investigación. Durante años el análisis cuantitativo y cualitativo de células al MO se realizó manualmente pero actualmente es posible realizarlo mediante algoritmos programables manipulando grandes cantidades de datos en poco tiempo. En el 2016 se realizó una actividad de Extensión en el Liceo N2 de Minas, Lavalleja con el objetivo de aproximar a estudiantes de secundaria a las técnicas histológicas de rutina y al análisis microscópico de las células.En esta experiencia se observaron y analizaron frotis de sangre. La actividad tuvo muy buena recepción por parte de los participantes, sin embargo, los docentes manifestaron que la identificación manual de células al MO conlleva un tiempo considerable. Si bien actualmente existen programas comerciales que detectan automáticamente variedades celulares, estos son muy costosos y no se encuentran disponibles rutinariamente.En este trabajo proponemos validar variables cuantitativas y cualitativas de reconocimiento celular, a través de imágenes obtenidas con MO. Se utilizaron frotis de sangre teñidas con técnicas histológicas de rutina. Se utilizó un programa de acceso libre (FIJI). Las variables seleccionadas para reconocer las células fueron: forma, contraste, tamaño de núcleo y contraste del citoplasma de neutrófilos. Los resultados preliminares muestran que existen varias posibilidades que permiten contabilizar variedades celulares. Una herramienta del programa contabiliza múltiples tipos celulares de forma manual. Este procedimiento no difiere de los utilizados actualmente por lo que no implicaría un gran impacto. Otra herramienta semi automatizada que brinda FIJI son los Macros, que permitan el análisis de ¨partículas¨. El operador la programa y luego puede ser reproducida en diversas imágenes obteniendo resultados muy similares.Concluimos que esta segunda herramienta permitiría optimizar tiempos y estandarizar procesos, no solo dentro del área biológica sino también en otros campos de estudio.

La realización del Congreso Nacional de Biociencias 2017 fue viable gracias al aporte financiero de diferentes entidades, a las que agradecemos: