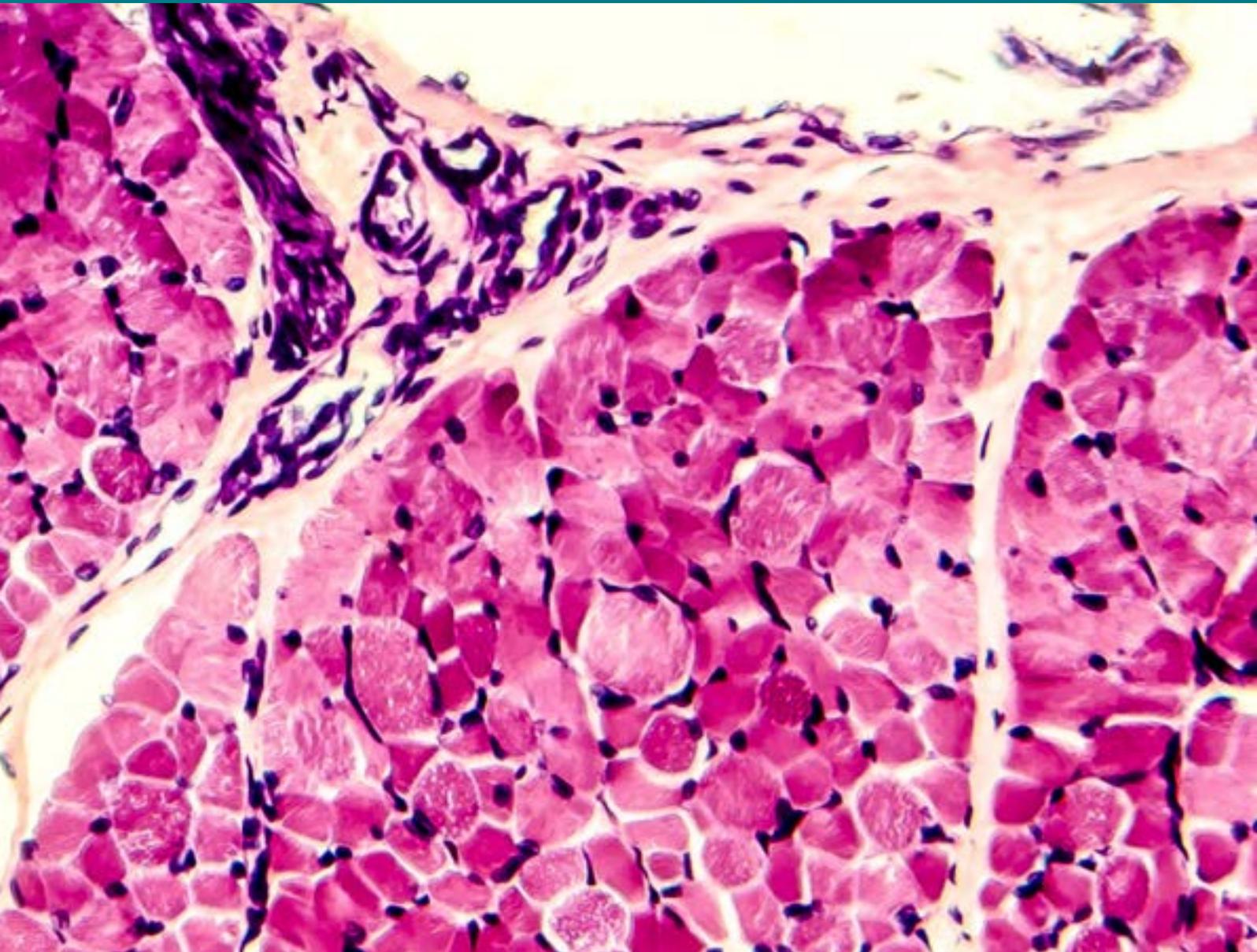


Physiological Mini Reviews

Special Issue
Congreso Nacional de Biociencias
Octubre 2022, Montevideo, Uruguay

15
Volume



Vol. 15, October, 2022
ISSN 1669-5410 (Online)
pmr.safsiol.org.ar



SAFIS
Sociedad Argentina de Fisiología



Physiological Mini-Reviews

[ISSN 1669-5410 (Online)]

Edited by the **Argentinean Physiological Society and the Latin American Association of Physiological Sciences**

Journal address: Centro de Investigaciones Cardiovasculares y Cátedra de Fisiología y Física Biológica.
Facultad de Ciencias Médicas; Universidad Nacional de La Plata;
La Plata, Buenos Aires, Argentina. Tel.-Fax: +54-211-4834833
<http://pmr.safisiol.org.ar>

Physiological Mini-Reviews is a scientific journal, publishing brief reviews on "hot" topics in Physiology. The scope is quite broad, going from "Molecular Physiology" to "Integrated Physiological Systems". As indicated by our title it is not our intention to publish exhaustive and complete reviews. We ask to the authors concise and updated descriptions of the "state of the art" in a specific topic. Innovative and thought-provoking ideas are welcome.

Founding Editor: Mario Parisi, Buenos Aires, Argentina

Editor in Chief: Alicia Mattiazzi, La Plata, Argentina

Associate Editors

Alejandro Aiello, La Plata, Argentina
Walter Boron, Cleveland, OH, United States
María José Campagnole-Santos, Belo Horizonte, Brazil
Julio Copello, Springfield, IL United States
Ana Franchi, Buenos Aires, Argentina
Cecilia Hidalgo, Santiago, Chile
Daniel Ortuño-Sahagun, Guadalajara, Jal., México
Eduardo Ríos, Chicago, IL, United States
Luis Sobrevia, Santiago, Chile

Administrative Council

Presidents or delegates of Latin American Physiological Societies or Biological Societies

Ma. del Carmen Cortés Sánchez, Puebla, Pue, México
Paola Contreras, Montevideo, Uruguay
Jean Claude Dorsainvil, Puerto Príncipe, Haïti
Mayppee González Jardinez, La Habana, Cuba
Henry León, Chía, Cund., Colombia
Azael Paz Aliaga, Lima, Perú
Zully Pedroso, Santiago, Chile
Patricia Rocco, Río de Janeiro, RJ, Brazil
Martín Vila Petroff, La Plata, Argentina

Editorial Board:

Vagner Roberto Antunes, Sao Paulo, Brazil
Cristina Arranz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
Claudia Capurro, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
Daniel Cardinali, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
Marcelino Cerejido, México City, México
Alberto Crottogini, Buenos Aires, Argentina
Osvaldo Delbono, Winston-Salem, NC, United States
Irene Ennis, La Plata, Argentina
Ariel Escobar, Merced, CA, United States
Ludmila Firaletova, St. Petersburg, Russia
Benjamín Florán Garduño, Ciudad de Mexico, Mexico
Ana María Gomez, Chatenay-Malabry, France
Guillermo González Burgos Pittsburg, PA, United States
Carlos González, Valparaíso, Chile
Hilda Leonor González Olaya, Bucamaranga, Colombia

Sergio Gradilone, Austin, MN, United States
Joost Hoenderop, Nijmegen, The Netherlands
Bredford Kerr Fuentes, Santiago, Chile
Cecilia Larocca, Rosario, Argentina
Elena Lascano, Buenos Aires, Argentina
Reinaldo Marín, Caracas, Venezuela
Raúl Marinelli, Rosario, Argentina
Susana Mosca, La Plata, Argentina
Cecilia Mundiña-Weilemann, La Plata, Argentina
Gustavo Pérez, La Plata, Argentina
Darío Protti, Sidney, Australia
Margarita Salas, La Plata, Argentina
Daniel Schulz, Paris, France
Gary Sieck, Rochester, MN, United States

Education Editorial Board

Robert G. Carroll, Greenville, NC, United States
Matilde Said, La Plata, Bs. As., Argentina
Roxana Troiano, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
Claudia Caldiz, La Plata, Bs. As., Argentina

Publishing Editorial Board

Carolina Caniffi, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
Verónica de Giusti, La Plata, Bs. As., Argentina
Luis Gonano, La Plata, Bs. As., Argentina
Alejandro Orlowsky, La Plata, Bs. As., Argentina

Zully Pedroso, Santiago, Chile
Matilde Said, La Plata, Bs. As., Argentina
Carlos Valverde, La Plata, Bs. As., Argentina
Alejandra Yeves, La Plata, Bs. As., Argentina

Editorial Assistant: María Ines Vera

Preparation and Submission of manuscripts:

"Physiological Mini-Reviews" will have a maximum of 3000 words, 50 references and 3 figures. Material will be addressed to scientific people in general but not restricted to specialist of the field. For citations in the text please refer to Instructions in our webpage. Final format will be given at the Editorial Office. Most contributions will be invited ones, but spontaneous presentations are welcome. Send your manuscript in Word format (.doc or .docx) to: pmr@safisiol.org.ar

Advertising: For details, rates and specifications contact the Associate Editor at the Journal address e-mail: pmr@safisiol.org.ar

The "Sociedad Argentina de Fisiología" is a registered non-profit organization in Argentina. (Resol. IGJ 763-04)



BIOCIENCIAS

II Jornadas Binacionales Argentina Uruguay
III Congreso Nacional 2022
"Ciencia para el desarrollo sustentable"

19 al 21 de Octubre 2022

Radisson Victoria Plaza Montevideo Uruguay

XVIII Jornadas de la SUB

XVIII Jornadas de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay

XII Jornadas de la Sociedad de bioquímica y Biología Molecular

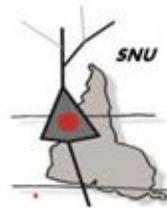
VII Congreso de la Sociedad Uruguaya de Genética

VI Jornadas +Biofísica

III Jornadas de la Asociación de Terapia Génica y Celular del Uruguay

III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Microscopía e Imagenología XIV

Encuentro Nacional de Microbiólogos



Auspicios institucionales y académicos



Declarado de interés ministerial



Ministerio de Educación y Cultura

Ministerio de Salud Pública



UruguayNatural
Ministerio de Turismo

Apoyo económico



al servicio de la ciencia



II Jornadas Binacionales Biociencias Argentina-Uruguay
III Congreso Nacional de Biociencias 2022
Ciencias básicas para el desarrollo sostenible

MIÉRCOLES 19 DE OCTUBRE			
8:30-9:00	Acreditación		
9:00-9:30	<i>Sala - Ballroom</i> PALABRAS DE APERTURA Autoridades Sociedad Argentina de Biología, la Sociedad Uruguaya de Biociencias, PEDECIBA y UdelaR		
09:30-10:45	MESA REDONDA “El impacto de la ciencia en la toma de decisiones” Oradores: Silvia Nane, Deborah Cohen, Antonio Costa Filho, Francesca Velluti, Álvaro Mombrú Moderan: María Castelló, Gianella Facchin, Gabriel Anesetti		
11:00-12:15	SIMPOSIO SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOLOGIA “Ciencia para la sostenibilidad” Moderan D. Cohen, C. Kruk Biofertilizantes: Una alternativa ecoamigable para la sostenibilidad del medio ambiente. María Marina Uso sustentable de guanacos silvestres como alternativa productiva y estratégica de conservación en zonas áridas de la Patagonia argentina. Pablo Carmanchahi Biotecnologías reproductivas para eficientizar el manejo de la cría del pejerrey <i>Odontesthes bonariensis</i> . Leandro Miranda		
12:30-13:45	Lunch de bienvenida - 40 años de la SUB		
13:45-15:00	<p style="text-align: center;">Sala de Conferencias</p> <p>José Luis Peña - Localización de sonidos en lechuzas de campanario y seres humanos.</p> <p>Marta Antonelli (SAN) - Maternal–fetal stress and DNA methylation signatures in neonatal saliva</p> <p>Organiza: SNU</p>	<p style="text-align: center;">Ballroom</p> <p>Bioinformática: un área transversal a varias disciplinas</p> <p>Fabio Polticelli - Mitochondrial carriers, master regulators of cell metabolism. Insight from in silico studies</p> <p>Trabajos seleccionados</p> <p>Organiza SBBM- Comisión Maestría en Bioinformática</p>	<p style="text-align: center;">Sala Picasso</p> <p>Elisa M. Bolatti. Análisis de los virus presentes en murciélagos de Argentina</p> <p>Organiza: SUM</p>
CONFERENCIAS SEMIPLENARIAS			

MIERCOLES 19 DE OCTUBRE		
15-16:55 (16:30 – Café)	SESION POSTERS I	
17-18:30	<p>MESA REDONDA</p> <p>Política científica: “¿Cómo nos evaluamos? ¿Qué opciones tenemos?”</p> <p>Oradores: Cecilia Fernández, Cecilia Tomassini, Natalia Gras, Christian Gonzalez-Billault.</p> <p>Moderan: Flavio Zolessi, Gianella Facchin, Gonzalo Ferreira</p>	
18:30-20:00 CONFERENCIAS SEMIPLENARIAS	<p style="text-align: center;">Ballrocom</p> <p>Receptores de membrana</p> <p>Luis Sobrevia - Insulin/adenosine axis signalling in gestational diabetesy</p> <p>Cecilia Bouzat - Receptores nicotínicos: un recorrido desde el funcionamiento molecular a las implicancias terapéuticas</p> <p>Trabajos seleccionados de los estudiantes de las Seccionales Organizadoras</p> <p>Antonio Costa-Filho - To be or not to be: what is the function? The exquisite biophysics of the Golgi Reassembly and Stacking Proteins</p> <p>Moderan: Gonzalo Ferreira – Cristian Justet Organizan: SBBM /SBF/SNU.</p>	<p style="text-align: center;">Sala de Conferencias</p> <p>Francisco Barona Gómez - Minería Genómica de Productos Naturales: una nueva frontera para la bio-prospección y ecología microbiana</p> <p>Organiza: SUM</p>

JUEVES 20 DE OCTUBRE							
9:00-10:00	Acreditación						
	Ballroom Sala 2 Colin Goding - Phenotype switching and cancer progression. Organizan: SBBM/SUG	Sala de Conferencias SIMPOSIO I SNU: Investigación en Neurociencia Cognitiva en base a herramientas neuroimagenológicas y electrofisiológicas Modera: A. Cabana Organiza: SNU			Sala Renoir SIMPOSIO - Ciencias del mar Organizan: Diego Lercari Danilo Calliari		
10:00-12:00 10:30 Café	SESIÓN POSTERS II						
12:00- 13:15	ALMUERZO						
13:30-14	CONFERENCIA Christian Gonzalez-Billault - Coordinated membrane and cytoskeleton dynamics define neuronal morphology						
14:00-16:30	<i>Sala 1 Ballroom</i>	<i>Sala 2 Ballroom</i>	<i>Sala 3 Ballroom</i>	<i>Sala Conferencias</i>	<i>Sala Florida</i>	<i>Sala Picasso</i>	<i>Sala Renoir</i>
	Presentaciones Estudiantes SUM 14-15.15 Área Biotecnología 15.15-16.30 Área Salud Organiza SUM	Mesa - Biología del Cáncer Norbert Polacek - Human vault RNAs as modulators of cell proliferation and tumorigenesis Thomas Kislinger Clinical Proteomics: Biomarker Discovery & Therapeutic Targets Mónica Cappelletta Búsqueda de nuevos marcadores epigenéticos asociados a cáncer en el Uruguay Presentaciones estudiantes Organiza: SBBM-SUG	Ingeniería biomédica e informática médica ya no se distinguen en el internet de las cosas aplicada a la medicina Modera: F. Simini Organiza: SIB	SIMPOSIO II SNU Base neural de la emisión de señales comunicativas sociales: de la naturaleza al laboratorio Modera: P. Pouso 15-16:30 Mesa de doctorados I Organiza SNU	Mesa Avances en Biología de la Reproducción: Impactos en Salud y Enfermedad Moderan R. Chávez R. Sapiro	Terapias Avanzadas y Medicina Regenerativa. Cristina Touriño Terapia génica con células CAR T en Brasil. Renato Guerino Cunha Nuevas estrategias de tratamiento con terapias celulares y génicas en Dermatología. Gabriela Otero Organiza: ATGC-U	Simposio Ciencias del Mar Moderan: D. Lercari D. Calliari
16:30-17:00	Café						

JUEVES 20 DE OCTUBRE							
	<i>Sala 1 Ballroom</i>	<i>Sala 2 Ballroom</i>	<i>Sala 3 Ballroom</i>	<i>Sala Conferencias</i>	<i>Sala Florida</i>	<i>Sala Picasso</i>	<i>Sala Renoir</i>
17:00-18:30	<p>MESA</p> <p>Alimentos vivos y bebidas fermentadas: microbiología, sabor, salud y cultura.</p> <p>Organiza SUM</p>	<p>MESA</p> <p>Aplicaciones de la Proteómica</p> <p>Moderan: A. Lima A. Parodi</p> <p>Oradores J. Rodríguez I. López</p> <p>Presentaciones de estudiantes</p> <p>Organiza SBBM</p>	<p>MESA</p> <p>QUIMICA MEDICINAL</p> <p>L. Malacrida, R. Pagotto, Presentaciones de estudiantes</p> <p>Organiza: V. López A. Medeiros.</p>	<p>17:00</p> <p>Mesa Doctorados II SNU</p> <p>18:00</p> <p>Simposio vuelta a casa (IBRO)</p> <p>Organiza SNU</p>	<p>Actividad Inaugural de la seccional Limno.uy</p>	<p>MESA</p> <p>USINA DE CÓDIGOS DE BARRA DE LA VIDA-URUGUAY</p> <p>Coordinan: C. Da Silva M. Cosse.</p> <p>Organiza SUG</p>	<p>Simposio Ciencias del Mar</p> <p>Moderan: D. Lercari D. Calliari</p>
18:30-20:00		<p>MESA</p> <p>El citoesqueleto y la polaridad celular bajo la "lupa"</p> <p>M. Bisbal N. Unsain</p> <p>Presentación de estudiantes</p> <p>Organiza SUMI</p>		<p>Asamblea de socios SNU</p>	<p>MESA</p> <p>La investigación Antártica en el Uruguay</p> <p>Organizan: L. Ziegler G. Lacerot,</p>		

VIERNES 21 DE OCTUBRE

8:30 - 9:00	Acreditación						
9:00-10:00	<i>Ballroom</i>				<i>Sala de Conferencias</i>		
	MESA REDONDA - Género y ciencia Organiza Comisión de Género y Equidad de la SUB Logros y desafíos de las comisiones de género Oradoras: Representantes de las comisiones de género de distintas instituciones Moderan: L. Martínez Palma, V. Prieto				MESA REDONDA – Extractivismo, ambiente y salud Oradores: Hyadée Pizarro, Germán Botto Moderan: C. Kruk, C. Piccini		
10:00-12:00 10:30 Café	SESIÓN POSTERS III						
12:00-13:30	ALMUERZO						
13:30-14	SBBM/SUG “PABMB Plenary lecture” Thomas Kislinger Cell Surface Proteomics Discovery of a Novel Squamous Specific Therapeutic Target						
14-14:45	Conferencia – Ciencia básica para el desarrollo sostenible – Oradores: Guillermo Anillo (UNESCO), Luis Bertola (UNESCO), David González (PEDECIBA) Moderan: María Castelló						
15-16:30	<i>Sala 1 Ballroom</i>	<i>Sala 2 Ballroom</i>	<i>Sala 3 Ballroom</i>	<i>Sala Conferencias</i>	<i>Sala Florida</i>	<i>Sala Picasso</i>	<i>Sala Renoir</i>
	MESA Presentaciones Estudiantes SUM Área básica Organiza: SUM	MESA Metabolismo y Bioquímica Celular Coordina: M.J. Valera Oradores M.E. Francia E. Boido Presentaciones de estudiantes Organiza: SBBM	MESA Pushing Imaging to the Limits of Spatio-Temporal Resolution: Ultrafast Doppler and Ultrasound Localization Microscopy Moderadores: Carlos Negreira Javier Brum Mickael Tanter Thomas Deffieux Presentación de estudiantes Organiza: SUMI	MESA SIMPOSIO III SNU Neuroplasticidad: de las moléculas al comportamiento Moderan: J. Nogueira F. Rossi Organiza: SNU	MESA Primer genoma completo del bocachico colombiano Nélida Rodríguez Osorio Organiza: SUG	MESA Terapia Celular Inmunomoduladora en Medicina Veterinaria. Kevin Yaneselli Células estromales mesenquimales: características, propiedades y potencial terapéutico. ME Márquez Campos Organiza: ATGC-U	MESA RADIOQUIMICA Los radiotrazadores como herramienta en la evaluación biológica de potenciales agentes terapéuticos Moderan: A. Rey Oradores: Javier Giglio (CUDIM) Emilia Tejería (FQ) Presentación de estudiantes

VIERNES 21 DE OCTUBRE							
	<i>Sala 1 Ballroom</i>	<i>Sala 2 Ballroom</i>	<i>Sala 3 Ballroom</i>	<i>Sala Conferencias</i>	<i>Sala Florida</i>	<i>Sala Picasso</i>	<i>Sala Renoir</i>
16:30-18	MESA Presentaciones de estudiantes Área ambiental Organiza SUM	MESA Edición genómica de los cultivos Moderan: S. Vidal A. Castro Oradores: Sergio Feingold Santiago Signorelli Ana Arruabarena Presentación de estudiantes Organizan: SBBM/INIA	MESA Biofotónica e Imagenología 3D Moderadores: L. Malacrida M. Castelló Orador: Rafael Piestun Presentación de estudiantes Organizan: SUMI	MESA Presentaciones de estudiantes Organiza SNU	MESA Presentaciones de estudiantes Modera: P. Gaiero Organiza SUG	CONFERENCIA “Dr. Atilio Deana” Ciencia + Transferencia Tecnológica = Desarrollo Sustentable Modera: D. Gonzalez - Director PEDECIBA Oradores: Laura Vera Leticia Mendez Jorge Wenzel Organiza Incubadora Khem, IPTP	Presentación libro SBF A confirmar
18-18:15	CAFÉ						
18:15- 19-15	Comunicación científica en los medios Leonardo Lagos, Alexandra Perrone. Moderan: L. Brignoni, J. Tort, ME Francia						
19:15-20:00	Cierre con entrega de premios Brindis final						

La información se actualiza en la web del congreso

<https://sites.google.com/fcien.edu.uy/cnb2022/contenidos/programa>

AUTORIDADES

COMISIÓN DIRECTIVA • SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

Presidenta

Gianella Facchin

Vice-Presidenta

Lucía Brignoni

Secretario

Gabriel Anesetti

Prosecretaria

Carla Kruk

Tesorero

José Tor

Pro-Tesorera

Jessika Urbanavicius

Vocales

María Eugenia Francia

Claudia Piccini

COMITÉ ORGANIZADOR

Gabriel Anesetti
Lucía Brignoni
María Castello
Lourdes Echarte
Gianella Facchin
Gonzalo Ferreira
María Eugenia Francia
Carla Kruk
Laura Martínez-Palma
Claudia Piccini
Estefanía Sicco
José Tort
Verónica Tórtora
Jessika Urbanavicius
Lucía Vázquez

COMITÉ CIENTIFICO

Vanesa Amarelle
Gabriel Anesetti
Inés Bado
María Castelló
Mariana Cosse
Gianella Facchin
Gonzalo Ferreira
Carla Kruk
Laura Martínez-Palma
Analía Richeri
Lucía Vázquez



Bienvenidos a las Jornadas Binacionales Argentina-Uruguay y al Congreso Nacional de Biociencias 2022

Pasaron tres años desde la última vez que la Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) pudo reunirse en pleno. No nos podríamos haber imaginado durante el Congreso Nacional de Biociencias 2019 los años que atravesaríamos. Trabajamos desde casa, o en los laboratorios por turnos, semi aislados, dando clases y asistiendo a congresos desde nuestras salas de estar. Por eso, la SUB eligió postergar un año el congreso para poder encontrarnos nuevamente en persona. Asimismo, este año, como parte del acuerdo entre la SUB y la Sociedad Argentina de Biología, el encuentro tendrá características binacionales y agradecemos a esta sociedad su participación enriqueciendo el evento y tendiendo un puente de colaboración entre ambos países. Esperamos que este evento celebre el encuentro, el intercambio constructivo de ideas, el debate científico respetuoso de las diferencias y origine nuevas colaboraciones que potencien el avance de la ciencia.

El programa es el resultado del trabajo tanto del comité científico de la SUB como de las seccionales y sociedades participantes. Buscamos incluir tanto aspectos netamente científicos como temas transversales. En esta edición decidimos focalizarnos en la importancia de la ciencia en la toma de decisiones, la ciencia para el desarrollo sustentable, la evaluación académica y la comunicación científica en los medios. Paralelamente, en estos años la comunidad científica comenzó a revisar su estatus en relación a la equidad en todos sus aspectos. La SUB se une a este movimiento creando su comisión de equidad y género, creando un espacio en el congreso para que se discutan los avances en la temática e implementando su primer código de conducta, buscando que todas las personas se sientan bienvenidas y seguras en el marco del congreso y otras actividades SUB. Además, la presencia de múltiples invitados del exterior ampliarán nuestra visión sobre las diferentes temáticas.

Nada de esto sería posible sin el trabajo del comité organizador. El amplio apoyo económico de CSIC/UdelaR, PEDECIBA y de muchos de nuestros proveedores hace viable este encuentro desde lo económico.

Esperamos que todos disfruten el congreso en una atmósfera participativa y respetuosa.

Dra. Q.F. Gianella Facchin

Prof. Agr. Facultad de Química-UdelaR
Presidenta de la SUB



CONFERENCIAS

CONFERENCIA PLENARIA

Coordinated membrane and cytoskeleton dynamics define neuronal morphology

Christian Gonzalez-Billault • *Professor, Dept Biología, Facultad de Ciencias y Dept Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; Centro de Gerociencias, Salud Mental y Metabolismo (GERO), Chile; The Buck Institute for Research on Aging, USA*

Neuronal functions are heavily dependent on their morpho-structural features. During development, precursors at the proliferation niches differentiate into neurons that contain two domains that differ in their molecular composition, structure, and functions, the axon and the somatodendritic compartment. Properly comprehending the mechanism controlling the acquisition of these conspicuous morphological and functional features is essential to define therapeutic strategies to overcome brain dysfunction linked to neurodegenerative diseases. Axon determination and elongation is an initial event in the polarization of neurons. Several cellular and molecular mechanisms control it, including membrane and cytoskeleton dynamics. We recently showed that Rab8 is a critical determinant of axon specification that is functionally coupled to the activity of Cdc42, one of the master regulators for actin dynamics. In addition, Rab35 contributes to defining axonal elongation in a mechanism involving the microtubule-associated protein 1B and the atypical protein kinase PRPK.

Interestingly, the functions associated with Rab35 are tightly controlled by Arf6, a Golgi-associated protein. It has been previously suggested that Arf6 can influence Rac1, another small GTPase that controls actin dynamics. Therefore, a hierarchical organization of small GTPases provides a molecular platform that defines which neurite will become the axon and its extension by coordinating cytoskeleton and membrane-dependent elements.

CONFERENCIAS PLENARIAS ORGANIZADA POR LA SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOLOGÍA

SIMPOSIO: CIENCIA PARA LA SOSTENIBILIDAD

Biotechnologías reproductivas para eficientizar la cría del pejerrey *odontesthes bonariensis*

Leandro Andrés Miranda • *Laboratorio de Ictiofisiología y Acuicultura, Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM). Chascomús, provincia de Buenos Aires, Argentina*

La acuicultura en Argentina se encuentra en lenta expansión, donde muchos de los emprendimientos de este tipo son originados por iniciativas regionales y/o de pequeños productores. Debido a ello, la investigación y el desarrollo de este campo de la producción animal resultan insuficientes. Este sector productivo ha venido aplicando el conocimiento obtenido en el estudio de la fisiología de varias especies de peces comúnmente utilizados para cultivos comerciales en otras regiones del mundo, debiendo recurrir frecuentemente a tecnologías de altos costos. Así, el gran desafío que afronta la acuicultura argentina en este momento es poder mantener la rentabilidad de la actividad, realizándola en forma sustentable y aplicando nuevas tecnologías desarrolladas para cada especie en particular. En este contexto el desarrollo en los últimos años de la acuicultura del pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*) puede ser un ejemplo a seguir en otras especies. En esta exposición se resumirán los avances realizados sobre el manejo en cautiverio de su reproducción y la obtención masiva de gametas, embriones y juveniles. Se hará referencia a la aplicación de biotecnologías reproductivas desarrolladas para la especie como la inducción y sincronización de la ovulación y el desove mediante implantes hormonales, la criopreservación de esperma y embriones y el análisis de calidad espermática asistida por computadora.

Biofertilizers: an agroecological alternative for production

Hirsch Mailén, Burges, Pablo L., Villarreal Natalia M. & Marina María • Instituto Tecnológico de Chascomús, Universidad Nacional de General San Martín- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (INTECH, UNSAM-CONICET); Chascomús (Buenos Aires), Argentina. Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM); San Martín (Buenos Aires), Argentina

Agroecology is a discipline that provides the basic ecological principles to study and manage agroecosystems that are productive and economically viable, and at the same time be conservative of natural and cultural resources and socially fair. Application of beneficial microbiomes as biofertilizers or bio-inputs in agroecology practices has emerged as innovative and environment friendly technology for improving soil fertility and plant growth. In the last years, in the context of environmental protection and increased demand for chemical-free food products, increasing numbers of producers in Argentina and many other countries started to make biofertilizers in their establishments. These products made from plant remains, animal manure or milk, bacteria, and fungi are applied in agricultural production as alternatives for crop nutrition in a more ecological, sustainable, and accessible way, allowing more stable crop production and prices. Biological inputs have the advantage of maintaining the macro and micronutrients of the soil through processes such as nitrogen fixation, the solubilisation of phosphates, mineralization, the contribution of substances that regulate plant growth, the production of antibiotics, and the biodegradation of organic matter. Our working group has spent the last years studying the beneficial bacteria that interact with plants as well as their effects on them. In addition, during the last year we have been carrying out a project to characterize bio-inputs for agroecological use, reinforcing knowledge about this area of study.

Uso sustentable de guanacos silvestres como alternativa productiva y estratégica de conservación en zonas áridas de la patagonia argentina

Pablo Carmanchahi • Grupo de Investigación en Ecofisiología de Fauna Silvestre (GIEFAS), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional del Comahue (UNCO), San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina. Grupo de Especialistas en Camélidos Sudamericanos GECS UICN CSE E-mail: pablocarman@comahue-conicet.gob.ar

Más del 95% de la tierra en la Patagonia árida es de propiedad privada, y la mayor parte se ha convertido en producción ovina desde finales del siglo XIX. La introducción de millones de ovejas y la difusión de prácticas tradicionales europeas provocaron una grave desertificación del hábitat y el declive de especies autóctonas como el guanaco. Desde el punto de vista productivo, el guanaco fue reconocido por la FAO como especie clave para el desarrollo rural en Latinoamérica, debido a su importancia económica, la demanda de sus productos y la posibilidad de generar empleo. El aprovechamiento de guanacos silvestres podría jugar un papel fundamental para detener el proceso de desertificación de los ecosistemas áridos que habitan, a la vez que supondría una alternativa económica para los productores locales. Sin embargo, los productores ganaderos locales tienen una relación conflictiva con los guanacos, debido a la competencia interespecífica que se manifiesta a través de la superposición de la dieta y la segregación espacial, generando una fuerte demanda de alternativas de manejo. La búsqueda de soluciones al conflicto generado entre los paradigmas de conservación y producción, sumado al alto valor comercial de la fibra en el mercado externo, motivó el desarrollo de metodologías de captura, esquila y liberación de guanacos silvestres en distintas provincias patagónicas. En este trabajo se presenta este desarrollo metodológico y se resumen los resultados de las investigaciones que establecieron las bases científicas para el establecimiento de las normativas que regulan el uso de esta especie.

CONFERENCIA SOCIEDAD SSBM/SUG

"PABMB PLENARY LECTURE"

Cell surface proteomics discovery of a novel squamous specific therapeutic target

Thomas Kislinger • Professor | Medical Biophysics Chair, PhD, Temerty Faculty Of Medicine, University Of Toronto, Canada

Head and neck cancers (HNC) present mainly in the mucosal surface of the head and neck cavity. However, lack of specific markers for more adequate prognosis, diagnosis, and treatment, contributes to a 5-year survival rate just above 50%. To help improve personalized treatment we endeavored to identify cell surface proteins enriched in HNC with potential development into novel therapeutic targets. Normal oral epithelium (NOE) and a panel of established squamous cancer cell lines (FaDu, SCC4, SCC8, SCC25, SCC42a, Detroit 562, KYSE70, MGH7) were utilized for cell surface capture, a chemoproteomics approach that specifically isolates cell surface associated N-glycoproteins. A total of 1003 cell surface proteins were detected, and an integrative data mining strategy was utilized to earmark plasma membrane proteins for clinical and functional evaluations. A previously unreported squamous specific cell surface protein with limited expression in normal tissues and strong expression in patient tumors was selected for extensive functional validation.

Using two independent antibodies, including a newly developed binder, we demonstrate strong expression in two independent tissue microarrays and strong association with patient outcome. Genetic deletion was associated with cell death, using both in vitro and in vivo model systems.

CONFERENCIA SOCIEDAD URUGUAYA DE GENÉTICA Y SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Phenotype switching and cancer progression

Prof. Colin R. Goding • Laboratory of cell fate switching, Ludwig Cancer Research, University of Oxford

It is increasingly recognized that beyond the impact of genetic mutations, cancer progression and therapeutic resistance is driven in large part by the bi-directional interplay between cancer cell plasticity and the tumor microenvironment. In response to signals from the microenvironment, including hypoxia, nutrient limitation, inflammatory signaling and therapies, cancer cells adopt specific phenotypes compatible with their survival; within a tumor, cells containing the same driver mutations may exhibit considerable phenotypic heterogeneity, with some actively proliferating while others may be slow cycling and exhibit an invasive or dormant phenotype. Importantly, some phenotypic states are resilient to therapies including, targeted or immunotherapies.

Understanding the molecular mechanisms underpinning the generation of phenotypic diversity in response to a changing microenvironment, the relationship of phenotype to therapeutic response, and the characterization of the range of phenotypes present before during and after treatment is critically important if effective anti-cancer therapies are to be developed. Here we use melanoma as a model to highlight how microenvironment-driven translation reprogramming, an evolutionarily conserved survival strategy, impacts the transcription programs underpinning phenotypic identity, disease progression and therapeutic response.

CONFERENCIA SOCIEDAD URUGUAYA DE MICROBIOLOGIA

Análisis de los virus presentes en murciélagos de Argentina

PhD. Elisa Bolatti • *Grupo de Virología Humana, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (CONICET), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Argentina*

Los murciélagos cumplen un rol fundamental en el ecosistema, sin embargo también son considerados reservorios naturales de virus, muchos de los cuales causan enfermedades en humanos. Conocer los virus presentes en murciélagos de diferentes regiones geográficas es importante para la vigilancia genómica a fin de detectar posibles "saltos" entre especies, y contribuye a la conservación de estos animales. Mediante un enfoque metagenómico, describimos la diversidad viral de cinco especies de murciélagos insectívoros de Argentina (*Tadarida brasiliensis*, *Molossus molossus*, *Eumops bonariensis*, *E. patagonicus* y *Eptesicus diminutus*) que habitan en el centro de Rosario (colonia maternal de *T. brasiliensis*) y en el Parque Villarino (Zavalla). En breve, muestras seleccionadas de heces se procesaron y agruparon en pooles; el ADN viral fue extraído, enriquecido y secuenciado (MiSeq, Illumina). Las secuencias virales obtenidas se agruparon en 41 familias virales diferentes y se caracterizaron 35 genomas de nuevos virus agrupados en las familias Genomoviridae, Circoviridae, Smacoviridae, Papillomaviridae y Anelloviridae. La diversidad y el número de secuencias virales fue menor en muestras de individuos de *T. brasiliensis* en comparación con las demás especies de murciélagos mostrando una posible influencia del hábitat sobre la composición del viroma. Observamos en las muestras de *T. brasiliensis* predominaron lecturas de un único circovirus, sugiriendo que la infección podría haberse exacerbado debido al estrés relacionado con el ciclo reproductivo. Nuestro trabajo aporta información importante sobre los virus en especies de murciélagos poco estudiadas y contribuye a la prevención de enfermedades zoonóticas y a la conservación de estos animales.

CONFERENCIA SOCIEDAD URUGUAYA DE MICROBIOLOGIA

Minería genómica de productos naturales: de la biodiversidad microbiana a la aplicación biotecnológica

Barona Gómez, Francisco • *Evolution of Metabolic Diversity Laboratory, Institute of Biology (Microbial Sciences), Leiden University, Leiden, Sylviusweg 72, 2223 BE, the Netherlands*

La vida en el planeta tierra no se puede entender sin la biodiversidad microbiana que la originó y la sustenta a la fecha. Si bien los microbios son megadiversos, como lo son ubicuos, todos echan mano de su diversidad y plasticidad metabólica para adaptarse a prácticamente cualquier nicho ecológico disponible. Entender la diversidad metabólica de los microbios es por ende un asunto fundamental en las ciencias biológicas. La genómica y enfoques ómicos derivados de ésta han permitido por primera vez aspirar a una visión holística, prácticamente global, del metabolismo microbiano. En esta plática estaré presentando cómo la minería de datos genómicos nos ha permitido comenzar a entender el papel que juega el metabolismo en la adaptación de las bacterias a sus distintos nichos. Ejemplos selectos con historias evolutivas moldeadas por diversos nichos ecológicos serán presentados. Al hacer esto, estaré enfatizando cómo encaminar la investigación (meta)genómica para el descubrimiento de nuevas rutas metabólicas que dirigen la síntesis de productos naturales o metabolitos secundarios. La especialización de estas rutas y sus metabolitos en papeles biológicos con relevancia ecológica, significa adicionalmente una fuente de insumos químicos con actividades biomoleculares útiles para enfrentar retos como las pandemias, el cambio climático y la producción de alimentos de manera segura. Por tal motivo, terminaré argumentando sobre la importancia, y los retos que esto conlleva, de llevar a cabo esfuerzos de conservación microbiana en armonía con la explotación sustentable de los productos naturales de origen microbiano en contextos biotecnológicos.

Palabras clave: metabolismo bacteriano, productos naturales, minería genómica, biodiversidad microbiana

SIMPOSIO EXTRACTIVISMO, AMBIENTE Y SALUD

Agricultura basada en agroquímicos: Contaminación ambiental e inseguridad alimentaria

Haydée Pizarro • *Profesora Asociada FCEN-UBA, Investigadora Principal CONICET. Laboratorio de Limnología, Dpto. Ecología, Genética y Evolución, IEGEBA (CONICET-UBA). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, República Argentina*

La agricultura industrial, dominante en Argentina y en el mundo, está relacionada con el uso de agroquímicos, fertilizantes, herbicidas y pesticidas de todo tipo. En especial, los herbicidas se relacionan con paquetes tecnológicos que incluyen semillas modificadas genéticamente para tolerarlos. Además, la práctica de siembra directa con barbecho químico ha extendido la utilización de estos herbicidas en toda la superficie cultivable del país. En Argentina, el glifosato es el herbicida más utilizado seguido por el 2,4-D así como también sus mezclas. Si bien se promocionan las "buenas prácticas agrícolas" como las que garantizan la inocuidad de estos herbicidas, se ha detectado su presencia en el agua y en los alimentos, donde no deberían ser detectados. Se encontró glifosato en la cuenca del río Paraná así como en las lagunas de la región núcleo de la actividad agrícola argentina. La problemática ambiental que genera la utilización de herbicidas, pone en riesgo los bienes y servicios ecosistémicos que brinda el agua dulce para la sociedad. Los alimentos de consumo interno se ven amenazados ya que la producción hortícola también utiliza agroquímicos, habiéndose detectado restos en frutos y verduras. Las concentraciones de glifosato medidas en agua de lluvia exceden los límites para el consumo humano lo que la convierte en no potable. Es imprescindible la transformación de la actual agricultura basada en agroquímicos hacia modelos agroecológicos que garanticen la seguridad alimentaria y disminuyan la contaminación. Urgen planes progresivos de transformación que permitan la adaptación social, económica y ecológica en la producción de alimentos.

Fragmentación de hábitats naturales y emergencia de enfermedades infecciosas: la rabia parálítica bovina y el caso de Uruguay

Germán Botto • *Dpto. Métodos Cuantitativos, Facultad de Medicina - Universidad de la República*

El proceso de fragmentación implica la separación de un ambiente continuo en parches menores y más aislados, convirtiendo un paisaje homogéneo en un mosaico de parches del ambiente original y el sustituto. El proceso puede o no implicar un cambio en la superficie total cubierta por el ambiente original. Desde un punto de vista de conservación de biodiversidad, la sustitución y la fragmentación de ambientes son dos de las principales amenazas a la conservación de vertebrados. Por otro lado, el proceso de fragmentación ha sido asociado con el proceso de salto patógenos entre especies o spillover y con la emergencia de enfermedades infecciosas. El estudio de la asociación entre fragmentación y enfermedades infecciosas ha estado clásicamente enfocado en la pérdida de biodiversidad y disminución del efecto dilución, el deterioro de las condiciones de vida de las especies reservorio y el aumento del efecto borde y la interacción entre especies silvestres y domésticas. El brote de rabia parálítica en Uruguay provee una oportunidad para estudiar otro impacto posible de la fragmentación sobre la emergencia de enfermedades infecciosas. La sustitución de las áreas de pastoreo y la concentración del ganado en parches aislados impacta en el movimiento y conectividad entre colonias de vampiros. Nuestra investigación muestra que la fragmentación se asocia temporal y espacialmente con los brotes de rabia. Desde un punto de vista de mecanismos, mostramos que el aumento de la conectividad es suficiente para incrementar la persistencia poblacional de la rabia, aumentando las chances de eventos de spillover.

SIMPOSIO

Evaluación de desempeño académico: desafíos y oportunidades

Christian Gonzalez-Billault • Dept Biología, Facultad de Ciencias y Dept Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Centro de Gerociencias, Salud Mental y Metabolismo (GERO), Chile. The Buck Institute for Research on Aging, USA

La evaluación del desempeño académico es uno de los aspectos más críticos actualmente en ciencia, puesto que determina directa e indirectamente las posibilidades de contratación, promoción en la carrera académica, y acceso a fondos de investigación. En consecuencia, existe una gran preocupación a nivel mundial respecto de los mecanismos para generar evaluaciones que sean transparentes y justas, y que se adecuen a las misiones declaradas por las instituciones que realizan dichas evaluaciones. Actualmente, en la mayoría de los casos se utiliza el índice de impacto de las revistas (IF) como un indicador de la calidad de la ciencia realizada por los investigadores. Existen numerosas razones para pensar que esto no es correcto, y por lo tanto se deben buscar nuevas y mejores formas de evaluar la producción científica, que busquen no fomentar incentivos perversos en la academia.

En esta charla, se presentará la iniciativa DORA, sus recomendaciones para evaluación de desempeño y algunos ejemplos de otras formas de evaluación que están actualmente implementándose en algunas instituciones.



MESAS

MESAS

1#. MESA ALIMENTOS VIVOS Y BEBIDAS FERMENTADAS • ORGANIZA SUM

Alimentos fermentados y complejidad sensorial. Diversidad de levaduras en la vinificación

Dr. Francisco Carrau • Profesor Agregado, Área Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, CYTAL, Facultad de Química, UdelAR; CEINBIO Centro Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las flores de *Vitis vinifera* y los frutos de la uva son uno de los nichos ecológicos más interesantes para el desarrollo de levaduras autóctonas. Hay más de 100 especies de levaduras y millones de cepas que participan y contribuyen a diseñar el "terroir" microbiano. Este concepto se desarrolla cuando las microrregiones de la uva y el vino estaban delimitadas por diferentes características de calidad sensorial después de que los humanos estuvieron cultivando vides durante más de 10.000 años. Mas recientemente se entendió que las condiciones ambientales, como el clima, la composición del suelo, la gestión del agua, los vientos y la calidad del aire, la altitud, la fauna, la flora y los microbios, se consideran parte del "terroir" y contribuyen a un fenotipo del sabor único. Si se aplican estrategias de "enología de mínima intervención", se espera que el efecto terruño sea más auténtico en términos de diferenciación de calidad. Curiosamente, el papel de la flora microbiana asociada a la vid fue muy poco estudiado hasta cuando las nuevas tecnologías genéticas para la identificación masiva de especies fueron desarrolladas. Estas biotecnologías permitieron comprender los cambios de los perfiles microbianos de diferentes regiones vitivinícolas. Se muestra aquí una perspectiva de lo que fue la búsqueda del cultivo puro para asegurar la calidad, en contraste con los interesantes efectos positivos sobre la diversidad de sabores y calidad del vino obtenida mediante el uso de levaduras autóctonas "amigables". Estas permiten que la flora microbiana del terroir participe y contribuya durante la fermentación a la complejidad sensorial de los alimentos fermentados.

Palabras clave: levaduras, fermentación, alimentos, complejidad sensorial

Cerveza: historia y actualidad de un fermentado milenario

Dra. Karina Medina • Profesora Adjunta, Área Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, CYTAL, Facultad de Química, UdelAR

Schinca, Cecilia¹; González, María Noela¹; Acevedo, Leandro¹; Boido, Eduardo¹; Martín, Valentina¹; Fariña, Laura¹; Dellacassa, Eduardo²; Carrau, Francisco¹; Medina, Karina¹

¹ Área Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República

² Laboratorio de Biotecnología de Aromas, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

Hallazgos recientes demuestran que el origen de la cerveza pudo haber precedido al origen del pan y del vino. Los últimos restos de cerveza encontrados datan de 13.000 años y pertenecían a un grupo de cazadores-recolectores, quienes elaboraban cerveza con fines religiosos. El origen de este fermentado estuvo asociado a lo que consideraban un regalo "divino", en donde la fermentación se explicaba por obra y arte de magia y/o intervención divina. Pasaron muchísimos años, y si bien muchas cosas cambiaron, hoy la tendencia, es volver a los orígenes y utilizar de levaduras naturales del ecosistema (levaduras nativas). Las levaduras cerveceras tradicionales pertenecen al género *Saccharomyces*. Estas poseen una eficiente utilización de azúcares y producción de etanol y capacidad de producir aromas deseables. Sin embargo, a pesar del uso milenario y generalizado de levaduras *Saccharomyces*, las levaduras no-*Saccharomyces* se han ganado un lugar en las cervecerías. El crecimiento del segmento cervecero artesanal y del número de consumidores especializados ha impulsado la búsqueda de estrategias de diferenciación productiva, y el papel de las diferentes levaduras nativas como protagonistas en la generación de productos naturales de innovación y diferenciación ha recibido especial atención. En este contexto, hemos seleccionado levaduras nativas de los géneros *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Zygoascus* y *Candida*. De acuerdo a los resultados obtenidos, resultan muy prometedoras para la elaboración de cervezas innovadoras desde el punto de vista organoléptico, reducidas en carbohidratos, reducidas en etanol y de manera más reciente promisorias para incursionar en la elaboración de cervezas funcionales.

Palabras clave: cerveza, fermentación, levadura, *Saccharomyces*, levaduras nativa

Agregar sabor floral y frutal a las bebidas usando levaduras: el papel de las reacciones de fermentación

Dr. Eduardo Dellacassa • *Profesor Titular, Laboratorio de Biotecnología de Aromas, Dpto. Química Orgánica, Facultad de Química, UdeLaR*

Medina, Karina¹; Pérez, Gabriel¹; Martín, Valentina¹; Valera, María José¹; Fariña, Laura¹; Boido, Eduardo¹; Carrau, Francisco¹; Dellacassa, Eduardo²

¹ *Área de Enología y Biotecnología de Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República*

² *Laboratorio de Biotecnología de Aromas, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República*

Las levaduras se emplean en los procesos de fermentación industrial por su capacidad de convertir eficazmente concentraciones relativamente altas de azúcares en etanol y dióxido de carbono. Además, las células de levadura en fermentación son capaces de producir una serie de compuestos como alcoholes superiores, compuestos carbonílicos, compuestos fenólicos, terpenos, derivados de ácidos grasos y compuestos azufrados. Muchos de estos metabolitos secundarios son volátiles y tienen aromas que son importantes para definir el perfil y calidad del producto. Diferentes sustratos dan como resultado diferentes perfiles de componentes usando una misma levadura. Pero también diferentes cepas de levaduras producen diferentes perfiles de compuestos orgánicos volátiles. Y las combinaciones de estos factores también producen variaciones aromáticas, algunas de ellas agradables, pero otras no y provocan defectos. ¿Cómo prever el impacto sensorial y la calidad de un producto frente a esta variabilidad? Algunos ejemplos escogidos con los que nuestro grupo trabaja (vinos, cervezas, hidromiel) y en los que su elaboración está mediada por la utilización de cepas *Saccharomyces* y *no-Saccharomyces*, se presentarán como resultantes de reacciones de fermentación capaces de modificar aromas y sabores.

Palabras clave: fruta, flores, sabor, levaduras, bebidas fermentadas

Comunidad microbiana del kefir de agua: composición y potencial

Dra. Silvana Vero • *Profesora Agregada, Laboratorio de Microbiología, DEPPIO, Facultad de Química, UdeLaR*

Alvarez, Angie¹; Arbildi, Erika¹; Gonda, Mariana¹; Garmendia, Gabriela¹; Zaccari, Fernanda²; Vero, Silvana¹

¹ *Área Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República*

² *Poscosecha de frutas y hortalizas, Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República*

El kefir de agua es una bebida obtenida por fermentación de soluciones de azúcares producida por microorganismos que forman los llamados gránulos de kéfir. Estos gránulos son estructuras gelatinosas formadas por una comunidad de bacterias lácticas, acéticas y levaduras embebidas en una matriz de polisacáridos. Los tipos de microorganismos que componen los gránulos de diferentes orígenes son similares, pero la composición exacta de especies varía. La presencia de algunos de estos microorganismos, en particular ciertas bacterias lácticas reconocidas como probióticas, se han asociado a efectos benéficos a la salud del consumidor. Por ello, conocer la composición de la comunidad microbiana que forma los gránulos, en especial aquellas especies que predominan en la fermentación, es importante para poder determinar el potencial probiótico de las bebidas obtenidas. Nuestro grupo se ha centrado en el estudio de la composición y potencial biotecnológico de gránulos de kéfir de diferentes orígenes. Se han aislado e identificado bacterias y levaduras que forman los gránulos y se han realizado estudios por secuenciación masiva, encontrando que los principales géneros bacterianos son *Lactobacillus*, *Gluconobacter* y *Acetobacter* mientras que las levaduras pertenecen a *Saccharomyces*, *Pichia* y *Candida*. La capacidad enzimática de las diferentes cepas aisladas fue evaluada y se demostró su potencial como inóculo definido de bebidas fermentadas y como inoculantes de silos.

Palabras clave: kefir, bacterias lácticas, levaduras, fermentaciones.

Vinagres: una nueva oportunidad para los fermentados

Dra. María José Valera • *Profesora Adjunta, Área Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, CYTAL, Facultad de Química, UdeLaR*

Valera, María José¹; Torija, María Jesús²; Mas, Albert²; Mateo, Estibaliz³

¹ *Área de Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República*

² *Grupo de Biotecnología Enológica, Departamento de Bioquímica i Biotecnología, Facultad de Enología, Universitat Rovira i Virgili (Tarragona, España)*

³ *Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco (Bilbao, España)*

Las bacterias acéticas son un grupo taxonómico con gran número de especies y su estudio es complejo dada la variabilidad de sus genomas. El desarrollo de técnicas moleculares facilita ahora su detección e identificación en matrices alimentarias. Lo que ha permitido demostrar la enorme diversidad que aparece en los alimentos fermentados y sus materias primas. Estos microorganismos poseen la habilidad de producir varios metabolitos de interés biotecnológico en condiciones estrictamente aerobias. Entre ellos destaca la capacidad de sintetizar ácido acético a partir de etanol. A este proceso se le conoce como acetificación o fermentación acética aunque no es un proceso anaerobio, pero se suele desarrollar tras una etapa de fermentación alcohólica. La acetificación se produce espontáneamente en la naturaleza gracias a las bacterias acéticas en presencia de etanol y oxígeno. Aunque la acetificación se considera una alteración de los productos fermentados esta bioconversión mejora la conservación de los alimentos al descender el pH del medio y genera nuevas propiedades organolépticas y resultando en muchos casos interesantes para el desarrollo de nuevos alimentos. Así se forma el vinagre a partir de cualquier fuente con carbohidratos fermentables como fruta, vegetales, cereales o miel. El vinagre a su vez permite la elaboración de distintos productos encurtidos y potencia el sabor de los alimentos cuando es empleado como condimento.

Palabras clave: bacterias acéticas, acetificación, alimentos

Kombucha, la bebida fermentada que es tendencia. ¿Por qué?

Dra. Valentina Martín • *Profesor Asistente, Área Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, CYTAL, Facultad de Química, UdelaR*

Martín, Valentina¹; Peyrot, Damaris¹; Fariña, Laura¹; Medina, Karina¹; Carrau, Francisco¹

¹ *Área Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República*

La kombucha es una bebida milenaria originada unos 400 años a.C. en el Tíbet, aunque también se sitúa su origen en China y en Rusia. Esta bebida ha alcanzado gran popularidad en distintas épocas y lugares desde su origen. Es un fermento natural a base de té endulzado, realizada por una comunidad simbiótica de levaduras y bacterias en una matriz celulósica flotante denominada SCOBY. El interés social y comercial sobre esta bebida se basa, sobre todo, en la tendencia a la alimentación saludable. Este fermento se destaca por su bajo contenido en azúcares, por no poseer presencia de alcohol y por las diferentes propiedades beneficiosas para la salud que se le adjudican como: acción antibiótica natural, regulación del pH, poder antioxidante y probiótico, es por esto que surge como una alternativa saludable frente a las bebidas refrescantes más comúnmente consumidas. Es a su vez, una bebida de bajo costo y fácil elaboración que atrae cada día más la atención de los consumidores.

Palabras clave: kombucha, fermentados, probióticos

Impacto de los fermentados en el microbioma humano

Dr. Gianfranco Grompone • *Vice-presidente de Investigación y Desarrollo de BioGaia AB, Suecia*

Efectos sobre la salud humana de compuestos bioactivos presentes en alimentos fermentados

M Sc. Adrián Aicardo • *CEINBIO, Facultad de Medicina, UdelaR*

Aicardo, Adrián^{1,2}; Araújo, Verena^{1,3}; Chavarría, Cecilia¹; Carrau, Francisco⁴; Radi, Rafael¹

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

² *Departamento de Nutrición Clínica, Escuela de Nutrición, Universidad de la República*

³ *Departamento de Alimentos, Escuela de Nutrición, Universidad de la República*

⁴ *Área Enología y Biotecnología de Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República*

La fermentación de alimentos es un proceso biológico con diferentes aplicaciones en la industria alimentaria, el cual determina importantes cambios en las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los alimentos. A su vez, este proceso conduce a la síntesis de numerosos compuestos no presentes en la matriz original (e.g. lactato, ácidos orgánicos, péptidos bioactivos, compuestos fenólicos) los cuales aportan al alimento cierta actividad biológica capaz de promover la salud humana. Diferentes estudios de cohorte revelan una asociación entre el consumo de alimentos fermentados y la promoción de la salud humana, con efectos significativos sobre el mantenimiento del peso corporal, la reducción del riesgo de patologías tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 y mortalidad general. Un ejemplo de bebida cuya producción depende de la fermentación, y para la cual existe amplia bibliografía sobre los efectos protectores asociado a su consumo, es el vino. Particularmente para esta bebida, parte de sus efectos beneficiosos han sido vinculados al aporte de compuestos fenólicos y, más específicamente, a los flavonoides en él presentes. Dentro de este grupo de compuestos, los flavan-3-oles presentan una importante acción protectora frente al desarrollo de: fenómenos vasculares deletéreos (i.e. hipertensión arterial, aterosclerosis); procesos neurodegenerativos y más recientemente han sido planteados como agentes capaces de modular el impacto de la senescencia celular. Entonces, en un mundo en que la evolución de la expectativa de vida mantiene una tendencia positiva, el consumo de este grupo de compuestos representa una potencial estrategia alimentaria para reducir el impacto de enfermedades asociadas al envejecimiento.

Palabras clave: flavan-3-oles, orujo de uva Tannat, compuestos bioactivos, enfermedades no transmisibles.

Los uruguayos y los fermentados: cultura, comportamiento y consumo

Pizard, Mauricio • Autor y socio del colectivo *Garage Gourmet*

En esta presentación se abordará la historia de los fermentados en el Uruguay, poniendo el foco en algunos productos clásicos. Considerando la industria alimentaria y la producción artesanal a pequeña escala, se presentarán aquellos productos fermentados más consumidos. Se abordará el tema del nuevo mercado de fermentados y como es el consumo de ellos en el Uruguay, considerando los nuevos productos y la influencia del consumo global. Para finalizar se hará referencia a la reglamentación bromatológica y a la inclusión de los fermentados por parte de la Intendencia Municipal de Montevideo.

Palabras clave: fermentados, consumo, reglamentación bromatológica"

2#. MESA ASOCIACIÓN DE TERAPIA GÉNICA Y CELULAR DEL URUGUAY

Terapias avanzadas y medicina regenerativa

Prof. Dra. Cristina Touriño • Coordinadora del Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa (ATCMR) del Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Profesora del Departamento Básico de Medicina Facultad de Medicina. UDELAR. ctourino@hc.edu.uy

La Medicina Regenerativa tiene por finalidad restaurar o mejorar la función de órganos y tejidos, que por enfermedad y desgaste, ya no cumplen adecuadamente su función. Es una especialidad que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la vida en el desarrollo de productos terapéuticos de innovación, llamados por algunos "medicamentos de terapias avanzadas". Las cuatro principales estrategias de la Medicina Regenerativa incluyen: el trasplante de células, tejidos y órganos, la terapia celular, la ingeniería de tejidos y la terapia génica.

Nuevas estrategias de tratamiento con terapias celulares y génicas en dermatología.

Prof. Adj. Dra. Gabriela Otero González • Profesora Adjunta de la Cátedra Dermatología M-Q, Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Facultad de Medicina. UDELAR

En esta charla se busca iluminar el rol que han tenido las terapias génicas y celulares en dermatología frente a patologías crónicas y recidivantes, a su vez estimar el papel que las nuevas estrategias, como las terapias de Células T con Receptor de Antígeno Quimérico (CAR T), están incursionado en el campo dermatológico con investigaciones en etapa pre clínica.



Terapia génica con células CAR T en Brasil

Prof. Dr. Renato L G Cunha • *Department of Medical Imaging, Hematology, and Clinical Oncology, Ribeirão Preto Medical School of University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil*

La terapia con células CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-Cell o receptor de antígeno quimérico de células T) representa un novedoso manejo en el tratamiento del cáncer a través de la modificación de linfocitos T del paciente para reconocer y eliminar células cancerígenas. Constituye un ejemplo de terapia génica, celular e inmunoterapia. El uso de terapias CAR-T dirigidas contra el antígeno CD19 ha sido objeto de intensas investigaciones y ha demostrado su eficacia, al punto de que actualmente está indicada en el tratamiento de neoplasias hematológicas en recaída o refractariedad como linfoma no-hodgkin B (LNH-B) y Leucemia Aguda Linfoblástica B (LAL-B) y Mieloma múltiple (MM). Muchos países en el mundo están introduciendo esta opción de tratamiento que es una de las primeras terapias avanzadas aprobadas para uso clínico. Gracias al trabajo realizado, Brasil fue el primer país latinoamericano en desarrollar y aplicar dicha terapia. En la presentación se abordará el trabajo realizado como ejemplo de desarrollo académico y público, exponiendo los requerimientos necesarios para la producción de células CAR T y los controles de calidad requeridos.

MSC: Mesenchymal Stem Cells or Mesenchymal Stromal Cells?

Lourdes Echarte • *Prof. Asistente. Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa (ATCMR), Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Facultad de Medicina. UDELAR*

Las células madre se definen de forma exclusiva por su capacidad de autorrenovación y diferenciación en tipos celulares maduros. Por definición, las células madre deben conservar estas dos propiedades simultáneamente y deben tomar decisiones sobre el destino de las células de forma muy controlada para lograr el nivel adecuado de regeneración de tejidos y órganos para la homeostasis, la reparación y el crecimiento. En la presentación trataremos si el término célula madre mesenquimal es equivalente o intercambiable con el de célula estromal mesenquimal (MSC).

Terapia celular inmunomoduladora en medicina veterinaria

Prof. Adj. Kevin Yaneselli • *Facultad de Veterinaria*

Células estromales mesenquimales: características, propiedades y potencial terapéutico. Experiencia de la Unidad de Terapia Celular (UTC) del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)

María Elena Márquez • *Profesora Adjunta del Laboratorio de investigación de leucemia linfóide crónica (LLC) del Instituto Pasteur de Montevideo*

La terapia celular y la medicina regenerativa son áreas en gran desarrollo en la investigación biomédica. Las células estromales mesenquimales (MSC) son un tipo de progenitor adulto multipotente, que tienen la capacidad de expandirse in vitro cuando son aisladas de su nicho in vivo, migrar selectivamente a los tejidos lesionados, modular el sistema inmunológico y secretar factores tróficos. En esta charla se expondrá las principales características, propiedades y su potencial terapéutico para una amplia gama de enfermedades, también se presentarán algunos ensayos clínicos que posicionan a las MSC en el ámbito biomédico como una herramienta innovadora para la regeneración de tejidos.

3#. MESA SOCIEDAD DE NEUROCIENCIAS DEL URUGUAY

MESA I • INVESTIGACIÓN EN NEUROCIENCIA COGNITIVA EN BASE A HERRAMIENTAS NEUROIMAGENOLÓGICAS Y ELECTROFISIOLÓGICAS

Coordinador: Álvaro Cabana almadana@gmail.com

Atención al detalle: dinámica de la codificación de objetos priorizados en la actividad electrofisiológica

Francisco Cervantes Constantino^{1,2}

¹ *Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, IIBCE*

² *Centro de Investigación Básica en Psicología (CIBPsi), Facultad de Psicología, Udelar*

Las neurociencias cognitivas son un campo con potencial para definir la incorporación de la mente en la biología del sistema nervioso. Entre las funciones más requeridas por organismos con facultades mentales complejas se encuentra la atención. Últimamente, la atención representa un equilibrio entre lo importante y lo posible, siendo que manifiesta el balance por extraer información valiosa del medio en la medida de las exigencias fisiológicas según el momento. Por más de 20 años, los avances en la comprensión de este fenómeno se han logrado precisamente a través de herramientas neuroimagenológicas y electrofisiológicas. No obstante, aún restan cuestiones relevantes por resolver. En esta contribución describiré un programa de investigación experimental en curso, cuyo nexo común es la descripción del cómo se acopla la actividad neural con la dinámica de señales que son informativas y/o valiosas. En particular, se indaga en la actividad electrofisiológica cerebral la actuación de sesgos atencionales inducidos mediante (a) mecanismos involuntarios de recompensa, (b) mecanismos voluntarios de selección, y (c) mecanismos de traspaso entre modalidades sensoriales.

Palabras clave: efecto de fiesta de cóctel, captura atencional impulsada por valor, procesamiento audiovisual, atención selectiva

Vincular niveles fisiológicos con correlatos cognitivos, conductuales y clínicos mediante el uso de técnicas de las neurociencias cognitivas computacionales a neuroimágenes

De la Fuente, Laura Alethia • *National Scientific and Technical Research Council (CONICET). Institute of Cognitive and Translational Neuroscience, INECO Foundation, Favaloro University. Department of Physics, University of Buenos Aires (UBA). Buenos Aires, Argentina*

Las neuroimágenes generan nuevos desafíos y oportunidades. El uso de neuroimágenes en un sentido amplio (MRI, fMRI, iEEG y EEG) permite vincular aspectos fisiológicos con correlatos cognitivos, conductuales y subjetivos de la experiencia consciente. El hilo conductual de será metodológico, comenzando con estrategias relativamente simples de análisis de datos de resonancia magnética y datos electrofisiológicos para vincular aspectos clínicamente relevantes asociados a la vía de administración de la cocaína en consumo problemático temprano. El consumo temprano de cocaínas fumables se ha asociado a un riesgo mayor de dependencia y recaídas que podrían vincularse a los procesos interoceptivos exacerbados en vías rápidas de administración. En particular, expondré resultados de los correlatos neurofisiológicos asociados a una mayor interocepción y una afectación ejecutiva con predominio atencional en el consumo de cocaínas fumables. Luego pasaré a discutir el análisis de neuroimágenes en combinación con técnicas de neurociencias cognitivas computacionales, en particular el uso de redes neuronales convolucionales para extraer información que permite vincular la actividad eléctrica (iEEG) con aspectos de la experiencia consciente. Terminaré comentando algunos proyectos en curso que buscan vincular características extraídas con técnicas de análisis de lenguaje natural con niveles fisiológicos y cognitivos durante el desarrollo.

Palabras clave: cocaínas fumables, interocepción, aprendizaje automático

Rol del hipocampo humano en la codificación de memorias no declarativas

Della Maggiore, Valeria • *Laboratorio de Fisiología de la Acción, IFIBIO Houssay, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires*

El descubrimiento en la década de 1950 acerca del papel central del hipocampo humano en la memoria episódica estableció una dicotomía conceptual en la neurociencia cognitiva, con el aprendizaje declarativo dependiente del hipocampo y el motor del cerebelo y los ganglios basales. Sin embargo, recientemente resultados de nuestro y otros laboratorios han cuestionado esta visión tradicional. En esta presentación mostraremos evidencia experimental basada en resonancia magnética funcional (fMRI) y de difusión (DWI), que apoyan la hipótesis de que el hipocampo es relevante tanto en la codificación como en la consolidación de memorias, independientemente de su naturaleza -declarativa o procedural. En un primer estudio observamos que las mejoras en el rendimiento observadas durante los períodos de descanso intercalados con la práctica de una nueva secuencia motora (MSL) están asociadas a un incremento en la actividad del hipocampo durante la etapa temprana del aprendizaje. El aprendizaje motor a su vez produjo cambios estructurales rápidos (~30 min) en el hipocampo, reflejados en una disminución de la difusividad media (DM) una medida de difusión asociada a la plasticidad neural. Estos resultados sugieren que la misma región del hipocampo que se activa durante el aprendizaje, se reactiva durante los períodos de descanso y experimentan plasticidad. Más

recientemente, hemos replicado los hallazgos estructurales en otros dos paradigmas de aprendizaje motor que no implican un procesamiento secuencial (adaptación visomotora) ni una codificación explícita (adaptación visomotora implícita). En conjunto, nuestros resultados plantean la posibilidad de que el hipocampo participe tanto en la consolidación de memorias declarativas como procedurales.

Palabras clave: resonancia magnética, hipocampo, aprendizaje motor

MESA II • BASE NEURAL DE LA EMISIÓN DE SEÑALES COMUNICATIVAS SOCIALES: DE LA NATURALEZA AL LABORATORIO

Coordinadora: Paula Pouso ppouso@gmail.com

Actividad coral y factores físicos en una población de anuros autóctonos

Paula Pouso • *Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; Unidad Bases Neurales de la Conducta, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable*

Los coros de anuros son ambientes interesantes para el estudio de la comunicación social ya que en los mismos es posible estudiar las distintas estrategias usadas por los machos para atraer hembras y así lograr una exitosa reproducción. En este trabajo describimos la actividad coral de un anuro hílido autóctono, abundante y de amplia distribución en Uruguay, *Boana pulchella*. Realizamos registros continuos de la actividad de canto, temperatura e intensidad de la luz durante toda la noche y parte del día, usando dispositivos de registro automático durante un año en un tamar permanente. Encontramos que la actividad de canto es nocturna y está presente mayoritariamente durante las estaciones de temperatura templada, asimismo altas temperaturas están asociadas con la actividad de canto en meses invernales. La dinámica temporal de actividad coral no es uniforme durante la noche y presenta una marcada disminución previo al amanecer. El fotoperiodo parece estar asociado con la actividad de canto de esta población de anuros. Palabras clave: actividad vocal, temperatura, fotoperiodo, anuros.

Temporal dynamics of vocalizations in an uruguayan treefrog

Kim Hoke • *Department of Biology, Colorado State University, Estados Unidos*

In many anuran species, males produce an extended series of advertisement calls during a call bout, and they may engage in many call bouts during a single night. The temporal patterning of this calling behavior provides insights into the neural mechanisms that regulate call production. We apply methods from information theory and linguistic analysis to examine the variability in the dynamic calling behavior of the treefrog, *Boana pulchellus*. We analyzed field recordings of male calls and quantified call variability over time for focal males. We characterized three distinct note types that vary in frequency and duration in the complex call series of male *B. pulchellus*. Strong consistency within males in the spacing between notes suggests that pattern generating circuits produce compound calls composed of stereotyped series of notes, analogous to syllables making up a word. The more variable timing between calls and the temporal sequencing of different call types within a bout indicate great flexibility in call series, analogous to words making up a sentence. We also find evidence that social feedback modulates calling behavior over longer time scales, and that neighbors' vocalizations restrict call production in focal males.

Keywords: vocalizations, temporal dynamics, anuran

Neural mechanisms of vocal evolution in african clawed

Erik Zornik • *Biology Department, Reed College, Estados Unidos*

How do novel behaviors evolve? One way to address this question is to compare neural circuits in closely related species that generate distinct behaviors. We investigated a vocal hindbrain circuit in three species of African clawed frogs, *Xenopus*. Males of all described *Xenopus* species produce advertisement calls to attract mates, but the temporal structures differ widely, even between close relatives. The *Xenopus* vocal system is ideal for investigating physiological mechanisms underlying behavioral evolution because the vocal circuit can be activated in isolated brains, allowing us to perform whole-cell recordings of vocal neurons during "fictive" vocalizations. In *X. laevis* and *X. petersii*, male advertisement calls consist of bursts of rapid sound pulses with

similar rates, but the bursts possess distinct periods and durations. We identified vocal neurons that intrinsically encode these species-specific call patterns, and are now using RNA sequencing to reveal candidate ion channels that promote these physiological differences. In *X. borealis*, calls are made of single sound pulses rather than the rapid bursts observed in *X. laevis* and *X. petersii*. We have discovered neurons that generate these simplified calls, and are working to discover distinct neuronal properties and network connections that underlie the evolutionary switch from temporally complex to simple calls.

Keywords: vocal neurons, call pattern, anuran

MESA III • MESA DE DOCTORADOS

Coordinadoras: Victoria Gradin y Florencia Arredondo

Matriz extracelular y sustancias psicoactivas: del cannabidiol a los psicodélicos

Prieto, José • *Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

El potencial terapéutico del cannabidiol (CBD), un fitocannabinoide no- psicotomimético, para el tratamiento de la adicción a psicoestimulantes se encuentra en plena exploración. Previamente, demostramos que la cafeína, presente en la pasta base de cocaína (PBC) como adulterante activo, acelera y potencia la sensibilización comportamental inducida por PBC y cocaína (combinación de cocaína y cafeína como símil PBC) en ratas, fenómeno asociado al desarrollo adictivo. Parte de mi trabajo de doctorado se enfocó en evaluar el efecto del CBD sobre la sensibilización comportamental inducida por la combinación de cocaína y cafeína. Describimos que el CBD es capaz de atenuar la expresión de la sensibilización inducida por la combinación de ambos psicoestimulantes, así como sus acciones sobre la actividad metabólica regional en el núcleo accumbens (NAc) y la corteza prefrontal. Con el objetivo de identificar los mecanismos involucrados en estas acciones protectoras del CBD, analizamos la expresión de ARNm mediante RNA-Seq en el NAc luego del tratamiento de sensibilización con cocaína y cafeína, y CBD. Estos experimentos mostraron que el tratamiento con CBD aumenta la expresión de genes relacionados con la remodelación de la matriz extracelular, lo que puede relacionarse con un incremento de procesos de plasticidad neuronal. A partir de estos resultados surge el interés en el rol de la matriz extracelular en procesos de plasticidad inducidos por sustancias psicoactivas. En particular, presentaré una de mis líneas de investigación actuales, centrada en el rol de las redes perineuronales, estructuras de matriz extracelular especializada, en la plasticidad neuronal inducida por sustancias psicodélicas.

Palabras clave: cannabidiol, psicodélicos, plasticidad

Bases hormonales de la agresión territorial no reproductiva

Lucía Zubizarreta^{1,2}

¹ *Laboratorio de Neurofisiología Celular y Sináptica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Udelar*

² *Laboratorio de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay*

Las hormonas esteroides son clave en la integración de información social, ambiental y del estado interno para ejecutar salidas conductuales contexto específicas. Este trabajo integra el enfoque ecológico y neuroendocrinológico individual para explorar las bases hormonales de la agresión territorial de *Gymnotus omarorum*, un pez eléctrico nativo que despliega esta conducta durante todo el año. La agresión territorial no reproductiva de *G. omarorum* ha sido caracterizada en detalle y constituye un comportamiento robusto y complejo, el cual media la adquisición de territorios, tanto en hembras como en machos. En la población estudiada en el ambiente natural, los factores que influenciaron el tamaño territorial fueron el tamaño corporal y la concentración de O₂ en el período no reproductivo, mientras que en el período reproductivo fueron el sexo, los esteroides sexuales dimórficos y la maduración ovárica. Los mecanismos hormonales subyacentes a la agresión no reproductiva se exploraron en encuentros diádicos en el laboratorio. La agresión territorial fue independiente de acciones androgénicas rápidas. Sin embargo, la síntesis rápida de estrógenos tiene un rol preponderante, ya que la inhibición de la aromatasas afectó la ocurrencia de los conflictos, la dinámica, intensidad y resultado de las contiendas. Para conocer las fuentes estrogénicas que modulan la agresión se

cuantificaron los perfiles esteroideos circulantes y cerebrales de individuos colectados en el ambiente natural. Los individuos no reproductivos presentaron niveles circulantes y cerebrales de andrógenos aromatizables, no mostraron estrógenos circulantes, y presentaron estrona cerebral, lo cual constituye una evidencia inequívoca de síntesis cerebral de estrógenos.

En suma, *G. omarorum* como único modelo entre los teleosteos, revela que la síntesis cerebral rápida de estrógenos tiene un rol protagónico en la modulación de la agresión no reproductiva, lo que parece ser una estrategia compartida con aves y mamíferos.

Aprendizaje de la lectura: de screening digital a bases neurocognitivas

Zugarramurdi, Camila • *Instituto de Fundamentos y Métodos, Facultad de Psicología, Universidad de la República & Basque Center on Cognition, Brain and Language (BCBL)*

El aprendizaje de la lectura es un área activa de investigación en la psicología y la neurociencia cognitiva. En las últimas décadas se ha avanzado enormemente en la comprensión de los procesos neurocognitivos subyacentes al aprendizaje de la lectura y a sus dificultades. Sin embargo, existen al menos dos dimensiones en las que es necesario seguir trabajando arduamente. Por un lado, el conocimiento actual sobre el aprendizaje de la lectura no ha impactado en las prácticas educativas. Por otro lado, la diversidad de las características del aprendizaje de la lectura en distintas ortografías no se comprende cabalmente. La presente tesis se enfoca en el estudio del aprendizaje de la lectura combinando estrategias de identificación oportuna de niños en riesgo lector en el contexto escolar con estudios de laboratorio enfocados en comprender las bases neurocognitivas del aprendizaje de la lectura en una ortografía transparente como el español.

Estos objetivos se lograron a través de un diseño longitudinal comenzando desde la educación inicial, siguiendo a un mismo grupo de aproximadamente 600 niños hasta segundo año de escuela.

Los resultados muestran, por una parte, que es factible identificar a niños en riesgo lector incluso antes de la educación primaria, y, por otra parte, que el aprendizaje de la lectura en una ortografía transparente como el español tiene características comunes y características distintivas respecto a ortografías opacas. Además, aportan datos novedosos sobre las bases neurales del aprendizaje de la lectura, en particular sobre el rol que juegan las oscilaciones cerebrales en este proceso.

Bases neurales del comportamiento parental e infanticida en ratones (C57BL/6)

Alsina-Llanes, Marcela¹; **Olazábal, Daniel**¹

¹*Laboratorio de Neurociencias Comportamental y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de la República*
En el ratón de laboratorio, la respuesta comportamental inmediata cuando hembras y machos adultos e inexperimentados son expuestos a crías por primera vez fuera del contexto reproductivo es variable.

Mientras que las hembras despliegan comportamiento maternal, los machos son mayormente infanticidas. Debido al desconocimiento de las bases neurales de estas dos respuestas comportamentales sexualmente dimórficas, nos propusimos determinar las áreas cerebrales que participan en el despliegue de uno u otro comportamiento en el ratón. Utilizando diferentes abordajes como el análisis de la expresión de c-Fos y la realización de lesiones cerebrales selectivas (NMDA y 6OHDA), encontramos que la corteza prefrontal medial (CPFm) participa en el rápido inicio de la conducta maternal en las hembras de ratón.

La CPFm podría estar favoreciendo la coordinación/planificación, flexibilidad comportamental, y/o la disminución de la ansiedad e impulsividad, lo que en conjunto acelera el inicio de la conducta maternal en las hembras de ratón. El infanticidio, en contraste, sería una respuesta comportamental más impulsiva regulada principalmente por regiones subcorticales como el núcleo accumbens (NA).

Asimismo, encontramos que las aferencias dopaminérgicas al NA tienen un rol diferentes y probablemente opuesto en estas dos conductas.

Estos estudios contribuyen al mejor entendimiento de la regulación de dos respuestas biológicamente antagónicas, una más compleja como la conducta parental y otra probablemente más impulsiva como el infanticidio, así como también aportan evidencia sobre cómo el estado de ansiedad, agresividad y/o la impulsividad, influyen en la variabilidad en la respuesta comportamental inmediata en el ratón.

No hay (SLIT)2 sin (SLIT)3: cooperación en el cruce de los axones retinianos en la línea media en el pez cebra
Davison, Camila^{1,2}; **Bedó, Gabriela**³; **Zolessi, Flavio R.**^{1,2}

¹ Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

² Institut Pasteur de Montevideo

³ Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La señalización por medio de Slit-Robo regula el cruce de los axones a nivel de la línea media. En el pez cebra, los axones de todas las células ganglionares de la retina (CGRs) cruzan en el quiasma óptico para inervar el tectum contralateral. Los mutantes para el receptor Robo2 presentan defectos severos en el guiado axonal, los cuales no se reproducen completamente en los mutantes nulos para el ligando Slit2. Dado que, en el pez cebra, slit3 también se expresa en esta región en el momento del cruce axonal, decidimos analizar la posible cooperación entre ambos factores. La disrupción de la expresión de slit3 mediante el sistema CRISPR/Cas9 causó defectos similares a los observados en los mutantes slit2^{-/-}, aunque más leves. El mismo tratamiento en embriones slit2^{-/-}, sin embargo, ocasionó defectos mucho más severos, comparables con los observados en los mutantes para robo2. El seguimiento de los axones de las CGRs mediante time-lapse y posterior análisis de tracking indicó funciones distintas pero complementarias para Slit2 y Slit3 en la corrección de los errores de giro cerca del quiasma óptico. Curiosamente, el análisis por medio de qPCR mostró un leve aumento de la expresión de slit2 en embriones deficientes para slit3, pero no a la inversa. Nuestras observaciones apoyan el modelo existente de "canalización repulsiva" para la acción de la vía Slit-Robo en el quiasma óptico. De esta forma, ambos Slits estarían actuando mediante Robo2, aunque de distinta manera, lo cual podría relacionarse con las diferencias en sus patrones de expresión.

Palabras clave: quiasma óptico; guía axonal; células ganglionares de la retina; nervio óptico; CRISPR-Cas9

Características y predictores del sueño en jóvenes y su relación con el desempeño cognitivo

Ignacio Estevan • Instituto de Fundamentos y Métodos, Facultad de Psicología, Universidad de la República

En nuestras sociedades 24/7 resulta fundamental conocer los factores ambientales, sociales y comportamentales que determinan las características del sueño y sus consecuencias. Esta tesis se propuso conocer el comportamiento de sueño en jóvenes uruguayos utilizando instrumentos objetivos y novedosos. Utilizando registros de 15 adolescentes liceales durante vacaciones y la vuelta a clases con un calendario extremadamente irregular de clases virtuales y presenciales y horarios variables, se estudió la relación bidireccional entre el sueño y la exposición diaria a luz, así como la asociación del sueño con las actividades académicas y su horario. Por otro lado, se estudió la influencia de los turnos de entrenamiento en 31 adultos jóvenes estudiantes de la escuela de danza en el patrón diario de exposición a luz y actividad física y en el uso de alarmas para despertar utilizando acelerómetros y diarios de sueño, y la influencia de estos factores en el patrón de sueño. Por último, se estudió con cuestionarios la influencia de una prueba en el sueño de 349 estudiantes universitarios de dos Servicios, y la asociación de la duración de sueño previa con el rendimiento en la prueba. Los resultados de esta tesis constituyen un aporte al conocimiento de los factores que influyen en el patrón de sueño de los jóvenes uruguayos, muchos de los cuales pueden ser utilizados para realizar intervenciones que mejoren su salud de sueño, de modo mejorar su bienestar y su funcionamiento diario.

Palabras clave: sueño, jóvenes, desempeño

Neuroetología de la óptica localización de sonidos en lechuzas de campanario y seres humanos

Peña, José Luis • Department of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, NY-USA

La detección de la dirección de sonidos es una función vital a través de especies dependientes de la percepción auditiva. La lechuza de campanario, un ave especialista en la detección de la dirección de sonidos utilizada como herramienta para la caza nocturna, ha constituido un clásico modelo animal en la disciplina Neuroetológica, enfocada en el estudio comparativo y evolutivo de las bases cerebrales del comportamiento. La investigación de esta especial habilidad de las lechuzas de campanario, ha proveído información acerca de los mecanismos por los cuales el cerebro localiza la dirección del sonido, genera comandos comportamentales eficientes, y es capaz de predecir las estadísticas naturales de claves sensoriales en distintas especies, incluyendo los seres humanos.

Maternal–fetal stress and dna methylation signatures in neonatal saliva.

Ritika Sharma^{1,3}, **Martin G. Frasch**², **Camila Zelgert**¹, **Peter Zimmermann**¹, **Bibiana Fabre**⁴, **Rory Wilson**³, **Melanie Waldenberger**³, **James W. MacDonald**⁵, **Theo K. Bammler**⁵, **Silvia M. Lobmaier**¹ and **Marta C. Antonelli**^{1,6}

¹ *Department of Obstetrics and Gynecology, Klinikum Rechts der Isar, Technical University of Munich, Munich, Germany.*

² *Department of Obstetrics and Gynecology and Center On Human Development and Disability (CHDD), University of Washington, Seattle, WA, USA*

³ *Research Unit of Molecular Epidemiology, Institute of Epidemiology, Helmholtz Zentrum Munich, Munich, Germany*

⁴ *Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina*

⁵ *Department of Environmental and Occupational Health Sciences, University of Washington, Seattle, WA, USA*

⁶ *Instituto de Biología Celular y Neurociencia "Prof. E. De Robertis", Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina*

Maternal stress before, during and after pregnancy has profound effects on the development and lifelong function of the infant's neurocognitive development. We hypothesized that the programming of the central nervous system (CNS), hypothalamic– pituitary–adrenal (HPA) axis and autonomic nervous system (ANS) induced by prenatal stress (PS) is reflected in electrophysiological and epigenetic biomarkers. In this study, we aimed to find noninvasive epigenetic biomarkers of PS in the newborn salivary DNA. A total of 728 pregnant women were screened for stress exposure using Cohen Perceived Stress Scale (PSS), 164 women were enrolled, and 114 dyads were analyzed. Prenatal Distress Questionnaire (PDQ) was also administered to assess specific pregnancy worries. Transabdominal fetal electrocardiograms (taECG) were recorded to derive coupling between maternal and fetal heart rates resulting in a 'Fetal Stress Index' (FSI). Upon delivery, we collected maternal hair strands for cortisol measurements and newborn's saliva for epigenetic analyses. DNA was extracted from saliva samples, and DNA methylation was measured using EPIC BeadChip array (850 k CpG sites). Linear regression was used to identify associations between PSS/PDQ/FSI/Cortisol and DNA methylation. We found epigenomewide significant associations for 5 CpG with PDQ and cortisol at FDR < 5%. Three CpGs were annotated to genes (Illumina Gene annotation file): YAP1, TOMM20 and CSMD1, and two CpGs were located approximately lay at 50 kb from SSBP4 and SCAMP1. In addition, two differentiated methylation regions (DMR) related to maternal stress measures PDQ and cortisol were found: DAXX and ARL4D. Genes annotated to these CpGs were found to be involved in secretion and transportation, nuclear signaling, Hippo signaling pathways, apoptosis, intracellular trafficking and neuronal signaling. Moreover, some CpGs are annotated to genes related to autism, post-traumatic stress disorder (PTSD) and schizophrenia. However, our results should be viewed as hypothesis generating until replicated in a larger sample.

Early assessment of such noninvasive PS biomarkers will allow timelier detection of babies at risk and a more effective allocation of resources for early intervention programs to improve child development. A biomarker-guided early intervention strategy is the first step in the prevention of future health problems, reducing their personal and societal impact.

MESA IV • SIMPOSIO VUELTA A CASA IBRO

Coordinadoras: Marcela Alsina y Analía Richeri

Rol inflamatorio de SIRT6 en patologías con inflamación crónica.

Bresque, Mariana^{1,2}; **Escande, Carlos**¹; **Vargas, Marcelo**²

¹ *Laboratorio de Patologías del Metabolismo y el Envejecimiento, Institut Pasteur Montevideo*

² *Vargas Laboratory, Neurology Departement, University of Wisconsin, Madison*

Las Sirtuinas, enzimas deacilasas NAD+ dependientes, son claves en la regulación de múltiples procesos celulares. Su rol en el mantenimiento de la homeostasis energética es fundamental en la respuesta inflamatoria, orquestando los cambios metabólicos que se suceden en la misma. Además, también participan en su regulación génica. SIRT6 en particular, modula la unión de NFκB a sus promotores, y consecuentemente,

la expresión de citoquinas proinflamatorias. Los resultados obtenidos durante mi doctorado en el Institut Pasteur Montevideo permitieron confirmar el rol proinflamatorio de SIRT6 in vivo en un contexto de inflamación crónica, logrando disminuir temporalmente los efectos deletéreos de la obesidad y la inflamación sistémica generada por esta. Continuando la línea, durante el postdoctorado en la Universidad de Wisconsin-Madison, pretendemos estudiar el rol de SIRT6 en la neuroinflamación, característica común en enfermedades neurodegenerativas. Publicaciones recientes muestran que las motoneuronas en co-cultivo con astrocitos que sobreexpresan SIRT6 presentan mayor sobrevida en un modelo in vitro de Esclerosis Lateral Amiotrófica (ALS). Así mismo, se observaron menores niveles de SIRT6 en ratones y pacientes de ALS, en comparación con sus controles. Estos datos, sugieren un rol activo de SIRT6 en ALS. Con el fin de abordar esta temática, evaluaremos la función de SIRT6 en el modelo hSOD1-G93A, sobreexpresando la enzima en neuronas y astrocitos. Hasta ahora, los perfiles de RNA seq de los astrocitos con sobreexpresión de SIRT6 in vivo e in vitro presentan un enriquecimiento en genes inflamatorios, sin embargo, aún desconocemos sus efectos en el desarrollo y progresión de la ALS.

Palabras clave: Sirtuinas, Inflamación, SIRT6, ALS

Efecto de la rigidez de la matriz extracelular en el citoesqueleto axonal: camino de "retorno" más y menos rígido

Martínez, Gaby F • Departamento de Neurofarmacología Experimental. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Avenida Italia 3318. Montevideo, Uruguay

Las propiedades mecánicas de la Matriz Extracelular (MEC) actúan como señales de guiado durante el crecimiento axonal en el sistema nervioso central y periférico. Por ejemplo, cambios en la rigidez de la MEC pueden ser claves para el direccionamiento y crecimiento de los axones, proporcionando caminos más o menos favorables durante el desarrollo, así como, en procesos de regeneración axonal luego de una lesión. En este marco, diseñamos un modelo de cultivo tridimensional de colágeno tipo I (3D-Col-I), generando un microambiente "mecano-dimensional" que emula los entornos fisiológicos que deben enfrentarse los axones durante su crecimiento. Así, evaluamos el impacto de matrices 3D-Col-I más y menos rígidas sobre el crecimiento axonal de neuronas simpáticas. Utilizando esta metodología in vitro, demostramos que matrices 3D-Col-I más rígidas, impactan negativamente en la elongación y los niveles de F-actina de los axones simpáticos. Por otra parte, evidenciamos que los axones crecidos en matrices más rígidas aumentan los niveles de β -II-espectrina y presentan un crecimiento menos tortuoso, en comparación con los axones crecidos en matrices 3D-Col-I menos rígidas. Estos estudios, sugieren un posible rol de proteínas del citoesqueleto en la adaptación del crecimiento axonal simpático en respuesta a entornos "mecano-cambiantes" además de ser un trabajo enmarcado dentro de un contexto de "caminos de idas y retornos" durante mis estudios de posgrado.

Palabras claves: axón, rigidez, Matriz Extracelular, crecimiento, citoesqueleto

Interacciones cerebro-estómago, un puente entre el cuerpo, el sistema nervioso y la cognición

Ignacio Rebollo^{1,2}

¹ Instituto de Psicología, Educación y Desarrollo Humano. Facultad de Psicología, Universidad de la República

² Centro Alemán de Nutrición Humana, DIFE Potsdam-Rehbrücke

El cerebro es un sistema complejo que produce espontáneamente actividad rítmica y arrítmica en diferentes escalas temporales. Utilizando resonancia magnética funcional, esta actividad espontánea se manifiesta como redes de reposo, es decir, regiones distantes del cerebro que muestran actividad coherente y tienen funciones convergentes, tales como la red visual o la red somato-motora. El cerebro tiene también la función de monitorear constantemente los diferentes órganos viscerales, que reciben y envían proyecciones al cerebro. Muchos de estos órganos viscerales producen actividad rítmica. En particular, el estómago produce intrínsecamente un ritmo eléctrico con una frecuencia de 0.05 Hz (1 ciclo cada 20 segundos), en la escala temporal de las redes de reposo. Este ritmo gástrico puede medirse de manera no invasiva colocando electrodos sobre el abdomen, una técnica conocida como electrogastrograma. En esta charla voy a presentar una nueva red de reposo que encontramos al medir electrogastrograma y resonancia magnética funcional en 63 voluntarios sanos durante el reposo y al calcular la sincronización de fase entre el ritmo gástrico y cada parte del cerebro. La red gástrica es extensa y distribuida, incluyendo todas las modalidades sensoriales,

interoceptivas y exteroceptivas, así como regiones motoras y premotoras involucradas en el control simpático del estómago.

Palabras clave: cerebro, estomago, resonancia magnética funcional, electroencefalograma, redes de reposo

Entre cajas y equipos, la ley 18250

Federico F. Trigo

Para todo investigador radicado fuera del país, la decisión de retornar luego de un período en el exterior es altamente desafiante desde múltiples puntos de vista. El objetivo de esta presentación es contar brevemente mi recorrido académico, mis intereses como investigador y sobre todo mi experiencia personal y familiar de retorno luego de un período de 15 años en el exterior. A través de esta presentación intentaré transmitir algunos elementos que, desde mi punto de vista, deben tomarse en consideración antes de lanzarse a la aventura. Porque como todo en la vida, más vale planificar y estar bien informado.

El gigantocerebelo en mormiridos: acercamiento neuroetológico y computacional al control sensoriomotor

Pedraja, Federico Zuckerman • *Mind Brain and Behavior Institute, Columbia University, NY, USA*

La visión estándar de la función motora en vertebrados atribuye roles predominantes en la planificación motora, la ejecución y el aprendizaje de habilidades a la corteza cerebral. Sin embargo, este punto de vista se ha formado principalmente en base a estudios de primates, quienes, a diferencia de la mayoría de los demás vertebrados, poseen una corteza cerebral muy aumentada que proyecta directamente sobre neuronas motoras espinales. Aquí se aplicó enfoques experimentales y computacionales integrados para estudiar el control motor en un vertebrado en el que el cerebelo está inmensamente agrandado: un pez eléctrico. La región C1 del cerebelo en estos peces controla directamente las neuronas motoras del tronco encefálico que inervan los músculos de un apéndice flexible similar a un dedo (el schnauzenorgan) que desempeña un papel vital en la búsqueda de alimento. Mediante microestimulación, registros electrofisiológicos y análisis de las consecuencias conductuales de lesiones se obtuvo una caracterización inicial de la función de C1 en *Gnathonemus petersii*. La microestimulación eléctrica de C1, evoca movimientos robustos del schnauzenorgan. Los registros electrofisiológicos de neuronas en C1 revelan una sintonización direccional en respuesta a distintos estímulos sensoriales. Finalmente, mediante reconstrucciones en 3D automatizadas de todo el cuerpo, se caracterizó los efectos de lesiones durante la captura de presas en una tarea de búsqueda. Estas lesiones dieron como resultado una parálisis parcial del schnauzenorgan. En general, estos resultados sugieren que la región C1 puede ser un sistema valioso para estudiar las funciones del cerebelo en un comportamiento sensoriomotor complejo y ecológicamente relevante.

Por si las moscas

Gonzalo Budelli • *Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República*

Luego de recibirme de Licenciado en Ciencias Biológicas en la Facultad de Ciencias decidí realizar mi doctorado en el exterior. Obtuve mi PhD en Neurociencias (laboratorio del Dr. Lawrence Salkoff, WashU) estudiando los canales de potasio de la familia Slo. Demostramos que las neuronas en cultivos primarios obtenidas de distintas regiones del cerebro de rata presentan una corriente de potasio dependiente de sodio. Esta corriente es activada por la corriente persistente de sodio y requiere de Slo2.2 en el estriado. En un estudio posterior generamos un canal quimera con el dominio transmembrana de Slo1 y el dominio carboxilo terminal de Kv1.2, de esta forma pudimos expresar el dominio transmembrana de Slo1 en ausencia del dominio intracelular y mostramos su importancia en la activación por calcio y magnesio. Ya pensando en la posibilidad de volver a Uruguay, decidí realizar un postdoctorado utilizando *Drosophila melanogaster* como modelo. En el laboratorio del Dr. Paul Garrity (Brandeis University) estudié como las moscas perciben cambios de temperatura. Mi trabajo en las células de la arista demostró que estas neuronas responden a cambios de temperatura. Mostramos que distintos miembros de la familia de Receptores ionotrópicos eran necesarios para su función y morfogénesis, y que las moscas mutantes en estos receptores fallan en evitar temperaturas más bajas y más altas que la temperatura preferida de la mosca. Esto condujo al estudio del rol de estos receptores ionotrópicos en mosquitos. A principios de 2021 retorné al Uruguay gracias al apoyo del Departamento de Biofísica, la CSIC e IBRO.

MESA V: NEUROPLASTICIDAD: DE LAS MOLÉCULAS AL COMPORTAMIENTO

Coordinadores: Javier Nogueira y Francesco M. Rossi

La presente propuesta busca reunir a un grupo de investigadores dedicados al estudio de la neuroplasticidad en modelos biológicos diversos (de roedores a humanos) y con diferentes abordajes metodológicos. Se analizarán los mecanismos de plasticidad en el sistema nervioso a diferentes niveles, tanto anatómicos como de organización. Cabe destacar que las temáticas de los expositores propuestos abarcan estudios sobre el sistema nervioso periférico y central, con aproximaciones moleculares, celulares, y comportamentales. El objetivo es presentar a la comunidad científica los últimos hallazgos sobre la temática y los resultados específicos de cada grupo, así como facilitar el intercambio y posibles cooperaciones entre investigadores del medio local.

Plasticidad de la inervación del cordón umbilical tras el consumo de cocaína durante el embarazo: un estudio básico-clínico

Analia Richeri • Departamento de Neurofarmacología Experimental. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Avenida Italia 3318. Montevideo, Uruguay

Los factores de riesgo vinculados al consumo materno de drogas de abuso en el embarazo son de interés en salud pública. Preocupa el impacto en el neurodesarrollo, y los déficits cognitivos que pueden generar a corto plazo, en el recién nacido (RN), aunque también habiendo ausencia de secuelas en el período neonatal, éstas se podrían manifestar recién en la primera infancia. El consumo de cocaína implica vasoconstricción por aumento de catecolaminas circulantes y un predominio del tono vasoconstrictor durante el embarazo reduce el flujo sanguíneo hacia el feto. Se reporta mayor incidencia de restricción de crecimiento intrauterino, bajo peso al nacer y prematurez en RN de madres consumidoras de cocaína. Hipotetizamos que una de las causas podría estar vinculada a una alteración en la circulación sanguínea en los vasos del cordón umbilical (CU), órgano responsable del intercambio de nutrientes y oxígeno feto-placentario. Evidenciamos una inervación simpática aumentada en los vasos sanguíneos del CU de RN de madres consumidoras en comparación con sus pares de gestaciones saludables. Este hallazgo demostró dos hechos relevantes: la existencia de inervación perivasculares en el CU, cuestionada en la literatura, y que la exposición a drogas de abuso (en particular cocaína) cambia la inervación del CU. Siendo la inervación simpática determinante de vasoconstricción, dichos cambios podrían condicionar el flujo sanguíneo materno-filial. Correlacionamos inervación simpática perivasculares del CU con datos clínicos perinatales de sus donantes y nuestros resultados proponen a la inervación del CU como posible indicador biológico de vulnerabilidad en la primera infancia del RN. Consentimiento informado/firmado (versión n°6 aprobada por Instituto Nacional de Donación y Trasplante, INDT)

Comunicación neuro-glial en la plasticidad sináptica homeostática

Rafael, Alberto¹; Cairus, Andrea¹; Tizzoni, Marina¹; Vitureira, Nathalia¹

¹ Laboratorio de Comunicación Sináptica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La Plasticidad Sináptica Homeostática (PSH), estabiliza la actividad de una neurona o un circuito neuronal con el fin de enfrentar cambios en la respuesta sináptica que puedan alterar la excitabilidad del circuito. Esto se realiza mediante la modificación de la función sináptica en dirección compensatoria a las alteraciones del circuito. Los astrocitos expresan conexinas, subunidades proteicas de los canales de unión en hendidura y de los hemicanales que proveen una vía al intercambio citoplasma-citoplasma y citoplasma-medio extracelular, respectivamente. Los hemicanales astrocitarios también pueden estar formados por panexinas (Pxs), otra familia de canales de membrana, que no forman uniones del tipo gap en mamíferos. Ambos tipos de canales permiten la transferencia de iones y pequeñas moléculas que favorecen la interacción funcional entre astrocitos y neuronas. En particular, permiten la liberación de ATP, el cual puede modular la función sináptica. Mediante la utilización de herramientas farmacológicas y genéticas, técnicas de detección inmune e imagenología funcional en cultivos disociados de hipocampo, demostramos un rol protagónico de la interacción neurona - glía en la regulación homeostática de la función presináptica y, en particular, de la mediada por los hemicanales de Cx43, los canales de Px1 y los receptores P2X7 presinápticos. Asimismo, evidenciamos los

cambios que ocurren en la terminal presináptica luego de la activación de esta vía de señalización, y que conducen al restablecimiento de la homeostasis del circuito. Estos resultados sugieren un rol protagónico de la interacción neurona-glia en el ajuste compensatorio de la función presináptica luego de un período de inactividad prolongado.

Palabras clave: plasticidad sináptica homeostática, ATP, Cx43, Px1, receptores P2X7

Mecanismos de plasticidad en la corteza visual

Rossi, Francesco Mattia • *Laboratorio de Neurociencias "Unidad de Neuroplasticidad", Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica*

La corteza visual es un modelo experimental paradigmático para el estudio de los procesos de plasticidad dependiente de la experiencia. Como en otras áreas, los niveles de plasticidad en la corteza visual son particularmente elevados durante determinados periodos críticos del desarrollo postnatal, pero disminuyen notoriamente con la edad. Esta reducción constituye una desventaja en condiciones patológicas, luego de un trauma, o en presencia de defectos surgidos durante el desarrollo. Estudios en la corteza visual han identificado algunas estrategias que, aumentando el nivel de plasticidad en adultos, facilitan la recuperación de la visión en animales ambliopes, y algunas de estas han sido trasladadas a la clínica. En los últimos años el Laboratorio que dirijo se ha dedicado al estudio de los mecanismos que controlan los niveles de plasticidad en la corteza visual, y en particular al análisis de procesos epigenéticos, de factores implicados en el control del equilibrio entre el tono excitatorio e inhibitorio, y de componentes estructurales. En esta instancia se presentará un breve resumen sobre los principios básicos de los mecanismos de plasticidad en la corteza visual, para luego introducir resultados obtenidos en el Laboratorio de Neurociencias. Finalmente se presentarán datos recientes y datos preliminares sobre el estudio del rol de la cofilina 1, una proteína despolimerizante de la actina de la familia ADF/Cofilina, en los procesos de plasticidad de la corteza visual. En la parte final se intentará poner los datos del Laboratorio en el contexto de los procesos de plasticidad presentados por los colegas en este Simposio.

Palabras clave: corteza visual; plasticidad; cofilina 1

Plasticidad estructural de las redes perineuronales: papel de las hormonas esteroideas

Javier Nogueira • *Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República*

Las redes perineuronales (RPNs) son estructuras complejas de la matriz extracelular que rodean el soma y las dendritas de poblaciones neuronales específicas. Estas estructuras en forma de red se componen de proteoglicanos, ácido hialurónico, tenascina y proteínas link. Se ha reportado que las RPNs participan de la regulación de los niveles de plasticidad del tejido nervioso durante el desarrollo posnatal y en procesos de aprendizaje en individuos adultos. Sin embargo, existe poca información sobre los factores capaces de regular la estabilidad estructural y permitir la remodelación de las RPNs asociada a dichos procesos de neuroplasticidad. Los esteroides gonadales regulan procesos de neuroplasticidad en diferentes regiones de la corteza cerebral y el hipotálamo, sugiriendo que al menos parte de estos efectos podrían estar mediados por cambios en las RPNs. En este sentido, nuestro grupo ha demostrado la existencia de cambios en la matriz extracelular en el área preóptica media (APOm) de las ratas durante los períodos de gestación y lactancia. Este fenómeno es reproducido por el tratamiento con estrógeno y progesterona en ratas ovariectomizadas, demostrando el papel de ambas hormonas esteroideas como factores reguladores de las redes perineuronales en el APOm. Consistentemente, en dicha región, las neuronas rodeadas por RPNs expresan receptores para ambas hormonas. Por otra parte, en la corteza somatosensorial primaria las neuronas rodeadas por redes perineuronales co-expresan receptores de estrógeno pero no de progesterona, sugiriendo la existencia de diferencias regionales en los mecanismos de regulación de las RPNs por hormonas esteroideas.

Contextos reproductivos desafiantes como modelos para estudiar la flexibilidad comportamental en la rata

Uriarte, Natalia • *Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

El comportamiento maternal (CM) se ajusta dinámicamente a las características cambiantes de las crías en desarrollo. Esta flexibilidad se evidencia con mayor claridad en contextos desafiantes, en los cuales este comportamiento se convierte en un excelente modelo para el estudio de la flexibilidad comportamental y de

la neuroplasticidad de sus mecanismos subyacentes. Las ratas presentan un estro fértil luego del parto, donde coexisten de forma exitosa la conducta sexual y el CM.

A partir de esta cópula, se origina un nuevo contexto reproductivo desafiante, donde las madres cuidarán simultáneamente dos camadas superpuestas (CS) con distintas demandas fisiológicas y capacidades comportamentales. Demostramos que las madres con CS cuidan tanto a las crías recién nacidas como a las juveniles y no eligen entre ellas en una prueba de preferencia. Sin embargo, dirigen mayoritariamente su atención y esfuerzo hacia los neonatos. Curiosamente, estos despliegues conductuales co-ocurren con patrones específicos de activación del circuito neural maternal, observándose una expresión similar de c-Fos en el área preóptica media y el núcleo accumbens, implicados en la expresión de la motivación maternal y una activación diferencial de la corteza prefrontal-medial y la amígdala, implicadas en aspectos cognitivos y afectivos.

Este perfil específico de activación del circuito maternal en madres con CS, probablemente refleje la capacidad de responder a los requerimientos de crías con diferentes grados de desarrollo.

Profundizar en los cambios de los sustratos neurales que la adaptación del CM de madres con CS permitirá comprender mejor la flexibilidad comportamental de las ratas madres durante el posparto.

Palabras clave: Comportamiento maternal, flexibilidad comportamental, período posparto

Desarrollo de la motivación sexual en la rata hembra: una oportunidad para explorar la plasticidad del cerebro adolescente

Agrati, Daniella • Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, UdelaR

La adolescencia es un período de gran plasticidad en el cual el desarrollo del cerebro es particularmente sensible a la influencia de factores externos e internos.

Los esteroides gonadales, cuya producción aumenta a partir de la pubertad, modulan la organización de múltiples sistemas, incluyendo aquellos que regulan la reproducción. Durante la adolescencia las ratas hembras comienzan a expresar comportamiento sexual, sin embargo el desarrollo de este comportamiento ha sido poco explorado.

Estudiando la adolescencia de forma fragmentada, determinamos que las ratas hembras en adolescencia media (ADOLm) expresan el repertorio sexual completo pero su motivación es baja y aumenta hacia la adolescencia tardía (ADOLt), indicando que los sistemas que regulan la motivación sexual maduran durante este período. Asimismo, determinamos que la administración repetida de estradiol a hembras adolescentes -simulando el número de picos de estrógeno a los que son expuestas las hembras ADOLt- aumenta la motivación sexual de hembras ADOLm, indicando que el circuito motivacional sexual en esta edad exhibe sensibilización al efecto del estradiol. Si bien el receptor de estrógeno ER- α media el efecto de esta hormona sobre la motivación sexual, no detectamos cambios en su expresión en áreas claves del circuito sexual de hembras a lo largo de la adolescencia o luego del tratamiento hormonal. Estos resultados muestran que el circuito neural que regula la motivación sexual en la rata hembra está aún madurando durante la adolescencia, y apuntan a un rol de la exposición a estrógeno, que debe ser estudiado en profundidad, en este proceso.

Palabras clave: Motivación sexual; Adolescencia; Ratas hembras; Estrógeno

MESA VI: PRESENTACIONES ORALES SELECCIONADAS DE ESTUDIANTES

Coordinadores: Gonzalo Buedlli y José Pedro Prieto

Bases neurales del conflicto acercamiento evitación en personas con depresión y/o ansiedad social

Acuña, Alejo¹; Morales, Sebastián¹; Uriarte-Gaspari, Laura¹; Aguirre Nara¹; Pérez, Alfonso¹; Huart Natalia; Cuña, Enrique²; Waiter, Gordon³; García-Fontes, Margarita⁴; Cabana, Alvaro⁵; Gradín, Victoria⁵

¹Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Udelar, Montevideo, Uruguay

²Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, Montevideo, Uruguay

³Aberdeen Biomedical Imaging Centre, Institute of Medical Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen, UK

⁴Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, Montevideo, Uruguay

⁵Instituto de Fundamentos y Métodos en Psicología, Facultad de Psicología, Udelar, Montevideo, Uruguay

Las personas con depresión (MD) o ansiedad social (AS) muestran una tendencia elevada a la evitación y el retraimiento social. Esta tendencia acarrea sufrimiento y grandes costos a la persona. Nuestro estudio investigó las bases neurales de la evitación social en un grupo de personas con síntomas de MD y/o AS, y un grupo de controles. Para esto utilizamos una tarea experimental en combinación con resonancia magnética funcional. En la tarea, los participantes debían elegir entre formar equipo con un compañero de alto rendimiento o formar equipo con uno de bajo rendimiento, para jugar un juego. Para ganar el juego, conviene elegir al compañero de mayor rendimiento. Sin embargo, esta decisión también implica mayores chances de ser el peor del equipo, lo cual puede afectar la autoestima. En comparación al grupo control, el grupo MD/AS reportó más vergüenza, nerviosismo y culpa durante la tarea, y también eligió más seguido a la categoría de menor rendimiento, lo que resultó en una menor acumulación de puntos. A su vez, el grupo MD/AS mostró mayor actividad cerebral en regiones asociadas a la experiencia de conflicto cuando elegían a la categoría de mayor rendimiento en comparación a cuando elegían a la de menor rendimiento. Lo opuesto ocurrió en el grupo de controles. Esta diferencia entre grupos refleja mayor facilidad en personas con MD/AS para elegir compañeros de bajo rendimiento. Nuestros resultados aportan al entendimiento de conductas de evitación social y sus correlatos neurales en personas con MD/AS.

Palabras clave: fMRI, Neurociencia Cognitiva, Depresión, Ansiedad Social, Comportamiento Social

Rol del sistema dopaminérgico en la regulación de la vigilia y de las oscilaciones gamma del EEG

Gallo, Diego¹; Castro, Santiago¹; Cavelli, Matías^{1,2}; González, Joaquín¹; Torterolo, Pablo¹

¹Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Department of Psychiatry, University of Wisconsin, Madison, WI, USA

Nuestra vida transita por tres estados comportamentales: vigilia (W), sueño no-REM (NREM) y sueño REM. Estos estados se pueden diferenciar por el electroencefalograma (EEG), donde se destaca que la potencia de las oscilaciones gamma (30 a 45 Hz) y su acoplamiento entre diversas áreas corticales (coherencia), difieren entre los estados. También se ha demostrado que la banda gamma está involucrada en las funciones cognitivas. El sistema dopaminérgico participa activamente en la generación y mantenimiento de una vigilia motivada. No obstante, aún se desconoce su rol en la regulación del ritmo gamma. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar los efectos del haloperidol (antagonista de los receptores dopaminérgicos tipo-D2) en la potencia y coherencia de la banda gamma. Cinco gatos adultos fueron preparados para registros polisomnográficos. Posteriormente fueron estudiados durante la W y el sueño fisiológico, y luego de la administración de haloperidol (4 mg/kg, i/m). A continuación, se analizaron los tiempos totales de W y sueño, así como la potencia y coherencia gamma del EEG. Se observó una disminución del tiempo en vigilia y del sueño REM acompañado de un aumento del sueño NREM. Por momentos, este sueño NREM mostró una actividad gamma con características de W (estado disociado). Tanto en la W como en el sueño NREM bajo haloperidol, la potencia y la coherencia gamma mostraron una disminución de su frecuencia. Nuestros resultados muestran que el haloperidol promueve el sueño NREM, y sugieren que el sistema dopaminérgico regula las oscilaciones gamma.

Palabras clave: Sueño, EEG, Gamma, Dopamina,

Crosstalk between glial cells and c-kit+ mast cells in the als degenerating spinal cord

Kovacs, Mariángeles¹, Alamon, Catalina¹, Ibarburu, Sofía¹, Varela, Valentina¹, Tarrago, Lucas¹, Maciel, Cecilia¹, Hermine, Olivier², King, Peter H.^{3,4}, Si, Ying^{3,4}, Kwon, Yuri³, Barbeito, Luis¹, Trias, Emiliano¹

¹ Institut Pasteur de Montevideo, Neurodegeneration Lab, Montevideo, Uruguay

² Hospital Necker, Institut IMAGINE, Paris, France

³ Department of Neurology, University of Alabama at Birmingham

⁴ Birmingham Veterans Affairs Medical Center, Birmingham, United States of America

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is characterized by degeneration of motor neurons, reactive astrocytosis, microgliosis and immune cell trafficking and infiltration into the CNS, resulting in a degenerative cell microenvironment. We have recently reported that Mast cells (MC) expressing c-Kit receptor can enter the damaged parenchyma as precursors (Kovacs et al 2021). MCs spatially interact with astrocytes expressing the c-Kit ligand, Stem cell factor (SCF), suggesting a mechanism for local MC differentiation and activation. MCs

have the potential to degranulate and induce inflammation through the release of mediators such as cytokines, chemokines, histamine, and proteases. MC- tryptase is an MC-restricted protease that can interact with glial cells through the activation of proteinase-activated receptors (PAR-2), representing a major neuroinflammatory mediator. However, the pathogenic significance and interaction between MC-tryptase and glial cells in ALS remain unclear. The expression of MC-tryptase was analyzed in autopsied spinal cords from ALS subjects and controls as well as in the CNS of SOD1G93A rats and mice. Murine tissues were analyzed by flow cytometry and PAGE-western blotting. Crosstalk between MC-tryptase and glial cells was analyzed in primary cultures of microglia and astrocytes. We have identified that MC-tryptase is strongly upregulated in the spinal cord of ALS subjects and in ALS murine models, correlating with the degree of MC infiltration, microgliosis, and defective microvasculature. Downregulation of MC infiltration with the tyrosine kinase inhibitor Masitinib which targets SCF/c-Kit signaling decreased the MC-tryptase levels. In cell cultures, MC tryptase was sufficient to modulate the phenotype of microglia and astrocytes. Our results suggest a pathogenic mechanism triggered by MC-tryptase that leads to glial activation in ALS, which can be targeted therapeutically.

Palabras clave: ALS; mast cells; neuroinflammation, masitinib, tryptase

Evaluación de ibogaína como neuroprotector en un modelo de neurodegeneración in vitro para la enfermedad de Alzheimer

Bentura, Manuela¹; Arredondo, Florencia¹; Duarte, Pablo¹; Carrera, Ignacio²; Maldonado, Cecilia³; Savio, Eduardo¹

¹Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química (UdelaR), Montevideo, Uruguay

³Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química (UdelaR), Montevideo, Uruguay

Introducción: La ibogaina es un alcaloide psicodélico con interesantes propiedades antiadictivas y antidepresivas. Estudios previos evidencian que la administración de ibogaina en ratas promueve la expresión de factores neurotróficos como GDNF y BDNF a nivel cerebral. Es así que ibogaina y alcaloides relacionados podrían presentar actividades neuroprotectoras interesantes en enfermedades como Alzheimer (EA) y Parkinson. Ensayos previos realizados con astrocitos aislados de corteza/hipocampo de ratones 3xTg-AD (modelo de EA) sintomáticos, evidenciaron que éstos resultan tóxicos para neuronas, en co-cultivo y mediante la exposición a su medio condicionado. La hipótesis es que este fenotipo astrocitario presenta un papel clave en la EA.

Objetivo: Caracterización y evaluación del potencial de la ibogaina de revertir este fenotipo astrocitario neurotóxico.

Métodos: Los cultivos astrocitarios neurotóxicos 3xTg-AD fueron expuestos a diferentes concentraciones de Ibogaína para determinar su toxicidad (IC50). Con este resultado, seleccionamos diferentes concentraciones de Ibogaína (10µM; 50 µM; 100 µM; 170 µM; 200 µM) para tratar los cultivos astrocitarios 3xTg por 24h. Pasada la incubación, expusimos este medio condicionado sobre cultivos neuronales primarios de corteza/hipocampo de embriones de ratón C57B6J, para evaluar la capacidad de la Ibogaína de revertir/atenuar el efecto neurotóxico. Luego de 24h de exposición se cuantificó la viabilidad neuronal mediante el ensayo de MTT.

Resultados: El IC50 obtenido para ibogaina en astrocitos 3xTg-AD fue 169 µM. En el tratamiento de cultivos neuronales cortico-hipocampales con medios condicionados de astrocitos, se observó una reversión de la neurotoxicidad de estas células a partir de un valor de concentración de Ibogaína de 100 µM.

Palabras clave: Ibogaina, Enfermedad de Alzheimer, Neuroprotección

Los andrógenos son moduladores claves en la expresión de señales sociales dentro el período no reproductivo

Valiño, Guillermo¹; Zubizarreta, Lucia^{1,2}; Jalabert, Cecilia^{3,4}; Farias, Joaquina⁵; Sotelo, José ^{6,7}; Soma, Kiran⁴; Quintana, Laura¹

¹ Laboratorio de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

² Laboratorio de Neurofisiología Celular y Sináptica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

³ Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴ University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada

⁵ PDU "Espacio de Biología Vegetal del Noreste", CENUR Noreste, sede Tacuarembó, Uruguay

⁶ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

⁷ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La agresión ha sido tradicionalmente estudiada en machos reproductivos donde se ha demostrado que los andrógenos tienen un rol regulatorio fundamental. Sin embargo, existen especies que expresan agresión desacoplada de la reproducción. Estos modelos animales ofrecen la oportunidad de analizar mecanismos regulatorios novedosos. *Gymnotus omarorum*, un pez eléctrico autóctono, es un reproductor estacional que presenta una agresión territorial robusta en el periodo no reproductivo en machos y en hembras. *G. omarorum* es el primer teleosteo en el que se analiza la regulación hormonal de la agresión no reproductiva. En este estudio, analizamos el rol de los andrógenos sobre esta conducta, que ha sido rigurosamente caracterizada tanto en sus despliegues locomotores como en la emisión de señales eléctricas sociales (SES). En particular, los animales subordinados son los que emiten SES de sumisión. En este trabajo abordamos este análisis mediante: (1) medición de hormonas circulantes por LC-MS-MS, (2) farmacología conductual utilizando un bloqueante de receptores de andrógenos (CA) y (3) Identificando la expresión de receptores de andrógenos mediante qPCR. Demostramos (1) que hay andrógenos circulantes en el período no reproductivo en machos y hembras, (2) que una inyección de CA 30 minutos antes de la contienda, reduce significativamente las SES de sumisión e (3) identificando la presencia de receptores de andrógenos en un área cerebral clave en la producción de SES eléctricas. En resumen, nuestros resultados evidencian que fuera del período reproductivo los andrógenos circulantes son claves moduladores de la emisión de SES de la conducta agresiva.

Palabras clave: Agresión no reproductiva, andrógenos, señales sociales

Efecto del pretratamiento oral con *Lactobacillus* SPP. en la sensibilización locomotora inducida por cocaína y su influencia en la microbiota intestinal

Fabius, Sara¹; Urbanavicius, Jessika¹; Fernández-Ciganda, Sofia^{2,3}; Prieto, José Pedro^{1,4}; Lozano, Joaquin²; Piccini, Claudia²; Zunino, Pablo²; Scorza, Cecilia¹

¹Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

³Afiliación actual: Plataforma de Salud Animal, Microbiología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria INIA-La Estanzuela, Montevideo, Uruguay

⁴Afiliación actual: Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Alteraciones en la microbiota intestinal (MI) han sido vinculadas al consumo de psicoestimulantes, sugiriendo la participación del eje bidireccional intestino-cerebro en la respuesta a drogas de abuso. Evidencias preclínicas mostraron que cocaína induce una disbiosis de la MI y el pre-tratamiento con antibióticos potencia su respuesta comportamental estimulante y reforzadora. Recientemente, demostramos que la exposición repetida a cocaína volatilizada altera la estructura y diversidad de la MI en ratas, proponiendo la hipótesis de que la modulación de la MI atenuaría las acciones de cocaína. Este trabajo evalúa el papel de la modulación de la MI sobre la sensibilización locomotora inducida por cocaína volatilizada. Ratas Wistar (machos adultos) recibieron una mezcla de las cepas bacterianas *Lactobacillus* (*L. johnsonii* ATCC 33200; *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 y *L. reuteri* ATCC 23272) o vehículo por vía oral durante 28 días. Durante los últimos 7 días fueron expuestos a cocaína volatilizada (25 mg/día) y evaluamos su actividad locomotora. Se colectaron fecas para analizar la MI. Cocaína indujo un efecto estimulante progresivo (sensibilización locomotora) entre los días 1-5 de exposición, que decae luego hasta el día 7. La administración de bacterias no previno el efecto sensibilizador de cocaína manteniendo la actividad locomotora elevada hasta el día final. Los animales que recibieron bacterias y fueron expuestos a cocaína mostraron diferencias significativas en la estructura y composición de su MI respecto a su control, sugiriendo su participación en la actividad sostenida observada. Estos resultados apoyan el papel del eje intestino-cerebro en el desorden de abuso de sustancias.

Palabras clave: Adicción, Microbiota Intestinal, Cocaína

Caracterización de las redes peirneuronales en la asta dorsal de la médula espinal en un modelo de dolor neuropático

Lagos-Rodríguez, Valentina ¹; Lagos, Natalia ²; Cassina, Patricia ¹; Nogueira, Javier ¹

¹ Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

² Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

La matriz extracelular (ME) es un factor fundamental en la organización estructural y funcional de los circuitos neuronales. En el sistema nervioso central, la ME se encuentra representada por un componente difuso que ocupa el espacio extracelular, y por estructuras especializadas conocidas como redes peirneuronales (RPNs). Se ha demostrado que las RPNs de la médula espinal afectan la actividad de las neuronas involucradas en el procesamiento nociceptivo, y que su degradación promueve comportamientos relacionados con el dolor.

En el presente trabajo nos propusimos analizar la presencia y distribución de RPNs alrededor de las neuronas de la lámina I involucradas en la vía nociceptiva en un modelo de dolor neuropático, generado en ratones a través de la constricción crónica del nervio ciático (Protocolo experimental N° 070153-000651-19). 3 días post-lesión los animales se sacrificaron y la médula espinal se procesó para inmunofluorescencia contra los marcadores de los componentes de RPNs, aglutinina de Wisteria floribunda y Agregano.

El análisis histológico mostró la presencia de señal para ambos marcadores, en forma de componente difuso y de RPNs. Tanto las RPNs como el componente difuso presentaron diferencias regionales en el patrón de marcación. Asimismo, en la superficie medial-lateral de la lámina I se identificó una población de neuronas doble marcadas similares a las neuronas involucradas en el procesamiento del dolor previamente reportadas. Se estudiará eventuales modificaciones entre el lado ipsi y el contralateral a la lesión.

Estos resultados contribuirán a comprender los mecanismos implicados en el procesamiento del dolor crónico.

Palabras clave: Dolor neuropático, Redes peirneuronales, Médula espinal

4#. MESA QUIMICA MEDICINAL

¿Cómo combinando espectroscopía y microscopía podemos generar nuevas herramientas bioimagenológicas con valor para la química medicinal? Algunas propuestas desde la unidad mixta de bioimagenología avanzada.

Malacrida, Leonel ^{1,2}

¹ Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo y Universidad de la República

² Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La combinación de la microscopía y espectroscopía permite acceder a nuevas dimensiones cuantitativas para investigación en ciencias de la vida.

En la Unidad de Bioimagenología Avanzada (UBA, unidad mixta Institut Pasteur de Montevideo Universidad de la República) desarrollamos herramientas e instrumentos de microscopía que permiten adicionar la dimensión tiempo de vida (FLIM) e hiperespectral (HSI) a las imágenes de un microscopio convencional. El análisis de los datos FLIM e HSI requiere de modelos físicos que permiten explicar los múltiples (complejos) componentes en nuestro problema en estudio. En la UBA además, hemos desarrollado diferentes aplicaciones de los gráficos de fasores como herramienta libre de modelo y matemática simple, que nos permiten comprender y cuantificar de manera sencilla datos FLIM y HSI.

La microscopía FLIM e HSI combinado con los gráficos de fasores puede ser aprovechada para estudios de química medicinal.

En esta presentación cubriré los fundamentos y aplicaciones de FLIM/HSI combinados con gráficos de fasores para abordar diferentes problemas biofísicos de manera sencilla y cuantitativa. Utilizando estas herramientas abordare el estudio de la dinámica del agua y el hacinamiento molecular en células y animales, además de las huellas dactilares (fingerprints) de autofluorescencia celular/tisular. Finalmente, compartiré los desarrollos tecnológicos en la UBA y las oportunidades que ofrecemos en la UBA para que los grupos de investigación y estudiantes nacionales desarrollen sus proyectos en nuestro centro. Palabras clave: Fluorescence Microscopy, FLIM, Hyperspectral imaging, phasor plots.

Etapas tempranas del desarrollo de medicamentos desde el litoral norte.

Guzmán Álvarez¹; Cabrera, Mauricio¹; Corvo, Ileana¹; Randall, Lia¹; Artía, Zoraima¹

¹ Laboratorio de Moléculas Bioactivas, Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

Desde que se instaló el Laboratorio de Moléculas Bioactivas en el 2014, se propuso como objetivo el desarrollo de medicamentos desde el descubrimiento hasta los estudios preclínicos para resolver problemas de salud humana y animal. Utilizando diferentes herramientas de la química medicinal se han descubierto moléculas con actividad biológica frente a varios patógenos como: *T. cruzi*, *T. brucei*, *Leishmania spp.*, *Fasciola hepatica*, *Rhipicephalus microplus*, Virus de la Inmunodeficiencia Felina, Virus de la Inmunodeficiencia Humana, entre otros. El desarrollo de estas moléculas se encuentra en diferente grado de avance, moléculas descubiertas por cribado fenotípico o blanco dirigido. Algunas se encuentran en estudios in vivo en la prueba de concepto, moléculas en estudios toxicológicos y otras en estudios farmacocinéticos. De estas se describen unas cinco como candidatos a fármacos, son el caso de los compuestos antiparasitarios, con los cuales demostramos controlar la enfermedad en el modelo in vivo de la enfermedad de Chagas causada por *T. cruzi*.

Palabras clave: estudios preclínicos, descubrimiento, antivirales, antiparasitario

Organoides: posibles aplicaciones en la química medicinal

Pagotto, Romina • Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

Los avances en la biología de células madre y en el desarrollo de cultivos en tres dimensiones han permitido la generación de nuevos modelos celulares denominados organoides. Los organoides son estructuras multicelulares y autoorganizadas que recapitulan in vitro elementos clave de la arquitectura, composición, funcionalidad y perfil genético del órgano que representan. Estas características les confieren una ventaja en su capacidad predictiva frente a los cultivos celulares tradicionales, convirtiéndolos en herramientas prometedoras en diversas áreas de estudio. Desde el trabajo pionero en organoides intestinales murinos de Sato y col (2009) hasta la actualidad, se han establecido organoides de diversos tipos (intestino, páncreas, riñón, hígado, próstata, retina, cerebro) y de varias especies, incluyendo la humana. Los organoides han sido aplicados con éxito en el cribado de drogas en estudios piloto. Por otra parte, la posibilidad de modelar enfermedades humanas a través de la generación de organoides derivados de pacientes, abre la posibilidad de identificar nuevas dianas moleculares para el desarrollo de fármacos. Durante esta presentación se discutirán aspectos clave del cultivo de organoides y se presentarán ejemplos de diferentes organoides aplicados al modelado de enfermedades y el desarrollo de nuevas drogas. Si bien existen limitaciones técnicas como la estandarización, la reproducibilidad, la madurez celular alcanzado o la ausencia de vascularización, los hitos logrados hasta ahora demuestran que la tecnología de organoides tiene el potencial para mejorar la etapa pre-clínica del desarrollo de drogas y contribuir al Principio de las 3R, reduciendo el número de animales de experimentación.

Palabras clave: organoides; modelo in vitro; drogas

325. Compuestos de coordinación de Zn(II): Potenciales antimicrobianos de amplio espectro

García Gabastú, Emiliano^{1,2}; Barraco Vega, Mariana³; El-Emam, Ali⁴; Veiga, Nicolás², Cecchetto, Gianna^{3,5}; Alvarez, Natalia²

¹Programa de Posgrado en Química, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

²Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

³Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Departamento de Química Medicinal, Facultad de Farmacia, Universidad de Mansoura, Mansoura, Egipto

⁵Microbiología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La creciente resistencia de microorganismos como consecuencia del uso excesivo de antibióticos compromete la salud humana y alimentaria, es una problemática que debe ser atendida a la brevedad mediante, por ejemplo, el desarrollo de nuevos y mejores quimioterápicos antimicrobianos. Siguiendo esta línea, se sintetizaron compuestos de coordinación de Zn(II) con ligandos que presentan actividad antimicrobiana *per se*, en busca de potenciar sinérgicamente dicha actividad. En este trabajo se prepararon complejos de Zn(II) con

ligandos 2-(adamantan-1-carbonil)N-alkilhidrazoncarbotoamidas (alkil = metil, etil y butil). Tanto los ligandos como los complejos se caracterizaron analítica y espectroscópicamente. Los espectros de infrarrojo indican que se forma un compuesto tetracoordinado de Zn(II) con el ligando unido a través de los átomos de S y N, y un anión acetato unido de forma bidentada en el estado sólido. Los resultados de espectroscopía electrónica en etanol y dimetilsulfóxido sugieren que tanto el ligando hidrazoncarbotoamida como el acetato se mantienen coordinados en solución. Asimismo, se estudió la estabilidad de los compuestos en dimetilsulfóxido mediante espectrofotometría y conductimetría, observándose que éstos se mantienen estables al menos por 72 horas. Se emplearon cálculos computacionales para complementar la caracterización. Los estudios de actividad antimicrobiana preliminares de acetato de zinc, los ligandos y los complejos se realizaron a través de ensayos de difusión en disco en *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, y *C. albicans*. Se observó actividad únicamente en este último, determinándose la concentración inhibitoria mínima a las 24 horas la cual se encuentra en el rango de 62,5-100 μM .

Palabras claves: antimicrobianos, quimioterápicos, complejos de Zn(II)

326. Influencia de inhibidores de enzimas de detoxificación en la susceptibilidad del estadio larvario L3 desvainado de *Haemonchus contortus*

Nieves, Magdalena¹; Saldaña, Jenny¹; Melian, Elisa¹; Munguía, Beatriz¹

¹ Área de Farmacología, CIENFAR, Facultad de Química, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay

Las infecciones provocadas por el nematodo *Haemonchus contortus* generan graves pérdidas económicas en el sector productivo, siendo entonces necesario contar con ensayos validados de actividad antihelmíntica que permitan evaluar nuevos compuestos. Se ha reportado que el uso de estadios larvarios L3 o L3 desvainado (xL3) de *H. contortus* en estos ensayos tiene aparejado un mayor porcentaje de falsos negativos en los procesos de *screening* en comparación al estadio adulto.

Estudiando aspectos de la farmacocinética parasitaria, se pretende contribuir al entendimiento de la menor sensibilidad del estadio xL3 de *H. contortus* a los antihelmínticos. Para esto, utilizando un modelo de actividad antihelmíntica *in vitro* de motilidad, se estudia la influencia de piperonil butóxido y 5-nitrouracilo, inhibidores de enzimas de detoxificación de xenobióticos, en la actividad de los antihelmínticos Monepantel (MOP) e Ivermectina (IVM).

Para cada inhibidor se determinan concentraciones que no afectan *per se* la motilidad de xL3 ni su desarrollo a L4 y se realizan curvas de porcentaje de motilidad vs \log_{10} de concentración de antihelmíntico, en presencia y ausencia de inhibidores, determinando las IC₅₀ (concentración inhibitoria 50).

Para todas las combinaciones se observó afectación de los inhibidores sobre la actividad antihelmíntica, siendo significativa la influencia de 5-NU sobre MOP y de PBO sobre IVM, logrando IC₅₀ menores. Estos resultados sobre xL3 sugieren diferencias respecto al metabolismo reportado para MOP e IVM en el estadio adulto y cómo la inhibición de algunos mecanismos de detoxificación de xenobióticos puede aumentar la sensibilidad de los estadios larvarios a los fármacos antihelmínticos.

Palabras clave: *Haemonchus contortus*, metabolismo, actividad antihelmíntica

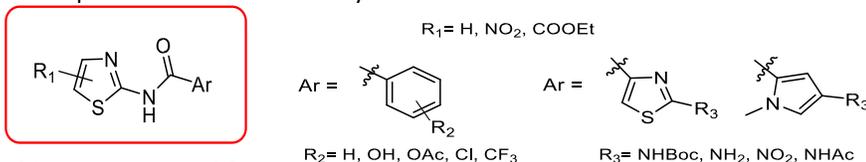
327. Modificaciones de amidas heteroaromáticas producen variación en el tipo actividad biológica que presentan

Irabuena, Camila¹; Serra, Gloria¹; Scarone, Laura¹

¹ Laboratorio de Química Farmacéutica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

Las enfermedades infecciosas tienen un alto impacto en la salud humana y animal, por lo que la constante búsqueda de nuevos compuestos potencialmente quimioterápicos es un campo de la Química Farmacéutica que está ampliamente justificado, tanto desde un punto de vista sanitario como económico. La exploración de productos naturales ha conducido al descubrimiento de nuevas entidades químicas con sorprendentes actividades biológicas contra diversos agentes infecciosos. El Laboratorio de Química Farmacéutica tiene una reconocida trayectoria en la búsqueda y desarrollo de nuevas moléculas que guardan relación estructural con compuestos de origen naturales. Desde hace varios años nos hemos abocado a la síntesis de amidas heteroaromáticas generando diversidad estructural. Esto sumado a la interacción con diversos grupos de

investigación, dieron lugar a interesantes resultados preliminares en cuanto a actividad contra *Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum* y SARS-Cov2. Se han empleado una variedad de metodologías de síntesis de las amidas optimizando rendimientos y obteniendo variedad de amidas heteroaromáticas según la figura.



Amidas heteroaromáticas

En el presente trabajo presentaremos p los resultados obtenidos en cuanto al estudio de relación estructura actividad y como algunas características estructurales orientan la actividad de dichas amidas heteroaromáticas hacia una actividad biológica o hacia otra.

Palabras clave: amidas, quimioterápicos, relación estructura-actividad

328. Nanopartículas de oro funcionalizadas con complejos antiparasitarios: síntesis y actividad frente a *T. brucei brucei*

Rostán, Santiago^{1,2}; **Girard, Alexandre**³; **Laing, Stacey**⁴; **Graham, Duncan**⁴; **Mahler, Graciela**⁵; **Otero, Lucía**¹
¹Área de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

²Programa de Posgrado en Química, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

³Wellcome Centre for Integrative Parasitology, University of Glasgow, Glasgow, Escocia

⁴Department of Pure and Applied Chemistry, University of Strathclyde, Glasgow, Escocia

⁵Laboratorio de Química Farmacéutica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

En la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de enfermedades parasitarias, nuestro grupo ha desarrollado complejos metálicos con ligandos híbridos cumaratiosemicarbazonas. Distintos derivados de cumarinas y de tiosemicarbazonas han mostrado variadas actividades biológicas y en particular, actividad antiparasitaria. Por otro lado, seleccionamos dos metales bioactivos (Pd(II) y Pt(II)) para preparar los complejos ya que esto podría mejorar la actividad antiparasitaria o disminuir la toxicidad sobre las células del hospedero. En particular, el ligando HL1 y los complejos [PdClL1] y [PtCl₂(HL1)] (Fig. 1) han resultado activos frente al parásito *Trypanosoma cruzi* con buenos valores de IC₅₀ *in vitro* e *in vivo* en el caso de [PdClL1]. En este trabajo, se han preparado nanopartículas de oro funcionalizadas con el complejo [PdClL1] (Fig. 1), con el fin de evaluar el efecto de esta unión en la actividad antiparasitaria. Adicionalmente, se ha incluido un marcador Raman en las nanopartículas, que podría habilitar el seguimiento de éstas a nivel subcelular. Tanto las nanopartículas funcionalizadas como los restantes compuestos fueron evaluados frente otro parásito tripanosomátido, *T. brucei brucei*. Los resultados indican que todos los compuestos presentan IC₅₀ *in vitro* en el rango de 7 a 13 μM. Las nanopartículas sin conjugar afectan también el crecimiento parasitario, y se observa un efecto sinérgico con una mejora de actividad para las nanopartículas sustituidas con [PdClL1]. Se encuentran en curso los estudios de distribución subcelular las nanopartículas funcionalizadas.

Palabras clave: antiparasitarios, complejos metálicos, nanopartículas de oro

Agradecimientos: SR agradece a la ANII por la beca de doctorado (POS_NAC_D_2020_1_164085) y programa MIA de CSIC por la financiación para la estadía en Escocia

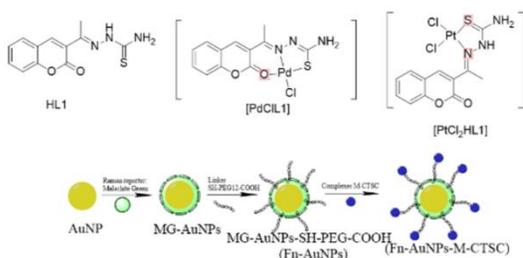


Figura 1: Compuestos obtenidos y esquema de síntesis de nanopartículas conjugadas

5#. MESA LOS RADIOTRAZADORES COMO HERRAMIENTA EN LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE POTENCIALES AGENTES TERAPÉUTICOS

Coordinadora: Dra. Ana Rey, Área Radioquímica, DEC, Facultad de Química

Estudios fisicoquímicos y biológicos utilizando radiotrazadores emisores gamma.

Dra. María Emilia Tejería • *Docente efectiva del Área Radioquímica, DEC, Facultad de Química*

Los radiofármacos son preparados radiactivos, aptos para ser administrados en seres humanos, donde el radionucleído seleccionado se une a una biomolécula que se acumula selectivamente en el órgano o tejido de interés con el objetivo de diagnosticar o tratar una patología. El desarrollo de un trazador implica un trabajo multidisciplinario que abarca numerosas etapas. Aquellos compuestos radiactivos que sean obtenidos con adecuada pureza y rendimiento, serán evaluados a fin de determinar su potencialidad como trazadores. La caracterización fisicoquímica incluirá la determinación de la estabilidad del trazador a lo largo del tiempo, así como su estabilidad en sistemas biológicos como el plasma. También será evaluada su unión a proteínas plasmáticas y su lipofilicidad, factores relevantes para la llegada del trazador al sitio blanco seleccionado. Los estudios biológicos *in vitro* se realizarán generalmente utilizando células en cultivo y tanto el tipo de células como los estudios a realizar dependerán del blanco molecular seleccionado. Alguno de ellos puede ser estudios de unión, de eflujo, de saturación, de internalización, etc. Los estudios biológicos *in vivo* en animales normales de laboratorio permitirán determinar su distribución biológica, con especial atención al comportamiento farmacocinético en sangre, las vías de eliminación y órganos de acumulación. Finalmente, es crucial desarrollar un modelo animal portador de la patología a la que el trazador está dirigido, de manera de conocer la acumulación del trazador en el sitio blanco.

Uso de radiotrazadores emisores de positrones en evaluaciones biomédicas

Dr. Javier Giglio • *Encargado de Control de Calidad y Responsable de Garantía de Calidad, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM). Profesor Adjunto (Docente libre) del Área Radioquímica, DEC, Facultad de Química*

Los principales radionucleidos emisores de positrones que pueden producirse en el CUDIM consisten en isótopos del C, N, O y F que pueden ser fácilmente acoplados a una gran diversidad de moléculas orgánicas. De estos, los principales son el [^{18}F]F con un periodo de semidesintegración ($t_{1/2}$) de 109 minutos y el [^{11}C]C con un $t_{1/2}$ de 20 minutos. La gran ventaja de estos radionucleidos radica en el caso del [^{11}C]C que permite realizar marcados isotópicos y en el caso del [^{18}F]F hace posible marcar moléculas orgánicas con poca modificación de la estructura original. Esto es de vital importancia en la evaluación de interacciones de gran especificidad, como son las biológicas. Al poder contar con moléculas marcadas cuya radiación es posible detectar externamente mediante sistemas adecuados, podemos emplearlas para la evaluación de distintas propiedades biológicas, ya sea *in vitro* (cultivo celulares) como *in vivo* (animales de experimentación normales o portadores de una patología). Las moléculas marcadas obtenidas pueden ser desarrolladas para el diagnóstico de una patología, para la evaluación de la eficacia de una terapia o para conocer la biodistribución y la concentración en el sitio blanco de una nueva molécula o fármaco. EL CUDIM dispone de la infraestructura necesaria para realizar diferentes marcaciones con emisores de positrones como son el [^{11}C]C y [^{18}F]F, realizar los estudios Biológicos *in vitro* (estudios con células tumorales, estudios con enzimas, etc) e imágenes en animales de experimentación (PET/SPECT/CT/RMN). Además, cuenta con recursos humanos con estudios de postgrados y especialistas en diferentes áreas de las ciencias químicas y biológicas.

329. Estudios biológicos "IN VITRO" de complejos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Cardoso, María Elena ¹; Tejería, María Emilia ¹; Terán, Mariella ¹; Rey, Ana ¹

¹ Área Radioquímica, Departamento "Estrella Campos", Facultad de Química, Universidad de la República

Con el objetivo de desarrollar potenciales radiofármacos para Imagenología Molecular en cáncer de próstata nuestro grupo desarrolló 4 complejos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ con ligandos derivados de flutamida, antagonista de los receptores de andrógeno que se encuentran sobreexpresados en dicha patología. Para la evaluación preclínica se realizaron estudios biológicos *in vitro* utilizando células LNCaP de adenocarcinoma prostático humano en cultivo. Para cada complejo se realizaron los siguientes estudios:

- Captación: determinando el % actividad unida a las células (7×10^6 células) a 1, 2 y 4 horas de incubación.
- Especificidad de la unión: midiendo % actividad unida a las células (7×10^6 células) a 1 hora de incubación, previo bloqueo de los receptores con flutamida (1nM).
- Eflujo: expresado como % actividad captada que difunde fuera de las células a 1,2 y 4 horas de incubación.
- Afinidad de la unión: estudiada mediante el IC50.

Todos los complejos mostraron captación específica (entre 9 y 38%) y retención significativa luego de 4 horas (50-80% de la inicial).

Si bien la afinidad por el receptor de andrógenos ($37-77 \mu\text{M}$) fue menor que la de la flutamida (0.9 μM), seguramente por el agregado de los grupos donadores de electrones para coordinar el metal, igualmente se encuentra en el rango micromolar. De los complejos estudiados C3 y C4 presentaron el mejor comportamiento biológico *in vitro*. Sin embargo, la unión a proteínas plasmáticas de C4 duplica a C3. Es necesario realizar estudios en animales portadores de tumor para determinar si dicha diferencia influye en el comportamiento *in vivo* de los trazadores.

Agradecimientos: Proyecto CSIC I+D 2013-348, Pedeciba-Química, CMNIM-Hospital de Clínicas, CUDIM

Palabras clave: $^{99\text{m}}\text{Tc}$, radiofármacos, cáncer de próstata, células LnCap

330. Péptido antimicrobiano de ceibo como potencial agente de detección de infecciones ocultas.

Osorio, Jessica¹; Cardoso, Elena¹; Tejería, Emilia¹; Paolino, Andrea³; Reyes, Ana Laura³; Cecchetto, Gianna²; Terán, Mariella¹

¹ Área de Radioquímica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República (Udelar), Montevideo, Uruguay

² Área de Microbiología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias-Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República (Udelar), Montevideo, Uruguay

³ Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), 11600 Montevideo, Uruguay

Las infecciones ocultas pueden llegar a ser un gran problema de salud, por tanto, el desarrollo de nuevos agentes capaces de detectar focos de infecciones ocultas en forma temprana, que sean capaces de distinguir una infección de inflamación estéril es de gran relevancia para el correcto diagnóstico y seguimiento terapéutico. Nuestro grupo ha desarrollado el complejo [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-HYNIC-EcgDf21, siendo EcgDf21 un péptido de 21 aminoácidos derivado de la defensina de ceibo EcgDf1 (47 aminoácidos) con actividad antimicrobiana.

La capacidad de unión de este complejo a microorganismos patógenos, se evaluó "*in vitro*" frente a diferentes patógenos: *Candida Albicans* como modelo de levaduras, *Aspergillus niger* como modelo de hongo filamentoso y *Staphylococcus aureus* como modelo de bacteria. Seguidamente se evaluó la biodistribución del complejo en ratones hembras sanas Balb C, para determinar la estabilidad *in vivo* y las principales vías de eliminación. Finalmente se indujo lesión en la pata delantera izquierda en 5 grupos de animales: G0=grupo control, G1=inflamación estéril, G2=infección por *C. albicans* y G3=infección por *A. niger* y G4=infección por *S. aureus*. Asimismo se obtuvieron imágenes centellográficas en una gamma cámara SPECT-CT para pequeños animales. Los estudios de unión a patógenos mostraron que el complejo presenta un alto porcentaje de unión específica, con algunas variaciones entre los diferentes microorganismos. La lesión con *C. albicans* se logró identificar mediante la imagen SPECT-CT que presentó una relación de captación de lesión/músculo mayor a 3. Actualmente se está trabajando en la otros péptidos análogos con otras estrategias de radiomarcado.

Agradecimientos: Proyecto CSIC-2014, PEDECIBA, CMNIM-Hospital de Clínicas. CEIBOS

Palabras clave: $^{99\text{m}}\text{Tc}$, radiofármacos, péptidos antimicrobianos, infecciones

331. Evaluación de la especificidad celular *in vitro* de un derivado fluorado de la sulforrodamina 101 como marcador de astrocitosis en la enfermedad de Alzheimer

Daputo, Rosina; Kreimerman, Ingrid; Arredondo, Florencia; Zirbesegger, Kevin; Reyes, Laura; Paolino, Andrea; Díaz-Amarilla, P; Duarte, P; Savio, Eduardo

I+D Biomédico, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo - Uruguay

El proceso neurodegenerativo observado en la Enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por una fuerte astrogliosis reactiva que se establece de forma temprana y permanece activa durante toda la fase sintomática de la enfermedad. Previamente hemos desarrollado un derivado de sulforrodamina 101 (SR101), denominado

[¹⁸F]2BSRF101, como potencial agente de diagnóstico PET (Tomografía de emisión de positrones), con el objetivo de detectar dicho proceso de astrogliosis. La sonda fluorescente SR101 ha sido utilizada como marcador de astrocitos en la neocorteza de ratones en numerosos trabajos. Una evaluación *in vivo* preliminar en micro-PET/CT (Triumph(R)) reveló una mayor captación de [¹⁸F]2B-SRF101 en la corteza e hipocampo de ratones triple transgénicos (3xTg-AD) de 9-10 meses de edad en comparación con ratones no-Tg de la misma edad. Sin embargo, considerando que se ha descrito la captación de SR101 en otras células del SNC, la especificidad celular de este radiotrazador en el SNC debe ser elucidada. En este trabajo nos propusimos evaluar la especificidad celular *in vitro* de 2B-SRF101 en diferentes células del SNC. Para ello, preparamos cultivos primarios enriquecidos en astrocitos, microglías y neuronas a partir de ratones C57BL6/J. Al evaluar la captación de 2B-SRF101 mediante microscopía confocal de fluorescencia en dichos cultivos, observamos una rápida captación de la sonda en los astrocitos, mientras que no se observó captación específica en microglía o en neuronas. A su vez, en estudios de internalización de [¹⁸F]2B-SRF101 y competencia con SR101 en los cultivos astrocitarios pudimos determinar una captación análoga de [¹⁸F]2B-SRF101 a su precursor.

Palabras clave: Alzheimer, diagnóstico por PET, astrocitosis

6#. MESA METABOLISMO Y BIOQUIMICA CELULAR • ORGANIZA SBBM

Coordinación: María José Valera mjvalera@fq.edu.uy

La separación hace la fuerza: una mirada (muy) de cerca a la división celular de parásitos apicomplejos

María Eugenia Francia; Tomasina, Ramiro^{1,2}; González, Fabiana^{1,2}; Francia, María E^{1,2}

¹ Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Institut Pasteur de Montevideo

² Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los Apicomplejos constituyen un filo de parásitos protozoarios de gran impacto sobre la salud humana y animal. Su principal mecanismo de patogenia está vinculado a su capacidad de replicarse y rápidamente aumentar exponencialmente en número dentro de las células de sus hospederos. La asombrosa capacidad replicativa de estos parásitos está vinculada a una asombrosa flexibilidad en sus ciclos celulares. En la última década hemos profundizado sobre los mecanismos que subyacen a esta flexibilidad, utilizando *Toxoplasma gondii* como organismo modelo del filo.

El centrosoma, principal centro organizador de microtúbulos de la célula, orquesta la coordinación físico-temporal de la división. Hemos descifrado que en *T. gondii* el centrosoma está constituido por dos dominios funcionales de composición proteica específica, fenómeno que se extiende para otras especies del filo. El rol de la separación del centrosoma en dos dominios funcionales ha sido objeto de intenso estudio. Trabajos de nuestro y otros laboratorios han demostrado que el dominio externo/citosólico del centrosoma determina el sitio de formación y número de células hijas. Sin embargo, el rol del dominio centrosomal interno, adyacente al núcleo, se desconoce. Utilizando CRISPR/Cas para la generación de mutantes condicionales, y microscopía de expansión para sortear las limitantes en resolución de la microscopía confocal clásica, nos abocamos a entender el rol de este dominio. Este trabajo reveló el rol del centrosoma en la regulación del ensamblaje y estabilidad del huso mitótico en estos parásitos, contribuyendo a la noción de que la separación de funciones del centrosoma subyace al éxito proliferativo de los Apicomplejos.

Palabras clave: Toxoplasmosis, División celular, Centrosoma, Súper resolución, CRISPR/Cas, MTOC

Biosíntesis de polifenoles en vitis vinífera

Eduardo Boido; Boido, Eduardo¹; Carrau, Francisco¹; Dellacassa, Eduardo²

¹ Área de Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República

² Laboratorio de Biotecnología de Aromas, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

Los compuestos polifenólicos son ampliamente encontrados en el reino vegetal. Esencialmente son metabolitos secundarios producidos por las plantas para su adaptación y protección a estrés biótico y abiótico.

La principal fuente de polifenoles en el vino es la piel y semillas del grano de uva. Ellos contribuyen en la calidad del vino y efectos beneficiosos en la salud humana. Desde el punto de vista químico, los polifenoles se pueden definir por la composición de la palabra en si misma: "fenol" indicando que el compuesto contiene un anillo aromático conteniendo uno o más grupo hidroxilo, y "poli" indicando que tienen múltiples anillos en su estructura. Los compuestos fenólicos se clasifican en cuatro clases principales: estilbenos, lignanos, ácidos fenólicos y flavonoides. Esta presentación se enfoca en los flavonoides, y en especial en la biosíntesis de los antocianos y flavan-3-oles, por su importancia desde el punto de vista enológico. Los primeros por ser los responsables del color rojo en los vinos tintos, y los segundos por su contribución sensorial a la estructura, amargo y astringencia, así como también por incrementar el potencial de guarda. La biosíntesis de los antocianos es una de las vías más estudiadas de los metabolitos secundarios, como también los flavan-3-ol monómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina. Sin embargo, el mecanismo de polimerización y formación de proantocianidinas permanece inexplicada. Se presentará una revisión de estas vías biosintéticas y la influencia de factores medioambientales. La discusión de algunos casos particulares como la formación de procianocianidinas galoiladas también será presentada.

Palabras clave: Vitis vinifera, biosíntesis, antocianos, flavan-3-ol

332. Caracterización del 5-metil-1,4-Dinitroimidazol (DNI) como nuevo agente nitrante mediado por luz

Ríos, Natalia¹; Chavarría, Cecilia¹; Ivagnes, Rodrigo¹; Radi, Rafael¹; Souza, José M.¹

¹Departamento de Bioquímica, y Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina Universidad de la República

La nitración de residuos de tirosina en proteínas es una de las modificaciones postraduccionales más relevantes inducidas por oxidantes en sistemas celulares. Recientemente se ha reportado que el DNI (5-metil-1,4-dinitroimidazol) es capaz de inducir la formación de 3-nitrotirosina en proteínas a través de la fotólisis.

En ese reporte no se describe el origen del DNI, ni la técnica sintética para su obtención, además la caracterización fisicoquímica es muy vaga. Por lo tanto, en el presente trabajo describimos por primera vez la ruta sintética para su obtención mediante una N-nitración con buen rendimiento (R=57%), así como una caracterización exhaustiva de sus propiedades espectroscópicas y fotolíticas.

Además, profundizamos en su mecanismo de acción utilizando un conjunto de técnicas analíticas evidenciando la formación del radical $\bullet\text{NO}_2$ y radical nitroimidazol (NI \bullet), determinamos el máximo rendimiento de nitración utilizando el análogo de la tirosina, ácido p-hidroxifenilacético (R = 32%). Evaluamos su uso como un agente nitrante alternativo en residuos de tirosina en proteínas como la alfa-sinucleína y estudiamos otras modificaciones oxidativas inducidas por el DNI comparándolas con peroxinitrito. Posteriormente, determinamos su citotoxicidad (baja toxicidad hasta 0.75 mM por 24 h).

Continuamos trabajando en su utilización como agente nitrante en sistemas celulares. Poder contar con un nuevo agente nitrante de origen sintético como herramienta para el estudio de las modificaciones oxidativas proteicas como 3-nitrotirosina, con mayor selectividad hacia la nitración de residuos de tirosina y menor formación de otras modificaciones oxidativas de aminoácidos, resulta extremadamente útil para el campo de la bioquímica oxidativa de proteínas.

Palabras clave: nitración, fotólisis, 3-nitrotirosina

333. Análisis de colocalización de proteína de mielina periférica-22 y Lamin-B1 en núcleos de células de Schwann de ratones Wt yTrJ

Olsson D¹, Di Tomaso, MV¹, Vázquez Alberdi L², Calero M³ y Kun A^{2,4}

¹ Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo 11600, Uruguay

²Laboratorio de Biología Celular del Sistema Nervioso Periférico, Departamento de Proteínas y Ácidos Nucleicos, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo 11600, Uruguay

³Instituto de Salud Carlos III, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Unidad de Encefalopatías Espongiformes (UFIEC), 28029 Madrid, España

⁴Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo 11400, Uruguay

Mutaciones en la proteína de mielina compacta PMP22 son responsables del 70 % de todas las mielinopatías periféricas humanas Charcot-Marie-Tooth de tipo 1 (CMT-1). El modelo murino Trembler-J (TrJ) de la variante CMT1E, presenta una mutación espontánea en *pmp22*, idéntica a la observada en pacientes con la misma afección, la cual le impide la correcta inserción de PMP22 en la membrana, produciendo hipomielinización, agregados citoplasmáticos que bloquean las vías de detoxificación, dificultan el tráfico intracelular y alteran la proteostasis de la célula de Schwann (CS) y del axón. El rol nuclear de PMP22 ha sido escasamente explorado. Mediante inmunomacación, recientemente pudimos demostrar la asociación de PMP22 a regiones de cromatina transcripcionalmente activa, ricas en la histona H3 tri-metilada (H3K4m3). Un análisis más detallado del rol nuclear de PMP22, nos permitió establecer su correlación con la Lamina B1 en regiones perinucleares, en CS de nervio ciático. El nivel de PMP22 fue más alto y el de Lamina B1 más bajos en los ratones TrJ que en los Wt. PMP22 se localizó más con Lamina B1 y con la eucromatina transcripcionalmente competente, que con la heterocromatina silenciosa, con diferencias entre los genotipos Wt y TrJ. Este es un hallazgo original que nos permite una comprensión más profunda del rol nuclear de *pmp22*. La caracterización de los blancos nucleares de *pmp22* podría abrir horizontes más amplios no sólo en la comprensión del fenotipo neurodegenerativo sino también en una potencial terapéutica de la afección.

Palabras clave: mielinopatía, PMP22, lamina B1, células de Schwann

334. Metabolismo de ácidos grasos en vacas lecheras bajo dos sistemas de producción contrastantes en el control del ambiente

Cañibe, Guillermo¹; **García-Roche, Mercedes**¹; **Casal, Alberto**²; **Jasinsky, Alejandra**²; **Carriquiry, Mariana**¹

¹ Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

² Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Estación Dr. Mario A. Cassinoni, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay

Durante el inicio de la lactancia, los requerimientos energéticos aumentan de forma exacerbada y la vaca lechera recurre a la movilización de reservas corporales para hacer frente a esta demanda. Por otra parte, el confort ambiental puede promover una adaptación metabólica mejorada.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la movilización y uso hepático de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en tres periodos de la lactancia de vacas lecheras en dos niveles de control ambiental. Para ello, se utilizaron veinte vacas Holstein multíparas en un sistema de pastoreo más suplementación asignadas al tratamiento PAS-CTRL: encierro en establo techado con ventilación y aspersión o al tratamiento PAS: encierro a cielo abierto. Se sangraron y tomaron biopsias hepáticas a los 35 ± 5, 135 ± 11 y 185 ± 11 días postparto (DPP).

Se midió la concentración de NEFA en plasma utilizando un kit comercial y la actividad carnitina-palmitoil transferasa (CPT) en homogeneizados hepáticos mediante un ensayo basado en la reducción de ácido ditionitrobenzoico al reaccionar con un grupo sulfhidrilo.

La concentración de NEFA en plasma fue mayor para las vacas del grupo PAS que las vacas PAS-CTRL a los 35 DPP (0.89 vs. 0.61 mmol/L, $p = 0.001$), disminuyendo durante 135 y 185 DPP, sin diferencias entre grupos. La actividad CPT fue mayor durante 35 que 135 y 185 DPP (8.40, 2.04 y 1.64 mU.mg⁻¹, respectivamente $p < 0.05$). En suma, nuestros resultados indican que ocurre una mayor movilización del tejido adiposo y utilización a nivel hepático durante la lactancia temprana.

7#. MESA BIOINFORMATICA UN ÁREA TRANSVERSAL A VARIAS DISCIPLINAS • ORGANIZA SBBM

Coordinación: Margot Paulino margot@fq.edu.uy

Martín Soñora msonora@pasteur.edu.uy

Mitochondrial carriers, master regulators of cell metabolism. Insight from in silico studies.

Polticelli, Fabio • Department of Sciences, Roma Tre University, Rome, Italy

The Mitochondrial Carrier Family, also known as Solute Carrier Family 25 (SLC25), is involved in the translocation of a wide range of molecules across the inner mitochondrial membrane (IMM). In doing so, these carriers act as "gates" that regulate cell metabolism through the trafficking of metabolic intermediates in and

out of the mitochondria driving anabolic and catabolic reactions such as glycolysis, Krebs cycle, beta oxidation of fatty acids, etc. Thus, members of this family are key players in physiological and pathological states and their activity is often deregulated in various cancer types. Structural information on these carriers is scarce and therefore computational studies represent a valuable approach for a better understanding of their function and for the development of drugs to target them to treat various human diseases. The application of computational methods to members of this protein family, such as protein structure prediction, molecular dynamics simulations and molecular docking, allowed us to get deeper insight into their structure and function and to devise strategies aimed at developing lead compounds for drug development. Examples of these studies will be illustrated with particular emphasis on the basic amino acids transporter (SLC25A29) and the citrate/isocitrate transporter (SLC25A1).

335. Impacto de la cuantización de indicadores de calidad en lecturas de nanopore

Rivara Espasandín, Martín^{1,4,5}; **Balestrazzi, Lucía**^{1,9}; **Dufort y Álvarez, Guillermo**^{1 6,7 1,2 3,5 5,8}; **Ochoa, Idoia**; **Seroussi, Gadiel**; **Smircich, Pablo**; **Sotelo-Silveira, José**; **Martín, Álvaro**¹

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

² Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

³ Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴ Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁵ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

⁶ Department of Electrical Engineering, Tecnun, University of Navarra, Donostia, Spain

⁷ Electrical and Computer Engineering, University of Illinois at Urbana-Champaign, IL, USA

⁸ Departamento de Biología Celular y Molecular, Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁹ Sección Biomatemática, Unidad de Genómica Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La gran cantidad de valores utilizados para representar los indicadores de calidad en datos de secuenciación por nanoporo hace que estos sean difíciles de comprimir ocupando la mayor parte de la información almacenada en archivos FASTQ (sustancialmente más que la información genómica en sí). Esto nos motivó a investigar el efecto que tiene la reducción de información en los indicadores de calidad de archivos FASTQ de secuenciación por nanoporo, sobre los resultados obtenidos en diferentes aplicaciones. Para evaluar este efecto, nos enfocamos en algunas aplicaciones donde se suelen usar datos de nanoporo y donde los indicadores de calidad son utilizados. Evaluamos este efecto sobre algoritmos de pulido de ensamblados *de novo* para una comunidad microbiana simulada y un genoma humano, y sobre algoritmos de anotación de variantes en un genoma humano. Repetimos estos experimentos usando varios *pipelines*, bajo varios niveles de cobertura y utilizando varios cuantizadores de indicadores de calidad. En todos los casos, encontramos que la cuantización de los indicadores de calidad afecta muy poco los resultados obtenidos con los datos originales (no cuantizados). Esto sugiere que la precisión utilizada actualmente para los indicadores de calidad de datos de nanoporo puede ser innecesariamente alta y motiva el uso de algoritmos de compresión con pérdida para este tipo de datos. Además, mostramos que incluso un compresor no especializado, como gzip, genera grandes ahorros de espacio de almacenamiento después de la cuantización de los indicadores de calidad.

Palabras clave: nanoporo, cuantización, indicadores de calidad

336. Buscando el maní perdido: estudio de la diversidad genética y estado de conservación de *arachis hypogaea* en Uruguay

Naya, Ignacio¹; **Castro, Ximena**¹; **Azziz, Gastón**¹; **Martínez, Gastón**¹; **Vidal, Rafael**¹; **De Almeida, Natália**³; **Berná, Luisa**²; **Vaio, Magdalena**¹

¹ Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

² Sección Biomatemática - Unidad de Genómica evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³ Instituto Tecnológico Regional Centro Sur, Universidad Tecnológica del Uruguay

El género *Arachis* es nativo de América del Sur e incluye a *Arachis hypogaea* el maní cultivado. Uruguay es centro de diversidad de *A. hypogaea subsp. fastigata* una de las dos subespecies reconocidas para la especie. Las investigaciones de maní en el país comenzaron en 1970 con el objetivo de conocer las limitaciones

agronómicas del cultivo. En los 80' se realizaron colectas por parte de la Facultad de Agronomía, para caracterizar y conservar las variedades criollas en manos de agricultores y fueron colectadas 284 accesiones. El Informe País de 1995 recomendaba monitorear, regenerar y realizar nuevas colectas de los materiales comprometidos. Sin embargo, las mismas no fueron realizadas y si bien existen datos a nivel fenotípico, en Uruguay no se cuenta con análisis genéticos sobre las variedades criollas. El objetivo de este trabajo es caracterizar la diversidad genética de las variedades criollas de maní mantenidas *ex situ* e *in situ* y evaluar su estado de conservación. Para cumplir con tal objetivo se realizaron 34 nuevas colectas, y se caracterizaron genéticamente junto con 19 conservadas *ex situ* correspondientes a colectas de los 80 mediante marcadores SNPs. Los resultados preliminares sugieren que existe variabilidad genética entre y dentro de las poblaciones estudiadas y que hay diferencias entre las conservadas *in situ-on fam* respecto de las conservadas *ex situ*.

Palabras clave: diversidad genética, recursos genéticos, variedades criollas

337. Predicción de función de genes en eucariotas mediante aprendizaje automático utilizando la ubicación de los genes como única variable predictiva

Pazos Obregón, Flavio^{1,2}; **Silvera, Diego**¹; **Soto, Pablo**¹; **Yankilevich, Patricio**³; **Guerberoff, Gustavo**⁴; **Cantera, Rafael**¹

¹ *Departamento de Biología del Neurodesarrollo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC*

² *Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Instituto Pasteur de Montevideo*

³ *Instituto de Investigación en Biomedicina de Buenos Aires (IBiBA), CONICET-Partner Institute of the Max Planck Society, Buenos Aires, Argentina*

⁴ *Instituto de Matemática y Estadística "Prof. Ing. Rafael Laguardia", Facultad de Ingeniería, UDELAR*

La función de la mayoría de los genes es desconocida. La predicción computacional de funciones de genes busca optimizar el tiempo y los recursos destinados a la experimentación generando hipótesis contrastables en base a la creciente cantidad de datos disponibles. Actualmente los mejores resultados se obtienen mediante métodos basados en aprendizaje automático y la integración de distintos tipos de datos, que típicamente incluyen características derivadas de la secuencia, de la estructura tridimensional o de las interacciones entre las proteínas. Existe amplia evidencia de que, al igual que en procariontes, en organismos eucariotas las funciones de un gen no son independientes de su ubicación en el genoma. Sin embargo, no existen antecedentes del uso de la ubicación de los genes para la predicción funcional. En este trabajo exploramos, en cinco organismos eucariotas modelo (*Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus* y *Homo sapiens*) hasta qué grado la ubicación de un gen puede, por sí sola, predecir sus funciones. Utilizamos modelos de clasificación jerárquica multiclase entrenados exclusivamente con variables predictivas derivadas de la ubicación relativa de los genes de función conocida a lo largo de los genomas a los que pertenecen y obtuvimos miles de predicciones funcionales. Evaluamos esas predicciones contrastándolas con cientos de funciones determinadas experimentalmente luego de entrenados nuestros modelos. Encontramos que en algunos organismos y ontologías, nuestras predicciones superan a las que se obtienen utilizando BLAST, demostrando que la ubicación de un gen puede ser más informativa acerca de sus funciones que su propia secuencia.

Palabras clave: Aprendizaje automático, predicción de función, organización de los genomas

338. Estudio de las enzimas BCO1 Y BCO2 e interacción con posibles ligandos

Martínez, Anabela¹; **Cantero, Jorge**^{1,2}; **Paulino, Margot**¹; **Meléndez, Antonio**³

¹ *Área Bioinformática, Departamento DETEMA, Facultad de Química, Universidad de la República*

² *Medical Research Center, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Este*

³ *Food Color and Quality Laboratory, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla*

Los carotenoides son pigmentos isoprenoides, fuentes de vitamina A en el ser humano. La primera vía metabólica para su síntesis está mediada por las enzimas β , β -caroteno-15',15'-dioxigenasa (BCO1) y β , β -caroteno-9',10'-dioxigenasa (BCO2), que escinden los carotenoides en compuestos más pequeños, llamados apocarotenoides. El objetivo de este estudio es caracterizar estructuralmente BCO1 y BCO2 y su interacción con distintos carotenoides que añaden diversidad estructural e importancia en la agroalimentación y/o la salud. Se realizó un modelado por homología de BCO1 y BCO2 y dinámica molecular de trayectoria larga de los complejos con β -caroteno y de trayectoria corta con el resto de los carotenoides. Los complejos se sometieron a análisis energético y estructural.

Para ambas enzimas, se conserva una estructura general de siete láminas beta, y un centro catalítico formado por Fe^{2+} en una esfera de coordinación octaédrica con cuatro residuos de histidina perfectamente conservados. Los carotenoides encuentran estabilidad posicionados a una distancia óptima del centro catalítico, prontos para la escisión en el enlace C15-C15' para BCO1, y C9-C10 para BCO2. Mientras que en BCO1 el β -caroteno interactúa con sólo siete residuos, todos ellos con anillos aromáticos, la interacción en BCO2 es mucho más variada respecto a la naturaleza química de los residuos con los que el ligando interactúa y presenta más interacciones hidrofóbicas. Al estudiar la interacción de ambas enzimas con distintos carotenoides se observa que en los casos en los que hay grupos alcohólicos hay un aumento de la contribución electrostática.

Palabras clave: Oxigenasas de escisión de carotenoides, dinámica molecular, interacción proteína-ligando

8#. MESA APLICACIONES DE LA PROTEÓMICA • ORGANIZA SBBM

Coordinación: Analía Lima alima@pasteur.edu.uy

Caracterización de un nuevo fármaco con efectos metabólicos: abordaje proteómico para dilucidar su mecanismo de acción.

Dr. Jorge Rodríguez PhD • Laboratorio de Biología Vascul y Desarrollo de Fármacos, Institut Pasteur de Montevideo

La obesidad y el síndrome metabólico tienen un alto impacto en el número de muertes por enfermedades no transmisibles a nivel mundial. Además de modificaciones en el estilo de vida, el desarrollo farmacológico es inevitable para frenar la marcha de estas condiciones médicas. Las herramientas proteómicas actuales pueden contribuir a identificar posibles dianas moleculares que expliquen las observaciones experimentales de un candidato farmacológico. A partir de conocimientos previos sobre los efectos beneficiosos de los nitroalquenos y de los efectos metabólicos de un fármaco establecido en la clínica, el salicilato, nuestro grupo diseñó y sintetizó el ácido 5-(2nitroetenil) salicílico (SANA). Este fármaco disminuyó la obesidad inducida por dieta (OID) y otros parámetros asociados al síndrome metabólico a dosis hasta 40 veces menores que su sillar salicilato en ratones C57BL/6 sometidos a una dieta rica en grasas. Para tratar de comprender el origen de dichos efectos, estudiamos el perfil proteómico diferencial del tejido adiposo blanco subcutáneo (TABs) de animales en dieta rica en grasa tratados o no con SANA. Un análisis de enriquecimiento de funciones biológicas evidenció un aumento en la degradación de lípidos y procesos respiratorios mitocondriales, por lo que extendimos el estudio a mitocondrias aisladas del mismo tejido. Pudimos identificar una vía de termogénesis dependiente de creatina, alternativa a UCP-1, como posible mecanismo para la disminución de peso. Mediante análisis de metabolitos comprobamos que los niveles de creatina estaban aumentados en el TABs de los animales tratados con SANA. Finalmente la depleción de creatina revirtió el efecto termogénico del fármaco.

Más allá de la transcripción: regulación del proteoma celular por p53 durante la respuesta a proteínas desplegadas (UPR)

Dr. Ignacio López PhD • Ehrlich, Ricardo ^{1,2}; Portela, María Magdalena ^{3,4}; Perelmuter, Karen ⁵; Larghero, Irene ¹; Chalar, Cora ¹; Fåhraeus, Robin ^{6,7,8,9}; Durán, Rosario ³; Bollati-Fogolín, Mariela ⁵; Marín, Mónica ¹; López, Ignacio ^{1,5}

¹Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Institut Pasteur de Montevideo

³Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

⁴Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁵Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

⁶INSERM UMR 1131 Institut Saint-Louis, Université Paris Cité, París, Francia

⁷RECAMO, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, República Checa

⁸Department of Medical Biosciences, Umeå University, Umeå, Suecia

⁹International Centre for Cancer Vaccine Science, University of Gdańsk, Gdańsk, Polonia

La proteína supresora de tumores p53 es un nodo de control de la homeostasis celular y regula procesos vitales como el ciclo celular, la apoptosis y el metabolismo, entre otros. Si bien su actividad principal es la de regular la transcripción de forma directa, estudios recientes sugieren que p53 también coordina mecanismos de regulación posttranscripcional en diferentes respuestas celulares. Entre ellas se encuentra la respuesta a proteínas desplegadas (UPR, del inglés "Unfolded Protein Response"), una vía adaptativa inducida en condiciones fisiológicas frente a alteraciones de la proteostasis dentro del retículo endoplásmico que se ve perturbada en contextos patológicos como la diabetes, enfermedades neurodegenerativas y cáncer. En este trabajo, estudiamos la variación del proteoma de células H1299 derivadas de carcinoma de pulmón de células no pequeñas humanas, en presencia y ausencia de p53 en condiciones de estrés en el retículo endoplásmico inducido por tratamiento con taspigargina. El estudio proteómico cuantitativo sin marcado ("label-free") se realizó mediante aproximación "shotgun" y usando las intensidades extraídas del cromatograma iónico (XIC, del inglés "Extracted Ion Chromatogram"). Los resultados muestran que algunos de los efectos típicamente asociados a la activación de la UPR son detectados exclusivamente en presencia de p53, lo que permite comenzar a definir una firma de la UPR dependiente de p53. Asimismo, la comparación del proteoma con el transcriptoma obtenido en el mismo modelo de estudio sugiere que algunos de los factores involucrados son regulados por p53 de forma post-transcripcional, lo que constituye el foco actual de nuestra investigación.

Palabras clave: p53, UPR, proteoma, regulación post-transcripcional

339. Identificación de nuevos componentes del divisoma de *Corynebacterineae* mediante una estrategia proteómica de marcado por proximidad en las células vivas

Rodríguez, Azalia¹; **Martínez, Mariano**²; **Alzari, Pedro**²; **Wehenkel, Anne Marie**²; **Durán, Rosario**¹

¹Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo e Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay

²Unidad de Microbiología Estructural, Institut Pasteur de París, Francia

La división celular bacteriana es un proceso dirigido por el divisoma, un complejo macromolecular cuyo ensamblaje comienza con la polimerización de la proteína FtsZ en el sitio de división. FtsZ participa en el posterior reclutamiento de otras proteínas del divisoma, que en el caso de *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* han sido identificadas y caracterizadas. Sin embargo, el suborden *Corynebacterineae* (que incluye importantes patógenos humanos) carece de homólogos reconocibles para muchas de estas proteínas de división celular. Este trabajo se centra en descifrar la arquitectura molecular del divisoma en este grupo de bacterias. Para ello, desarrollamos y optimizamos una estrategia proteómica basada en la biotilación por proximidad para estudiar el divisoma de *Corynebacterium glutamicum*. Generamos una cepa que expresa FtsZ fusionada a una ascorbato peroxidasa ingenierizada (APEX2). APEX2 cataliza la oxidación de fenol biotina en presencia de H₂O₂ dando lugar a un radical que reacciona con aminoácidos de proteínas cercanas. Esto nos permitió marcar el entorno proteómico de FtsZ en la célula viva para su purificación e identificación por Espectrometría de Masa. Obtuvimos así una lista de 159 proteínas, la cual fue filtrada utilizando criterios proteómicos y un exhaustivo análisis bibliográfico para seleccionar candidatos a validar. Se expresaron en *C. glutamicum* los candidatos fusionados a mNeon para evaluar su localización subcelular. Con esto pudimos identificar 6 proteínas sin función asignada previamente que localizan en el septo, como prometidos nuevos integrantes del divisoma. Futuros estudios permitirán la caracterización de estas proteínas y su rol en la división celular de *Corynebacterineae*.

Palabras clave: divisoma, APEX, proteómica

340. Rol de FhaA en la organización de la envoltura celular de micobacterias: evidencias interactómicas y fenotípicas

Rossello, Jessica^{*1}; **Rivera, Bernardina**^{*1}; **Forrellad, Marina**²; **Bigi, Fabiana**²; **Alzari, Pedro**³; **Wehenkel, Annemarie**³; **Malacrida, Leonel**⁴; **Durán, Rosario**¹

¹Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable / Institut Pasteur de Montevideo

²Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina

³Unitè de Microbiologie Structurale, Institut Pasteur Paris

⁴ *Unidad de Bioimagenología avanzada, Institut Pasteur Montevideo / UdelaR*

Una de las características más distintivas de *Mycobacterium tuberculosis* es su pared celular extremadamente compleja e impermeable que le confiere resistencia a antibióticos y cumple un rol fundamental en la virulencia e interacción con el hospedero. La síntesis de dicha pared requiere de una maquinaria biosintética particular, aun no totalmente dilucidada, que se asocia a los complejos proteicos que dirigen la elongación y división celular. En nuestro grupo analizamos el interactoma de FhaA, una proteína que posee homología estructural con proteínas de andamiaje eucariota, y que cuya función es aún poco conocida. Utilizamos una estrategia interactómica basada en sobreexpresión y entrecruzamiento con formaldehído seguidos de purificación por afinidad y análisis mediante espectrometría de masa. Entre los interactores identificados se encuentra un interactor previamente reportado de FhaA y una gran cantidad de proteínas de función desconocida. En este trabajo realizamos un extenso análisis informático y bibliográfico de esta lista de interactores que indicó que la mayoría de estas proteínas estaban asociadas a la síntesis de componentes de la envoltura celular, la división celular, y procesos redox. La caracterización fenotípica de la cepa que sobreexpresa FhaA nos confirmó su participación en estos procesos. Demostramos que la misma posee hidrofobicidad de superficie reducida y deficiencia en la formación de biofilms. Asimismo observamos una disminución en el total de lípidos recuperados en comparación con la cepa salvaje y cambios fotofísicos a nivel de la envoltura celular. En conjunto, nuestros resultados indican que FhaA participa en la biogénesis de la envoltura celular de las micobacterias.

341. 4-aminobutirato aminotransferasa (ABAT) y su rol en la senescencia inducida por la terapia en melanoma

Jennyfer Martínez¹, Doménica Tarallo¹, Alejandro Leyva², Rosario Durán², María Moreno³, Celia Quijano¹.

¹*Centro de Investigaciones Biomédicas, Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay*

²*Unidad mixta de Bioquímica y Proteómica Analíticas. Institut Pasteur de Montevideo - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable*

³*Laboratorio de Vacunas Recombinantes, Depto. de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay*

Los agentes genotóxicos empleados para el tratamiento del cáncer (dacarbazina, temozolomida, radiación) activan la respuesta al daño al ADN y pueden inducir apoptosis y/o senescencia celular en células tumorales y células vecinas. El tratamiento de células de melanoma con temozolomida induce la senescencia celular, caracterizada por la inhibición irreversible de la proliferación, mediada por p53/p21/Rb y la secreción factores capaces de influir en la progresión tumoral y la respuesta al tratamiento. La inducción de senescencia en melanoma por temozolomida, conduce a una reprogramación metabólica, con un aumento en la función y masa mitocondrial. Mediante estudios de proteómica en fracciones mitocondriales identificamos un importante aumento en la proteína 4-aminobutirato aminotransferasa (ABAT) en las células senescentes. ABAT participa en la síntesis mitocondrial de nucleótidos trifosfato para el mantenimiento del número de copias de ADN mitocondrial. La inhibición de ABAT conduce a una disminución en la relación ADNmit/ADNnuc y afecta la respiración máxima, sugiriendo que es necesaria para la biogénesis mitocondrial en células senescentes. La expresión de ABAT aumenta también en tumores de melanoma de ratones tratados con la dacarbazina, y correlaciona con un aumento en la masa mitocondrial de las células tumorales. Por último, evidenciamos que la expresión de ABAT se encuentra regulada por p53, en células de melanoma senescentes. Aspiramos a evaluar si ABAT, y la vía mitocondrial de salvataje de nucleótidos, son necesarios para el establecimiento de la senescencia celular y la adquisición del fenotipo secretor y constituye un blanco para el diseño de nuevas moléculas senoterapéuticas.

9#. MESA BIOLOGIA DEL CANCER • ORGANIZA SBBM-SUG

Coordinación: **Ma Ana Duhagon** mduhagon@fcien.edu.uy
Mercedes Rodríguez mrodriguezteja@gmail.com
Jimena Hochmann jhochmann@fcien.edu.uy

Expositores:

1- Norbert Polacek • Universität Bern

"Human vault rnas as modulators of cell proliferation and tumorigenesis"

2- **Thomas Kislinger** • University of Toronto

"Clinical proteomics: biomarker discovery & therapeutic targets"

3- **Mónica Cappetta** • UDELAR

"Búsqueda de nuevos marcadores epigenéticos asociados a cáncer en el Uruguay: oportunidades y desafíos"

342. Estudio del rol de la inmunidad entrenada en el efecto antitumoral de *salmonella* LVR01

Chilibroste, Sofía¹; **Mónaco, Amy**¹; **Moreno, María**¹; **Chabalgoity, Alejandro**¹.

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

Algunas vacunas basadas en microorganismos atenuados inducen efectos de protección inespecíficos contra otras patologías infecciosas y no-infecciosas. Los monocitos de pacientes vacunados con BCG responden más potentemente frente a un estímulo no relacionado. Esto se explica por modificaciones epigenéticas y reprogramación metabólica en células de la inmunidad innata (inmunidad entrenada). La estimulación de la inmunidad entrenada es una alternativa con gran potencial para el desarrollo de terapias adyuvantes en cáncer, y se demostró que es un mecanismo crucial detrás de la efectividad terapéutica de la administración de BCG en cáncer de vejiga. El uso de *Salmonella* atenuada como inmunoterapia frente al cáncer ha demostrado un enorme potencial. La administración de LVR01 (cepa generada en nuestro laboratorio) en distintos modelos murinos de cáncer enlentece el crecimiento tumoral y extiende la supervivencia de los animales. Este efecto se debe parcialmente a un fuerte reclutamiento de células de la inmunidad innata en el tumor.

Para evaluar si LVR01 es capaz de inducir inmunidad entrenada realizamos un ensayo *in vivo* donde administramos LVR01 (vía i.p) en animales naïve y 7 días después implantamos los tumores (vía s.c). Se observó un enlentecimiento del tamaño tumoral en los ratones que recibieron LVR01 previamente. Actualmente estamos estudiando si se trata de un efecto directo de LVR01 en el tumor o si es debido al entrenamiento de las células inmunes. Entender los mecanismos por los cuáles LVR01 induce su efecto antitumoral resulta de gran relevancia para el uso racional de la inmunoterapia.

Palabras clave: Inmunoterapias frente al cáncer, *Salmonella* LVR01, Inmunidad entrenada

10#. MESA EDICION GENOMICA DE LOS CULTIVOS • ORGANIZA SBBM

Coordinación: Sabina Vidal svidal@fcien.edu.uy

Alexandra Castro acastro@fcien.edu.uy

Edición génica en papa incrementando la calidad nutricional e industrial en un marco de sostenibilidad

Dr. Sergio FEINGOLD • Coordinador del Programa Nacional de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Laboratorio de Agrobiotecnología, EEA Balcarce, Argentina

La selección de genotipos superiores -plantas o animales- siempre se ha basado en la existencia de diversidad genética. La hibridación natural y antrópica, tanto intraespecífica como entre especies afines, seguida de mutaciones naturales o inducidas por agentes físicos y químicos, fueron y siguen siendo fuentes de variabilidad para el fitomejoramiento. El advenimiento de la ingeniería genética abrió la posibilidad de utilizar genes de organismos no relacionados para lograr desarrollos transgénicos. Desafortunadamente, esta técnica no rindió todo su potencial. La inesperada percepción pública negativa, la existencia de genotipos o especies recalcitrantes para ser transformados o regenerados y el estricto y muchas veces costoso proceso de desregulación de transgénicos, fueron algunos de los principales factores que pueden explicar este hecho. La edición génica constituye un gran salto en posibilidad de generar variabilidad con impacto directo en el mejoramiento de cultivos, en especial de aquellos clonales como la papa, la yuca, la caña de azúcar y la uva, entre otras. Una comprensión detallada de los genes, sus funciones y su regulación es un requisito imprescindible para el logro de los objetivos. Más allá de la elección del gen blanco, la EG requiere la introducción funcional de la maquinaria necesaria en una célula y la posterior regeneración de una planta completa a partir de ésta. En el INTA, el principal Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria de Argentina, estamos trabajando desde 2012 en EG, y uno de los primeros desarrollos es un genotipo con reducción en el pardeamiento enzimático en tubérculo, con el objetivo de incrementar la calidad industrial y nutricional de la papa. El pardeamiento enzimático es causado por la actividad de las polifenol oxidasas (PPO) –codificadas una

familia de genes que catalizan la conversión de compuestos fenólicos en quinonas, conllevando a la formación de complejos oscuros en los vegetales. Esto produce cambios indeseables en las propiedades organolépticas y la pérdida de valor nutricional y comercial de los mismos y sus productos derivados. En este trabajo se editó genéticamente el gen de PPO de mayor expresión en tubérculo y se evaluó el efecto fenotípico resultante. Adicionalmente se estimó el impacto económico de este desarrollo en la producción e industrialización de papa y su incidencia ambiental. Este desarrollo, muestra la posibilidad técnica de realizar EG en papa abre la oportunidad de abordar otros caracteres de valor nutricional e industrial para el mejoramiento de variedades que aporten a la sostenibilidad productiva y ambiental.

Edición génica aplicada a cultivos usados como alimentos

Dr. Santiago Signorelli • Grupo Food and Plant Biology, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, UdelaR

La edición génica vía CRISPR/Cas9 tiene un gran potencial para el mejoramiento de cultivos. El fruto de banana (*Musa accuminata*) tal cual lo conocemos, Cavendish, corre peligro de extinción debido a su susceptibilidad frente al hongo *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (Foc) de raza 4 tropical (R4T), causante del mal del Panamá. La infertilidad de este cultivo imposibilita el uso del mejoramiento convencional para incorporarle resistencia al Foc R4T. Por ello, demostrar la capacidad de realizar edición génica en este cultivar es clave para proponer estrategias para salvar la banana de exportación Cavendish. Utilizando la fitoeno desaturasa como blanco demostramos que es posible editar y regenerar plantas de banana Cavendish. A su vez, buscamos, identificación y editamos en banana y maíz, genes alternativos que sirvan como pruebas de conceptos y no cuenten con las limitaciones que presentan los knock-out para la fitoeno desaturasa.

Nuestro grupo, trabaja para mejorar ciertas características de cultivos utilizados como alimento, utilizando diferentes metodologías, como transformación mediada por agrobacteria, bombardeo de partículas, y transformación de protoplastos. En particular, aplicamos estas metodologías de edición génica para: producir bananas que produzcan fructanos; ají picante que toleren al potyvirus; y plantas de alfalfa que tengan una mayor tolerancia a sequía.

343. Superando barreras genéticas con CRISPR/Cas9: plantas de tomate indeterminadas con más licopeno

Arruabarrena, Ana¹; Moltini, Ana Inés¹; Luque, Eleana¹; Laxague, Ignacio¹; Florencia Bonjour²; Ibañez, Facundo²; González-Arcos, Matías¹; Vidal, Sabina³; Lado, Joanna¹.

¹Estación experimental INIA Salto Grande, INIA, Uruguay

²Estación experimental INIA Las Brujas, INIA, Uruguay

³Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

Mejorar la calidad y las características nutricionales del fruto de tomate es uno de los objetivos principales de los programas de mejoramiento genético. Al lograr una mayor acumulación de licopeno en el fruto mejora la calidad comercial y, a su vez, podría aumentar su capacidad antioxidante. En tomate, las mutaciones naturales *old gold* (*og*) y *old gold crimson* (*og^c*) alteran el gen de la enzima Licopeno β -ciclase (CYC-B) generando proteínas no funcionales y evitando la transformación de licopeno en β -caroteno. En consecuencia, se generan frutos con más licopeno. Estas mutaciones se encuentran ligadas en fase de repulsión al alelo *Sp* asociado al hábito de crecimiento indeterminado. Este ligamiento genético ha dificultado la creación de cultivares comerciales que combinen ambas características. En este trabajo, partimos de una línea elite de tomate de crecimiento indeterminado y generamos mutaciones no funcionales dirigidas al gen *CYCB* mediante edición génica, utilizando el sistema CRISPR/Cas9. Se caracterizaron las mutaciones, se seleccionaron plantas libres de T-DNA y se analizaron posibles cambios no deseados en genes no blanco. La línea editada presentó un contenido mayor de licopeno y menos β -caroteno en frutos pintones y maduros al momento de la cosecha. Además, se observaron diferencias en el proceso de acumulación de licopeno poscosecha y en la tolerancia al daño por frío en frutos pintones almacenados a 5°C. De esta forma, fue posible crear una nueva combinación genética en el tomate al combinar el hábito de crecimiento indeterminado con la pérdida de función del gen *CYC-B*.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, mejoramiento genético vegetal, biotecnología

344. Buscando mejorar la calidad nutricional del grano de soja y aumentar su tamaño utilizando CRISPR/Cas9
Menoni, Mariana¹; Castro, Alexandra¹; Gallino, Juan Pablo¹; Bonnacarrère, Victoria²; Vidal, Sabina¹

¹ *Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay*

² *Mejoramiento genético de soja, Área de mejoramiento genético y biotecnología vegetal, INIA, Uruguay*

El grano de soja contiene aproximadamente 40% de proteína y 20% de aceite, por lo que es mundialmente utilizado en alimentación humana y animal. Las principales proteínas de almacenamiento son la glicinina (globulina 11S) y β -conglucina (globulina 7S). La β -conglucina 7S es particularmente pobre en aminoácidos azufrados como metionina y cisteína. Por ese motivo, cuanto mayor sea la relación 11S:7S, se considera mejor la calidad nutricional. En relación al tamaño del grano, se han identificado algunos genes que controlan el crecimiento de órganos o semillas en plantas modelo y cultivos. Entre ellos, los genes "BIG SEEDS" (BS) codifican para factores de transcripción de la familia TIFY, que interactúan con correpresores de la transcripción. Las proteínas BS están involucradas en la regulación negativa de la proliferación celular primaria de las plantas. Se reportó que el silenciamiento génico de los dos genes BS de soja produce aumento en el tamaño de los órganos vegetales, incluyendo hojas y semillas, así como el aumento del contenido de 16 aminoácidos. El objetivo del presente trabajo es mejorar la calidad nutricional del grano de soja, a través de la edición de genes que controlan el tamaño y composición del grano. Este trabajo se centró en generar mutaciones de tipo *knockout* en genes asociados con el tamaño de la semilla (BS) y con la calidad de proteínas de grano, utilizando el sistema CRISPR-Cas9. Para ello se diseñaron distintos gRNAs específicos para genes de las subunidades α , α' y β de la globulina 7S y para los genes BS1 y BS2. Se transformaron embriones somáticos de soja por biolística con construcciones génicas expresando Cas9 y los distintos gRNAs. Se seleccionaron embriones resistentes al agente de selección y se genotiparon los posibles eventos editados por PCR, HRM y secuenciación. A la fecha, hemos identificado 3 líneas editadas para BS, conteniendo una delección grande en el sitio blanco de los gRNAs. A su vez, hemos identificado líneas editadas en genes de la globulina 7S, conteniendo pequeñas delecciones en los sitios blanco. Las semillas de estas líneas serán evaluadas en cuanto al contenido y perfil de proteínas y aminoácidos, así como en cuanto a sus características agronómicas.

11#. MESA RECEPTORES DE MEMBRANA • ORGANIZAN SBF – SBBM – SNU

Insulin/adenosine axis signalling in gestational diabetes

Luis Sobrevia • *Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Department of Obstetrics, Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. Medical School (Faculty of Medicine), Sao Paulo State University (UNESP), Brazil. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Universidad de Sevilla, Seville, Spain. University of Queensland Centre for Clinical Research (UQCCR), Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Queensland, Queensland, Australia. Tecnológico de Monterrey, Eutra, The Institute for Obesity Research (IOR), School of Medicine and Health Sciences, Monterrey, Nuevo León, Mexico*

Obesity is a pandemic affecting women of childbearing age, which may determine metabolic alterations in pregnancy affecting the fetoplacental vasculature and pregnancy outcome. Pregnant women may develop gestational diabetes mellitus (GDM) despite their prepregnancy body mass index (BMI). However, women with pre-pregnancy obesity (BMI ≥ 30 kg/m²) that develop GDM are referred to as a different metabolic entity, i.e. gestational diabetes (GDty), than women with pre-pregnancy normal weight (BMI 18.5-24.9 kg/m²) developing GDM, i.e. lean-GDM. Endothelial function was assayed in freshly isolated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) from GDty, lean-GDM, and non-GDM pregnancies. The study conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. HUVECs were from full-term pregnancies from Clinical Hospital CHRISTUS-UC, Chile, and UMCG U Groningen, NL). Transport of L-arginine and adenosine, endothelial nitric oxide synthase activation, intracellular pH (pHi) and activity of the Na⁺/H⁺ exchanger 1 were measured in the absence or presence of insulin (1 nmol/L, 8 h). GDty and lean-GDM were associated with reduced adenosine but increased L-arginine transport, NO synthesis, and pHi compared with non-GDM pregnancies. However, GDty effects were less pronounced than lean-GDM. Insulin reversed GDty and lean-GDM effects requiring A2A and A1 adenosine and insulin receptor A and B receptors activation and expression. It is suggested that GDty is a metabolic

condition that alters human fetoplacental endothelial function differently than lean GDM. GDty should be considered a metabolic condition different from lean GDM (support: Fondecyt 1190316, Chile).

Palabras clave: endothelium, insulin, adenosine, gestational diabetes, gestational diabetes

Receptores nicotínicos: un recorrido desde el funcionamiento molecular a las implicancias terapéuticas

Cecilia Bouzat • Cecilia Bouzat, Carmen Esandi, Guillermina Hernando, Beatriz Elizabeth Nielsen, Ornella Turani, Facundo Chrestia y Noelia Rodríguez Araujo

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, 8000 Bahía Blanca, Argentina e-mail: inbouzat@criba.edu.ar

Existe una gran diversidad de receptores nicotínicos (nAChRs), miembros de la familia de canales iónicos activados por ligandos (LGIC), en sistema nervioso y en células no neuronales, tanto en vertebrados como en invertebrados. Estos receptores están involucrados en numerosos procesos fisiológicos, tales como contracción muscular, memoria, y aprendizaje. Nuestro objetivo es descifrar el funcionamiento y la modulación de nAChRs asociados a procesos fisiológicos, patológicos y terapéuticos. Con tal fin, utilizamos sistemas de expresión del subtipo $\alpha 7$, que emerge como un blanco para desórdenes neurológicos, neurodegenerativos e inflamatorios, y el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*, cuyos nAChRs y otros receptores de la familia son blancos de drogas antihelmínticas. Hemos determinado que $\alpha 7$ presenta una activación peculiar caracterizada por una rápida desensibilización, muy breve duración del canal abierto, y una gran capacidad de modulación. Identificamos nuevos potenciadores alostéricos, naturales y sintéticos, con actividad neuroprotectora, aportando así nuevos compuestos líderes para aplicaciones terapéuticas. Además, demostramos que la funcionalidad de $\alpha 7$ es modificada por el péptido β -amiloide y por una región de la proteína S del SARS-CoV-2, sugiriendo roles de $\alpha 7$ en la enfermedad de Alzheimer y en la hiperinflamación en COVID-19. Utilizando al nematodo *C. elegans*, y aplicando ensayos de comportamiento y electrofisiología, hemos caracterizado nAChRs y otros receptores que intervienen en su movilidad y descubierto nuevos compuestos con potencial actividad antiparasitaria. Nuestro trabajo genera información acerca del funcionamiento molecular de receptores en situaciones fisiológicas y patológicas y abre puertas para nuevas aplicaciones terapéuticas.

Palabras clave: canales iónicos, receptor nicotínico, patch clamp, *C. elegans*

To be or not to be: what is the function? The exquisite biophysics of the golgi Reassembly and stacking proteins

Dr. Antonio Costa-Filho • Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Golgi Reassembly and Stacking Proteins (GRASPs) are involved in cell processes that seem paradoxical: they are responsible for shaping the Golgi structure and participate in unconventional secretion pathways that bypass the Golgi. The exact molecular mechanisms underlying each process remain elusive. Their structures are constituted by the C-terminal SPR domain and the N-terminal GRASP domain, formed by two PDZ subdomains.

Structural data have been limited to the GRASP domain. This talk will show results obtained with full-length GRASPs, which unravel unexpected structural features: the presence of intrinsically disordered regions (IDRs) and their capacity to form fibril-like structures and undergo liquid-liquid phase separation (LLPS). Our data offers a robust molecular rationale for the longrecognized asymmetry of the PDZs regarding the number and diversity of interacting partners. A comparison of our in vitro biophysical data of GRASPs from fungus, yeast, and humans shows that only one of the human GRASPs (GRASP65) is similar to the lower eukaryotes. We also show that GRASPs can transition to different higher-order oligomers, such as amyloid-like fibrils, and undergo LLPS under conditions that mimic those found during cellular stress. We propose a model of how the cell could use the GRASP sensitivity to changes in its local environment to trigger those transitions, thus impacting its role during different cell-cycle periods.

345. El inmunoreceptor CD300f contribuye a un envejecimiento saludable al regular el metabolismo, la inflamación y el declive cognitivo

Evans, Frances^{1,2}; Alí, Daniela²; Rego, Natalia³; Lago, Natalia²; Cawen, Fabio Andrés²; Pannunzio, Bruno^{1,2}; Negro-Demontel, María Luciana^{1,2}; Sánchez-Molina, Paula⁴; Reyes, Laura⁵; Paolino, Andrea⁵; Mulet, Ana Paula⁸; Schlapp, Geraldine⁸; Meikle, María Noel⁸; Quijano, Celia⁶; Bresque, Mariana⁷; Crispo, Martina⁸; Savio, Eduardo⁵; Escande, Carlos⁷; Peluffo, Hugo^{1,2}



¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UDELAR

²Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo

³Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo

⁴Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología Universitat Autònoma de Barcelona, España

⁵Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM)

⁶CEINBIO, Udelar

⁷Laboratorio de Enfermedades Metabólicas y Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo ⁸Unidad de Biotecnología en Animales de Laboratorio, Institut Pasteur de Montevideo

En los últimos años han surgido trabajos que sugieren que los inmunoreceptores, participan en procesos relacionados con el envejecimiento. CD300f, un inmunoreceptor expresado fundamentalmente en las células mieloides, limita la severidad de diferentes patologías inflamatorias al regular el sistema inmune innato. En este trabajo, estudiamos si CD300f incide sobre la fisiopatología del envejecimiento. Para ello, envejecimos ratones CD300f^{-/-} y WT y los evaluamos a lo largo de 30 meses. En cuatro cohortes diferentes, alojadas en dos bioterios distintos observamos una reducción significativa en la supervivencia de machos y hembras CD300f^{-/-}. La ausencia de CD300f condujo a un incremento progresivo de la inflamación hepática, cerebral y sanguínea con el envejecimiento. Los estudios de aprendizaje y memoria evidenciaron un declive cognitivo mayor en los ratones CD300f^{-/-} a partir de los 18 meses. A su vez, por medio de estudios de PET/CT con [18F]-FDG hallamos un hipometabolismo cerebral en las hembras CD300f^{-/-} de 18 meses. Estas alteraciones funcionales cerebrales podrían correlacionarse con el aumento en la expresión de los genes de microglia asociada a patologías (DAM) y alteraciones en marcadores de fragilidad en ratones envejecidos CD300f^{-/-} que determinamos por RNAseq. Asimismo, observamos ataxia en ratones CD300f^{-/-} de 25 meses. El envejecimiento indujo una reducción en la gluconeogénesis y en la capacidad de mantener la glicemia en las hembras CD300f^{-/-}. En su conjunto, estos resultados sugieren que la modulación del inmunoreceptor CD300f podría tener un impacto en el envejecimiento y podría ser una diana terapéutica para atenuar procesos y enfermedades relacionadas con el envejecimiento.

Palabras clave: inmunoreceptor CD300f, envejecimiento, inflamación

346. Rol del ATP y los receptores purinérgicos de tipo P2X7 en la plasticidad sináptica homeostática.

Rafael, Alberto¹; Vitureira, Nathalia¹

¹ Laboratorio de Comunicación Sináptica. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina, Universidad de la República

La plasticidad sináptica homeostática (PSH) estabiliza la actividad de una neurona o circuito neuronal, modificando la función sináptica en dirección compensatoria a las alteraciones del circuito. Estos mecanismos operan a nivel pre y postsináptico.

Numerosos autores han caracterizado el rol fundamental del ATP como neuromodulador de la transmisión sináptica. Sus mecanismos de acción están mediados por receptores purinérgicos específicos del tipo P2.

En este trabajo analizamos el rol del ATP y la señalización purinérgica en el ajuste homeostático de la función presináptica luego de un periodo de inactividad prolongado.

Nos resulta de especial interés, analizar los cambios que ocurren en la terminal presináptica luego de la activación de esta vía de señalización, y que podrían conducir al restablecimiento de la homeostasis del circuito mediante la utilización de aproximaciones farmacológicas y genéticas, técnicas de detección inmune e imagenología funcional en cultivos disociados de hipocampo murino, evidenciamos que el ajuste homeostático de la función presináptica requiere la liberación de ATP de origen glial, mediante una vía de liberación dependiente de Conexina43.

A nivel presináptico, este nucleótido activa receptores del tipo P2X7 presinápticos, modulando la disponibilidad de Ca²⁺ citosólico y el reciclaje de vesículas sinápticas.

Los resultados obtenidos muestran por primera vez la importancia de la comunicación neurona-glía y, en particular, de la señalización purinérgica en el ajuste homeostático de la función presináptica dependiente de actividad.

Palabras claves: Plasticidad sináptica homeostática, ATP, P2X7

347. Intoxicación aguda por plomo causa fallas cardíacas por acción directa en corazón

Luisina Chavarría¹, Romina Cardozo¹, Axel Santander¹, Florencia Savio¹, Nicolás Mujica¹, Lucía Dominguez¹, Milagros Benitez¹, Valentina Guizzo¹, Carlos Costa¹, Gonzalo Ferreira^{1#}.

¹Departamento de Biofísica. Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay. # autor correspondiente

El plomo (Pb²⁺) es un metal pesado, no biodegradable, que puede ocasionar intoxicaciones agudas o crónicas sin dosis umbral, con una prevalencia variable (0.5 a 3%). Su forma más común es como catión divalente con dimensiones muy parecidas al calcio (Ca²⁺).

Debido a ello, decidimos explorar si la intoxicación por Pb²⁺ es capaz de interferir con sitios de unión a Ca²⁺, eligiendo como modelo el corazón, dada su alta dependencia del Ca²⁺ para su correcto funcionamiento. Corazones aislados de cobayo fueron retroperfundidos por las coronarias con Tyrode 1.8 mM Ca²⁺. En dichos corazones se registró tensión y la respuesta eléctrica simultáneamente. Mediante fibras ópticas, se observó el corazón desde dentro, excitándose fluoróforos específicos para Pb²⁺ (LG). Cardiomiocitos ventriculares fueron aislados por métodos enzimáticos, y se tiñeron con LG o pigmentos sensibles a Ca²⁺, observándose mediante microscopía confocal. La actividad eléctrica en células aisladas fue registrada mediante patch-clamp. Se observó un efecto inotrópico negativo del Pb²⁺ y una prolongación de la duración del potencial de acción compuesto, en corazones aislados. En estos corazones se detectó entrada de Pb²⁺ por tinción por LG, en casi todas sus células.

A nivel de miocitos aislados, se observó aumento de la fluorescencia de LG ante estimulación extracelular, la cual fue bloqueada con 1-5 µM de Nifedipina. La liberación y recaptación de Ca²⁺ por el retículo sarcoplasmático fue alterada. Los resultados sugieren que Pb²⁺ es capaz de alterar la función cardíaca directamente, ingresando a cardiomiocitos mediante canales Cav1.2. Financiado por CSIC, ANII, PEDECIBA a GF.

Palabras clave: plomo, calcio, cardiotoxicidad, miocitos

12#. MESA USINA CODIGOS DE BARRA DE LA VIDA • ORGANIZA SUG

SIMPOSIO: USINA DE CÓDIGOS DE BARRA DE LA VIDA- URUGUAY

Los Códigos de Barras de la Vida (CBV) comprenden un sistema estandarizado para identificar especies basado en ADN, apropiado tanto para investigación básica como aplicada. La información generada tiene diversas aplicaciones como la protección de recursos naturales y especies amenazadas, el control de plagas agrícolas, la identificación de vectores de enfermedades, el monitoreo de la calidad del agua, la identificación de plantas medicinales y la trazabilidad alimentaria, entre otros.

El objetivo de esta mesa es la de plasmar los esfuerzos de distintas instituciones para desarrollar los CBV en Uruguay y avanzar en la caracterización de la biodiversidad nacional. Se presentan proyectos en ejecución que surgen tanto de la academia como de la ciencia ciudadana. Sobre el final, nos daremos una instancia para discutir sobre posibles sinergias y evaluar vacíos de información.

Presentación del proyecto: Usina de códigos de barra de la vida Uruguay

Da Silva, Cecilia¹; Bonifacino, Mauricio²; Camargo, Arley³; Seguí, Rosina⁴; Cosse, Mariana⁵

¹ PDU Espacio de Biología Vegetal del Noreste, sede Tacuarembó, CENUR Noreste, Universidad de la República

² Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

³ Laboratorio Biogeografía y Evolución, sede Rivera, CENUR Noreste, Universidad de la República

⁴ DINACEA-Ministerio de Ambiente

⁵ Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El impacto humano en el ambiente configura un escenario complejo para la biodiversidad. Es importante avanzar en su descripción y catalogación de manera efectiva. Pero los taxónomos son escasos y enfrentan situaciones complejas, como la determinación de especies crípticas o en estadios embrionarios. Por ello han surgido alternativas como los Códigos de Barras de la Vida (CBV), un sistema estandarizado para identificar especies basado en ADN, con aplicaciones diversas. En 2018, con financiamiento del Convenio sobre la Diversidad Biológica, iniciamos un Nodo CBV Nacional, participando 11 instituciones. Nuestra hipótesis es que la generación de una base de referencia de CBV, representativa de la biodiversidad nacional, permitirá resolver problemas de

determinación taxonómica con aplicaciones en áreas productivas y ambientales. Nuestro objetivo es establecer sinergias para avanzar en esta base de referencia, obtener recursos financieros, y capacitar recursos humanos. En 2022 se inicia una Usina de CBV financiada por FMV-ANII, estableciendo una red de Laboratorios de cinco Instituciones (DINACEA-MA, MNHN-MEC, IIBCEMEC, INIA, Udelar); realizamos un curso PEDECIBA sobre la temática, comenzamos la generación de vouchers y secuencias de vegetales forrajeros, parasitoides y hongos. La conformación de esta Usina debe facilitar la acumulación de datos de CBV junto con los vouchers de referencia en colecciones. Esto implica: colecta de ejemplares; preparación de especímenes y colección; banco de ADN; generación de secuencias; análisis bioinformático; y generación y mantenimiento de una base de datos en línea como centro de colaboración para la comunidad científica y recurso público para la ciudadanía. Financiamiento ANII-FMV_1_2021_1_166380.

Palabras clave: Códigos de Barras de la Vida; Convenio sobre la Diversidad Biológica; Bases de referencia de secuencias; Biodiversidad

Barcoding para la gestión y la toma de decisiones en biodiversidad, su rol en el marco del convenio de diversidad biológica

Mello, Ana Laura • Dirección Nacional de Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos, Ministerio de Ambiente

El Convenio de Diversidad Biológica de las Naciones Unidas es un acuerdo multilateral que entró en vigor en el año 1993 y cuenta en la actualidad con 196 Estados parte, siendo sus objetivos i) la conservación de la biodiversidad; ii) la utilización sostenible de sus componentes; iii) y la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos. Sin embargo, las evaluaciones globales coinciden en que los esfuerzos para revertir la pérdida de diversidad biológica y promover su uso sostenible han sido significativos pero insuficientes. Entre las principales causas subyacentes de pérdida de biodiversidad en Uruguay se encuentra la debilidad en la generación y gestión de información relevante para la formulación de políticas y toma de decisiones. En la actualidad las técnicas basadas en ADN, y particularmente el DNA barcoding, son herramientas con mucho potencial para mejorar las capacidades en la gestión de la biodiversidad, particularmente la identificación de especies amenazadas, especies exóticas invasoras, o aquellas bajo regulaciones especiales. En este contexto, el objetivo de este trabajo es analizar cómo las técnicas de barcoding pueden contribuir con la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad de Uruguay en el marco de la elaboración de una nueva Estrategia Nacional de Biodiversidad alineada con los compromisos globales post 2020.

Palabras clave: Convenio de Diversidad Biológica; DNA barcoding; Códigos de Barra de la Vida; Estrategia de biodiversidad

Descripción de la funga del Uruguay por barcoding de ADN

Alejandro Sequeira¹, Francisco Kuhar², Mariana Cosse³

¹Funga-Uruguay

²Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, CONICET- Argentina

³Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los primeros antecedentes en el estudio sistemático de los hongos del Uruguay se remontan al trabajo del Dr. Rodolfo Talice en la década de 1960. A partir de 2013, con la publicación de una Guía de Identificación de Hongos, Alejandro Sequeira comenzó un trabajo sistemático de caracterización de la funga uruguaya, que actualmente suma en su tercera edición de 2022 el relevamiento de más 300 especies. A pesar de estos esfuerzos, muchos taxones implican grandes dificultades en su certera determinación. En los últimos años, la identificación taxonómica por medio de Códigos de Barra de la Vida (CDB-barcoding de ADN) ha permitido abordar incertidumbres taxonómicas con mayor precisión, así como promete clarificar relaciones filogenéticas. En el marco del proyecto «Usina de códigos de barras de la vida - Uruguay» hemos comenzado a caracterizar molecularmente los hongos presentes en nuestro país, por medio de una secuencia de unos 600 pb de la región del espaciador transcrito interno (ITS). Hasta el momento hemos analizado 36 ejemplares y se han podido determinar 15 especies. Para cuatro hongos (*Phlebotopus sp.*; *Podoscypha sp.*; *Lepiotaceae sp.* y *Lyophyllaceae sp.*) las secuencias obtenidas presentan índices de similitud menores al 97% con las secuencias existentes en las bases de referencia públicas (GenBank). Estos resultados señalan la importancia de avanzar en la

identificación de las especies de hongos que se encuentran en nuestro país, a la vez que generan nuevas hipótesis sobre la composición taxonómica e historia biogeográfica de la funga uruguaya. Financiamiento ANII-FMV_1_2021_1_166380.

Palabras clave: Códigos de Barra de la Vida; Biodiversidad; Hongos

348. DNA barcoding: identificación de pulgones asociados al cultivo de pimiento

*Giambiasi, Mario*¹; *Rubio, Leticia*²; *Buenahora, José*³

¹*Biología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Regional Salto Grande*

²*Fitopatología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Regional Salto Grande*

³*Entomología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Regional Salto Grande*

Los pulgones son insectos pertenecientes al orden Hemiptera, se caracterizan por tener altas tasas de crecimiento poblacional. Esta plaga se alimenta de la savia de las plantas y transmiten importantes enfermedades virósicas, lo que ocasiona daños a los cultivos. La identificación taxonómica de pulgones no resulta sencilla debido a que existen más de 4000 especies. Además, se deben analizar aspectos morfológicos, como su coloración, que puede verse alterada por diferentes motivos. DNA Barcoding es una herramienta que permite identificar un insecto sin importar el estado de desarrollo o aspectos morfológicos. Pero para que esto ocurra, se debe contar con datos de asociaciones entre identificaciones taxonómicas y secuencias de ADN de la especie, que se encuentran disponibles en bases de datos de libre acceso. Para identificar las especies de pulgones que estaban afectando los cultivos de pimiento de la región norte de Uruguay, se colectaron especímenes de 6 predios representativos. Los ejemplares fueron codificados y fotografiados antes de realizar la extracción de ADN, para luego secuenciar la región COI mitocondrial. Las identidades taxonómicas de nuestras secuencias de ADN se obtuvieron utilizando las herramientas BLAST y BOLD Systems. Las especies encontradas hasta el momento fueron *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. Las características morfológicas de los individuos coinciden con las descritas para estas especies. Concluimos que el DNA Barcoding es una herramienta que permite una efectiva identificación de pulgones. La incorporación de esta técnica a los estudios tradicionales aporta celeridad y precisión a los resultados.

Palabras clave: horticultura, Aphididae, entomología

349. Un breve vistazo a los invertebrados de Uruguay con la lupa del ADN mitocondrial

Capurro, Leandro^{1,5}; *Jorge, Gabriella*²; *Failla, Gabriela*³; *Arocena, Rafael*¹; *Castro, Manuel*¹; *Brugnoli, Ernesto*⁴; *Martínez, Claudio*⁵

¹*Sección Limnología, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

²*Grupos disciplinarios Agroecología - Departamento de Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República*

³*Sección Zoología de Invertebrados, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

⁴*Oceanografía y Ecología Marina, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

⁵*Laboratorio LaTraMA, Sección Bioquímica, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

Los invertebrados comprenden los phyla de animales más diversos del planeta. Muchos de ellos están pobremente estudiados y su diversidad y sistemática aún está por dilucidarse. En los sistemas terrestres, dulceacuícolas y marinos cumplen un rol fundamental dentro de los ecosistemas que integran. La pérdida del hábitat, las especies exóticas invasoras y la contaminación están poniendo en peligro su diversidad biológica. Mediante la utilización del llamado Código de Barras de la Vida (fragmento de ADN mitocondrial del gen codificante de la citocromo oxidasa I, *Barcoding*) se estudió la diversidad genética y específica de varios grupos de invertebrados terrestres y acuáticos presentes en Uruguay. El objetivo fue profundizar en la biodiversidad específica y genética en nuestro país y comprender los patrones biogeográficos de determinadas especies. Se estudiaron diferentes clados de lombrices terrestres nativas de ambientes naturales y agrícolas para dilucidar su taxonomía y sistemática; se secuenció el nemertino dulceacuícola (*Prostoma* sp.), y aunque no fue posible dilucidar la especie, se discuten las fortalezas y limitaciones de la metodología. Se realizó además el *Barcoding* a hidromedusas, "tapiocas" (*Liriope tetraphylla*) de la costa de Maldonado comparándose con las del resto del mundo a fin de determinar relaciones existentes entre ellas. Este trabajo constituye un aporte primario,

pero necesario, para comenzar a comprender las relaciones filogenéticas de algunos grupos de invertebrados uruguayos en un contexto ambiental amenazado por forzantes antrópicas múltiples.

Palabras clave: *Barcoding*, Biogeografía, Filogeografía, Ecología Molecular, Biodiversidad

350. Estudio de la diversidad de roedores en Egagrópilas de *Tyto furcata* utilizando secuenciación de alto rendimiento del citocromo b (*metabarcoding*)

González-Barboza, Matías¹; Capurro, Leandro²; Vettorazzi, Renzo³

¹Departamento de Biodiversidad y Genética, División Biología Molecular y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Sección Bioquímica, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Laboratorio de Biología Parasitaria, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias-Instituto de Higiene, Universidad de la República

Las egagrópilas depositadas por rapaces son ampliamente utilizadas para estudiar la riqueza, abundancia y distribución de micromamíferos (típicamente roedores). La metodología tradicional se basa en la identificación morfológica de restos óseos, lo cual requiere una elevada experticia taxonómica y no siempre se logra determinar la especie. El *metabarcoding*, mediante secuenciación de alto rendimiento, permite la identificación molecular de las taxa presentes en muestras complejas. En el marco del curso "Entrenamiento en técnicas de códigos de barra de la vida" (financiamiento PEDECIBA), nos propusimos evaluar el ensamble de roedores a partir de una egagrópila de *Tyto furcata* colectada en Kiyú, San José. Utilizamos un juego de cebadores específicos, que amplificaron un fragmento de 136 pb del citocromo b, y que no había sido previamente utilizado en roedores sudamericanos. La secuenciación se realizó en la plataforma Ion Torrent (IIBCE) y los *reads* se analizaron en el software libre SEED2. Se filtraron las secuencias por tamaño y calidad y posteriormente se realizó un análisis de *BLASTn* contra la base de datos del NCBI. Los principales componentes de la dieta encontrados se corresponden a aves de pequeño porte y roedores. Para este último grupo se determinaron 4 especies con alta resolución. *Scapteromys tumidus* fue la más abundante, sugiriendo que el animal depreda cerca de zonas inundables; y, en segundo lugar, *Mus musculus*, especie exótica, pero comúnmente depredada por *T. furcata*. Mediante este estudio se probó la sensibilidad y practicidad del *metabarcoding*, lo cual contribuirá en estudios dietarios, así como monitoreo de micromamíferos.

Palabras clave: roedores, egagrópilas, *metabarcoding*

351. Biotecnología y *barcoding*: análisis de alimentos

Martínez, Claudio¹; Alfonso, Florencia¹; Gándaras, Rosario¹; Arleo, Mailén¹.

¹LaTraMA: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria, Sección Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias. Colectivo Interdisciplinario TÁ. Udelar. clau@fcien.edu.uy

El ADN remanente en matrices alimentarias sirve como trazador, habida cuenta que su secuencia permanece lo suficientemente intacta en los procesos de manufactura de los alimentos, como para ser recuperado y analizado mediante técnicas moleculares, siendo la PCR y sus variantes la más empleada para este tipo de análisis. Nuestro Laboratorio LaTraMa (Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias) analiza de matrices alimentarias y sus materias primas, utilizando el ADN remanente como trazador de especies animales y vegetales, incluyendo organismos genéticamente modificados, o transgénicos. En este sentido, somos el laboratorio de referencia que apoya académicamente al Laboratorio de Bromatología de la Intendencia de Montevideo y al de la Intendencia de Paysandú, encargados de realizar los análisis de las muestras alimentarias departamentales, dentro del marco legal de los decretos departamentales de etiquetado obligatorio de alimentos transgénicos. Se han realizado más de 600 análisis de detección y cuantificación del ADN proveniente de soja y maíz transgénicos, y cuyos resultados serán reseñados en esta breve presentación. Por otro lado, hemos analizado varias matrices en cuanto a su composición especie específica (quesos, hamburguesas, panchos, salsas de tomate, dulce de membrillo, yerba mate, entre otros) utilizando marcadores moleculares tipo *barcoding*, específicos de animales y vegetales, dependiendo de la matriz analizada. En esta presentación se discutirán los pros y contras de los marcadores de *barcoding* en este tipo de análisis, así como las perspectivas planteadas por las nuevas tecnologías de edición génica y sus métodos de análisis.

Palabras clave: trazabilidad, barcoding, transgénicos, especies, edición génica

352. Tipificación molecular del polen en mieles de abeja usando ADN metabarcoding

Camargo, Arley¹; Vargas, Rodrigo^{2,3}; Nolla, Sarita²; Lima, Laura¹; Senseber, Mateo¹; Cosse, Mariana⁴

¹Laboratorio Biogeografía y Evolución, CENUR Noreste, Sede Rivera, Universidad de la República

²Centro Regional de Profesores del Norte, Consejo de Formación en Educación, Administración Nacional de Educación Pública

³División Estrategias y Articulación Regional, Intendencia Municipal de Rivera

⁴Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

La determinación de la composición botánica de mieles de abeja mediante ADN metabarcoding del polen representa una alternativa a las técnicas palinológicas. Se obtuvieron muestras de miel directa de los apiarios en bosque nativo (Valle del Lunarejo), plantación de eucaliptus y pradera de trébol blanco. En el Valle del Lunarejo se realizó un muestreo de la flora melífera para caracterizar la oferta de polen. Se extrajo ADN de las plantas y de la miel mediante protocolo CTAB. Se amplificó un fragmento del intrón UAA del gen cloroplástico trnL para las plantas y las mieles, que se secuenció mediante Sanger (Macrogen) y plataforma Ion Torrent (IIBCE). Se utilizó el programa Seed2 para filtrar los reads por tamaño y calidad. Se determinaron OTUs mediante agrupamiento, considerando una diferencia mínima de 2% y excluyendo quimeras. También se analizó una mezcla de ADN de varias plantas conocidas para evaluar la performance del metabarcoding. Las mieles de eucaliptus y de trébol blanco fueron uniflorales, con altos porcentajes de prevalencia para *Eucalyptus* sp. (68%) y *Lotus* sp. (72%), respectivamente. La miel del bosque nativo resultó ser multifloral, con prevalencia de Mimosoideas (31%), *Oxalis* sp., *Lotus* sp., *Eucalyptus* sp., *Croton* sp., entre otras. La evaluación indicó que la técnica determinó todas las especies de la mezcla correctamente, aunque con sesgos en las proporciones esperadas. Concluimos que el ADN metabarcoding es una técnica validada y versátil para la tipificación botánica de la miel y nos proponemos expandir nuestro estudio a la tipificación de mieles de todo el país.

13#. MESA SUG SOCIEDAD URUGUAYA DE GENETICA

CONFERENCIA

Primer genoma completo del bocachico colombiano, *Prochilodus magdalenae*. Genómica a ritmo de cumbia
Nélide Rodríguez Osorio • Unidad de Genómica y Bioinformática-Departamento de Ciencias Biológicas (Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de la República)

El bocachico, *Prochilodus magdalenae*, es un pez del orden Characiforme endémico de las cuencas Magdalena-Cauca, Atrato y Sinú de Colombia. El bocachico ha sido crucial en la pesca artesanal colombiana, ocupando el primer renglón en las pesquerías y es un emblema de la cultura de este país. Es tal su importancia, que se le han escrito varias canciones* y se menciona en muchas más. Pero debido a la sobrepesca, la minería, el taponamiento de ciénagas, las actividades agropecuarias expansivas y los vertimientos domésticos e industriales en los ríos que habita, su población se ha reducido considerablemente en las últimas décadas. Hoy, el *P. magdalenae* es una especie catalogada como vulnerable y en peligro en algunas regiones colombianas, para la cual se adelantan diversos programas de repoblamiento como estrategia de conservación. Sin embargo, su caracterización genotípica es escasa y se ha enfocado especialmente en la identificación de microsatélites, ya que no se contaba ni con una secuencia mitocondrial completa. En colaboración con el grupo de investigación en peces nativos GIPEN de la Piscícola San Silvestre en convenio con ISAGEN S.A. E.S.P (Barrancabermeja, Colombia), la universidad de Antioquia (Medellín, Colombia) y el laboratorio de Genómica Marina (Shenzhen, China), obtuvimos el primer draft del genoma de una hembra de bocachico mediante una estrategia que incluyó varias plataformas de secuenciación de ADN de segunda y tercera generación. El ensamblaje *de novo* obtenido inicialmente con MaSuRCA fue muy fragmentado, con más de 20.00 scaffolds y un N50 de 179.561. Se realizó un segundo ensamblaje con Platanus y DBG2OL con lo cual se redujo el número de scaffolds a 7.856 y se aumentó el N50 a 348.313. La longitud total del genoma obtenido: 1,2 Gb, está en el rango de los genomas de otros carácidos y el porcentaje de GC de 42% también coincide con lo observado en estos. La anotación del genoma identificó 39.125 modelos de genes, con 92,4% de completitud BUSCO, valor muy satisfactorio para el primer draft de un genoma. Este ensamblaje de la hembra se usó como referencia

para ensamblar por mapeo el genoma de un macho, anotando e identificando genes del cromosoma Y. Como resultado presentamos la primera secuencia genómica completa y anotada del género *Prochilodus* y de la familia *Prochilodontidae*. Esta versión del genoma contribuye a la caracterización genética del bocachico colombiano y facilitará las estrategias de repoblamiento, pero también, servirá como referencia para otras especies del mismo género, como el sábalo jetón (boca grande), *Prochilodus lineatus*, propio del río Uruguay y sus afluentes. Cambias colombianas dedicadas al bocachico, para acompañar la lectura de este resumen: El bocachico del Sinú, El bocachico, La subienda, Bocachico frito

353. Caracterización del genoma mitocondrial del bagre negro, *Rhamdia quelen*, en Uruguay

Ariosa, Sofía¹; Etchemendy, Magdalena¹; Altieri, Ana¹; Ríos, Néstor¹

¹ Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Rhamdia quelen pertenece al Orden Siluriformes y constituye un valioso recurso zoogenético de la región Neotropical, de importancia en pesquerías y para la acuicultura. Abordajes filogeográficos en las grandes cuencas de la región cis andina basados en el marcador mitocondrial citocromo b han concluido que *R. quelen* representa un complejo de especies integrado por al menos siete linajes mitocondriales. En nuestro país se encuentran tres de estos linajes: Rq2 presente en la cuenca del Río Cuareim; Rq4 en las cuencas del Río Negro, Laguna Merín y Río Uruguay; finalmente, Rq6 que se encuentra en todas las cuencas de Uruguay. Debido a la ausencia de un genoma mitocondrial de *R. quelen* y teniendo en cuenta la profunda divergencia encontrada en este complejo de especies, nos propusimos caracterizar el genoma mitocondrial de los tres linajes de *R. quelen* presentes en Uruguay. Con este objetivo secuenciamos en plataformas DNBseq muestras de ADN total de ocho especímenes de los tres linajes. Todos los genomas mitocondriales fueron ensamblados completamente y variaron de 16475 a 16477 pb, dentro de estos sitios, 1045 fueron variables. Se anotaron 37 genes: 22 ARNt; 13 codificantes; y dos ribosomales. Al analizar la relación de la tasa de sustituciones no sinónimas y la de sinónimas (Ka/Ks), se encontró que los 13 genes codificantes mostraron valores que varían entre 0,01 (COX1) y 0,10 (NADH2). Estos valores de Ka/Ks evidencian la acción de la selección purificadora en la evolución de estos genes.

Palabras clave: *Rhamdia quelen*, genoma mitocondrial, linajes mitocondriales

354. Evaluando el potencial del XP-GWAS en *Eucalyptus*; la heteroblastia foliar como caso de estudio

Giorello, Facundo¹; Fariás, Joaquina¹; Basile, Patricia¹; Balmelli, Gustavo²; Da Silva, Cecilia¹

¹PDU "Espacio de Biología Vegetal del Noreste", CENUR Noreste, sede Tacuarembó, Universidad de la República

²Programa Nacional de Investigación en Producción Forestal, Estación Experimental del Norte, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Tacuarembó, Uruguay

Los eucaliptos son uno de los pilares de la industria forestal, aportando materia prima de alta calidad para diversos usos. Con el fin de mejorar rasgos de interés en estos árboles se desarrollan programas de mejoramiento genético, los cuales suelen ser costosos y requieren mucho tiempo. En este trabajo evaluamos el potencial del método XP-GWAS (Extreme-Phenotype GWAS) para identificar genes candidatos subyacentes a un rasgo cuantitativo en *Eucalyptus*, utilizando como caso de estudio el momento en que se produce la heteroblastia foliar. El XP-GWAS se basa en genotipar pooles de individuos agrupados por fenotipos extremos y opuestos a partir de una población, y comparar las frecuencias alélicas entre los pooles. Utilizando los datos fenotípicos de un ensayo previo de *E. globulus*, secuenciamos grupos de 50 individuos que difieren notablemente en la aparición del follaje adulto. Dado que la base genética de la heteroblastia es bien conocida, primero buscamos identificar aquellos genes previamente asociados a este rasgo. En segundo lugar, buscamos nuevos genes potencialmente asociados, además de evaluar las variaciones del número de copias que pueden estar involucradas en este proceso. Nuestro trabajo demuestra la utilidad y las limitaciones del análisis XP-GWAS para explorar la base genética de los *Eucalyptus*. Encontramos dos SNP marginalmente significativos cercanos a microRNAs asociados al rasgo e identificamos catorce genes candidatos. En particular, se reportan dos ARN no codificantes, cuatro genes de resistencia a enfermedades posiblemente asociados, y se reveló una posible interacción entre la heteroblastia y la respuesta de defensa.

Palabras clave: *Eucalyptus*, XP-GWAS, genómica, heteroblastia, microRNAs



355. Determinación del acervo genético de cepas circulantes de *Toxoplasma gondii* en mujeres embarazadas del Uruguay

Valentín, Alejandra^{1,2}; Tana-Hernández, Leandro¹; Gesuele, Juan³; Rodríguez Rey, Marianela⁴; Guirado, Mariana⁵; Fernández, Nora^{2,6}; Zubiaurre, Valentina⁷; Francia, María. Eugenia^{1,2}

¹Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Departamento de Neonatología, Hospital Pereira Rosell, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Departamento de Neonatología, Hospital de Clínicas "Dr Manuel Quintela", Fac. de Medicina, Universidad de la República

⁵Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁶Policlínica de Alto Riesgo Obstétrico, Hospital Pereira Rosell, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁷Policlínica de Alto Riesgo Obstétrico, Hospital de Clínicas "Dr Manuel Quintela", Facultad de Medicina, Universidad de la República

El paradigma de la transmisión y manifestación de la toxoplasmosis humana surge en base a datos clínicos, y experimentación en ratones, utilizando cepas de *Toxoplasma gondii* circulantes en Europa y Norteamérica conocidas como "típicas". Sin embargo, actualmente entendemos que la severidad de la toxoplasmosis humana depende del genotipo del parásito y este está estrechamente ligado a su procedencia geográfica. Estudios sobre tipificación mundial describen una mayor circulación de cepas atípicas en América del Sur, sin embargo, este precepto se basa principalmente en datos obtenidos en Brasil, Colombia, y Argentina. Trabajos pioneros en Uruguay describieron la existencia de serotipos "atípicos" en pacientes, y el aislamiento de una cepa genéticamente atípica de procedencia uruguaya en Francia. Como hipótesis, planteamos la existencia de una alta variabilidad genética de cepas circulantes de *T. gondii* en humanos en nuestro país. Para abordarla planteamos el aislamiento y genotipado de cepas de *T. gondii* circulantes en mujeres a las cuales se les detecta la adquisición de la infección durante la gestación en los controles rutinarios del embarazo, a partir de sangre periférica, tejido placentario y sangre de cordón umbilical. En el último año se reclutaron 15 pacientes que presentaron anticuerpos IgM contra *T. gondii* durante el embarazo. Tras la detección de ADN del parásito en múltiples muestras, y tipificación por PCR-RFLP *in silico*, se evidenció la presencia de cepas "atípicas." Actualmente nos encontramos avanzando en su caracterización genética, y abordando el aislamiento de cepas circulantes con el objetivo de correlacionar genotipo con fenotipo.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, PCR, PCR-RFLP *in silico*, genotipo, fenotipo aislamiento

356. Caracterización de elementos transponibles en fasciolidae

Bilat, Agustín¹; Protasio, Anna²; Tort, José¹

¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Department of Pathology, Tennis Court Road, Cambridge, CB1 2PQ, UK

Los elementos transponibles son repetidos genómicos dispersos, móviles y estructuralmente diversos, capaces de alterar la estructura y funcionamiento del genoma por diversos mecanismos. Se ha postulado que han tenido un papel relevante en la evolución y adaptación de los eucariotas. Puesto que los genomas de muchos parásitos son ricos en repetidos, resulta interesante investigar qué papel han tenido éstos en la evolución de las adaptaciones al parasitismo. Los platelmintos parásitos *Fasciola hepatica* y *F. gigantica* (hepáticas) presentan diferencias morfológicas y ecológicas con respecto a la especie emparentada *Fasciolopsis buski* (intestinal) que se acompañan de una importante expansión genómica de transposones, haciendo de esta familia (Fasciolidae) un modelo interesante para su estudio. Planteamos cómo hipótesis que la expansión de repetidos en *Fasciola* spp. se asocia a cambios adaptativos dentro de la familia Fasciolidae posiblemente vinculados a alteraciones en genes relevantes para el parasitismo. Caracterizamos las familias de transposones en tres especies de Fasciolidae, comparando su composición y distribución genómica. Realizamos la anotación genómica de los repetidos a partir de la construcción de bibliotecas manualmente curadas de transposones. El análisis comparativo indica que la expansión de las familias ocurrió principalmente en el ancestro común de *Fasciola* spp., donde habrían ocurrido los cambios adaptativos más significativos con respecto a *Fasciolopsis*. Describimos también familias de aparente expansión reciente, y mediante simulaciones computacionales verificamos que la localización genómica de transposones es heterogénea y no aleatoria. Estos resultados constituyen el primer acercamiento para entender el rol de los transposones en la adaptación parasitaria de Fasciolidae.

Palabras clave: Platelmintos parásitos, Transposones, Genómica

14#. MESA ESTUDIANTES SNU

357. Bases neurales del conflicto acercamiento evitación en personas con depresión y/o ansiedad social

Acuña, Alejo¹; Morales, Sebastián¹; Uriarte-Gaspari, Laura¹; Aguirre Nara¹; Perez, Alfonso¹; Huart Natalia; Cuña, Enrique²; Waiter, Gordon³; García-Fontes, Margarita²; Cabana, Alvaro⁴; Gradín, Victoria⁴

¹Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, Montevideo, Uruguay

³Aberdeen Biomedical Imaging Centre, Institute of Medical Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen, UK

⁴Instituto de Fundamentos y Métodos en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Las personas con depresión (MD) o ansiedad social (AS) muestran una tendencia elevada a la evitación y el retraimiento social. Esta tendencia acarrea sufrimiento y grandes costos a la persona. Nuestro estudio investigó las bases neurales de la evitación social en un grupo de personas con síntomas de MD y/o AS, y un grupo de controles. Para esto utilizamos una tarea experimental en combinación con resonancia magnética funcional. En la tarea, los participantes debían elegir entre formar equipo con un compañero de alto rendimiento o formar equipo con uno de bajo rendimiento, para jugar un juego. Para ganar el juego, conviene elegir al compañero de mayor rendimiento. Sin embargo, esta decisión también implica mayores chances de ser el peor del equipo, lo cual puede afectar la autoestima.

En comparación al grupo control, el grupo MD/AS reportó más vergüenza, nerviosismo y culpa durante la tarea, y también eligió más seguido a la categoría de menor rendimiento, lo que resultó en una menor acumulación de puntos. A su vez, el grupo MD/AS mostró mayor actividad cerebral en regiones asociadas a la experiencia de conflicto cuando elegían a la categoría de mayor rendimiento en comparación a cuando elegían a la de menor rendimiento. Lo opuesto ocurrió en el grupo de controles. Esta diferencia entre grupos refleja mayor facilidad en personas con MD/AS para elegir compañeros de bajo rendimiento.

Nuestros resultados aportan al entendimiento de conductas de evitación social y sus correlatos neurales en personas con MD/AS.

358. Caracterización de las redes perineuronales en el asta dorsal de la médula espinal en un modelo de dolor neuropático

Lagos-Rodríguez, Valentina¹; Lagos, Natalia²; Cassina, Patricia¹; Nogueira, Javier¹

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

La matriz extracelular (ME) es un factor fundamental en la organización estructural y funcional de los circuitos neuronales. En el sistema nervioso central, la ME se encuentra representada por un componente difuso que ocupa el espacio extracelular, y por estructuras especializadas conocidas como redes perineuronales (RPNs). Se ha demostrado que las RPNs de la médula espinal afectan la actividad de las neuronas involucradas en el procesamiento nociceptivo, y que su degradación promueve comportamientos relacionados con el dolor.

En el presente trabajo nos propusimos analizar la presencia y distribución de RPNs alrededor de las neuronas de la lámina I involucradas en la vía nociceptiva en un modelo de dolor neuropático, generado en ratones a través de la constricción crónica del nervio ciático (Protocolo experimental N° 070153-000651-19). 3 días post-lesión los animales se sacrificaron y la médula espinal se procesó para inmunofluorescencia contra los marcadores de los componentes de RPNs, aglutinina de Wisteria floribunda y Agregano.

El análisis histológico mostró la presencia de señal para ambos marcadores, en forma de componente difuso y de RPNs. Tanto las RPNs como el componente difuso presentaron diferencias regionales en el patrón de marcación. Asimismo, en la superficie medial lateral de la lámina I se identificó una población de neuronas doble marcadas similares a las neuronas involucradas en el procesamiento del dolor previamente reportadas. Se estudiará eventuales modificaciones entre el lado ipsi y el contralateral a la lesión.

Estos resultados contribuirán a comprender los mecanismos implicados en el procesamiento del dolor crónico.

Palabras clave: Dolor neuropático, Redes perineuronales, Médula espinal

359. Crosstalk between glial cells and c-kit+ mast cells in the ALS degenerating spinal cord

Kovacs, Mariángeles¹, Alamon, Catalina¹, Ibarburu, Sofía¹, Varela, Valentina¹, Tarrago, Lucas¹, Maciel, Cecilia¹, Hermine, Olivier², King, Peter H.^{3,4}, Si, Ying^{3,4}, Kwon, Yuri³, Barbeito, Luis¹, Trias, Emiliano¹

¹Institut Pasteur de Montevideo, Neurodegeneration Lab, Montevideo, Uruguay

²Hospital Necker, Institut IMAGINE, Paris, France

³Department of Neurology, University of Alabama at Birmingham

⁴Birmingham Veterans Affairs Medical Center, Birmingham, United States of America

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is characterized by degeneration of motor neurons, reactive astrocytosis, microgliosis and immune cell trafficking and infiltration into the CNS, resulting in a degenerative cell microenvironment. We have recently reported that Mast cells (MC) expressing c-Kit receptor can enter the damaged parenchyma as precursors (Kovacs et al 2021). MCs spatially interact with astrocytes expressing the cKit ligand, Stem cell factor (SCF), suggesting a mechanism for local MC differentiation and activation. MCs have the potential to degranulate and induce inflammation through the release of mediators such as cytokines, chemokines, histamine, and proteases. MC- tryptase is an MC-restricted protease that can interact with glial cells through the activation of proteinase-activated receptors (PAR-2), representing a major neuroinflammatory mediator. However, the pathogenic significance and interaction between MC-tryptase and glial cells in ALS remain unclear. The expression of MCtryptase was analyzed in autopsied spinal cords from ALS subjects and controls as well as in the CNS of SOD1^{G93A} rats and mice. Murine tissues were analyzed by flow cytometry and PAGE-western blotting. Crosstalk between MC-tryptase and glial cells was analyzed in primary cultures of microglia and astrocytes. We have identified that MC-tryptase is strongly upregulated in the spinal cord of ALS subjects and in ALS murine models, correlating with the degree of MC infiltration, microgliosis, and defective microvasculature. Downregulation of MC infiltration with the tyrosine kinase inhibitor Masitinib which targets SCF/c-Kit signaling decreased the MC-tryptase levels. In cell cultures, MC tryptase was sufficient to modulate the phenotype of microglia and astrocytes. Our results suggest a pathogenic mechanism triggered by MC-tryptase that leads to glial activation in ALS, which can be targeted therapeutically.

Keywords: ALS; mast cells; neuroinflammation, masitinib, tryptase

360. Efecto del pretratamiento oral con *Lactobacillus SPP*. En la sensibilización locomotora inducida por cocaína y su influencia en la microbiota intestinal

Fabius, Sara¹; Urbanavicius, Jessika¹; Fernández-Ciganda, Sofía^{2,3}; Prieto, José Pedro^{1,4}; Lozano, Joaquín²; Piccini, Claudia²; Zunino, Pablo²; Scorza, Cecilia¹

¹Departamento de Neurofarmacología Experimental, Inst.Inv.Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

³Afiliación actual: Plataforma de Salud Animal, Microbiología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria INIA-La Estanzuela, Montevideo, Uruguay

⁴Afiliación actual: Laboratorio de Neurociencias, Fac de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Alteraciones en la microbiota intestinal (MI) han sido vinculadas al consumo de psicoestimulantes, sugiriendo la participación del eje bidireccional intestino-cerebro en la respuesta a drogas de abuso. Evidencias preclínicas mostraron que cocaína induce una disbiosis de la MI y el pre-tratamiento con antibióticos potencia su respuesta comportamental estimulante y reforzadora. Recientemente, demostramos que la exposición repetida a cocaína volatilizada altera la estructura y diversidad de la MI en ratas, proponiendo la hipótesis de que la modulación de la MI atenuaría las acciones de cocaína. Este trabajo evalúa el papel de la modulación de la MI sobre la sensibilización locomotora inducida por cocaína volatilizada. Ratas Wistar (machos adultos) recibieron una mezcla de las cepas bacterianas *Lactobacillus* (*L. johnsonii* ATCC 33200; *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 y *L. reuteri* ATCC 23272) o vehículo por vía oral durante 28 días. Durante los últimos 7 días fueron expuestos a cocaína volatilizada (25 mg/día) y evaluamos su actividad locomotora. Se colectaron fecas para analizar la MI. Cocaína indujo un efecto estimulante progresivo (sensibilización locomotora) entre los días 1-5 de exposición, que decae luego hasta el día 7. La administración de bacterias no previno el efecto sensibilizador de cocaína manteniendo la actividad locomotora elevada hasta el día final. Los animales que recibieron bacterias y fueron expuestos a cocaína mostraron diferencias significativas en la estructura y composición de su MI respecto a su

control, sugiriendo su participación en la actividad sostenida observada. Estos resultados apoyan el papel del eje intestino-cerebro en el desorden de abuso de sustancias.

Palabras clave: Adicción, Microbiota Intestinal, Cocaína

361. Evaluación de ibogaína como neuroprotector en un modelo de neurodegeneración in vitro para la enfermedad de Alzheimer

Bentura, Manuela¹; Arredondo, Florencia¹; Duarte, Pablo¹; Carrera, Ignacio²; Maldonado, Cecilia³; Savio, Eduardo¹

¹Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química (UdelaR), Montevideo, Uruguay

³Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química (UdelaR), Montevideo, Uruguay

Introducción: La ibogaína es un alcaloide psicodélico con interesantes propiedades antiadictivas y antidepresivas. Estudios previos evidencian que la administración de ibogaína en ratas promueve la expresión de factores neurotróficos como GDNF y BDNF a nivel cerebral. Es así que ibogaína y alcaloides relacionados podrían presentar actividades neuroprotectoras interesantes en enfermedades como Alzheimer (EA) y Parkinson. Ensayos previos realizados con astrocitos aislados de corteza/hipocampo de ratones 3xTg-AD (modelo de EA) sintomáticos, evidenciaron que éstos resultan tóxicos para neuronas, en co-cultivo y mediante la exposición a su medio condicionado. La hipótesis es que este fenotipo astrocitario presenta un papel clave en la EA.

Objetivo: Caracterización y evaluación del potencial de la ibogaína de revertir este fenotipo astrocitario neurotóxico.

Métodos: Los cultivos astrocitarios neurotóxicos 3xTg-AD fueron expuestos a diferentes concentraciones de ibogaína para determinar su toxicidad (IC50). Con este resultado, seleccionamos diferentes concentraciones de ibogaína (10 µM; 50 µM; 100 µM; 170 µM; 200 µM) para tratar los cultivos astrocitarios 3xTg por 24h. Pasada la incubación, expusimos este medio condicionado sobre cultivos neuronales primarios de corteza/hipocampo de embriones de ratón C57B6J, para evaluar la capacidad de la ibogaína de revertir/atenuar el efecto neurotóxico. Luego de 24h de exposición se cuantificó la viabilidad neuronal mediante el ensayo de MTT.

Resultados: El IC50 obtenido para ibogaína en astrocitos 3xTg-AD fue 169 µM. En el tratamiento de cultivos neuronales cortico-hipocámpales con medios condicionados de astrocitos, se observó una reversión de la neurotoxicidad de estas células a partir de un valor de concentración de ibogaína de 100 µM.

Palabras clave: ibogaína, Enfermedad de Alzheimer, Neuroprotección

362. Los andrógenos son moduladores claves en la expresión de señales sociales dentro el período no reproductivo

Valiño, Guillermo¹; Zubizarreta, Lucia^{1,2}; Jalabert, Cecilia^{3,4}; Farias, Joaquina⁵; Sotelo, José^{6,7}; Soma, Kiran⁴; Quintana, Laura¹

¹Laboratorio de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Neurofisiología Celular y Sináptica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

³Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada

⁵PDU "Espacio de Biología Vegetal del Noreste", CENUR Noreste, sede Tacuarembó, Uruguay

⁶Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

⁷Departamento de Biología Celular y Molecular, Fac.de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La agresión ha sido tradicionalmente estudiada en machos reproductivos donde se ha demostrado que los andrógenos tienen un rol regulatorio fundamental. Sin embargo, existen especies que expresan agresión desacoplada de la reproducción. Estos modelos animales ofrecen la oportunidad de analizar mecanismos regulatorios novedosos. *Gymnotus omarorum*, un pez eléctrico autóctono, es un reproductor estacional que presenta una agresión territorial robusta en el periodo no reproductivo en machos y en hembras. *G. omarorum* es el primer teleosteo en el que se analiza la regulación hormonal de la agresión no reproductiva. En este estudio, analizamos el rol de los andrógenos sobre esta conducta, que ha sido rigurosamente caracterizada tanto en sus despliegues locomotores como en la emisión de señales eléctricas sociales (SES). En particular, los animales subordinados son los que emiten SES de sumisión. En este trabajo abordamos este análisis mediante: (1) medición de hormonas circulantes por LC-MS-MS, (2) farmacología conductual utilizando un bloqueante de

receptores de andrógenos (CA) y (3) Identificando la expresión de receptores de andrógenos mediante qPCR. Demostramos (1) que hay andrógenos circulantes en el período no reproductivo en machos y hembras, (2) que una inyección de CA 30 minutos antes de la contienda, reduce significativamente las SES de sumisión e (3) identificando la presencia de receptores de andrógenos en un área cerebral clave en la producción de SES eléctricas. En resumen, nuestros resultados evidencian que fuera del período reproductivo los andrógenos circulantes son claves moduladores de la emisión de SES de la conducta agresiva.

Palabras clave: Agresión no reproductiva, andrógenos, señales sociales

363. Rol del sistema dopaminérgico en la regulación de la vigilia y de las oscilaciones gamma del EEG

Diego Gallo¹, Santiago Castro¹, Matías Cavelli^{1,2}, Joaquín Gonzalez¹ and Pablo Torterolo¹

¹Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Department of Psychiatry, University of Wisconsin, Madison, WI, USA

Nuestra vida transita por tres estados comportamentales: vigilia (W), sueño no-REM (NREM) y sueño REM. Estos estados se pueden diferenciar por el electroencefalograma (EEG), donde se destaca que la potencia de las oscilaciones gamma (30 a 45 Hz) y su acoplamiento entre diversas áreas corticales (coherencia), difieren entre los estados. También se ha demostrado que la banda gamma está involucrada en las funciones cognitivas. El sistema dopaminérgico participa activamente en la generación y mantenimiento de una vigilia motivada. No obstante, aún se desconoce su rol en la regulación del ritmo gamma. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar los efectos del haloperidol (antagonista de los receptores dopaminérgicos tipo-D2) en la potencia y coherencia de la banda gamma. Cinco gatos adultos fueron preparados para registros polisomnográficos. Posteriormente fueron estudiados durante la W y el sueño fisiológico, y luego de la administración de haloperidol (4 mg/kg, i/m). A continuación, se analizaron los tiempos totales de W y sueño, así como la potencia y coherencia gamma del EEG. Se observó una disminución del tiempo en vigilia y del sueño REM acompañado de un aumento del sueño NREM. Por momentos, este sueño NREM mostró una actividad gamma con características de W (estado disociado). Tanto en la W como en el sueño NREM bajo haloperidol, la potencia y la coherencia gamma mostraron una disminución de su frecuencia. Nuestros resultados muestran que el haloperidol promueve el sueño NREM, y sugieren que el sistema dopaminérgico regula las oscilaciones gamma.

15#. MESA CITOESQUELETO Y POLARIDAD CELULAR LISTO • ORGANIZA SUMI

El citoesqueleto y la polaridad celular bajo la "lupa" organización del citoesqueleto periódico de actina /espectrina asociado a la membrana en axones in situ

Nicolás Insain • Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, INIMEC-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

El esqueleto periódico de actina y espectrina asociado a la membrana (MPS) está presente de forma ubicua en los axones maduros de todos los tipos neuronales evaluados hasta el momento. El MPS es una estructura proteica periódica que consiste en "anillos" de actina ubicados transversalmente al axón y separados cada 190 nm por "espaciadores" de α/β espectrina extendidos a lo largo del axón. Desde su descubrimiento, la caracterización del MPS se ha realizado casi exclusivamente en neuronas cultivadas; a saber, entornos artificiales en dos dimensiones. Por lo tanto, nos propusimos estudiar la organización espacial y la biología de estas estructuras en su entorno "natural", es decir, in situ. Además, todavía no está claro cómo se organizan los tetrámeros de espectrina en cada segmento de este andamio periódico. Teniendo todo esto en cuenta, hemos comenzado a analizar la organización transversal de los tetrámeros de espectrina en el MPS de los axones dentro de los nervios de ratón, concretamente los nervios óptico y ciático. El MPS no se puede evidenciar mediante microscopía de fluorescencia convencional, ya que su periodicidad (~190 nm) está por debajo del límite de resolución (~250 nm). Para alcanzar la resolución necesaria en el tejido utilizamos microscopía de 3D-STORM. Voy a presentar datos que nos permitan identificar reglas de organización de los tetrámeros de espectrina dentro del MPS en el tejido nervioso.

Dinámica espacio-temporal de actividad de la rhoGTPasa pequeña rhoa durante la diferenciación y crecimiento axonal

Mariano Bisbal • Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, INIMEC-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

La familia de las Rho GTPasas pequeñas, junto a sus proteínas efectoras, regulan diferentes procesos vitales durante la diferenciación y el desarrollo neuronal. En particular se conoce que RhoA, y su efector aguas abajo Rho Kinase (ROCK), tienen un efecto inhibitorio durante la especificación y crecimiento axonal en neuronas de hipocampo, como así también un fuerte efecto inhibitorio durante la regeneración axonal de neuronas sensoriales. Sin embargo, en este trabajo presentamos evidencia que la señalización de RhoA tiene un rol dual durante el crecimiento axonal. Utilizando biosensores de actividad basados en FRET encontramos una alta actividad de RhoA en conos de crecimiento de neuritas menores y en axones diferenciados en activa elongación (estadio 3 tardío); por el contrario, observamos baja actividad de RhoA en los conos de crecimiento de neuritas en proceso de diferenciación a axones. A su vez, la actividad de ROCK es alta en las neuritas menores, pero se mantiene baja tanto en los axones en proceso de diferenciación como en elongación. Los efectores aguas abajo, ROCK y la formina mDia, median los efectos inhibidores y estimulantes de RhoA en el desarrollo del axón, respectivamente, al afectar de manera diferencial la dinámica de los microtúbulos del cono de crecimiento. En conjunto, nuestros resultados demuestran que RhoA tiene actividades estimulantes e inhibitoras dependiendo de cuándo y dónde ejerce su acción y los efectores aguas abajo involucrados.

364. Botulinum a dose-effect analysis for intervention in an animal model of retinal degeneration

Monica L Acosta¹, Malvinder Singh-Bains², Nancy Liu¹, Mai Truong¹, Sarah Ready¹, Gabriela Casanova³

¹School of Optometry and Vision Science; New Zealand National Eye Centre; Centre for Brain Research; The University of Auckland, Auckland, New Zealand

²Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

This project investigated the effect of synaptic protein modulation as a therapeutic approach for diseases of the eye caused by excessive neurotransmitter release. We used botulinum A (Botox) in an *in vivo* model of retinal ischaemia. Ischaemic eyes were created by elevating intraocular pressure. Botulinum A was injected intravitreally and retinal function was monitored using an electroretinogram (ERG) 24 hrs and 1-week post intervention. Tissues were collected and histological analysis was carried on samples from four treatment groups: ischemic retinas =36 rats; control eyes= 48; normal eyes injected with toxin= 36. Tissues were collected for immunocytochemical analysis of synapsis markers, neurotransmitter expression and electron microscopy imaging for sub structural analysis of the synaptic layers. Low doses of botulinum A did not improve retinal activity but high doses below the toxic effect significantly improved neuronal function in the glaucoma model ($p < 0.001$, ANOVA), affecting the PII, PIII and oscillatory potentials in the ERG. Markers of the retinal synapses were compared to normal retina after 24 hrs. There were no changes in the expression pattern of other synaptic terminal proteins SNAP 25 and synapthophysin in control, ischemic and treated eyes. The invagination in the retinal photoreceptor synapses was highly organized in treated tissues. There was a significant reduction ($p < 0.01$, ANOVA) in the number of dying cells in the ganglion cell layer 24 hrs after treatment. The results suggest that inhibition of neurotransmitter release prevents retinal damage in this model of ocular ischemia. Botulinum A in the short-term restores retinal function.

Keywords: botox, retinal degeneration, synaptic marker

365. Caracterización de la dinámica de los progenitores de fotorreceptores durante el desarrollo del pez cebra

Aparicio, Gonzalo^{1,2}; Zolessi, Flavio R.^{1,2}

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, UdelaR

²Institut Pasteur de Montevideo

Las neuronas del sistema nervioso central derivan de células neuroepiteliales y diferencian dentro de un ambiente epitelial altamente polarizado. La retina de vertebrados es un paradigma para el estudio de la diferenciación neuronal *in vivo*, dada su organización laminar relativamente simple y altamente conservada. Los fotorreceptores son células muy particulares ya que presentan, al mismo tiempo, características de células neuronales (extensión de un axón) y una polaridad de tipo epitelial. Interesados en entender como obtienen

esta organización celular única, estudiamos los estadios iniciales de diferenciación en la retina del pez cebra. Caracterizamos un patrón estereotipado de diferenciación: los progenitores se desprenden de la lámina basal, retrayendo rápidamente un proceso basal mientras el soma celular se transloca apicalmente. Se ubican así en la región apical, donde permanecerán de manera definitiva formando la capa nuclear externa (ONL). Durante este estadio inicial pre-mitótico de su diferenciación, las células extienden múltiples extensiones celulares en el espacio sub-retiniano, similares a filopodios que denominamos "procesos tangenciales". Mediante diferentes aproximaciones experimentales demostramos que están compuestos mayoritariamente por filamentos de actina. Además, estudiamos la actividad del córtex celular en progenitores de fotorreceptores en otro órgano fotosensible, la glándula pineal. Encontramos una dinámica similar con múltiples prolongaciones celulares durante la diferenciación de estas células, aunque con una diferencia notoria: los procesos celulares se extienden desde la región basal. Nuestros resultados muestran una dinámica compleja de diferenciación durante la formación de la ONL y el desarrollo de la glándula pineal previo a los estadios posteriores de maduración.

Palabras claves: retina, fotorreceptores, neuroepitelio, neurogénesis

366. Marcado específico de adipocitos y análisis de su diferenciación in vivo en pez cebra

Lepanto, Paola¹; Levin, Florencia¹; Koziol, Uriel²; Malacrida, Leonel^{3,4}; Badano, José L.¹.

¹Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay

²Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur Montevideo and Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La hiperplasia del tejido adiposo blanco es importante para el manejo del exceso de energía en forma saludable. Los mecanismos que dan lugar al proceso de formación de nuevos adipocitos o adipogénesis se han estudiado ampliamente en sistemas in vitro, faltando información sobre los factores que influyen en este proceso in vivo. Esto puede ser estudiado en pez cebra, sin embargo actualmente la identificación de adipocitos in vivo depende del marcado de lípidos neutros, no siendo accesibles las primeras etapas de la diferenciación. En este trabajo generamos y analizamos la nueva línea transgénica de pez cebra fabp4a(-2.7):EGFPcaax. La observación de los depósitos pancreáticos y viscerales por medio de microscopía confocal mostró la presencia de adipocitos maduros marcados así como células en estadios más tempranos de diferenciación. A través del co-marcado de vasos sanguíneos observamos la interacción entre adipocitos en diferenciación y células endoteliales a través de protrusiones de membrana. Finalmente, por medio del marcado de larvas con Nile Red, adquisiciones hiperespectrales y análisis por medio de fasores espectrales evidenciamos la diferenciación de adipocitos in vivo a través del seguimiento de la acumulación de lípidos neutros. En suma este trabajo presenta la caracterización de una nueva línea de pez cebra que permite el marcado de adipocitos y muestra aspectos nuevos sobre la adipogénesis in vivo.

Palabras clave: pez cebra, adipocitos, Nile Red, vasos sanguíneos

16#. MESA PUSHING ULTRASOUND IMAGING TO THE LIMITS OF SPATIO-TEMPORAL RESOLUTION: ULTRASOUND LOCALIZATION MICROSCOPY • ORGANIZA SUMI

Ultrasound localization microscopy: basic principles and applications

Mickael Tanter • Physics for Medicine Paris, Inserm U1273, ESPCI Paris, PSL University, CNRS UMR 8063, 75012 Paris, France

In the last twenty years, three fundamental barriers of ultrasound imaging - temporal resolution, sensitivity to blood flow and spatial resolution - were broken with several orders of magnitude. These conceptual changes led to the advent of Ultrasound as a full fledged neuroimaging modality for fundamental research in neuroscience and for clinical applications. Building on the concept of acoustic holography, ultrafast ultrasound imaging at thousands of frames per second made it possible to detect very subtle blood flow changes in small cerebral vessels during neuronal activity and introduced functional ultrasound imaging (fUSi) as a full-fledged neuroimaging modality. When

combined with intravenously injected contrast agents, ultrafast imaging provides in vivo non-invasive imaging of whole brain hemodynamics up to microscopic scales. This Ultrasound Localization Microscopy (ULM) of the cerebrovascular system is achieved by localizing and tracking the exact position of millions of 1-3 μm diameter microbubbles deep into the brain. Finally, by tracking the dynamics of these microbubbles during neuronal activity, it is possible for the first time to perform whole brain functional neuroimaging in rodents at the microscopic scale. With the growing evidence of early vascular or neurovascular dysfunction in neurodevelopmental and neurodegenerative diseases, such functional Ultrasound Localization Microscopy could improve the fundamental understanding, early screening and monitoring of the alterations in the developing and aging brain.

Functional ultrasound of the brain

Thomas Deffieux • *Physics for Medicine Paris, Inserm U1273, ESPCI Paris, PSL University, CNRS UMR 8063, 75012 Paris, France*

With the development of ultrafast ultrasound imaging at thousands of frames per second, the sensitivity of ultrasound to blood flow has increased by two orders of magnitude in the previous decade. This access to small brain arterioles flow led to the introduction of ultrasound as a fully functional neuroimaging technique in neuroscience. Much like functional MRI or functional optical imaging, functional Ultrasound (fUS) takes advantage of the neurovascular coupling. Its portability, ease of use, and spatial and temporal resolution make fUS an interesting tool for preclinical imaging of brain activity using functional imaging.

Its potential for neuroscience research has been shown in numerous studies using a variety of small to large animal models, and this number is rapidly increasing. Recent developments have now been proposed to perform volumetric functional ultrasound imaging. Beyond preclinical imaging, initial proof of concept human applications show promise and demonstrate a clear clinical interest, particularly in human neonates, during surgery, or even for the development of non invasive brain machine interfaces.

367. Intensity distribution segmentation in ultrafast doppler combined with scanning laser confocal microscopy for assessing vascular changes associated with ageing and degeneration in murine hippocampi

Anzibar Fialho, Maximiliano^{1,2}; Vázquez Alberdi, Lucia³; Martínez, Mariana³; Calero, Miguel^{4,5}; Baranger, Jerome⁶; Tanter, Mickael⁶; Damián, Juan Pablo⁷; Negreira, Carlos¹; Rubido, Nicolás^{2,8}; Kun, Alejandra^{3,9}; Brum, Javier¹

¹Laboratorio de Acústica Ultrasonora, Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, 11400, Montevideo, Uruguay

²Física No Lineal, Inst. Física de Facultad de Ciencias, Universidad de la República, 11400 Montevideo, Uruguay

³Departamento de Proteínas y Ácidos Nucleicos, Laboratorio de Biología Celular del Sistema Nervioso Periférico, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, 11600 Montevideo, Uruguay

⁴Unidad de Encefalopatías Espongiformes, UFIEC, CIBERNED, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

⁵Queen Sofia Foundation Alzheimer Center, CIEN Foundation, Madrid, España

⁶Physics for Medicine Paris, Inserm U1273, ESPCI Paris, PSL University, CNRS UMR 8063, 75012, Paris, Francia

⁷Departamento de Biociencias Veterinarias, Fac. Veterinaria, Universidad de la República, 13000 Montevideo, Uruguay

⁸Present address: Institute for Complex Systems and Mathematical Biology, University of Aberdeen, King's College, Aberdeen AB24 3UE, Reino Unido

⁹Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, 11400 Montevideo, Uruguay

The hippocampus plays an important role in learning and memory, requiring high neuronal oxygenation. Understanding the relationship between blood flow and vascular structure - and how it changes with ageing - is physiologically and anatomically relevant. Ultrafast Doppler ($\mu\text{Doppler}$) and scanning laser confocal microscopy (SLCM) are powerful imaging modalities that can measure in vivo cerebral blood volume (CBV) and post mortem vascular structure, respectively. Here, we apply both imaging modalities to a cross-sectional and longitudinal study of hippocampi vasculature in wild-type mice brains. We introduce a segmentation of CBV distribution obtained from $\mu\text{Doppler}$ and show that this mice-independent and mesoscopic measurement is correlated with vessel volume fraction (VVF) distribution obtained from SLCM - e.g., high CBV relates to specific vessel locations with large VVF. Moreover, we find significant changes in CBV distribution and vasculature due to ageing, highlighting the sensitivity of our approach. Overall, we are able to associate CBV

with vascular structure - and track its longitudinal changes - at the artery-vein, venules, arteriole, and capillary levels. Recently we apply this strategy to compare CBV in wild type and Trembler-J mice, as Charcot-Marie-Tooth neurodegenerative model. We believe that this combined approach can be a powerful tool for studying other acute (e.g., brain injuries), progressive (e.g., neurodegeneration) or induced pathological changes.

Palabras clave: Ultrafast Doppler, Confocal Microscopy, ageing, hippocampi

368. Ultrasonido funcional para el estudio de la actividad vascular cerebral en ratones de genotipo TrJ y wt
 M. Anzibar Fialho¹, M. Martínez², L. Vázquez², J. Baranger³, M. Tanter³, M. Calero⁴, C. Negreira¹, N. Rubido^{1,5}, A. Kun^{2,6}, J. Brum¹

¹ Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

² Lab. Biología Celular del Sistema Nervioso Periférico, Inst. Inv. Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

³ Physics for Medicine Paris, CNRS, Paris, France

⁴ Chronic Disease Programme, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

⁵ Institute for Complex Systems and Mathematical Biology, University of Aberdeen, King's College

⁶ Sección bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

El ultrasonido funcional (fUS) consiste en utilizar la técnica de Power Doppler ultrarrápido para estudiar la variación del volumen sanguíneo de los vasos (CBV), en este caso aplicándolo a la vasculatura cerebral. A partir de un estímulo específico (el movimiento de los bigotes) se estudió la activación de la región cerebral correspondiente, la corteza somatosensorial primaria (S1BF) y la conectividad entre distintas regiones del cerebro. Con el objetivo de explorar el compromiso vascular y la respuesta funcional en el genotipo neurodegenerativo CMT1E, se llevaron a cabo experimentos en ratones de genotipo wt y de genotipo TrJ válidos como modelo de la afección humana. Luego de ser anestesiados, se les afeitó la cabeza y se colocaron en un sistema estereotáxico que permite alinear la sonda ultrasónica con el plano coronal del cerebro. Para el fUS se utiliza una sonda de 15MHz de 128 elementos conectada a un sistema Vantage de Verasonics. Se adquiere una imagen Doppler cada 1 segundo por un periodo total de 380 segundos donde se estimula con un patrón ON-OFF de activación de los bigotes. Es posible construir mapas de activación, donde cada pixel corresponde a la correlación entre la señal de CBV y el estímulo. Se observaron las variaciones de la señal temporal promedio de S1BF respecto al estímulo. Se realizó un análisis estadístico que compara ratones wt y TrJ, encontrando diferencias en la dinámica de activación y en la conectividad entre regiones de la corteza contigua al estímulo.

17#. MESA UNA MIRADA AL FUTURO DE LA MICROSCOPIA OPTICA • ORGANIZA SUMI

Una mirada al futuro de la microscopía óptica

Rafael Piestun • Department of Electrical and Computer Engineering and Department of Physics, University of Colorado Boulder, USA

Optical computational imaging seeks enhanced performance and new functionality by the joint design of illumination, unconventional optics, detectors, and reconstruction algorithms. Among the emergent approaches in this field, two remarkable examples enable overcoming the diffraction limit and imaging through complex media. Abbe's resolution limit has been overcome, enabling unprecedented opportunities for optical imaging at the nanoscale. Fluorescence imaging using photoactivatable or photoswitchable molecules within computational optical systems offers single molecule sensitivity within a wide field of view. The advent of three-dimensional point spread function engineering associated with optimal reconstruction algorithms provides a unique approach to further increase resolution in three dimensions. Focusing and imaging through strongly scattering media has also been accomplished recently in the optical regime. By using a feedback system and optical modulation, the resulting wavefronts mitigate the effects of multiple scattering upon propagation through the medium. Phase-control holographic techniques help characterize scattering media at high-speed using micro-electro-mechanical technology, allowing focusing through a temporally dynamic, strongly scattering sample, or a multimode fiber.

369. Desarrollo de la microscopía de super resolución en Uruguay: puesta a punto del primer microscopio compatible con dSTORM Y DNA-PAINT del país.

Di Paolo, Andrés^{1,2}; **Garat, Joaquín**³; **Olivera, Silvia**^{1,4}; **Rodríguez-Casuriaga, Rosana**^{1,5}; **Piccini, Claudia**^{1,6}

¹Plataforma de Microscopía Confocal y Epifluorescencia, IIBCE

²Unidad de Bioimagenología Avanzada (UBA), Hospital de Clínicas UdelaR – Institut Pasteur Montevideo

³Departamento de Genómica, IIBCE

⁴Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, IIBCE

⁵Departamento de Biología Molecular, IIBCE

⁶Departamento de Microbiología, IIBCE

La microscopía de fluorescencia es una herramienta fundamental en investigación e industria con superlativos avances en las últimas dos décadas. La necesidad de resolver estructuras biológicas nanométricas con preparaciones sencillas en sistemas dinámicos, despertó el interés por superar el límite de difracción de Abbe de 1873, que limitaba la resolución en microscopía fotónica a ~200 nanómetros. Fue así que en 2014 el premio Nobel de Química fue otorgado a quienes desarrollaron independientemente tres metodologías de super resolución (SR): microscopía de localización fotoactivada "PALM", iluminación estructural "SIM" y agotamiento de emisión estimulada "STED". Varias tecnologías derivaron de ellas, incluyendo la consagrada dSTORM (Microscopía de Reconstrucción Óptica Estocástica Directa) y recientemente el DNA-PAINT (Acumulación de Puntos de ADN a Escala Nano-Topográfica). Las mismas son estocásticas y basadas en microscopios de epifluorescencia, disminuyendo su costo respecto a otras tecnologías de SR. En este contexto, en IIBCE se instaló un sistema de SR estocástico a partir de un microscopio Olympus IX-81, láseres de 1 Watt de potencia máxima y una cámara sCMOS con eficiencia cuántica de 95%. Utilizando preparados y fluoróforos compatibles con dSTORM, observamos el efecto de "blinking" y realizamos reconstrucciones para proteínas ribosomales en axones y proteínas del poro nuclear en células. Adicionalmente, mediante un kit DNA-PAINT fluorogénico reconstruimos reglas de 80 y 40 nanómetros, detectamos proteínas ribosomales, neurofilamento liviano y proteínas neo-sintetizadas en axones. Si bien aún está en etapa de ajuste, el microscopio de SR del IIBCE ya es funcional y esperamos genere rápidamente colaboraciones con grupos de investigación nacionales.

Palabras Clave: Super Resolución, dSTORM, DNA-PAINT, Axón, Síntesis Proteica Local

370. Estudio de la proliferación de progenitores retinianos frente a cambios lumínicos en peces anuales *Austrolebias charrua*

Herrera, María Laura^{1,2}; **Silva, Stephanie**¹; **Berrosteguieta, Inés**¹; **Casanova, Gabriela**³; **Rosillo, Juan Carlos**^{1,4}; **Fernández, Anabel**^{1,5}

¹Laboratorio de Neurobiología Comparada, Departamento de Neurociencias Computacionales e Integrativas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁵Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los peces anuales presentan una gran capacidad proliferativa y neurogénica del sistema nervioso adulto. Esta plasticidad responde a diferentes necesidades funcionales del animal como crecimiento, reparación y adaptación al medio. Los peces anuales del género *Austrolebias*, habitan charcos temporales con grandes variaciones lumínicas. En trabajos previos hemos demostrado que existe aumento de la proliferación celular en la retina de peces anuales adultos sometidos a oscuridad permanente por 30 días, relacionado al incremento de bastones. En este trabajo analizamos la distribución y cuantificamos la proliferación y las características de los progenitores retinianos. *A. charrua* machos adultos mantenidos en condiciones de ciclo de luz natural y condiciones de oscuridad permanente durante 11 días fueron inyectados con BrdU, que fue revelado por inmunodetección y combinado con BLBP. Se observó mayor proliferación en la zona marginal ciliar y capa nuclear interna, y menor en la capa nuclear externa. A diferencia de la retina de otros peces, la glía de Müller (GM) BLBP+ mostró una presencia más extendida en la retina neural.

El análisis por microscopía electrónica de transmisión permitió identificar y caracterizar progenitores en las distintas capas de la retina. Nuestros hallazgos indican que la actividad proliferativa es sensible a cambios

lumínicos mostrando una plasticidad adaptativa al servicio de la fisiología visual. Las GM son las candidatas a progenitores que darán origen a distintos tipos celulares de la retina. La importancia de comprender este fenómeno radica también en conocer posibles aspectos reparativos de la retina, más allá de las implicancias adaptativas en peces anuales.

Palabras clave: retina, cambios lumínicos, plasticidad, neurogénesis

371. Fluorescencia de naranja de acridina en células y tejidos interpretada por microscopía hiperespectral y gráficos de fasores

Díaz, Marcela¹; **Zolessi, Flavio**^{1,2}; **Malacrida, Leonel**^{1,3}

¹Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo-Hospital de Clínicas Universidad de la República

²Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Naranja de Acridina (AO) es un fluorocromo catiónico que dadas sus propiedades solvatocrómicas se ha utilizado para marcar diferencialmente ADN y ARN. La fluorescencia de AO permite identificar diferentes estructuras celulares en células fijadas e *in vivo*. Los fasores espectrales (SP, del inglés *spectral phasor*) son una herramienta potente y simple para el análisis de imágenes hiperespectrales (HSI), que permiten convertir el espectro de emisión píxel por píxel en un gráfico polar. El objetivo de este trabajo plantea reinterpretar la fluorescencia de AO en células vivas y fijadas a través de HSI y SP. Utilizando SP segmentamos diferentes regiones celulares, identificando la relación entre estructuras celulares y entornos moleculares de AO, en células NIH-3T3 vivas y fijadas, y en embriones de pez cebra fijados. Se encontraron diferentes componentes en los datos de muestras vivas vs. fijadas.

Se identificaron tres componentes en las células vivas, asociados a AO interactuando con ADN, ARN y un tercer componente (C3). El C3 se asocia en parte con lisosomas, pero también con otras estructuras granulares. En las células y tejidos fijados se observa un nuevo entorno que difiere del C3 identificado *in vivo* y que se asocia con estructuras citoplasmáticas y nucleares. Mediante el análisis de las fracciones de los componentes (ADN, ARN y C3) y segmentación de estructuras celulares se identificaron las proporciones de cada componente. El análisis de la fluorescencia de AO por HSI-SP nos permitió comprender y cuantificar los diferentes componentes y entornos moleculares de AO en células vivas y fijadas.

Palabras clave: colorantes fluorescentes, microscopía confocal, imágenes hiperespectrales, gráficos de fasores

372. Procesamiento de imágenes hiperespectrales utilizando gráfico de fasores para la diferenciación nevo-melanoma por autofluorescencia

Schuty, Bruno¹; **Martínez, Sofía**^{1,2}; **Díaz, Marcela**¹; **Magliano, Julio**⁴; **Lecumberry, Federico**^{1,3}; **Malacrida, Leonel**^{1,4}

¹Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur Montevideo - Hospital de Clínicas, Universidad de la República

²Cátedra de Dermatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República

³Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

⁴Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República

Los gráficos de fasores son una potente herramienta para el análisis y comprensión de imágenes hiperespectrales (HSI). El HSI permite estudiar la autofluorescencia en células/tejidos evaluando el metabolismo celular y también generando huellas dactilares (fingerprints) de las moléculas autofluorescentes. El análisis de fasores en datos de HSI permite obtener una representación gráfica polar, donde las coordenadas x/y corresponden a las coordenadas reales e imaginarias (G y S, x/y) en el espacio de Fourier. Una propiedad muy importante de los fasores es la reciprocidad entre la imagen y el gráfico de fasor. Utilizando esta propiedad podemos identificar fingerprints provenientes de la autofluorescencia en el tejido en estudio. El melanoma cutáneo es una neoplasia maligna y agresiva que se origina de melanocitos. Su letalidad es significativa en estadios avanzados, causando aproximadamente 100 muertes/año en Uruguay. Utilizando HSI-fasor en cortes histológicos fijados en parafina y sin tinción, comparamos los fingerprints de la autofluorescencia de piel en nevos contra melanomas. Para ello se desarrolló una serie de código, algoritmos y protocolos que comienzan desde la adquisición de la imagen HSI en un microscopio confocal comercial con detección espectral e

iluminación ultravioleta (UV, 405nm). Los resultados obtenidos muestran que esta herramienta puede identificar tanto cualitativa como cuantitativamente la presencia de fingerprints en cortes histológicos, que permiten segmentar regiones y diferenciar melanocitos de nevos contra melanomas. Nuestro método de HSI-fasor de autofluorescencia en cortes histológicos de parafina sin teñir es sencillo, robusto y permite apoyar a la anatomía patológica convencional en el diagnóstico de melanoma.

Palabras claves: microscopía, autofluorescencia, melanomas, fasores, procesamiento de imágenes

18#. MESA AVANCES EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Las temáticas que se abordarán en esta mesa tratan diversos aspectos de la biología básica y molecular de la biología reproductiva, así como su vinculación con aspectos clínicos relacionados con la fertilidad humana. La mesa reúne a investigadores ampliamente reconocidos en el área y jóvenes investigadores que trabajan en laboratorios de nuestro país y que fueron seleccionados a partir de los resúmenes enviados a éste congreso.

Expositores:

1- Dra. Celia Santi Grau • Department of Obstetrics & Gynecology Center for Reproductive Health Sciences Washington University, School of Medicine (St. Louis, MO, USA.)

2- Dra. Débora Cohen • Instituto de Biología y Medicina Experimental –CONICET (Argentina) *“Mecanismos celulares asociados a la activación del ovocito”*

3- Ignacio García-Martínez • Lab. Biología Molecular de la Reproducción, Depto. Biología Molecular, IIBCE, (Montevideo, Uruguay) *“Meiosis e infertilidad humana: un enfoque experimental para la caracterización de mutaciones encontradas en pacientes infértiles y vinculadas al complejo sinaptonémico”*

4- Silvana Pereyra • Lab. Epidemiología Genética Depto. Genética, Facultad de Medicina, UDELAR (Montevideo, Uruguay) *“Buscando las bases genéticas del parto prematuro en la población uruguaya”*

5- Agustina Toledo • Laboratorio de Biología de la Reproducción. Depto. Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UDELAR (Montevideo, Uruguay) *“Evaluación de los efectos de la quimioterapia basada en Vincristina sobre el ovario y su atenuación por dicloroacetato ”*

6- Florencia Peña • Lab. Neurobiología del sueño. Depto. Fisiología, Facultad de Medicina, UdeLaR (Montevideo, Uruguay) *“Efectos de la restricción de sueño durante el postparto en el comportamiento maternal y la lactancia de la rata”*

373. Efectos de la restricción de sueño durante el postparto en el comportamiento maternal y la lactancia de la rata

Peña, Florencia¹; Serantes, Diego¹; Rivas, Mayda¹; Castro, Juan Pedro¹; Torterolo, Pablo¹; Rodríguez, Claudio²; Hernández, Ana²; Benedetto, Luciana¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias/Facultad de Química, Universidad de la República

La restricción de sueño (RS) es una situación estresante en sí misma y una condición inherente a las primeras etapas del postparto. Diversas condiciones de estrés pueden alterar la cantidad de leche eyectada (LE), su composición y el cuidado materno. Nos preguntamos cómo la RS aguda (RSA) o crónica (RSC) modifica estas variables. A ratas madres implantadas para registros polisomnográficos, se les realizó RS entre los días 5-9 postparto (DPP5-9; parto = DPP0) durante seis horas por cinco días (RSC), un día (RSA en DPP9) o sin RS (control, C), donde se registró el ciclo sueño-vigilia, el comportamiento maternal y el peso de la camada (medida indirecta de LE). En DPP9, las madres fueron ordeñadas para el posterior análisis de los macronutrientes. Nuestros resultados mostraron que RSC disminuye la LE en comparación con C durante DPP6 (C: 3.55±0.52; RSC: 1.12±0.51 g; p=0.005) y DPP7 (C: 3.57±0.49; RSC: 1.18±0.43 g; p=0.003). RSA disminuyó el contenido

proteico de la leche ($6.1 \pm 0.2\%$) en comparación con RSC ($7.6 \pm 0.3\%$; $p=0.007$) y C ($7.7 \pm 0.4\%$; $p=0.003$). Respecto al comportamiento maternal, RSC disminuyó los lamidos corporales en comparación con C en DPP8 (C: 27.09 ± 5.12 ; RSC: 13.13 ± 2.22 ; $p=0.040$) y en DPP9 (C: 34.18 ± 4.55 ; RSC: 12.88 ± 3.89 ; $p=0.007$), y los lamidos anogenitales en DPP9 en comparación con C (C: 22.00 ± 3.90 ; RSC: 6.50 ± 2.35 ; $p=0.005$). Estos datos sugieren una capacidad adaptativa en la lactancia frente a la RS, posiblemente asegurando la supervivencia de la camada, no así en el comportamiento materno, el cual presenta un deterioro acumulativo.

Palabras clave: lactancia, comportamiento maternal, privación de sueño, macronutrientes

374. Evaluación de los efectos de la quimioterapia basada en vincristina sobre el ovario y su atenuación por dicloroacetato

Toledo, Agustina¹; Hernández, Karina¹; Anesetti, Gabriel¹; Chavéz, Rebeca¹

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Muchas drogas quimioterápicas resultan gonadotóxicas, afectando los folículos ováricos y alterando la fertilidad. La vincristina, utilizada en el tratamiento de enfermedades hematológicas, provoca desestabilización de los microtúbulos, deteniendo la proliferación celular. Recientemente se ha mostrado que induce daño mitocondrial. En el ovocito, la funcionalidad mitocondrial se encuentra en estrecha relación con la calidad ovocitaria. El dicloroacetato (DCA) mejora el estado funcional mitocondrial, por lo que hipotetizamos que esta mejora disminuiría los efectos gonadotóxicos producidos por la vincristina. El modelo experimental incluyó ratonas expuestas a vincristina durante 10 días, otras a las que concomitantemente se les administró DCA en el agua de beber y sus respectivos controles. Se evaluaron las características histoarquitecturales y la población folicular del ovario y se caracterizaron los patrones de proliferación y muerte celular mediante inmunohistoquímica. Los grupos expuestos a vincristina presentaron una disminución del porcentaje de folículos preantrales sanos comparados con los no expuestos, sin diferencias entre los animales que recibieron DCA y los que no. La inmunohistoquímica anti-caspasa 3 activada mostró aumento significativo del porcentaje de folículos antrales atrésicos en los grupos expuestos a vincristina respecto al control, y entre los grupos a los que se les administró DCA. La inmunohistoquímica anti-FOXO3a mostró una disminución significativa de folículos primordiales con marca nuclear en el grupo expuesto a vincristina. Los resultados muestran que la vincristina induce un aumento de la apoptosis en los folículos en crecimiento, acompañado de un aumento en los folículos primordiales activados. La administración de DCA no parece revertir estos efectos.

Palabras clave: Gonadotoxicidad; modulación mitocondrial, folículos ováricos

19#. MESA INGENIERIA BIOMEDICA

SIMPOSIO: INGENIERÍA BIOMÉDICA E INFORMÁTICA MÉDICA YA NO SE DISTINGUEN EN EL INTERNET DE LAS COSAS APLICADA A LA MEDICINA

Coordina: Franco Simini

Participan:

Isabel Morales, Natalia Garay, María Rene Ledezma, Darío Santos, Carla Taramasco (Chile), Marta Bez (Brasil), Néstor Duque (Colombia), Guillermo Cortela y César Alexandre Teixeira.

375. Calibración ponderal de sensores resistivos en plantillas del vestíbulo diápodal

Morales, Isabel¹; Martins, Pedro²; Marques Arcelina², Mendes Joaquim³ & Simini, Franco¹

¹Núcleo de Ingeniería Biomédica de las Facultades de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República, Uruguay

²Centro de Innovación en Ingeniería y Tecnología Industrial, Instituto Superior de Ingeniería de Porto, Portugal

³Departamento de Automatización, Instrumentación y Control, Facultad de Ingeniería, Universidad de Porto, Portugal

Introducción: El pie diabético constituye una de las consecuencias más deshabilitantes de la diabetes mellitus que puede presentar lesiones. Es importante monitorear la presión de contacto plantar donde existe mayor repetición y esfuerzo mecánico, para evitar úlceras. La evidencia disponible indica que la presión es la más relevante y accesible; lo que genera la necesidad de mediciones repetibles y precisas. Información que será incorporada en un dispositivo vestible, DIAPODAL, para estimar la energía podal disipada durante la marcha.

Objetivo: Calibrar los sensores de fuerza resistivos mediante un sistema de adquisición de presiones para determinar la presión plantar.

Metodología: Se comparan tres métodos de calibración de manera variable e invariante en el tiempo. Se incluyen diagramas de flujo para cada método, se adquieren los datos y se grafican las curvas de los 8 puntos de presión para 10 diferentes masas entre 1.5 N y 44 N, cinco medidas cada tres segundos.

Resultados: Se obtiene una curva polinómica propia para cada uno de los ocho sensores resistivos que constituyen familias de curvas para cada método. La histéresis de cada sensor es característica de cada uno para su inclusión en instrumentos de medida de presión plantar.

Discusión y conclusiones: Esta calibración de sensores de presión resistivos permite obtener, con un circuito de adquisición de señales analógicas, el valor de presión en cada punto plantar crítico. De esta manera, junto con otras variables obtenidas durante la marcha, se podrá estimar el riesgo de lesión inminente para cada punto de presión.

Palabras clave: calibración, presión, plantar, sensores, pie diabético

376. Movimiento 3d de la rodilla en tareas motoras en cadena abierta y cerrada cuantificado con ChakaMo **Ledezma, María Rene**¹; **Simini, Franco**¹

¹ Núcleo de Ingeniería Biomédica, Facultad de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República

Introducción: La evaluación de la articulación de la rodilla se basa habitualmente en imágenes estáticas y observación clínica. En el desarrollo de un nuevo instrumento, ChakaMo, presentamos los primeros resultados cuantitativos del movimiento de la rodilla en los tres ejes de movimiento.

Materiales y métodos: ChakaMo consiste en dos sensores magneto inercial (MIMU) ubicados en el muslo y en la pierna, conectados por Bluetooth a una aplicación de computadora. ChakaMo incluye calibración previa, adquisición y procesamiento de datos 3D en tiempo real. Las tareas motoras que se estudian son (A) paso hacia arriba a una pierna (escalón de 16 y 44 cm), (B) extensión de pierna en silla, (C) pararse y sentarse de silla (D) pedaleo en bicicleta con sillín ajustable.

Resultados: El rango promedio sobre 10 ciclos de flexo-extensión fue de A-16cm: 74.04°, A-44cm: 129.75°, B: 67.01°, C: 77.44°, D-bajo: 146.13° y D-alto: 136.50°. Para la rotación fue de A-16cm: 8.92°, A-44cm: 19.15°, B: 9.61°, C: 8.28°, D-bajo: 10.24° y D-alto: 10.77°. Y para la aducción abducción fue de A-16cm: 8.06°, A-44cm: 13.27°, B: 8.32°, C: 8.30°, D-bajo: 9.51° y D-alto: 8.88°.

Discusión y conclusiones: La forma de onda de flexo-extensión presenta variaciones según la tarea motora. La posición del sillín en la bicicleta determina la máxima extensión siendo esta mayor cuando el sillín está en una posición alta. Respecto a los ángulos de rotación y abducción aducción se observan rangos promedio similares siendo menor el de abducción aducción. A pesar de esa similitud las formas de onda presentan diferencias.

Palabras clave: Sensores magneto - inerciales, movimiento 3D, rodilla, tareas motoras

377. Ondas ultrasonoras atenuadas por huesos temporales adultos y pediátricos en el proyecto CENEPSIA

Garay, Natalia¹; **Benech, Nicolas**²; **Cortela, Guillermo**²; **Prinzo, Humberto**³ & **Simini Franco**¹

¹Núcleo de Ingeniería Biomédica de las Facultades de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República

²Laboratorio de Acústica Ultrasonora, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Instituto de Neurología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Introducción: El ultrasonido tiene potencial para el tratamiento tópico del tejido nervioso.

Hipótesis: Para concentrar y depositar energía, el haz debe atravesar el cráneo con aberración y atenuación mínimas. Si se lograra disipar energía en el volumen controlado, se podría fundamentar el desarrollo de un nuevo instrumento clínico, que hemos llamado CENEPSIA. Describimos algunas piezas anatómicas craneales, sus características geométricas y respuesta al ultrasonido de huesos temporales.

Materiales y métodos: Usamos un transductor ultrasónico, un hidrófono desplazante en pasos de 0.1mm y la muestra interpuesta, todo en un baño de agua desgasificada. El transductor produce un pulso amplificado. Un osciloscopio presenta la señal de cada punto de la exploración longitudinal. Tomando como origen la extremidad del hidrófono, a 0.5mm se encuentra el hueso y a 7mm el transductor. La exploración longitudinal fue de 50 mm.

Resultados: La atenuación del haz fue 50% como consecuencia de la interposición del hueso temporal ya sea pediátrico o adulto. El hueso adulto, además, tuvo el efecto de alterar el foco.

Discusión y conclusión: La atenuación del orden del 50% en amplitud es equivalente a una disminución al 25% en términos de energía entregada, lo que deberá ser considerado para todo dispositivo destinado a alcanzar un foco epiléptico. El acercamiento del foco de ultrasonido al hueso deberá también ser tenido en cuenta al diseñar el dispositivo que apunte a un foco epiléptico. Se observaron fenómenos de refracción y aberración.

Palabras clave: ultrasonido, neurofisiología, atenuación

378. Transferencia tecnológica como epílogo de la investigación en equipos biomédicos

Simini Franco • Núcleo de Ingeniería Biomédica de las Facultades de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República Uruguay

Introducción: Las necesidades clínicas de equipos y aplicaciones telemáticas planteadas al NIB son estudiadas y generalmente satisfechas por productos del mercado. Una proporción menor (10%) es retenida como posible originalidad. Los prototipos realizados en el NIB son a su vez una parte de esta cartera de proyectos, que constituyen las líneas de investigación. Realizados los prototipos se buscan empresas receptoras de Transferencia Tecnológica.

Hipótesis: La asociación entre Universidad y empresas o "start ups" iniciada en etapas tempranas favorece la Transferencia Tecnológica.

Materiales y métodos: Fueron revisados los trece prototipos realizados en cinco años (características, adecuación a los objetivos, posible plan de negocios y eventualmente empresas receptoras).

Resultados: Un producto (DINABANG) fue base de una empresa, *MOVI Technology for life*, que lo comercializa en 8 países. Cinco están en desarrollo (DIAPODAL, CENEPSIA, CHAKAMO, SEPEPE y SISENF). Tres están listos para negociar (ABDOPRE PARKIBIP e IMPETOM). Los cuatro restantes (CUENTARADIO, MONODON, SIPOME y SIMIC) necesitan revisión.

Discusión y conclusión: La Transferencia Tecnológica consiste en una sucesión de etapas que (i) inicia durante el desarrollo del prototipo, (ii) se refuerza en etapas académicas ajustándose a la transferencia anticipada, (iii) habilita el producto comercial con la firma de un convenio Universidad/Empresa y (iv) sigue con desarrollo y difusión académicas en paralelo con las ventas. Se puede decir que la Transferencia Tecnológica es el epílogo de la investigación.

Palabras clave: equipos biomédicos, transferencia tecnológica, prueba de concepto, start-up

20#. MESA CIENCIAS DEL MAR

II SIMPOSIO CIENCIAS DEL MAR

129. Ecotoxicidad del sedimento en la zona litoral del río de La Plata en el departamento de Montevideo y su relación con las concentraciones de plomo y cromo

Lagomarsino, Andrea¹; Saona, Gustavo¹

¹ *Investigadores independientes*

Los estuarios son sistemas de transición complejos donde la variabilidad de sus propiedades los convierte en un desafío analítico a la hora de caracterizar su calidad ambiental. Los bioensayos permiten integrar los efectos de múltiples sustancias, siendo considerados buenos indicadores ecotoxicológicos. El objetivo fue determinar los niveles de ecotoxicidad mediante bioensayos de laboratorio en sedimento del Río de la Plata, así como evaluar si dichos niveles difieren entre regiones definidas por los aportes costeros del saneamiento de Montevideo. Se exploró la relación entre la toxicidad y los niveles de plomo y cromo. Se analizó sedimento de sitios ubicados desde el intermareal hasta 2000 m de la línea de la costa del departamento de Montevideo en el periodo 2009 a 2018. Se estudió las determinaciones de plomo, cromo y niveles de toxicidad, utilizando bioensayos (*Vibrio fischeri* y *Hyalella curvispina*). La información provino de la Intendencia de Montevideo, siendo obtenida mediante acceso a la información pública. La presencia de toxicidad se observó con mayor frecuencia en la Zona Media. Con V.

fischeri, las diferencias de toxicidad entre zonas fueron estadísticamente significativas y con *H. curvispina* no lo fueron. Los metales presentaron excedencias para el nivel TEL y PEL con baja frecuencia y predominio en la Bahía de Montevideo. Los análisis de regresión y correlación mostraron relaciones débiles entre los metales y la toxicidad. Se confirmó la presencia de toxicidad en sedimento con ambos bioensayos, con un predominio relativo en la zona de mayores aportes de saneamiento de la ciudad de Montevideo.

Palabras clave: ecotoxicidad, bioensayos, sedimentos, estuario, Río de la Plata

379. Alimentos de origen marino en Uruguay, conocimientos, actitudes y prácticas de los cocineros profesionales en un país de espaldas al mar

Lercari, Diego¹; **Martínez, Gastón**²; **Del Bo, Mario**³; **Mazzucchelli, Isabel**³

¹Unidad de Ciencias del Mar (UNDECIMAR), Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Grupo de Estudios Pesqueros y de Impacto Ambiental (GEPEIA), CURE, Universidad de la República ³ Instituto Uruguayo Gastronómico (UG), Punta del Este

A pesar de sus valiosos y diversos recursos marinos, Uruguay presenta un nivel muy bajo de consumo de productos del mar, aunque el mismo es recomendable para la dieta humana. Sin embargo, muchos de nuestros recursos pesqueros podrían estar explotados de forma insostenible. El aumento de la actividad gastronómica en el país convierte a los cocineros profesionales en actores clave, que podrían influir en el consumo de productos del mar de forma sostenible. Entonces, el objetivo de este trabajo es analizar los Conocimientos, Actitudes y Prácticas de un grupo focal del sector gastronómico, evaluando su potencial como promotores de cambios en los hábitos alimentarios hacia los productos del mar. Los resultados muestran que el conocimiento de los productos del mar es muy bajo. Los temas más conocidos están relacionados con la gestión; sus herramientas e instituciones. Los aspectos menos conocidos se refieren a las "zafras" y al origen de los productos. Se evidencia una actitud positiva hacia la necesidad de fomentar el consumo de productos del mar siguiendo criterios de sostenibilidad. Los productos del mar están bien representados en los menús de los restaurantes especializados, destacándose en la oferta. En cuanto a la compra, las prácticas muestran la importancia de la oferta de temporada, la sostenibilidad y las preferencias personales de los cocineros. Destaca la importancia de la compra directa a los pescadores artesanales. Se concluye que mejorar el conocimiento de los profesionales redundaría en prácticas de consumo que promuevan un mayor consumo sostenible de productos del mar.

Palabras clave: seafood, knowledge, attitudes and practices, sustainability, chefs

380. Desentrañando el papel de factores locales y regionales en la estructuración de poblaciones del berberecho *Donax hanleyanus* en playas arenosas

Eleonora Celentano¹; **Julio Gómez**²; **Diego Lercari**¹; **Anita de Álava**¹; **Omar Defeo**¹

¹UNDECIMAR, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo 11400, Uruguay

²Centro Universitario Regional Este (CURE), Universidad de la República, Rocha 27000, Uruguay

Los cambios en la estructura y dinámica poblacional de la macrofauna en playas arenosas son resultado de la acción simultánea de factores locales y regionales. Esto es particularmente notorio en sistemas de transición entre ecosistemas dulce-acuícolas y marinos, donde gradientes de gran escala afectan a la morfodinámica local de las playas y a la fauna residente. El berberecho *Donax hanleyanus* habita playas con morfodinámica contrastante a lo largo del gradiente de salinidad generado por el estuario del Río de la Plata. Se analizó la distribución de la especie en Uruguay para evaluar los efectos sincrónicos de la variación regional de salinidad y la morfodinámica local de cada playa sobre las poblaciones de berberecho a lo largo de 400 km (16 playas) durante 2 años. El principal factor en controlar la ocurrencia del berberecho fue la salinidad, sobrepasando efectos locales del hábitat. Cuando la especie estuvo presente, la abundancia total fue mayor en playas disipativas oceánicas, las cuales también presentaron mayor abundancia y representación relativa de reclutas. El reclutamiento fue casi nulo en playas reflectivas, aunque la biomasa de adultos con mayor tamaño corporal fue mayor, sugiriendo un escalamiento entre la abundancia y el tamaño corporal y posibles efectos denso-dependientes. En esta metapoblación, las playas estuarinas fueron identificadas como sumideros, mientras que las oceánicas actúan como hábitats fuente. Concluimos que el gradiente regional generado por las variaciones de salinidad podría traducirse en patrones locales (distribución, abundancia y

estructura poblacional) y procesos poblacionales (reclutamiento) que son secundariamente dirigidos por la morfodinámica local.

Palabras clave: bivalvos, morfodinámica, metapoblaciones, reclutamiento, tamaño corporal

381. Dinámica de las floraciones de cianobacterias en la costa de San José, Río de la Plata (2014-2021)

Haakonsson, Signe^a; Maciel Fernanda^b; Arocena, Rafael^a; Pedocchi, Francisco^b; Pérez, María del Carmen^{a†}; Bonilla, Sylvia^a

^aSección Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Iguá 4225, Montevideo, Uruguay, C.P. 11400 ^bInstituto de Mecánica de los Fluidos e Ingeniería Ambiental (IMFIA), Facultad de Ingeniería, Universidad de la República. Av. Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo, Uruguay, C.P. 11300 [†]En memoria

Las floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas son recurrentes en múltiples cuerpos de agua del país en respuesta a los altos niveles de nutrientes, como ocurre en el estuario del Río de la Plata. Previamente, se ha demostrado para la zona de estudio, que la biomasa de las cianobacterias se puede predecir con la temperatura del agua y la conductividad (salinidad). El riesgo asociado a las floraciones (niveles de toxinas) puede estar directamente relacionado con el tamaño (área de cobertura) y la composición taxonómica de las mismas, aspectos que han sido menos explorados. Los objetivos fueron determinar los factores que controlan el área de cobertura y la composición de las floraciones. Se hicieron 50 muestreos entre 2014 y 2021 en una zona costera, San José. Se tomaron mediciones continuas *in situ* y se determinaron las áreas de cobertura de las floraciones mediante análisis de imágenes satelitales del Sentinel-2 con una parcela de 40 km². Los resultados revelaron que especies del género *Dolichospermum* son las más frecuentes, mientras que organismos del género *Microcystis* dominan y alcanzan las mayores biomásas. Las floraciones de mayor área de cobertura ocurrieron durante períodos largos y estables de baja conductividad. Los resultados preliminares sugieren que la conductividad es una variable también relevante para ser incorporada en modelos predictivos que apunten a evaluar la extensión y la composición de las floraciones.

382. Estado trófico y procedencia del carbono orgánico en fiordos antárticos: Bahía Collins y Bahía Esperanza *Martinez, Stefanie^{1*}; Venturini, Natalia¹*

¹Sección Oceanografía y Ecología Marina, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales (IECA). Facultad de Ciencias, Udelar

Los fiordos son sensibles al cambio climático e importantes sumideros de carbono, debido a las altas tasas de sedimentación. Bahía Collins (BC), Isla Rey Jorge, Península Antártica (PA) occidental, y Bahía Esperanza (BE) ubicada al noreste del extremo continental de la PA se diferencian en algunas de sus condiciones climáticas, como temperatura y precipitación media anual. Además BC tiene influencia directa del glaciar Collins y una tasa de sedimentación de 5,5 mm año⁻¹ mientras que en BE influyen glaciares como Depot y Arena, entre otros, y presenta una tasa de sedimentación de 3 mm año⁻¹. Se utilizaron diferentes marcadores biogeoquímicos para establecer el estado trófico sedimentario y fuentes de carbono orgánico en columna de agua y sedimentos de ambos fiordos. Las muestras se colectaron en la Campaña Antártica de Verano 2019/20 a bordo del BAP Carrasco. En sedimentos de BC las concentraciones de C y N fueron mayores que en BE. $\delta^{13}\text{C}$ varió entre -24,3‰ y -26,4‰, con firmas isotópicas relativamente empobrecidas en BC, sugiriendo mayor aporte terrígeno respecto a BE, asociado a la escorrentía superficial glaciar. $\delta^{13}\text{C}$ versus C/N sugiere el predominio de fuentes autóctonas de carbono (bacterias y microalgas) en ambos fiordos. El carbono biopolimérico (BPC) presentó mayor concentración en BC (> 3 mg C g⁻¹) respecto a BE (1-3 mg C g⁻¹), indicando sedimentos eutróficos y mesotróficos, respectivamente y mayor acumulación de carbono orgánico en BC. Se continúan analizando las muestras de columna de agua a diferentes profundidades de ambos fiordos.

Palabras clave: fiordos, carbono orgánico, marcadores biogeoquímicos

383. Estudio lagrangiano de la surgencia costera sobre la costa uruguaya

Camila de Mello^{1a}, Marcelo Barreiro^a, Romina Trinchin^a & Gaston Manta^a

¹ *camidemello@gmail.com*

^a Departamento de Ciencias de la Atmósfera y Física de los Océanos, Instituto de Física, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo 11400, Uruguay

Este trabajo se enfoca en los procesos de transporte superficial sobre la zona costera uruguaya durante el verano bajo condiciones de surgencia intensa. Se evaluaron por primera vez los procesos de transporte horizontal mediante el cómputo de los Exponentes de Lyapunov de Tamaño Finito (ELTF) a partir de velocidades obtenidas numéricamente. Los promedios temporales de ELTF son indicadores de la intensidad de mezcla, mientras que los valores máximos proveen información de la ubicación de las regiones frontales así como de los patrones de transporte asociados al flujo. El análisis de los procesos de mezcla durante el verano, mostró una intensa actividad concentrada en la región oceánica, concordante con la ubicación de la surgencia climatológica en ese período, mientras que durante los eventos más intensos de surgencia se encontró un aumento de la actividad de mezcla sobre la región costera estuarina. Al enfocarse en los máximos de ELTF durante eventos de surgencia intensos, se identificaron frentes de retención. La ubicación de estas estructuras coincidió tanto con las regiones frontales observadas a partir de temperatura superficial simulada, como con la distribución satelital de Clorofila-a, resaltando la importancia de la aproximación Lagrangiana en la localización de zonas frontales con distintos orígenes. Finalmente, la evolución de los frentes analizados para un evento particular de surgencia, junto con la dispersión simulada de partículas Lagrangianas sintéticas, evidenciaron la importancia de esta aproximación en el entendimiento de los procesos de transporte y conectividad entre la costa y el océano abierto.

Palabras clave: Surgencias costeras, aproximación Lagrangiana, frentes, conectividad

384. Evaluación del impacto a largo plazo y multinivel de El Niño 2015-16 en una playa de arena del Atlántico Sudoeste

Gabriela Jorge-Romero¹; Eleonora Celentano¹, Diego Lercari¹; Leonardo Ortega²; Juan A. Licandro¹, Omar Defeo¹

¹Laboratorio de Ciencias del Mar, Departamento de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

²Dirección Nacional de Recursos Acuáticos, Uruguay

Como estrechas interfaces tierra-mar, las perturbaciones climáticas pueden sentirse de forma inmediata y profunda en las playas de arena y los macroinvertebrados que albergan. En particular, los eventos climatológicos extremos pueden resultar en cambios ecológicos duraderos o irreversibles y, por tanto, es fundamental comprender cómo responden estos ecosistemas a perturbaciones de pulso. Este estudio evaluó los principales impactos provocados por El Niño 2015-16 en el ecosistema de playa La Coronilla-Barra del Chuy. Se llevó a cabo un análisis a largo plazo (1982–2019), atendiendo a componentes climáticos históricos e indicadores de cambio a distintos niveles de la organización ecológica. Se compararon las redes tróficas antes ($n = 2$) y después ($n = 2$) del evento de El Niño y se analizó la estructura de la comunidad de macroinvertebrados y sus componentes. También se evaluó la ruta potencial de recuperación del sistema. Se observó un marcado aumento de las anomalías de la temperatura superficial del mar, las precipitaciones y la descarga del Río de la Plata. Se evidenció una abrupta disrupción de los atributos ecológicos. Después de El Niño, el ecosistema exhibió una mayor organización de la estructura de flujos (Ascendencia), un menor potencial adaptativo (Overhead) y un marcado aumento en la eficiencia (Robustez), reflejando un estado vulnerable ante nuevas perturbaciones. Se detectó un estado comunitario de transición dominado por especies oportunistas. Los resultados destacan cómo los eventos climáticos extremos podrían impedir la recuperación de un ecosistema de playa, ya que pueden generar efectos de largo plazo difíciles de revertir.

Palabras clave: El Niño Oscilación del Sur, perturbaciones de presión y pulso, playas de arena, ecosistemas, modelos tróficos

385. Flujos metabólicos en el sistema costero frente a Cabo Polonio

Calliari, Danilo^{1,2}; Rodríguez-Graña, Laura²; Cazarré, María Elena¹; Sampognaro, Lia¹; Yannicelli, Beatriz²

¹Oceanografía y Ecología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Ecología Funcional de Sistemas Acuáticos, Centro Universitario Regional del Este, Universidad de la República

Los flujos ecosistémicos de producción primaria (P) y respiración comunitaria (R), y el balance metabólico (BM) son procesos críticos que determinan atributos ecológicos y biogeoquímicos fundamentales. El océano es responsable de casi 50% de la producción primaria y se considera un sumidero global de carbono, pero los flujos de respiración son relativamente poco conocidos. En particular, la falta de conocimiento para las zonas costeras dificulta estimar balances precisos acerca del rol del océano en el ciclo general del carbono. Para esta investigación

se realizó una caracterización oceanográfica básica con frecuencia mensual durante tres años (2017 – 2020) que incluyó la estructura física de la columna de agua, los nutrientes inorgánicos disueltos y biomasa fitoplanctónica en paralelo a P, R y BM estimados en tres profundidades. Se observaron ciclos estacionales claros en descriptores de estado (temperatura, nutrientes; clorofila y salinidad en menor medida), en los flujos de P y R, así como en el BM. En la mayoría de los casos el BM fue autótrofo en capas superficiales y medias, y neutro o heterótrofo en la zona más profunda de la columna de agua. El BM verticalmente integrado fue autótrofo en todas las estaciones del año excepto invierno, así como para el ciclo anual considerado en su totalidad, en los tres años cubiertos. En la presentación se compararán estos resultados con otros análogos obtenidos en diferentes regiones del océano y se discutirán las implicaciones en cuanto al rol del mar costero uruguayo en el ciclo del carbono.

Palabras clave: Producción primaria, respiración comunitaria, balance metabólico, Oceanografía, Cabo Polonio

386. Inocuidad de recursos alimenticios obtenidos por la pesca camaronera en Laguna de Castillos (Rocha, Uruguay): Evaluación de contaminantes inorgánicos en crustáceos y peces

Vögler, Rodolfo¹; Iaquina, Fiorella²; Mollo, Alicia²; Machado, Ignacio²

¹Centro Universitario Regional del Este-sede Rocha, Universidad de la República

²Área Química Analítica, DEC, Facultad de Química, Universidad de la República

La pesca artesanal es una actividad comercial desarrollada a pequeña escala, es transmitida de generación en generación y constituye, en muchos casos, la principal fuente de alimento e ingresos de las familias. La inocuidad de los productos obtenidos mediante pesca artesanal es motivo de creciente atención dado las potenciales repercusiones en salud humana y ambiental. En tal sentido, el objetivo de este estudio es explorar la inocuidad de crustáceos y peces marino-estuarinos cosechados desde la pesca camaronera en Laguna de Castillos, durante marzo de 2022. Utilizando técnicas de espectrometría atómica fueron evaluados niveles medios de contaminantes inorgánicos de relevancia toxicológica, tales como mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en camarón rosado (*Penaeus paulensis*, n= 60) y corvina blanca (*Micropogonias furnieri*, n= 6). La determinación de Hg fue realizada en camarones enteros (cefalotórax+abdomen), mientras que el Cd fue determinado en camarones y músculo de peces. En camarones, las muestras analizadas no tuvieron niveles de Hg detectables por la metodología empleada. Estos resultados coinciden con los reportados por DINAMA, 2019. Las concentraciones medias de Cd fueron de 0,0193 mg kg⁻¹ (camarones) y 0,0182 mg kg⁻¹ (corvinas), respectivamente. Para Cd, las concentraciones no exceden los límites máximos permitidos por el Reglamento Técnico MERCOSUR, 2013, para peces (0,05 mg kg⁻¹) y crustáceos (0,5 mg kg⁻¹). Estos resultados preliminares alientan a continuar ampliando el tamaño de muestras analizadas para estos metales pesados, así como generar determinaciones de otros contaminantes inorgánicos en estos recursos pesqueros de importancia comercial y alimenticia.

Palabras clave: Metales pesados; Productos pesqueros; Ecosalud; Sostenibilidad ecosistémica

387. Investigaciones en oceanografía física en el DCAFO

Barreiro Marcelo¹; de Mello Camila¹; Trinchin Romina¹ y Manta Gastón²

¹Departamento de Ciencias de la Atmósfera y Física de los Océanos, Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratoire de Météorologie Dynamique, ENS, Paris, Francia

Recientemente el Departamento de Ciencias de la Atmósfera del Instituto de Física incorporó a su nombre "Física de los Océanos" para reflejar más adecuadamente todas las líneas de trabajo que se vienen llevando adelante desde hace más de una década. A nivel oceanográfico se encuentra el estudio de la circulación oceánica regional y su variabilidad caracterizada por procesos de surgencia costera, remolinos de mesoescala, olas de calor marinas, procesos de transporte e intercambio plataforma-océano profundo. Asimismo, se ha venido estudiando el rol de los océanos Pacífico, Atlántico e Índico tropicales en la variabilidad climática del sudeste de Sudamérica a través de teleconexiones atmosféricas y cómo estas señales remotas son modificadas por la interacción atmósfera-océano regional. Finalmente, nos interesa determinar el rol de los océanos en el cambio climático, en particular, cómo la heterogeneidad del calentamiento oceánico y en particular la asimetría entre el hemisferio norte y sur inducen cambios en el clima a nivel regional. En esta charla se presentará algunos de los principales resultados obtenidos en los últimos años.

Palabras clave: oceanografía física regional, rol de los océanos en el clima, cambio climático

388. La circulación oceánica en la zona económica exclusiva uruguaya

Manta Gastón^{1,2}; Trinchin Romina¹; de Mello Camila² y Barreiro Marcelo²

¹Laboratoire de Météorologie Dynamique, ENS, Paris, Francia,

²Departamento de Ciencias de la Atmósfera y Física de los Océanos, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La Zona Económica Exclusiva uruguaya está ubicada en el borde norte de la Cuenca Argentina en el Atlántico Sudoccidental. Esta región relativamente pequeña de unas 200 millas náuticas de lado contiene un escenario oceanográfico altamente complejo con corrientes intensas de borde oeste, alta actividad de mesoescala, al menos seis masas de agua de orígenes muy diferentes y la descarga del Río de la Plata, uno de los estuarios más grandes del mundo. La región también cuenta con una gran variabilidad estacional que incluye una amplitud de temperatura de 12 °C, reversión en la dirección del viento predominante, y a su vez una tendencia al calentamiento y aumento del nivel del mar, en algunas regiones muy por encima de la media global. Este trabajo buscará presentar resultados de interés regional, combinando observaciones in-situ y satelitales, así como un algoritmo de detección satelital de remolinos de mesoescala. Se destacan regiones de no calentamiento en la plataforma exterior que derivan en un incremento de los gradientes del talud, regiones de mezcla en diferentes niveles incluso a grandes profundidades, regiones con termoclina invertida, etc. También se destaca una clara zonificación de la concentración de remolinos de mesoescala de núcleo cálido y núcleo frío, así como regiones de exportación de aguas de plataforma al océano profundo. Los fenómenos mencionados tienen consecuencias tanto en el clima como en la ecología, y si bien algunos han sido reportados y estudiados, aún hay mucho por entender y descubrir.

Palabras clave: Corriente Brasil, Corriente Malvinas, observaciones in situ, observaciones remotas

389. Microplásticos: perfil bibliométrico en América latina y el Caribe

Damiano, Gustavo¹; Lercari Diego¹

¹Unidad de Ciencias del Mar (UNDECIMAR), Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Conocer cómo se realiza producción académica en torno a los microplásticos es necesario para evaluar estrategias de investigación, educación y gestión. Se realizó un análisis de la literatura sobre microplásticos en ecosistemas marinos, publicados por autores de América Latina y el Caribe usando la base SCOPUS entre 2010 y 2021. Se obtuvo una colección de 436 documentos que fue analizada bibliométricamente y usada para mapear la relación científica entre autores, países y temas de investigación. La colección contiene un total de 1840 autores y en promedio cada documento tiene 6 coautores. La mayoría de los documentos son artículos, seguidos de revisiones. La tasa de crecimiento de trabajos entre 2010 y 2021 fue de 59.67 %. Veinte países cuentan con publicaciones, siendo Brasil y México los líderes en la investigación y además los más citados. Chile cuenta con el autor con mayor número de citas. Brasil muestra la mayor red de colaboración internacional. Los documentos son publicados en un número reducido de fuentes, siendo Marine Pollution Bulletin la más relevante.

Las palabras clave más frecuentes son Fibers, Toxicity Ecotoxicology y junto con la red de coocurrencia se reflejan las principales tendencias de investigación. La red de coautores muestra grupos de investigación latinoamericanos relativamente desconectados entre sí, pero con fuertes links de coautorías con autores de fuera de la región. Se concluye que la investigación está centralizada en países de tamaño, en pocas fuentes y concentrada en un reducido número de grupos de investigación pobremente interconectados.

Palabras clave: Microplásticos, América Latina y el Caribe, Análisis Bibliométrico

390. Nuevos registros de hydromedusas en aguas costeras de Uruguay y su expansión geográfica en la región subtropical del Atlántico sudoccidental

Rodríguez-Graña, Laura¹; Vidal, Victoria²; Calliari, Danilo^{1,3}

¹Ecología Funcional de Sistemas Acuáticos, Centro Universitario Regional del Este, Universidad de la República

²Centro Universitario Regional del Este, Universidad de la República

³Oceanografía y Ecología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

Los cnidarios junto con otros gelatinosos son componentes relevantes en los ecosistemas marinos ya sea en su papel de depredadores como de indicadores de cambios en la calidad del ambiente y de masas de agua, entre

otros. En Uruguay el relevamiento de organismos gelatinosos y su ecología se enfocan en pocas especies, en su mayoría de gran porte.

El presente estudio reporta el primer registro de algunas especies de Cnidarios en la costa atlántica uruguaya dentro del área protegida Parque Nacional Cabo Polonio, centrado en especies que forman parte del mesozooplankton (ca. 200-2000 μm).

Estas son: *Aglauropsis kawarii*, *Leuckartiara octona*, *Proboscidactyla ornata* y *Octophialucium haeckeli*. Estos registros resultaron del análisis de un total de 46 muestras colectadas mensualmente entre 2016 y 2019 con red cónica de 500 μm en una estación fija a una milla náutica frente a la ensenada de La Calavera. Acompañaron las colectas el registro de variables oceanográficas con perfilador CTD (temperatura, salinidad, fluorescencia, turbiedad, irradiancia PAR). Se aporta información de la ocurrencia y abundancia mensual y estacional, y condiciones oceanográficas locales y regionales asociadas. La información contenida en este trabajo actualiza el conocimiento de las especies de cnidarios y sobre la biodiversidad pelágica del territorio marítimo uruguayo, y provee información valiosa sobre plancton gelatinoso en el contexto del cambio climático y osciladores climáticos.

Palabras clave: Hydrozoa, mesozooplankton gelatinoso, biodiversidad, Cabo Polonio

391. Patrones de conectividad de gran escala en almejas de playas arenosas de la costa atlántica de Sudamérica

Meerhoff, Erika¹; Combes, Vincent²; Matano, Ricardo²; Barrier, Nicolas³; Franco, Bárbara^{4,5}; Piola, Alberto^{4,6,7}; Hernández-Vaca, Freddy⁸; Defeo, Omar¹

¹Laboratorio de Ciencias del Mar (UNDECIMAR), Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, 11400 Montevideo, Uruguay

²College of Earth and Atmospheric Sciences, Oregon State University, Corvallis, OR 97331- 5503, USA.

³Institute de Recherche pour le Développement, France

⁴Instituto Franco-Argentino para el Estudio del Clima y sus Impactos (UMI 3351-IFAECI)/CNRS-IRD-CONICET-UBA, C1428EGA, Buenos Aires, Argentina

⁵Centro de Investigaciones del Mar y la Atmósfera (CIMA)/CONICET.UBA, C1428EGA, Buenos Aires, Argentina

⁶Departamento de Oceanografía, Servicio de Hidrografía Naval (SHN), C1270ABV, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

⁷Departamento de Ciencias de la Atmósfera y los Océanos, Universidad de Buenos Aires, C1428EGA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

⁸División El Niño y Clima Oceánico, Dirección de Oceanografía Naval, Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada del Ecuador, Guayaquil, Ecuador

El berberecho *Donax hanleyanus* y la almeja amarilla *Mesodesma mactroides*, especies subtropical y de aguas templado-frías, respectivamente, tipifican las playas arenosas del océano Atlántico Suroccidental, que presenta uno de los "hotspots" de calentamiento marino más fuertes a nivel mundial. Investigamos la conectividad larval de dichas especies usando un modelo individuo basado (IBM por su sigla en inglés) y evaluamos los efectos de la temperatura del agua en la conectividad.

El IBM combinó salidas de un modelo hidrodinámico 3D con un sub-modelo para las almejas que consideró mortalidad larval por efectos de temperatura para cada especie, además se incluyó diferentes meses de liberación larval y duraciones del periodo larval en el plancton. En ambas especies, la conectividad a través del estuario del Río de la Plata ocurrió solo para larvas liberadas durante un evento La Niña intenso. Para *M. mactroides*, la mortalidad larval inducida por agua cálida redujo su conectividad, llevando a procesos de auto-reclutamiento en la mayoría de las áreas. Para *D. hanleyanus* la mortalidad larval inducida por temperatura no afectó los patrones de conectividad. No hubo transporte larval hacia el límite sur de distribución de ambas especies, corroborando un patrón de reclutamiento irregular típico de poblaciones locales sumidero situadas en el borde del rango de distribución de ambas metapoblaciones. La aceleración del calentamiento en este "hotspot" podría restringir aún más la conectividad larval de las poblaciones de almeja en el Atlántico Suroccidental, con implicancias para la conservación de la especie que ha sufrido disminuciones de abundancia debido al calentamiento.

Palabras clave: almeja amarilla, berberecho, conectividad larval, modelo individuobasado

392. Primer registro de nematodos zoonóticos de transmisión alimentaria (Nematoda: Anisakidae) en músculo de *Cynoscion guatucupa* (pescadilla de calada) y *Macrodon ancylodon* (pescadilla de red) comercializado en Uruguay

Crosi Martínez, Gonzalo¹; García, Federico¹; Viera, Gerardo²; Correa, Ivette¹; Martínez, Valentina¹; Pizzorno, Pablo¹; Vidal, Gustavo¹; Galli, Carina¹; Trujillo, Lucía¹; Díaz, Santiago¹; Friss de Kereki, Cristina¹; Dragonetti José Pedro¹; Armúa-Fernández; Teresa³

¹Unidad Académica de Ciencia y Tecnología de Productos Pesqueros, Fac. Veterinaria, Universidad de la República

²Unidad Académica de Patología, Biología y Cultivo de Organismos Acuáticos, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

³Unidad Académica de Enfermedades Parasitarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Uruguay está experimentando una creciente demanda de alimentos a base de pescado crudo, tales como sushi, sashimi y ceviche. Esta forma de consumo, puede representar un riesgo para la salud pública por la probabilidad de ingerir larvas de anisákidos (Nematodos: Anisakidae) causantes de una enfermedad de transmisión alimentaria conocida como anisakidosis. En este contexto surgió la necesidad de detectar y cuantificar dichos parásitos zoonóticos en porciones comestibles (músculo) de especies de pescado comercializadas en el mercado local. Se analizaron 233 ejemplares de 3 especies: *Macrodon ancylodon* (n=102), *Micropogonias furnieri* (n=94) y *Cynoscion guatucupa* (n=37). El diagnóstico se realizó a nivel de cavidad celómica y tejido muscular de los ejemplares, mediante inspección visual simple, transiluminación simple y UV. Se cuantificaron e identificaron, a nivel de género, los nematodos, para finalmente establecer los descriptores ecológicos: prevalencia (P), abundancia media (AM) e intensidad media (IM). Las especies *M. ancylodon* y *C. guatucupa* se encontraban parasitadas, tanto en cavidad celómica como en tejido muscular, siendo *C. guatucupa* la especie mayormente parasitada (P=46%, AM=8,84; IM=19,24). El género de anisákido más prevalente fue *Contracaecum* sp. (P=35,1% y 32,4% para *C. guatucupa* y *M. ancylodon*, respectivamente). El hallazgo en *M. ancylodon* representa un nuevo registro de hospedador en Uruguay. Por otra parte, se reporta por primera vez en el país la presencia de estos nematodos en porciones comestibles, dato a considerar al evaluar el riesgo de presentación de la anisakidosis por consumo en crudo de estas especies de pescado.

Palabras clave: anisákidos; diagnóstico; músculo; pescado; salud pública

393. Retención e intercambio de larvas de decápodos en una laguna costera con conexión intermitente y la zona marina adyacente

Machado, Irene¹; Rodríguez-Gallego, Lorena¹; Vieira, Rony²; Pasquariello, Soledad¹; Calliari, Danilo³

¹Departamento Interdisciplinario de Estudios Costeros y Marinos, Centro Universitario Regional Este, Universidad de la República

²Laboratório de Crustáceos Decápodos, Instituto de Oceanografía, Universidade Federal do Rio Grande

³Ecología y Oceanografía Marina, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Este estudio evaluó la retención y el intercambio de larvas de decápodos entre en una laguna costera con conexión intermitente de la costa de Uruguay -Laguna de Rocha (LR)- y la zona marina adyacente (ZM). Se colectaron larvas en LR y ZM a lo largo de un año teniendo en cuenta diferentes estados de la barra de arena (abierta/cerrada) y procesos hidrodinámicos (descarga de laguna, intrusión marina). Se determinaron las especies y se las clasificó en categorías ecológicas. Los resultados mostraron diferencias en la comunidad de LR y ZM, y también se evidencia diferentes patrones de movimiento entre ambientes, de acuerdo a su ontogenia y a la categoría ecológica a la cual pertenece. Ambos, factores ambientales (ej. estado de la barra) y especie-específicos (ej. estrategia del ciclo de vida, época de desove) determinaron el intercambio de larvas versus retención tanto en LR como en ZM. Los taxones con estrategia de exportación de larvas y los de plataforma estuarino-oportunistas ingresaron a LR mayormente en primavera cuando se registró su mayor abundancia. El estado de barra abierta y las condiciones meteorológicas calmas a moderadas promovieron el mayor intercambio de larvas entre LR y ZM. Contrariamente, no se observaron evidencias de intercambio de especies de plataforma o estuarinas obligadas bajo esas condiciones. Esto sugiere que las mismas fueron efectivamente retenidas dentro de sus áreas de cría. Sin embargo, se registraron evidencias de advección de las mismas en condiciones meteorológicas extremas, tales como fuertes descargas de la laguna o tormenta de mar.

Palabras clave: larvas decápodos, conectividad, lagunas costeras, zona marina, Atlántico Sudoccidental

394. Variabilidad anual de la especie exótica *Grateloupia turuturu* yamada (rhodophyta: Halymeniales) en La Paloma, Rocha

Vélez-Rubio, Gabriela M^{1,2}; de León-Mackey, Ariel^{1,2}; Sánchez, Maite³; Kruk, Carla^{2,3}

¹Sección de Oceanografía y Ecología Marina, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Departamento MEDIA, Centro Universitario Regional del Este, Universidad de la República

³Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Grateloupia turuturu es un alga exótica registrada desde 2015 en la costa atlántica de Uruguay. Presenta gran porte proliferando exitosamente en zonas eutrofizadas, con arena y alta variabilidad ambiental. En estas condiciones puede afectar negativamente a macroalgas nativas limitando su riqueza, biomasa y eventualmente a los organismos que de estas dependen. En este trabajo evaluamos experimentalmente su variabilidad anual y posibles efectos sobre las macroalgas del intermareal rocoso en La Paloma (Rocha) entre junio de 2021 y junio de 2022.

Se analizó la variabilidad en biomasa, composición y morfología de la comunidad nativa y *G. turuturu*, así como también sus tasas de recolonización utilizando cuadrantes de 20x20 cm con diferentes tratamientos: con remoción de todas las especies excepto *G. turuturu*, con remoción exclusiva de *G. turuturu*, con remoción de todas las especies comparando con un control sin modificaciones. Mensualmente se midieron variables ambientales, se evaluó cobertura de macroalgas mediante fotografías y se tomaron muestras de macroalgas. *G. turuturu* tuvo mayor tasa de recuperación luego de su remoción, alcanzando mayores biomásas y tamaños a fines de primavera y verano. Las tasas de recuperación de las demás especies fueron mayores a fines del verano y otoño. Al tiempo final del experimento se encontraron mayores biomásas de *G. turuturu* creciendo sobre mitílidos. La mayor tasa de re-colonización y crecimiento de *G. turuturu* respecto del resto de las especies, así como su mayor crecimiento luego de su remoción podría explicar su rápida distribución en nuestra costa, afectando especialmente a especies que se desarrollen en primavera.

Palabras clave: macroalgas, intermareal rocoso, especies-exóticas-invasoras

21#. MESA AREA BIOTECNOLOGIA • ORGANIZA SUM

395. Efecto tipo-antidepresivo inducido por el tratamiento crónico de una cepa del grupo *Lactobacillus plantarum* en ratas y asociación con la microbiota intestinal

Lozano, Joaquín¹; Fernández-Ciganda, Sofía^{1,3}; Fabius, Sara²; Piccini, Claudia¹; Scorza, Cecilia²; Zunino, Pablo¹

¹Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Montevideo, Uruguay)

²Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Montevideo, Uruguay)

³Plataforma de Investigación en Salud Animal – INIA, Estación Experimental La Estanzuela

Recientemente se ha incrementado el interés del estudio de la microbiota intestinal (MI) por su asociación con trastornos en la salud mental del hospedero, a través del eje microbiota-intestino-cerebro (MIC). Entre los mecanismos que participan en este vínculo, se destaca la secreción bacteriana de sustancias neuroactivas como el ácido- γ -aminobutírico (GABA). En nuestro laboratorio se identificó y caracterizó una cepa del grupo *Lactobacillus plantarum* (LPB145), aislada de suero fermento natural de queserías artesanales nacionales, productora de GABA, y potencialmente capaz de sobrevivir el tránsito y de persistir en el tracto gastrointestinal. Estas características nos llevaron a analizar el efecto comportamental de la administración oral y crónica (28 días) de la cepa LPB145 en ratas. Se seleccionaron el test de nado forzado (TNF), el laberinto en cruz elevado (LCE) y el campo abierto para evaluar la actividad motora, como modelos para evaluar respuestas del tipo-emocional. Además, se analizó la MI (en heces) de estos animales utilizando el gen ADNr 16S. En el TNF, el tratamiento con LPB145 produjo una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad comparado con el grupo control, sin afectar la actividad motora, sugiriendo un efecto tipo-antidepresivo. No hubo cambios en el LCE. No se evidenciaron cambios sustantivos en la estructura general de la MI, aunque sí en la abundancia relativa de ciertos grupos bacterianos potencialmente benéficos. Estos resultados sugieren el potencial de la cepa LP como herramienta terapéutica para el manejo de trastornos de salud mental.

Palabras clave: Eje microbiota-intestino-cerebro, Test de nado forzado, Microbiota Intestinal, Ácido- γ -aminobutírico

396. Identificación y caracterización de basidiomicetos y su aplicación en la circularidad de procesos

Clara Vitola¹; Josefina Bocking¹; Eliana Nervi¹, Mariana Umpierrez¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ingeniería, Universidad ORT Uruguay

En este trabajo se recolectaron 46 muestras de setas de basidiomicetos en 8 puntos del país y se puso a punto un protocolo para el aislamiento del micelio en placa. Se logró el aislamiento del 20% de las muestras estudiadas que se identificaron mediante el uso de DNA *barcoding*, y la producción de enzimas como lacasas, lipasas y fosfatasa. Se utilizó *Pleurotus ostreatus* como modelo para el diseño de un sistema de fructificación sostenible. Identificándose el problema de la ineficiente disposición actual de algunos residuos agroindustriales como el bagazo de cerveza y café, es que se planteó la incorporación de los mismos como sustrato para su crecimiento. Se evaluaron los tiempos de cosecha y las eficiencias biológicas (EB) de los sustratos conteniendo 10%, 20% y 30% de bagazo de cerveza (BC). Las condiciones con 20% y 30% registraron eficiencias biológicas de 28,6% y 27,7% respectivamente, muy similares a la condición control cuya EB fue de 30,1%. Por esto, se diseñó un sistema productivo con un sustrato conteniendo 30% BC utilizado soportes de fructificación reutilizables. Finalmente, se planteó la incorporación en el suelo de las camas postcosecha provenientes de la fructificación en cultivos de alfalfa y trébol. Se encontró que una proporción 1:2 de turba: sustrato inhibe el desarrollo de la parte aérea de la planta en alfalfa, y que 1:8 no afecta el crecimiento del cultivo. En trébol se estableció que la condición 1:8 favorece el desarrollo de la planta y podría utilizarse para disminuir la cantidad de NPK aplicado al suelo.

Palabras clave: Basidiomicetos, *Pleurotus ostreatus*, fructificación, residuos agroindustriales, proceso circular

397. Nanopartículas metálicas biogénicas a partir de *Trichoderma spp.* y su aplicación en el control de fitopatógenos

Sanguiniedo, Paula¹; Faccio, Ricardo²; Abreo, Eduardo³; Alborés, Silvana¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Área de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

²Centro NanoMat & Grupo Física, Facultad de Química, Universidad de la República

³Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, INIA Las Brujas

Las nanopartículas metálicas presentan una amplia variedad de aplicaciones, que se fundamentan por sus propiedades físico-químicas, diferentes a partículas de misma composición pero mayor tamaño. Particularmente, el uso de nanopartículas metálicas en el área agrícola como alternativa a agroquímicos resulta muy promisorio. Trabajos recientes demuestran su potencial aplicación en el control de fitopatógenos y promoción del crecimiento vegetal. La síntesis de nanopartículas por métodos biológicos es ventajosa por su menor costo y por condiciones de reacción de menor impacto ambiental que otras metodologías clásicas. En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de plata y cobre utilizando caldo extracelular de dos cepas de *Trichoderma spp.* aisladas de Uruguay. Las nanopartículas fueron purificadas y se caracterizaron por diversas técnicas (espectroscopía UV-vis, HR-TEM, EDS, DLS, Potencial Z, Microscopía Raman Confocal) determinando forma, tamaño, carga superficial, composición. Posteriormente, se evaluó su actividad antifúngica *in vitro* frente a fitopatógenos de interés en cultivos de trigo (*Fusarium graminearum*) y arroz (*Rhizoctonia oryzae sativa*, *Sclerotium oryzae* y *Piricularia oryzae*) en nuestro país. Los resultados obtenidos indicaron que a concentraciones muy bajas (inferiores a 1 nM) las nanopartículas metálicas fueron capaces de inhibir parcial o totalmente el crecimiento fúngico, demostrando su potencial aplicación en semillas y plantas para contribuir al manejo de enfermedades.

Financiación: FSA_1_2018_1_152546 ANII, Beca CAP-UDELAR, Posgrado en Biotecnología-UDELAR

Palabras clave: nanopartículas biogénicas, antifúngicos, fitopatógenos

398. Producción de biohidrógeno empleando efluentes agroindustriales: ¿Cómo seleccionar el inóculo?

Cardeña, René¹; Valera, Luciana¹; Etchebehere, Claudia²; Cabezas, Angela¹

¹Instituto Tecnológico Regional Centro Sur, Universidad Tecnológica, Francisco Antonio Maciel s/n, CP: 97000, Durazno, Uruguay

²Microbial Ecology Laboratory, BioGem Department, Biological Research Institute Clemente Estable, Ministry of Education, Av. Italia, 3318, Montevideo, Uruguay

La materia orgánica presente en los residuos y efluentes agroindustriales generan altas emisiones de gases de efecto invernadero al no ser tratados. El hidrógeno es una alternativa a los combustibles fósiles debido a su

alto valor energético y a que representa una forma de almacenamiento de energía. La producción de biohidrógeno a partir de la fermentación oscura de la materia orgánica es una opción para la valorización de residuos y efluentes de origen agroindustrial por el alto contenido de carbohidratos que estos pueden contener. La etapa de arranque de biorreactores productores de hidrógeno es de alta importancia para el escalamiento de esta tecnología, por tanto, es importante identificar la estrategia que maximice y agilice la producción de biohidrógeno. En este trabajo se evaluaron como fuentes de inóculo: lodos anaerobios (pretratados térmicamente) y los consorcios nativos provenientes de 3 diferentes sustratos (efluentes de la industria vitivinícola, láctea y cervecera) con el objetivo de comparar la eficiencia de los microorganismos y su interacción con los sustratos. Las pruebas se realizaron empleando un protocolo estandarizado para determinar los potenciales biológicos de hidrógeno en un sistema automático (AMPTS). Los resultados permiten generar la estrategia de arranque y operación de reactores escala laboratorio determinando la necesidad de contar con una fuente de inóculo nativa o externa al sustrato.

Palabras clave: bioprocesos, fermentación oscura, hidrógeno, valorización

22#. MESA AREA SALUD • ORGANIZA SUM

399. Caracterización de aislamientos de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* con fenotipo I en Uruguay

Azpiroz, Fernanda¹; Burger, Noelia²; Mazza, Margarita³; Rodríguez, Grisel⁴; **García-Gabarro, Gabriela⁵**

¹Sección Fisiología & Genética Bacterianas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²CAMEC IAMPP

³Laboratorio del Hospital de Colonia

⁴CAMS IAMPP

⁵Departamento de Laboratorios, Ministerio de Salud Pública, Uruguay

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (SEZ) es un estreptococo β -hemolítico del grupo C que puede causar con baja frecuencia una zoonosis severa. Es sensible a penicilina, con una susceptibilidad variable frente a otros antibióticos. La resistencia específica a lincosamidas, llamada fenotipo L, ha sido descrita para algunos aislamientos de SEZ. Este fenotipo está determinado por una nucleotidiltransferasa, codificada por la familia de genes *Inu*, que modifica el antibiótico por adenilación.

En el marco de la vigilancia de estreptococos β -hemolíticos invasivos que realiza el Departamento de Laboratorios del MSP desde 2006 a la fecha, se recibieron tres aislamientos de SEZ. En este trabajo se confirmó su identificación, se estudió fenotípica y genotípicamente su susceptibilidad antibiótica, y se estudió si pertenecían a un mismo linaje por electroforesis en campos pulsados (PFGE).

Todos los aislamientos fueron sensibles a cinco de los antibióticos ensayados, incluyendo penicilina, excepto a tetraciclina y clindamicina: uno fue resistente a ambos antibióticos y los dos restantes exhibieron resistencia intermedia. Se determinó por PCR la presencia de *tetM* en el aislamiento resistente a tetraciclina y de *InuB*, codificante para la resistencia a clindamicina, en los tres casos. La secuencia de *InuB* fue idéntica para los tres aislamientos y también a secuencias de *InuB* depositadas en los bancos de datos. El análisis por PFGE reveló que dos aislamientos podrían estar relacionados.

En conclusión, se identificaron por primera vez en Uruguay tres aislamientos de SEZ provenientes de infecciones invasivas en humanos, siendo además el primer reporte de un gen *Inu* en la especie.

Palabras clave: *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, fenotipo L, *InuB*

400. Descifrando el viroma de las abejas melíferas en Uruguay

Arredondo, Daniela¹; Grecco, Sofia²; Panzera, Yanina²; Zunino, Pablo¹; Antúnez, Karina¹

¹Laboratorio de Microbiología y Salud de las Abejas, Departamento de Microbiología, IIBCE, MEC, Montevideo, Uruguay

²Sección Genética Evolutiva, Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay
Involucrado en los episodios de pérdidas de colonias de abejas reportados alrededor del mundo, el ácaro *Varroa destructor* es la principal amenaza biótica de *Apis mellifera*. Este parásito obligado se alimenta de los cuerpos grasos de las pupas, reduciendo la vida media de las abejas y transmitiendo diversos virus. Su letalidad lleva a la muerte de las colonias si no son tratadas con acaricidas a tiempo. Sin embargo, en nuestro país existe

una población de abejas que sobreviven naturalmente a la parasitación con este ácaro sin necesidad de tratamientos. Este fenómeno podría deberse a la presencia de diferentes cepas o variantes de los virus transmitidos por *V. destructor*. El objetivo de este trabajo es caracterizar los virus presentes en colonias de *A. mellifera* sobrevivientes y susceptibles a *V. destructor*. Para ello se utilizó un protocolo de enriquecimiento de partículas virales puesto a punto en la sección genética y que fue exitoso para analizar abejas. Posteriormente se realizó la secuenciación masiva a partir de muestras de abejas de colonias sobrevivientes y susceptibles a *V. destructor*. Los resultados permitieron realizar la caracterización genómica de los principales virus de interés apícola: *Acute Bee Paralysis Virus*, *Black Queen Cell Virus*, *Deformed Wing Virus* y *Sacbrood Virus* y contigs de algunos virus que aún no se habían detectado en nuestro país, como el *Lake Sinai virus* y el *Apis mellifera filamentous virus*. Este trabajo nos permitirá estudiar en profundidad los perfiles virales de las colonias sobrevivientes y susceptibles a *V. destructor* de nuestro país.

Palabras clave: virus, abejas sobrevivientes a varroa, *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, plagas y patógenos

401. Detección de *TnaphA6* en un aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenems y amikacina

Papa Ezdra, Romina¹; Cordeiro, Nicolás¹; Bado, Inés¹; Outeda, Matilde²; Araújo, Lucía¹; García, Virginia¹; Seija, Verónica²; Vignoli, Rafael¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República
Pseudomonas aeruginosa resistente a carbapenems ha sido catalogada por la OMS como microorganismo crítico para el urgente desarrollo de nuevos antibióticos. La producción de carbapenemasas frecuentemente se asocia a resistencia a otros grupos de antibióticos como aminoglucósidos y fluoroquinolonas.

En el marco del estudio de un brote de *P. aeruginosa* productora de *bla*_{PER-1} ocurrido entre agosto y octubre de 2021 en la unidad de cuidados intensivos del Hospital de Clínicas, se estudió con mayor profundidad un aislamiento que presentaba además resistencia a carbapenems. La identificación y estudio de susceptibilidad se realizaron por VITEK2, los genes de resistencia y estructuras móviles asociadas se estudiaron por secuenciación de genoma completo en plataforma Illumina MiniSeq y MinION Nanopore con ensamblaje por Unicycler y análisis *in silico*. El aislamiento presentó resistencia a ceftazidime, cefepime, imipenem, amikacina y tigeciclina. Se detectó fenotípicamente la presencia de BLEE y metalo- β -lactamasa. El análisis por ResFinder reveló la presencia de 11 genes de resistencia: *aph(3')-IIb*, *aph(3')-IVa*, *bla*_{PAO}, *bla*_{PER-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{TEM-1B}, *qacE Δ 1*, *fosA4*, *catB7*, *crpP* y *sul1*. Se detectó una región de multi-resistencia conteniendo *bla*_{VIM-2} y *bla*_{PER-1} en una nueva unidad transponible movilizadora por la transposasa de IS*Pa17*; y *aph(3')-IVa* flanqueado por dos copias de IS*Aba125* formando el transposón compuesto *TnaphA6*. *TnaphA6* codifica una fosfotransferasa que otorga resistencia a amikacina, kanamicina y neomicina y es normalmente encontrada en plásmidos de estrecho rango de hospedero en *Acinetobacter baumannii*. Su presencia en *P. aeruginosa* es novedosa y su asociación con una plataforma de multi-resistencia alerta sobre posibles eventos de diseminación conjunta.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*; multi-resistencia; amikacina; carbapenemasas

402. Nuevo subtipo putativo del genotipo 3 del Virus de Hepatitis E (HEV) identificado en cerdos y humanos en Uruguay

Cancela, Florencia¹; Panzera, Yanina²; Mainardi, Victoria³; Solange, Gerona³; Pérez, Ruben²; Arbiza, Juan¹; Mirazo, Santiago^{1,4}

¹Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Programa de Trasplante Hepático, Hospital Central de las Fuerzas Armadas, Montevideo, Uruguay

⁴Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene-Facultad de Medicina, Universidad de la República

La hepatitis E es una infección zoonótica emergente causada por el Virus Hepatitis E (HEV), considerada la principal causa de hepatitis aguda de origen viral en regiones en desarrollo endémicas. HEV pertenece a la familia *Hepeviridae* y se clasifica en 8 genotipos (HEV1-HEV8), de los cuales HEV1 al HEV4 y HEV7 se reconocen como patógenos humanos. Debido a su extensa diversidad genética, es subdividido en subtipos. HEV3 contiene

13 subtipos (3a-3n) y es el más prevalente en países desarrollados, donde casos autóctonos han estado siendo reportados con creciente frecuencia, generalmente asociados al consumo de carne contaminada poco o mal cocida y embutidos derivados de cerdo y jabalí. En Uruguay, HEV3 es el único genotipo que ha sido reportado en humanos como en reservorios animales. El objetivo de este trabajo consistió en expandir el escaso conocimiento acerca de la epidemiología molecular de HEV3 a través de la secuenciación y caracterización molecular de genomas completos virales obtenidos en humanos y cerdos, los primeros reportados en Sudamérica. Los análisis filogenéticos implementados revelaron que las secuencias detectadas en el país en ambos hospederos presentan escasa divergencia evolutiva y un muy elevado porcentaje de identidad nucleotídica a lo largo de todo el genoma, formando un cluster monofilético. Asimismo, este cluster presenta una importante divergencia con el resto de los subtipos de HEV3 reportados, suficiente como para ser clasificado como un nuevo subtipo. Aquí proponemos clasificar al cluster de secuencias identificadas en el país como subtipo 3o, siendo, hasta donde sabemos, de circulación exclusiva en Uruguay.

Palabras claves: Hepatitis E; HEV3; Nuevo subtipo; Secuenciación mas

23#. MESA AREA BASICA • ORGANIZA SUM

403. Búsqueda de compuestos bioactivos responsables de la actividad antihelmíntica, antibiótica y antifúngica de cepas de *Streptomyces* spp. Aisladas en Uruguay mediante un abordaje metabolo-genómico
 Croce, Valentina¹; Zeballos, Sofía¹; Aguilar, César²; Seipke, Ryan F.³; Barona-Gómez, Francisco⁴; Salinas, Gustavo⁵; Siri, María Inés¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Parkinson's Lab, Department of Chemistry, Purdue University, Indiana, Estados Unidos ³School of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, Reino Unido

⁴Evolution of Metabolic Diversity Laboratory, Langebio, Cinvestav-IPN, Guanajuato, México; Institute of Biology Leiden, Faculty of Science, Leiden University

⁵Laboratorio de Biología de Gusanos, Unidad Mixta Facultad de Química, Universidad de la República, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

Históricamente, los microorganismos han sido una fuente invaluable de metabolitos bioactivos. Las bacterias pertenecientes al género *Streptomyces* se destacan por su alto potencial de producir metabolitos especializados, estructuralmente diversos y con un amplio rango de actividades biológicas. La genómica y la metabolómica son dos pilares esenciales para el descubrimiento de nuevas moléculas en la era "ómica". El objetivo de este trabajo fue aplicar ambas herramientas para el estudio del potencial metabólico de 5 cepas de *Streptomyces* con actividad antihelmíntica, antibacteriana y/o antifúngica seleccionadas a partir de un *screening* de actividades sobre una colección de cepas locales aisladas en Uruguay. Se realizó un análisis del exometaboloma mediante LC-MS/MS de las 5 cepas crecidas en 3 medios diferentes. Los espectros obtenidos fueron analizados en la plataforma online GNPS, la cual permite establecer familias de sustancias relacionadas estructuralmente bajo la forma de redes moleculares con compuestos ya reportados. Los resultados obtenidos a nivel metabolómico demostraron una fuerte influencia del medio en los metabolitos secretados y una alta proporción de estructuras químicas desconocidas. Adicionalmente, se secuenció el genoma completo de estas 5 cepas y se realizaron análisis de minería genómica mediante las herramientas AntiSMASH y BigSCAPE. Se identificaron en total 142 BGCs (*Biosynthetic gene clusters*) los cuales fueron agrupados en 50 familias (*Gene Cluster Families, GCFs*). La mayoría de estas familias presentaron hits con BGCs de la base de datos MIBiG, pero se encontraron 6 familias compuestas únicamente por BGCs de las cepas analizadas, lo que indica la presencia de metabolitos potencialmente novedosos.

404. Búsqueda de polifenoles de *Senecio crassiflorus* con actividad antibiofilm

Raffaelli, Sofía^{1,2,3}; Rodríguez, Luisina⁴; Vázquez, Álvaro²; Alborés, Silvana¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Área Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, UdelaR

²Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Depto Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR

³Posgrado en Química, Facultad de Química, UdelaR

⁴Laboratorio de Espectrometría de Masas, Facultad de Química, UdelaR

La problemática de las infecciones mediadas por biofilms es de creciente importancia en salud humana y animal. Los biofilms microbianos presentan particulares mecanismos de resistencia, que dificultan el tratamiento de infecciones recurrentes y crónicas. Particularmente, *Candida albicans* es capaz de formar biofilms en dispositivos médicos como catéteres, prótesis articulares y dentales, etc. Estos biofilms, muy resistentes a terapia antibiótica y a las células del sistema inmune, pueden posteriormente generar la diseminación de células patógenas en el cuerpo. En este trabajo, se busca obtener polifenoles con actividad antibiofilm a partir de flores de *Senecio crassiflorus*. Para esto, se realizaron extractos con diferentes solventes y se evaluó la extracción de polifenoles y actividad antibiofilm de los mismos. Una vez seleccionada la metodología de extracción, se realizó un fraccionamiento bioguiado utilizando resinas de poliamida y se buscó identificar las moléculas presentes en las fracciones activas utilizando cromatografía líquida de alta performance acoplada a espectrometría de masas. También se evaluó la capacidad de las distintas fracciones de interferir con los mecanismos de *quorum sensing* utilizando la cepa reportera *Chromobacterium violaceum* CV026. Los resultados de actividad obtenidos son muy promisorios, indicando que puede ser posible obtener una o más moléculas con actividad antibiofilm sobre *C. albicans*.

Palabras clave: biofilms, productos naturales, Senecio

405. La metagenómica funcional al servicio de la biología sintética: obtención de nuevas secuencias promotoras

Roldán, Diego M¹; Fabiano, Elena¹; Amarelle, Vanesa¹

¹ *Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura, Montevideo, Uruguay*

Las bacterias del género *Pseudomonas*, particularmente la cepa modelo *Pseudomonas putida*, son ampliamente utilizadas como "fábricas celulares" para la producción de compuestos de interés biotecnológico. La optimización de estos procesos mediante biología sintética (SynBio) es un tema de activa investigación. La SynBio tiene como objetivo diseñar y construir nuevas partes, mecanismos y sistemas biológicos, o rediseñar los existentes otorgándoles mejores cualidades para un propósito definido.

Con el objetivo de aportar nuevas partes biológicas de utilidad para SynBio nos propusimos buscar secuencias promotoras funcionales en *P. putida* KT2440 mediante una aproximación de metagenómica funcional. Usando la expresión de la proteína verde fluorescente (GFP) como reportero, diseñamos el vector trampa pSEVA231-GFP donde el gen *gfp* estaba precedido por un sitio de clonado (CS), un sitio de unión al ribosoma y carecía de secuencia promotora. Clonamos en CS fragmentos de ADN pequeños (100500pb) de origen antártico, generando una biblioteca metagenómica de 1804 clones.

Identificamos 13 clones conteniendo promotores funcionales (expresión de GFP). Las secuencias obtenidas fueron analizadas *in silico*, identificándose 19 secuencias promotoras para *Pseudomonas* (de 1 a 4 por clon). Caracterizamos su comportamiento *in vivo* en función del tiempo y la temperatura de incubación observándose una mayor expresión de GFP a las 48 horas a 15 °C. Para determinar el rango de hospedero de las secuencias promotoras, evaluamos su funcionalidad en distintos miembros del phylum *Pseudomonadota* (*Proteobacteria*). De 13 secuencias, 11 fueron funcionales en *Pseudomonas* sp. UYIF39 de origen antártico, 4 en *Escherichia coli* DH5α y 3 en *Cupriavidus taiwanensis* CCUG 44338.

Palabras clave: Biología sintética, promotores, pSEVA, metagenómica funcional

406. Mayaro virus presenta actividad oncolítica en células derivadas de tejido tumoral

Hurtado, Joaquin^{1,2}; Aldunate, Fabian^{1,2}; Ferreiro, Irene^{1,2}; Moratorio, Gonzalo^{1,2}; Moreno, Pilar^{1,2}

¹ *Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

² *Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo*

Los virus oncolíticos (VOs) surgen como una nueva alternativa terapéutica para el tratamiento del cáncer, siendo virus capaces de replicar selectivamente y destruir células cancerosas. Los VOs tienen importantes ventajas respecto a los tratamientos clásicos como son la amplificación del agente activo (partículas virales infecciosas), mecanismos de muerte de las células independientes del programa de muerte celular (disminuyendo las probabilidades de resistencia) y estimulación de un microambiente proinflamatorio dado principalmente por la lisis celular. Los alfavirus han mostrado tener tropismo natural por células tumorales por

lo que en este trabajo nos proponemos explorar la capacidad oncolítica del alfavirus Mayaro (MAYV). MAYV es un arbovirus, caracterizado por tener un genoma de ARN de simple hebra de polaridad positiva, que puede infectar y replicarse tanto en hospederos vertebrados como invertebrados. La hipótesis de trabajo es que MAYV replica y provoca la muerte de células tumorales convirtiéndose en un candidato terapéutico para el tratamiento del cáncer. Como estrategia de investigación, se modificó el clon infeccioso de MAYV con el objetivo de generar virus sintéticos que: por un lado sean atenuados, lo que disminuiría el riesgo de desarrollar formas peligrosas de la enfermedad con la cual está asociado, y por otro lado aumentar su tropismo por células tumorales. Se evaluó el efecto citopático de los virus generados en líneas celulares de cáncer de pulmón y se realizó un estudio de la cinética de replicación viral a una alta y baja multiplicidad de infección. Los resultados indican que MAYV replica selectivamente en células tumorales derivadas de cáncer de pulmón y que además, se observan diferencias en el fitness viral de los candidatos atenuados cuando se compara con el virus wild type. Como conclusión, aquí presentamos resultados preliminares prometedores que muestran a MAYV como un posible candidato a VO.

Palabras clave: virus, oncolíticos, cáncer, nuevas terapias

24#. MESA AREA AMBIENTAL • ORGANIZA SUM

407. Diversidad y especificidad de rizobios simbioses de especies nativas de lupinos

Costa, Andrés¹; Panzera, Matilde¹; Viera, Flavio¹; Zabaleta, María²; Amarelle, Vanesa¹; Fabiano, Elena¹

¹Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

²Licenciatura de Diseño de Paisaje. Facultad de Agronomía, Universidad de la República

Lupinus es un género de leguminosas que cuenta con más de 280 especies descritas, distribuidas mayormente en el continente americano. Varias especies han sido mejoradas a lo largo de los siglos convirtiéndose en un gran potencial para la alimentación humana y animal ya que sus granos pueden contener entre un 30-50% de su peso seco en proteínas. *Lupinus angustifolius* es un cultivar invernal no nativo de Uruguay, que desde hace cinco años se viene usando como alimento de ganado ovino y bovino, y el cual conlleva el agregado de un inoculante de rizobio comercial. Los rizobios son bacterias que se asocian a plantas leguminosas, donde desarrollan estructuras simbióticas denominadas nódulos. Una vez establecidos en los nódulos, los rizobios, son capaces de convertir enzimáticamente el N₂ a NH₄⁺. Considerando que prácticamente se desconocen las poblaciones de rizobios presentes en nuestros suelos capaces de asociarse a plantas de lupinos, nos propusimos relevar las especies nativas de lupinos y los microsimbioses presentes en sus nódulos. Se colectaron plantas y nódulos en diferentes localidades distribuidas en 10 departamentos. Mediante técnicas clásicas de botánica se identificaron 6 especies de lupinos y se generó una colección de al menos 140 aislamientos bacterianos. De acuerdo con el análisis de la secuencia del gen 16S *rRNA* todos los aislamientos obtenidos pertenecen al género *Bradyrhizobium*. Se realizaron BOX-PCR de los aislamientos y en base a los grupos observados, la localidad de colecta y la especie vegetal, 22 cepas representativas fueron seleccionadas para ensayos de especificidad de hospedero en invernáculo donde se incluyeron las 6 especies de lupinos nativos una cepa comercial. Se analizó la filogenia de los genes *nifH* y *nodC* para los 22 aislamientos observándose agrupamientos según la biogeografía de sus hospederos.

Palabras clave: Rizobios, Leguminosas, Lupinos, Microorganismos nativos, Nódulo

Financiamiento: Fontagro ID30; Pedeciba Biología-Química

408. Ecofisiología de *fusarium proliferatum* y *fusarium verticillioides*

Corallo, Belén¹; del Palacio, Agustina¹; Pan, Dinorah¹

¹Sección Micología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los cultivos de cereales, desde el campo hasta el almacenamiento, están expuestos a la colonización por una variedad de hongos patógenos y productores de metabolitos tóxicos (micotoxinas) para humanos y animales. Dentro de estas especies se encuentran *Fusarium proliferatum* y *Fusarium verticillioides*, productores de fumonisinas. El crecimiento fúngico y la producción de micotoxinas son el resultado de la interacción de varios factores, siendo la temperatura y la actividad hídrica (aw) del grano los más influyentes.

Por este motivo, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de estos dos parámetros sobre el crecimiento y la producción de fumonisinas por *F. proliferatum* en sorgo y *F. verticillioides* en maíz. Para ello, granos de sorgo y maíz con tres diferentes aw fueron inoculados con discos de micelio de cada especie a evaluar e incubadas a tres temperaturas distintas.

Los resultados obtenidos permitieron desarrollar modelos que permiten inferir las condiciones de actividad hídrica y temperatura óptimas y marginales para el crecimiento y producción de fumonisinas para cada especie. Para *F. proliferatum* la temperatura fue el factor más influyente en el crecimiento, mientras que la actividad hídrica lo fue para la producción de fumonisinas. En *F. verticillioides*, ambos factores influyeron en el crecimiento pero no así en la producción de fumonisinas, donde la temperatura es el principal factor. Este trabajo permitió conocer las características ecofisiológicas de especies fúngicas locales y poco estudiadas en nuestro país con el fin de comprender y prevenir el desarrollo fúngico y la contaminación de los granos con micotoxinas.

Palabras claves: ecofisiología, *Fusarium*, micotoxinas, sorgo, maíz

409. Ecotipos de la cianobacteria *raphidiopsis raciborskii*: más allá del individuo

Vico, Paula^{1,2}; Iriarte, Andrés²; Bonilla, Sylvia³; Piccini, Claudia¹

¹Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avenida Italia 3318. Montevideo 11600. Uruguay

²Departamento de Desarrollo Biotecnológico del Instituto de Higiene

³Sección Limnología, Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Iguá 4225. Montevideo 11400. Uruguay

El creciente aumento en la distribución global de floraciones de la cianobacteria *Raphidiopsis raciborskii* genera gran preocupación debido a su capacidad de producir compuestos tóxicos para humanos y animales. Se ha propuesto que su actual presencia en distintas latitudes se debe al desarrollo evolutivo de ecotipos con diferente nicho y con distintas respuestas a los cambios ambientales.

Esto ha permitido determinar patrones biogeográficos de la especie. Recientemente se ha propuesto que un aspecto importante para explicar el éxito de las cianobacterias es la presencia de bacterias heterótrofas asociadas a su mucílago (microbiota). Dicha microbiota es fuente relevante de funciones metabólicas, generando que ambas partes sean mutuamente dependientes para sobrevivir. En este estudio analizamos la microbiota de dos aislamientos de *R. raciborskii* pertenecientes a ecotipos diferentes: uno tóxico (América del Sur) y uno no tóxico (América del Norte) mediante secuenciación de amplicones del gen ARNr 16S y metatranscriptómica. Se encontró que bajo idénticas condiciones de luz y temperatura se observan diferencias morfológicas entre los ecotipos, así como en la estructura comunitaria de su microbiota asociada. La caracterización funcional evidenció que la mayor parte de los transcriptos que aporta la cianobacteria son los relacionados con la fotosíntesis y generación de materia orgánica (ej. exopolisacáridos), mientras que en la microbiota predominan transcriptos relacionados a funciones como el metabolismo del nitrógeno, degradación de carbohidratos y fotosíntesis anoxigénica, entre otras. Estos hallazgos sugieren que la comunidad cianobacteria-microbiota funcionaría como un organismo multicelular con interacciones de dependencia entre sus componentes.

Palabras claves: cianobacteria, ecotipos, holobionte, microbiota

410. Impacto de la intensificación agrícola en la comunidad metanótrofa activa asociada a raíces de arroz mediante *Stable Isotope Probing* (SIP)

Croci, Sofia^{1,2}; Ferrando, Lucia¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

²Programa de Posgrados de la Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

El arroz es un cultivo de relevancia ambiental por constituir una importante fuente antropogénica de metano, potente gas de efecto invernadero. La oxidación aerobia del metano contribuye en gran medida a la mitigación de las emisiones en estos agroecosistemas. Buscando aumentar la productividad, se están implementando en Uruguay alternativas de intensificación del cultivo. Nuestra hipótesis es que esta práctica modifica la actividad y composición de la comunidad metanótrofa aerobia asociada a raíces de arroz. En este trabajo se evaluaron

las comunidades metanótrofas aerobias activas de rizósfera de arroz proveniente de rotaciones agrícolas contrastantes (arroz continuo y arroz- pasturas) de un experimento de campo de largo plazo (INIA Treinta y Tres). Para ello se optimizó la técnica ADN-SIP. A partir de suelo rizosférico de plantas en floración se establecieron ensayos en microcosmos con 7%(v/v) de $^{13}\text{CH}_4$ y con $^{12}\text{CH}_4$ (control), y se monitoreó su consumo mediante GC/FID. A partir del ADN extraído, se separó el ADN marcado (^{13}C) del no marcado (^{12}C) mediante ultracentrifugación en gradiente de CsCl y fraccionamiento posterior. Se analizaron las fracciones obtenidas mediante qPCR del marcador funcional *pmoA* y se analizó la composición de las comunidades de rizósfera, fracciones pesadas y livianas mediante Illumina-MiSeq (gen 16SrRNA). Tanto la comunidad metanótrofa total como la activa asociada a raíces de arroz se vieron afectadas por la intensificación agrícola. Aunque para ambas rotaciones la comunidad activa estuvo dominada por el género *Methylocystis*, la técnica ADN-SIP permitió detectar otros géneros diferencialmente activos en rizósfera de arroz proveniente de las distintas rotaciones.

Palabras clave: arroz, metano, metanótrofos aerobios, *Stable Isotope Probing*

Este trabajo fue presentado previamente en el ISME18 2022

25#. MESA LIMNOUY

Moderan: MSc. Anamar Britos y Lic. Bárbara Suárez

1- **Dr. Franco Teixeira de Mello** • Presidente de la Asociación “Presentación de LimnoUy”

2- **Dr. Daniel Conde** • “Antecedentes y desarrollo de la Limnología en Uruguay”

3- **Dra. Sylvia Bonilla** • “Homenaje a Wilson Pintos (1945-1998), fundador de la Sección Limnología de la Facultad de Ciencias y Homenaje a María del Carmen Pérez (1959-2022), ficóloga y pionera en la taxonomía del fitoplancton”

4- **Dr. Franco Teixeira de Mello, MSc. Leticia Vidal, y MSc. Lizet de León** • “Desafíos a futuro para la Limnología en Uruguay en el contexto de LimnoUy”

Discusión en plenario

26#. MESA LA INVESTIGACIÓN ANTÁRTICA EN EL URUGUAY

Coordinadoras:

Dra. Lucía Ziegler • Departamento de Ecología y Gestión Ambiental, CURE-UdelaR)

Dra. Gissell Lacerot • Departamento Interdisciplinario de Sistemas Costeros y Marinos, CURE-UdelaR

Resumen de la mesa temática

La Antártida ha sido declarada una reserva natural destinada a la paz ya la ciencia, y es gestionada por el Tratado Antártico (TA). Uruguay es del mismo desde 1985, y desde 1996 integra la Convención para la Conservación de los Recursos Vivos Marinos Antárticos, cuyo objetivo es la utilización sostenida de estos recursos del océano austral, co-administrando la Antártida y el Océano Austral bajo un paradigma de gestión basada en evidencia científica. El TA privilegia la actividad científica por encima de las demás actividades en el continente, brindando un marco privilegiado para el desarrollo de investigaciones en cualquier área del conocimiento, y facilitando y promoviendo la colaboración entre países para el desarrollo de investigación científica. Si bien Uruguay viene desarrollando actividad científica en la Antártida hace más de 30 años, a partir de la aprobación de la política nacional antártica en 2019 (Decreto 388/019) y los lineamientos para el desarrollo de la actividad científica en 2020, pasa a tener una política explícita que reconoce el desarrollo de la actividad científica como un pilar de la actividad antártica del país. Asegurar que el país tenga capacidad para sostener en el tiempo actividad científica antártica relevante, requiere un involucramiento de largo plazo de las instituciones nacionales de CyT. En este marco, el objetivo de esta mesa es dar a conocer la diversidad de la investigación científica antártica, sus oportunidades y desafíos, a través de la visión de investigadoras/es con amplia experiencia en el desarrollo de actividades científicas en este continente.

Expositores:

1- Dra. Susana Castro-Sowinski • Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Udelar

La Antártida es un continente climáticamente extremo, por lo cual es apropiado para la bioprospección de microorganismos extremófilos. Entre otras, se caracteriza por ser un ambiente frío y con alta exposición a la radiación UV; fue así que a partir de muestras de origen antártico aislamos microorganismos adaptados al frío (productores de proteasas, lipasas, celulasas, amilasas, peroxidases, etc.) y a la radiación UV. Este material genético fue la partida para los proyectos que buscan el uso del material genético de origen antártico para el desarrollo de productos biotecnológicos. A través de la secuenciación de algunos de los genomas de nuestra colección, se realizó la identificación de varias enzimas de interés biotecnológico. Algunas se produjeron en forma recombinante, purificaron y, se caracterizaron sus propiedades bioquímicas y biotecnológicas. ¿Qué encontramos? Encontramos que las mismas tienen potenciales aplicaciones en las industrias cosmética/farmacéutica, de los detergentes, de la pulpa de celulosa, entre otras. Por supuesto, la caracterización de estas enzimas también nos ha permitido avanzar en entender como las mismas se adaptan para funcionar a bajas temperaturas. A través de estudios proteómicos, también obtuvimos información que nos permite avanzar en comprender como los microorganismos se adaptan a las bajas temperaturas, induciendo y reprimiendo la síntesis de proteínas, pero también produciendo pigmentos (que fluidifican las membranas celulares); esos pigmentos han mostrado interesantes propiedades que los hacen atractivos para el desarrollo de agentes contra el desarrollo de cáncer.

Palabras claves: Biotecnología, genoma microbiano, Antártida

2- Dr. Juan Pablo Lozoya • Departamento Interdisciplinario de Sistemas Costeros y Marinos, CURE, Udelar

En la actualidad el plástico es un material casi indispensable y omnipresente en nuestra economía y vida cotidiana, con múltiples usos. Sin embargo, desde finales de los 80s, los residuos plásticos han sido identificados como materiales peligrosos y una amenaza para las costas y mares donde tienden a acumularse. Particularmente, se sabe muy poco sobre la distribución y las fuentes de plásticos y microplásticos en las regiones polares, incluida la Antártida. A pesar de no ser la Antártida una fuente significativa de plásticos, estos residuos (macro y microplásticos) se están acumulando a lo largo de los ecosistemas marino-costeros antárticos, convirtiéndose en una amenaza significativa para su frágil biota. La evidencia muestra niveles sorprendentemente altos de macro y microplásticos en aguas superficiales y zonas costeras, y su impacto en estas áreas prístinas, está aumentando rápidamente. El proyecto ANTARplast tiene como objetivo realizar un diagnóstico integral de los residuos plásticos y microplásticos en áreas marino-costeras antárticas, centrándonos en la Península Fildes pero ampliando el radio de estudio a otras islas de las Shetland del Sur y la Península Antártica en coordinación con otros Programas Antárticos. Para ello, se evalúa la presencia de estos residuos en playas y costas rocosas, en aguas marinas superficiales, y en fondos marinos. También se analiza el aporte terrestre de estos residuos a través de las cañadas de deshielo de los glaciares, así como el consumo de microplásticos por el zooplancton y las aves marinas, y la composición y concentraciones de contaminantes en los residuos plásticos encontrados. A través de la generación de esta nueva información de base buscamos contribuir a los objetivos y desafíos que el Sistema del Tratado Antártico enfrenta en la actualidad debido a este 'mal común global'.

3- Dr. Alvaro Soutullo • Departamento de Ecología y Gestión Ambiental, CURE, Udelar

La Antártida y el Océano Austral cumplen un rol fundamental en el sistema climático global, teniendo un importante papel sobre el nivel medio del mar y los balances globales de calor y gases de efecto invernadero. La Antártida es además la principal reserva de agua dulce del planeta, y el Océano Austral es uno de los océanos más productivos del mundo. Uruguay viene desarrollando actividad científica en la Antártida hace más de 30 años, pero recién a partir de la aprobación de la política nacional antártica en 2019 (Decreto 388/019) y los lineamientos para el desarrollo de la actividad científica en 2020, pasa a tener una política explícita que reconoce el desarrollo de la actividad científica como un pilar de la actividad antártica del país. Con este propósito el Espacio de Actividades Antárticas del Centro Universitario Regional del Este de la Universidad de

la República fue constituido como un espacio de coordinación que busca promover 1) el involucramiento de la comunidad científica nacional en iniciativas internacionales de investigación, 2) la formación de recursos humanos y el desarrollo de una comunidad científica nacional más amplia, trabajando en temas antárticos, y 3) la construcción de una interfaz ciencia-gestión que permita informar las decisiones de política exterior del país en estos temas. La investigación se estructura en torno a tres áreas temáticas enfocadas en comprender: 1) las estrategias de ocupación del territorio antártico y las formas de vinculación entre habitantes y con el territorio; 2) cómo están respondiendo los ecosistemas antárticos a los cambios ambientales actuales; y 3) el impacto de las actividades humanas sobre los ecosistemas antárticos.

4- Dra. Natalia Venturini • *Laboratorio de Biogeoquímica Marina, Oceanografía & Ecología Marina, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

Los fiordos de la Península Antártica Occidental son nexos entre interacciones terrestres, criosféricas, oceánicas y atmosféricas, además de ambientes muy productivos, sensibles al cambio climático y a los impactos del retroceso glaciar. Tasas de sedimentación relativamente altas, hacen de los fiordos áreas significativas para el secuestro de carbono a largo plazo, una función importante en la regulación del clima. Bahía Collins (BC), un fiordo localizado al norte de la Bahía Maxwell-Isla Rey Jorge, tiene influencia directa del Glaciar Collins, que ha experimentado un retroceso significativo y pérdida de ~8,5% de su área total entre 1983-2006. Los marcadores biogeoquímicos utilizados, indican acumulación predominante de carbono autóctono, derivado de bacterias y microalgas marinas en los sedimentos de BC, clasificándolos como eutróficos. El aporte terrígeno se concentra en la zona interna y más somera del fiordo que recibe agua de deshielo, disminuyendo hacia la zona externa y profunda que representa un ambiente deposicional. Mayor aporte al mar de material terrestre en suspensión, a través de escorrentía de agua de deshielo, se vincula a condiciones climáticas cálidas anómalas, durante el verano austral de 2017. El análisis histórico reciente de un testigo de sedimento, muestra aumento del aporte terrígeno y paleoproduktividad marina en BC, asociados a la finalización de la Pequeña Edad de Hielo entre AD 1850-1900, que habría promovido el retroceso de los frentes de hielo. Entender los procesos que aportan y remueven carbono, a diferentes escalas espaciotemporales, es esencial para predecir futuros escenarios de transformación en fiordos de la Antártida.



BIOCIENCIAS

II Jornadas Binacionales Argentina Uruguay
III Congreso Nacional 2022
"Ciencia para el desarrollo sustentable"



AREAS TEMATICAS

AREAS TEMATICAS

BIOFISICA

011

CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL SÍNDROME QT LARGO ADQUIRIDO PROVOCADO POR BLOQUEO DE CANALES DE POTASIO HERG EN CORAZONES AISLADOS DE CAVIA PORCELLUS (COBAYO)

Santander, Axel¹; Chavarría, Luisina¹; Solaro, Paulina; Souto, Maira; Valentini, Agustín; Cardozo, Romina¹; Benítez, Milagros¹; Ferreira, Gonzalo^{1#}.

¹Laboratorio de Canales iónicos, Membranas biológicas y Señalización celular, Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República. # autor correspondiente

El Síndrome de QT largo (SQTL) se caracteriza por la prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma, conduciendo a riesgo mayor de arritmias. El dofetilide (DFT), es un antiarrítmico capaz de generar SQTL por bloqueo del canal de K⁺ hERG, central en la repolarización temprana. hERG es modulado por la composición lipídica de la membrana. Por ello, decidimos explorar en corazones aislados de cobayo, si la exposición de dichos corazones a retroperfusión incluyendo nanomicelas capaces de integrarse a las membranas de los cardiomiocitos, es capaz de revertir el bloqueo por DFT. Se efectuaron registros eléctricos y mecánicos de la función cardíaca tras el agregado de dosis crecientes de DFT, elaborando curvas dosis-respuesta, obteniendo sus parámetros por regresión no lineal. Estos experimentos se repitieron con soluciones con nanomicelas lipídicas (NTFL 0.01%) antes y después del agregado de DFT. En presencia de DFT, se observaron contracciones cardíacas de mayor amplitud, y duración con disminución de la frecuencia cardíaca y patrones contráctiles irregulares a dosis crecientes de dofetilide. El agregado de nanomicelas al 0.01% antes y después de aplicar el fármaco, mitiga dramáticamente los efectos en función cardíaca del bloqueo por DFT. Estos resultados sugieren que las nanomicelas pueden usarse como agente preventivo/terapéutico, para tratar SQTL adquirido por bloqueo de hERG. Este efecto puede explicarse por una posible reversión del bloqueo farmacológico de hERG por los lípidos de membrana de las nanomicelas. Financiado por CSIC I+D a GF, PAIE CSIC a AS y GF.

Palabras clave: SQTL, dofetilide, hERG, nanomicelas

015

Estudio del reemplazo lipídico de membranas con nanomicelas en corazón y cardiomiocitos aislados de cobayo.

Cardozo, Romina¹, Chavarría, Luisina¹, Santander, Axel¹, Valentina Guizzo¹, Ferreira, Gonzalo^{1,2}

¹Laboratorio de Canales Iónicos y Señalización Celular, Depto. Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de la República

²Autor correspondiente: ferreira@fmed.com

Los canales iónicos son proteínas transmembrana con un poro selectivo con permeación a altos flujos. Siendo proteínas transmembrana, están ampliamente modulados por el ambiente lipídico que les rodea. Son centrales para la vida celular, siendo muy evidente su función en ciertos órganos como el corazón, donde se pueden tener reportes inmediatos de su cambio de función. Distintos procesos fisiopatológicos pueden afectar estos lípidos, influyendo por tanto en la función de los canales. El objetivo de este trabajo es estudiar si la terapia de reemplazo lipídico de membranas, puede prevenir o servir para tratar alteraciones en la función cardíaca, donde se ven afectados los mismos. Los experimentos se realizaron con corazones y cardiomiocitos aislados de cobayo, con técnicas de uso standard en nuestro laboratorio, en situación control y tratados con nanomicelas de membranas al 0.02%. En corazones aislados se realizaron registros simultáneos de la actividad eléctrica y contráctil. En cardiomiocitos aislados se estudió mediante sondas fluorescentes en un microscopio confocal, el voltaje y calcio intracelular, así como las corrientes de Calcio mediante la técnica de Patch Clamp. Los resultados señalan que las nanomicelas no son tóxicas y que las mismas son capaces de promover y optimizar la función cardíaca en corazones aislados tanto en situación basal como posterior a la exposición a la isquemia-reperusión, destacándose un efecto inotrópico positivo y de regularización del ritmo en ambas situaciones. En cardiomiocitos aislados, se observa una estabilización del voltaje de membrana y de la homeostasis del calcio intracelular, cuando se emplean nanomicelas. Las corrientes de Calcio disminuyen su "run-down" dramáticamente en cardiomiocitos aislados. Todos los fenómenos destacados pueden explicarse por la restitución de lípidos de membrana dañados y adición de algunos glicerofosfolípidos como los fosfoinositósidos, mediante la exposición a nanomicelas en el medio extracelular, las que modifican las funciones de canales iónicos.

Palabras clave: Corazón aislado, cardiomiocitos, nanomicelas, isquemia-reperusión, canales iónicos, calcio intracelular

039

Efectos del propóleo y sus componentes (pinobanksina) en la función cardíaca y en injuria por isquemia-reperfusión
Benítez, Milagros¹; Scarpa, Agustín¹; Bueno, Brian¹; Cardozo, Martina¹; Sosa, Gonzalo¹; Guizzo, Valentina¹; Chavarría, Luisina¹; Santander, Axel¹; Las, Anibal¹; Cardozo, Romina¹; y Ferreira, Gonzalo^{1#}

¹Departamento de Biofísica. Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay. # autor correspondiente

El propóleo presenta más de 160 componentes, algunos de ellos polifenoles y flavonoides de gran poder antioxidante. El corazón es altamente dependiente del metabolismo mitocondrial y muy susceptible al estrés oxidativo tanto en condiciones basales como patológicas (p.ej. infarto de miocardio). Por eso estudiamos en corazones aislados de cobayo en condiciones basales y en isquemia/reperfusión, el efecto del propóleo de *Apis Mellifera* (purificado en nuestro laboratorio) y de uno de sus flavonoides (Pinobanksina, PB). Se registraron tensión y respuesta eléctrica simultáneamente. Respecto a curvas dosis-respuesta en situación basal, concentraciones de propóleos entre 0,006% y 0,01% (w/v) generan inotropismo positivo; aunque a dosis mayores a 0,01% observamos inotropismo negativo. A 0,002% no muestra cambios. Respecto a injuria por isquemia-reperfusión con propóleos a 0,01%, observamos menor tasa de arritmias durante la isquemia, aunque la recuperación tomó tres veces más tiempo que la situación control, con variable efecto anti-antiarrítmico. PB a concentraciones de 2-10 µg/ml aumentó la frecuencia y amplitud de contracciones. Al inducir isquemia y reperfusión, el corazón recuperó actividad eléctrica y mecánica normal. Los resultados sugieren que en situación basal: a) es necesaria una mínima concentración de propóleos, b) al incrementar la concentración predominan compuestos con bajo IC50 y capacidad antioxidante inicialmente, c) Pasada cierta concentración predominan otros compuestos deletéreos de función cardíaca del propóleos, con distintos IC50. Los efectos en isquemiereperfusión sugieren que tiene vinculación con actividad mitocondrial. PB parece ser un componente central para observar las mejoras cardíacas. Financiado por CSIC a GF.

Palabras clave: propóleos, Pinobanksina, estrés oxidativo

044

Modelado de estrategias deterministas en el dilema del prisionero con memorias sociativas y teoría de grafos

Acuña, Ernesto; Pomi, Andrés

Sección Biofísica y Biología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La teoría de juegos ha emergido con fuerza en la biología, en la comprensión de la toma de decisiones, en el estudio del surgimiento de la cooperación en escenarios evolutivos y en otras múltiples áreas en las que las interacciones locales entre agentes signan la dinámica de un colectivo. El Dilema del Prisionero (DP) Iterado ha sido el modelo paradigmático de estos desarrollos, en particular en la exploración de las condiciones para desarrollar comportamientos altruistas vs egoístas en un entorno competitivo. Estrategias individuales como las llamadas Tit-for-Tat o Pavlov, compiten por dominar la población en torneos virtuales del DP. En este trabajo presentamos un modelo neuronal de las estrategias deterministas del Dilema del Prisionero, utilizando memorias asociativas contextodependientes. Cada jugador tiene instalado en su memoria un conjunto de respuestas ante las diferentes combinaciones de comportamientos propios y del contendiente. Estas respuestas o comportamientos son modeladas mediante patrones de actividad de grupos extensos de neuronas representados por vectores. Se muestra que el conjunto completo de estas estrategias deterministas puede ser mapeado por el conjunto de funciones Booleanas de dos entradas. Las posibilidades evolutivas en un torneo son modeladas mediante dos grafos de asociaciones adaptativas: un grafo que representa la evolución temporal de los estados de dos contendientes como un autómata celular y un 'grafo dinámico' que representa las transiciones posibles en el espacio de estados. Se correlaciona la dinámica del torneo con las propiedades espectrales de las matrices del grafo y se discute la extensión del modelo a otras estrategias.

Palabras clave: Juegos evolutivos; Dilema del Prisionero Iterado; Memorias asociativas contexto-dependientes

064

Modelo epidemiológico de dos especies sobre una red jerárquica de centros poblados

Claro, Luis; Pomi, Andrés

Sección Biofísica y Biología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La necesidad de entender la propagación de las enfermedades infecciosas ha conducido al desarrollo de modelos matemáticos que capturan las características principales del fenómeno y sirven para el análisis, predicción y desarrollo de

estrategias de control. Algunas de las enfermedades infecciosas de importancia regional, como el dengue, zika o chikungunya, integran un grupo de gran interés sanitario debido a su alto potencial de dispersión y a la falta de herramientas efectivas de prevención y tratamiento. Estas enfermedades, a su vez, implican un importante desafío de modelización debido a que requieren la consideración de una segunda especie que oficia de vector de transmisión. Por otro lado, la Teoría de Redes ofrece un conjunto de herramientas que permiten el desarrollo y análisis de modelos epidemiológicos, en los que la interacción entre dos especies y las dinámicas de dispersión intrínsecas de cada una pueden ser representadas como una red bicapa. En este trabajo desarrollamos un modelo de transmisión epidémica mediada por un vector como un sistema dinámico que transcurre en una red bicapa, en la que los nodos de los centros poblados en la capa que representa a la especie humana están estructurados como una red jerárquica de tipo "scale-free", pero manteniendo las conexiones locales. Se analiza la influencia de la magnitud de los flujos de individuos de ambas especies en las capas y el efecto de la estructura de la red de centros poblados sobre el proceso de un brote epidémico.

Palabras clave: Modelos epidemiológicos; Enfermedad transmisible por vector; Modelos multicapa; Red jerárquica "scale-free"

127

Modelo para estimación de fuerzas musculares basado en elastografía

Grinspan, Gustavo^{1,2}; **Pomi, Andrés**¹; **Benech, Nicolás**²

¹ Sección Biofísica y Biología de Sistemas, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

² Laboratorio de Acústica Ultrasonora, Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La estimación de fuerzas musculares es un problema de larga data en el campo de la biomecánica muscular. Si bien existen aproximaciones basadas fundamentalmente en datos electromiográficos, la naturaleza eléctrica de esta variable pone en duda la certeza de los resultados. En los últimos años, la elastografía se ha posicionado como un método confiable para caracterizar biomecánicamente el tejido muscular. El módulo elástico de corte (i.e. elasticidad muscular) obtenido con esta metodología, se relaciona de una manera directa con el esfuerzo muscular, revistiendo una buena alternativa para calcular fuerzas musculares. De esta manera, este trabajo propone un modelo que, a partir de valores de elasticidad muscular, permite calcular la fuerza muscular ante una determinada situación de carga. Particularmente, la situación analizada es la flexión isométrica de la articulación del codo en condiciones estáticas, donde los músculos involucrados son el bíceps braquial (BB), braquiorradial (BR) y el braquial (BA). Así, a partir de las elasticidades en reposo (0%MVC) y a diferentes niveles de torque articular (τ), se definen los coeficientes de proporcionalidad $C_{BB}(\tau)$, $C_{BR}(\tau)$, $C_{BA}(\tau)$. De esta manera, a partir de la consideración de dichos coeficientes y de las fuerzas involucradas en el establecimiento del equilibrio estático, el modelo permite calcular las fuerzas musculares necesarias para satisfacer dicha situación de carga. Asimismo, el modelo describe dinámicas cooperativas e hiperbólicas en lo que refiere al comportamiento de los coeficientes según el nivel de torque articular, lo que puede reflejar las estrategias neuromusculares que median el reparto de carga entre músculos.

Palabras clave: elasticidad, músculo esquelético, contracción isométrica, torque articular, fuerza muscular

BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR

001

Estudio de marcadores de estrés celular y parámetros metabólicos en un microambiente hipóxico in vitro en queratinocitos inmortalizados con los oncogenes virales del HPV-18

Natali D'Aiuto^{1,2}; **Jimena Hochmann**^{1,3}; **Magdalena Millán**¹; **Ronell Bologna**⁴; **José Sotelo Silveira**^{1,5}; **Miguel Arocena**^{1,2}

¹Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay

²Cátedra de Bioquímica y Biofísica, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay

³Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

⁴Departamento de Patología Molecular, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay

⁵Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

Introducción: El microambiente tumoral temprano es determinante para la evolución tumoral. Para estudiar la progresión tumoral *in vitro*, necesitamos desarrollar modelos que recapitulen las propiedades del microambiente tumoral. Una de las principales características de dicho microambiente es la falta de oxígeno. En este estudio, hemos utilizado un modelo de microambiente hipóxico que hemos desarrollado previamente, con el objetivo de estudiar

los efectos de este microambiente en células HaCaT que expresan los oncogenes del HPV-18, que pueden representar un modelo de una etapa intermedia de la carcinogénesis oral.

Métodos: Se utilizó la variante que desarrollamos del método de hipoxia inducida por cubreobjetos para generar un microambiente tumoral temprano *in vitro*. Se visualizó hipoxia y estrés oxidativo con sondas fluorescentes específicas. Por otra parte, se realizaron medidas de parámetros bioquímicos del microambiente tumoral mediante un radiómetro ABL800 Flex, así como de parámetros metabólicos de las células HaCaT control y con oncogenes virales mediante el analizador de flujo metabólico Seahorse XF24.

Resultados: Se observó niveles de estrés oxidativo cambiantes, de acuerdo al nivel de hipoxia registrado. También se observó que en condiciones de hipoxia ocurre una disminución de pH y un aumento en la presión de CO₂, con respecto a normoxia. Asimismo, se observó diferencias en parámetros metabólicos entre HaCaT con oncogenes y HaCaT control.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que un modelo de microambiente tumoral *in vitro* produce estrés hipóxico y oxidativo, acompañado de cambios en varios parámetros ambientales, que en conjunto pueden tener una profunda influencia en el proceso de carcinogénesis oral.

Palabras clave: microambiente tumoral, carcinogénesis, hipoxia, estrés oxidativo, oncogenes virales

004

¿Cómo responden al déficit hídrico las plantas noduladas? Una aproximación desde el estudio del traductoma

Martínez, Mauro¹; **Filippi, Carla Valeria**¹; **Eastman, Guillermo**^{2,3}; **Sotelo-Silveira, José**^{2,4}; **Borsani, Omar**¹; **Sainz, María Martha**¹

¹Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

²Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

³Department of Biology, University of Virginia

⁴Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El déficit hídrico es una de las mayores limitantes en la producción de soja. Se ha observado que la respuesta al déficit hídrico varía según si la planta está o no nodulada. Esta respuesta podría explicarse por cambios en la expresión génica. Es conocido que la exposición de las plantas a ciertas condiciones ambientales causa una inhibición global de la iniciación de la traducción que conlleva una disminución del porcentaje de ARNm asociados a polisomas. Por lo tanto, entender estos mecanismos de regulación es importante para comprender la fisiología de la planta y para aportar en la mejora del cultivo. En este trabajo, realizado en el genotipo Génesis 5601, se identificaron genes diferencialmente expresados (DEGs) en raíces de plantas noduladas y no-noduladas, sometidas a déficit hídrico, mediante análisis por RNA-seq de transcritos asociados a polisomas. El déficit en un contexto de nodulación provocó, a nivel traduccional, la sobrerregulación de 419 genes y la subregulación de 204 genes. Por su parte, se observó que la respuesta al déficit de una planta nodulada frente a la de una no-nodulada involucra, a nivel traduccional, la sobrerregulación de 76 genes y la subregulación de 100 genes. Análisis de términos GO asociados a estas respuestas diferenciales revelaron el enriquecimiento de procesos biológicos como respuesta a sacarosa, señalización por citoquininas, transporte de hierro, metabolismo de carbohidratos y del grupo hemo, transportadores, entre otros. Los genes asociados a estos procesos emergen como potenciales candidatos a ser utilizados en futuros estudios funcionales.

Palabras clave: *Glycine max*, RNA-Seq, déficit hídrico, DEGs

006

CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS Y DE LA ESTRUCTURA CELULAR DE UNA LÍNEA CELULAR HACAT TRANSDUCIDA CON LOS ONCOGENES VIRALES DEL VPH-18

Millán, Magdalena¹; **Villarreal, Lihuen**²; **D'Aiuto, Natali**^{1,3}; **Bologna-Molina, Ronell**³; **Sotelo-Silveira, José**¹; **Benech, Juan**²; **Hochmann, Jimena**¹; **Miguel Arocena**^{1,3}

¹Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Laboratorio de Señalización Celular y Nanobiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

³Cátedra de Bioquímica y Biofísica, Facultad de Odontología, Universidad de la República

Introducción: Las propiedades mecánicas de las células sufren cambios profundos durante el proceso de tumorigénesis, y son determinantes para comportamientos tumorales, tales como la invasión y la metástasis.

Hipótesis: Las células HaCaT experimentan cambios mecánicos y de morfología celular que ocurren en etapas intermedias del proceso de tumorigénesis, los cuales se asocian con la disminución en la rigidez celular y cambios en la morfología celular.

Métodos: Se utilizó, como modelo de estudio, queratinocitos humanos inmortalizados espontáneamente (línea celular HaCaT), los cuales fueron transducidos con los oncogenes del VPH-18, E5/E6/E7.

Además, se utilizó microscopía de fuerza atómica en el modo de nanoindentación y en el modo de mapeo nanomecánico cuantitativo para obtener medidas del módulo de Young y mapas mecánicos de la superficie celular, respectivamente. A su vez, con el fin de obtener parámetros morfológicos celulares, se recurrió a la microscopía confocal.

Resultados: Observamos una disminución significativa en el módulo de Young en células HaCaT que expresan los oncogenes del VPH-18, y una disminución de la rigidez en las zonas de contacto célula-célula. Por otra parte, la morfología celular se vuelve significativamente más redondeada en las células HaCaT que expresan los oncogenes del VPH-18.

Conclusiones: Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la disminución en la rigidez celular es un cambio mecánico que ocurre en etapas tempranas de la tumorigénesis, y que puede estar acompañado de cambios en la morfología celular. Además, existe una correlación entre una mayor redondez y menor rigidez, en aquellas células que se encuentran más avanzadas en la progresión tumoral.

Palabras clave: Células HaCaT; VPH-18; mecánica celular

010

Estudio del gen CYP2D6 y de su efecto en pacientes tratados con tamoxifeno

Ramírez, Gabriel¹; **Adriana Della Valle**², **Carolina Vergara**², **Florencia Carusso**², **Florencia Neffa**², **Patricia Esperón**^{1,2}.

¹Departamento de Bioquímica Clínica, Laboratorio, Facultad de Química, Universidad de la República

²Grupo Colaborativo Uruguayo, Hospital de las FFAA, Montevideo, Uruguay

Mundialmente, el cáncer de mama es el cáncer de mayor incidencia y el de mayor mortalidad entre las mujeres. El tamoxifeno (TMX) es el fármaco más utilizado para el tratamiento endócrino del cáncer de mama receptor de estrógenos positivos (ER+). Sin embargo, algunos pacientes no responden al tratamiento, en parte debido a variantes del gen CYP2D6 que codifican una proteína deficiente para convertir al TMX en su metabolito activo (endoxifeno). Los fenotipos metabolizadores pobre (PM) e intermedio (IM) son los de mayor relevancia clínica, dado que los portadores son los que menos se podrían beneficiar del tratamiento. El objetivo general del trabajo fue comprender la farmacogenética del TMX en Uruguay. Los objetivos específicos fueron conocer el estatus genético de CYP2D6 en una población uruguaya de 199 individuos. Además, se buscó correlacionar el genotipo CYP2D6 con la evolución clínica en 41 pacientes con cáncer de mama bajo tratamiento adyuvante con TMX. Estudiamos la presencia de los polimorfismos de función reducida: *3, *4, *6, *9, *17 y *41, y las variantes de números de copias (CNV) del gen CYP2D6. Los resultados mostraron que el polimorfismo *4 es el más frecuente dentro de las variantes de pérdida de función, con una frecuencia alélica de 0.197 y del 5% de individuos homocigotos mutados. La frecuencia de CNV es inferior al 1%. El 30% de los individuos estudiados resultó ser IM y el 5% PM. No se encontró ninguna asociación entre estos fenotipos con el pronóstico clínico o la sobrevida de los pacientes.

Palabras clave: CYP2D6; Tamoxifeno; Cáncer

014

Estudio *in vitro* e *in silico* de la aconitasa mitocondrial y su interacción con la frataxina

Mansilla, Santiago^{1,2}; **Tórtora, Verónica**^{1,3}; **Pignataro, Florencia**⁴; **Sastre, Santiago**¹; **Castro, Ignacio**⁴; **Chiribao, Ma. Laura**^{1,6}; **Robello, Carlos**^{1,6}; **Zeida, Ari**^{1,5}; **Santos, Javier**⁴; **Castro, Laura**^{1,5}

¹Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Métodos Cuantitativos, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Departamento de Educación Médica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

⁵Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁶Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay

La aconitasa mitocondrial (ACO2), enzima esencial del ciclo de Krebs, cataliza la isomerización reversible de citrato a isocitrato. La ACO2 presenta en su sitio activo un centro ferrosulfurado $[4\text{Fe-4S}]^{2+}$, el cual al oxidarse por especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, rinde un centro $[3\text{Fe-4S}]^+$ inactivo. Dado que *in vivo*, la oxidación es reversible, ACO2 ha sido postulada como un sensor redox en el ciclo de Krebs.

Reportamos aquí, la expresión y caracterización cinética de la ACO2 recombinante humana (K_M y k_{cat}) para sus sustratos (citrato, isocitrato y *cis*-aconitato). Se determinaron las constantes de reacción de segundo orden de la ACO2 con oxidantes de relevancia biológica: $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{CO}_3^{\bullet-}$, ONOO^- y H_2O_2 (10^8 , 10^8 , 10^5 , y $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, respectivamente). Las diferencias observadas en las curvas de desplegamiento para los dos estados de oxidación de ACO2 llevaron a la generación de modelos estructurales y estudios de dinámica molecular para los mismos. Se observó una mayor apertura y exposición del centro Fe-S cuando la enzima se encuentra inactiva.

La frataxina (FXN), proteína que participa en la biogénesis de centros FeS, promovió la reactivación de la $[3\text{Fe-4S}]^+$ ACO2. Mediante ensayos de fluorescencia y ELISA de interacción proteína-proteína, se verificó la interacción física entre las proteínas. Se generaron modelos para el complejo ACO2-FXN utilizando AlphaFold2-Multimer y HADDOCK, observándose, para el estado inactivo de la ACO2, una configuración de la FXN, capaz de promover la reactivación. Nuestros resultados apuntan al rol de la FXN como proteína socia que favorece la reactivación de la ACO2.

Palabras clave: aconitasa mitocondrial, frataxina, proteínas ferrosulfurada, mitocondria, interacción proteína-proteína

019

Organización celular y sensibilidad al albendazol del tegumento del cestodo modelo *Mesocestoides corti* Guarnaschelli, Inés¹; Koziol, Uriel¹

¹ Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los cestodos son platelmintos parásitos que causan numerosas enfermedades en humanos y animales domésticos. Cuentan con un tegumento que recubre la totalidad de su superficie y es el único sitio de contacto parásito-hospedador. Este tejido altamente especializado tiene una organización particular: un sincitio superficial (el tegumento distal) recubre toda la superficie del parásito, y se apoya sobre una lámina basal. Los núcleos del sincitio se encuentran en cuerpos celulares (citones), que se hallan sumergidos por debajo de la lámina basal y conectados al sincitio mediante finos puentes citoplasmáticos. Utilizando al cestodo modelo *Mesocestoides corti*, describimos la distribución de los microtúbulos en el tegumento mediante inmunofluorescencia, confirmando su abundancia y orientación general apico-basal. Por hibridación *in situ* para detectar ARNr y ribopuromicilación, confirmamos que la síntesis proteica en el tegumento está restringida a los citones, por lo que las nuevas proteínas deben ser transportadas hasta el tegumento distal. Utilizando un análogo de metionina para detectar la síntesis de proteínas, junto al fraccionamiento subcelular del tegumento, desarrollamos un método para medir la incorporación de nuevas proteínas al tegumento distal. Utilizando estas herramientas, analizamos el efecto sobre el tegumento del albendazol (una de las pocas drogas disponibles para el tratamiento de infecciones por cestodos). Encontramos que causa la despolimerización de los microtúbulos, acumulación de glicoconjugados en los citones, y una reducción de la síntesis proteica en el parásito acompañada de una disminución en el transporte de nuevas proteínas hacia el tegumento distal, sugiriendo un rol preponderante de los microtúbulos en dicho proceso.

Palabras clave: cestodos, tegumento, albendazol

022

Análisis del Er Membrane Complex (EMC) de *Aspergillus nidulans*: delección de las Subunidades EMC4, EMC5, y EMC6 Martínez, Julieta¹; Amillis, Sotilis²; Ramón, Ana¹; Sanguinetti, Manuel¹

¹Sección Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Department of Botany, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

Aproximadamente un 25% de los genes que codifican para proteínas en todos los organismos, codifican para proteínas integrales de membrana (PIM). Estas proteínas se caracterizan por atravesar la membrana mediante dominios transmembrana (TMD), y defectos en sus funciones están asociadas a diversas enfermedades, patologías, y a la sensibilidad de drogas, lo que deja en evidencia que son de suma importancia. Tanto la inserción de los TMD

como el ensamblaje con otros TMD son procesos determinantes en la biogénesis de dichas proteínas. Recientemente, se identificó un complejo multiproteico abundante y ampliamente conservado en organismos eucariotas, denominado *ER membrane complex* (EMC), el cual está asociado en los procesos anteriormente mencionados. Se observó que la pérdida de función del EMC se asocia con defectos en la homeostasis del colesterol, la formación de autofagosoma, defectos neurológicos, entre otros. Por lo que, entender cómo funciona este complejo es de suma importancia. Es por esto, que buscamos contribuir al conocimiento del mismo, mediante su caracterización genética y bioquímica en el hongo ascomicete modelo *Aspergillus nidulans*. Mediante análisis bioinformáticos se identificaron seis posibles subunidades de este complejo en dicho organismo. En este trabajo se realizó la delección de los genes que codifican para tres de las seis subunidades identificadas (EMC4, EMC5, EMC6) y se analizó el efecto de la ausencia de las mismas.

Palabras clave: *ER membrane complex* (EMC), proteínas integrales de membrana (PIM), *Aspergillus nidulans*

025

Receptores nucleares 2DBD de *Echinococcus granulosus*: expresión y ligandos

Mozzo, Bruno¹; Blanco, Valentina¹; Alvite, Gabriela¹

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

La larva del platelminto parásito *Echinococcus granulosus* causa la Echinococcosis quística, una zoonosis cosmopolita que constituye un problema de salud pública y económico. Hemos clonado el ADNc del receptor nuclear (NR) Eg2DBD α .1 de protoesclóides de *E. granulosus* s.l.. Dicho NR pertenece a la subfamilia 2DBD cuyos miembros poseen dos dominios de unión al ADN y fueron identificados únicamente en algunos invertebrados. Hemos analizado su estructura terciaria y cuaternaria e identificado otros receptores 2DBD en *E.g.*: Eg2DBD α , Eg2DBD β y Eg2DBD γ . Debido a que los Eg2DBDs no están presentes en los hospederos y que los NRs de helmintos parásitos son considerados como posibles blanco de nuevas drogas antihelmínticas, nos proponemos dilucidar la función de los Eg2DBDs. En este trabajo analizamos los niveles de expresión en protoesclóides de los Eg2DBDs, mediante RT-qPCR; y estudiamos la capacidad del suero bovino de estimular la homodimerización de Eg2DBD α .1, utilizando ensayos de doble híbrido de levaduras modificado. Nuestros

resultados muestran que Eg2DBD α y Eg2DBD β se expresan en protoesclóides de *E. granulosus* con niveles de expresión 121.5 y 35.4 veces mayor que el de Eg2DBD α .1, respectivamente; pero no fue posible amplificar a Eg2DBD γ sugiriendo su baja expresión en este estadio. Además, determinamos que el suero bovino estimula la dimerización de Eg2DBD α .1, constituyendo una fuente de ligandos para este NR y sugiriendo una posible comunicación hospedero-parásito. Estamos iniciando el estudio de la localización tisular de los Eg2DBDs en protoesclóides, así como de la capacidad de interacción de dichas proteínas con la proteína de unión a ácidos grasos EgFABP1.

Palabras clave: *Echinococcus granulosus*, receptores nucleares

027

Estudio de la diferenciación sexual de *Toxoplasma gondii*, una etapa inexplorada y clave para su transmisión horizontal

Sena, Florencia^{1,2}; Francia, María Eugenia^{1,3}

¹Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Instituto Pasteur Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay

³Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

La toxoplasmosis es una enfermedad de distribución mundial, causal de amplia morbimortalidad en la población humana, y de alto impacto sobre el sector productivo, siendo *Toxoplasma gondii*, su agente causal, el principal agente abortigénico en ovinos del país. *T. gondii* tiene un ciclo de vida complejo, con fases asexuadas y sexuadas. Durante la diferenciación sexual gametos femeninos y masculinos se combinan dando lugar a cigotos que se enquistan, siendo resistentes en el ambiente por extensos períodos de tiempo. *T. gondii* es diploide únicamente durante la formación del cigoto, proporcionando al parásito una ventana de oportunidad para la mezcla genética; un paso clave en la generación de diversidad. Pese a su inherente importancia epidemiológica, se desconocen aspectos básicos de la diferenciación sexual de *T. gondii*; esto se debe a que ésta se da únicamente en el epitelio intestinal felino, estando limitado su acceso debido a las complejidades éticas y técnicas inherentes al trabajo con modelos animales. En este

contexto, estudiamos aquí la gametogénesis de *T. gondii* capitalizando sobre la oportunidad sin precedentes de generar estos estadios en cultivo celular 2D. Llevamos a cabo el enriquecimiento de estadios presexuales y sexuales de *T. gondii* en diferentes líneas celulares, donde monitoreamos el aumento en la expresión génica y localización subcelular de marcadores de estos estadios por qPCR e inmunofluorescencia indirecta, respectivamente. Este proyecto servirá como puntapié inicial para el diseño racional de estrategias de prevención de la transmisión horizontal de *T. gondii* y su recombinación genética en gatos infectados.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, Transmisión horizontal, Diferenciación sexual, Microgametos

028

Insights from ultrastructure expansion microscopy into distinct domains of the basal body in *Trypanosoma brucei*
Tomasina, Ramiro^{1,2}; **Serge Bonnefoy**³, **Daniel Abbühl**³, **Julien Guglielmini**⁴, **Mathieu Gissot**⁵, **Philippe Bastin**^{3*}, **Maria E. Francia**^{*1,2}

¹Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Institut Pasteur de Montevideo

²Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Trypanosome Cell Biology Unit, Department of Parasites and Insect Vectors, Institut Pasteur Paris

⁴Bioinformatics And Biostatistics Hub, Institut Pasteur Paris

⁵Center for Infection and Immunity of Lille, Institut Pasteur de Lille

Trypanosoma brucei causes the debilitating and often fatal Human African Trypanosomiasis. Although HAT is approaching elimination, cattle infection remains a major socio-economic issue. *T. brucei* is also a fantastic model to explore the biology of Trypanosomatids, and the evolutionary conservation of parasitism mechanisms. Centrioles (Ce) make up the basal bodies (BB) which nucleate microtubules to form flagella, sensory and motile organelles important for a wide range of functions. Defects in centriolar proteins impact cell division and flagellar function. Many conserved homologs of known regulatory and structural components of vertebrate Ce and BB are absent in trypanosomatid parasites, raising questions about their mechanisms of assembly, maintenance and function. Herein, we finely characterize the location of 3 novel putative basal body proteins using ultrastructure expansion microscopy (UEXM). We identified two homologs of CEP120, a protein known for regulating centriole length in humans. Despite their common ancestry, these exhibit distinct locations along the centriole, potentially reflecting distinct functions. Lastly, a coiled-coiled domain-displaying hypothetical protein exhibits a cell cycle dependent localization to the side of Ce, alternating among centrioles as BB and flagellar duplication onset. Our work highlights the power of UEXM in localizations studies of structures below the limit of optical microscopy resolution.

031

Mecanismos de inactivación oxidativa de la glutamina sintetasa humana

Campolo, Nicolás¹; **Mastrogiovanni, Mauricio**¹; **Bartesaghi, Silvina**¹; **Radi, Rafael**¹

¹ Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, UdelAR

La glutamina sintetasa (GS) es una enzima clave en el metabolismo del nitrógeno que cataliza la síntesis ATP-dependiente de glutamina a partir de glutamato y amoníaco. Altamente expresada en astrocitos, juega un rol clave en el mantenimiento del ciclo glutamato-glutamina en la sinapsis glutamatérgica, por lo cual cambios en sus niveles o actividad pueden resultar en disfunción de la astrogliá y afectar la supervivencia neuronal. Diversos estudios han relacionado la pérdida de actividad GS con desórdenes neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer, hallándose en varios además una correlación entre la pérdida de actividad GS y las modificaciones oxidativas de la misma. En este trabajo se buscaron comprender los mecanismos moleculares de la inactivación oxidativa de la GS humana recombinante por peroxinitrito (ONOO⁻), el producto de la reacción entre los radicales superóxido y óxido nítrico. Para ello, se expuso GS a ONOO⁻ bajo distintas condiciones y se llevaron a cabo diversos estudios bioquímicos y proteómicos. Entre otros hallazgos, se observó que la inactivación de la GS se acompaña de la oxidación de residuos de cisteína y metionina, y la nitración de tirosinas. Estudios con cinco mutantes de GS donde se sustituyeron las principales tirosinas modificadas por fenilalanina no revelaron un rol relevante de dichas modificaciones en la inactivación. No obstante, se observó que la oxidación de cisteínas induce la agregación de la GS, lo cual impacta notoriamente en su funcionalidad. En conclusión, múltiples eventos serían responsables de la pérdida de actividad GS por daño oxidativo en procesos neurodegenerativos.

Palabras clave: oxidación de proteínas, peroxinitrito, bioquímica redox, eurodegeneración

033

Strategies for the identification of genes involved in the vertical transmission *Toxoplasma gondii*

Faral-Tello Paula ¹; Francia María Eugenia ^{1,2}

¹Laboratory of Apicomplexan Biology, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

The most devastating consequences of toxoplasmosis are connected to the ability of *Toxoplasma gondii* to access and infect vital anatomical sites such as the placenta. Infection during pregnancy can cause miscarriages, stillbirths, premature births and babies born with severe debilitating neuropathies. In Uruguay *T. gondii* is the causative of 75% of abortions from infectious etiology in sheep, causing millionaire losses every year. Despite its importance, the mechanisms underlying transplacental transmission are poorly understood. Genome wide CRISPR screens are powerful tools to identify genes required for processes under selective biological pressure. The strategy involves a parasite population that expresses Cas9 and a single gRNAs per cell, targeting selected genes that are further subjected to a "challenge". The readout of the experiment involves comparative whole genome sequencing pre and post challenge. Through the identification of gRNA profiles of each population genes that are lost or not upon the specific challenge are postulated as essential or dispensable candidates. In this project, we propose to use this approach to identify apicomplexan factors required for surviving the biological pressures upon vertical transmission strategies. The identification of parasite genes that are essential for transplacental passage may contribute to the development of prevention, control and prophylaxis strategies to mitigate congenital toxoplasmosis and other related apicomplexan diseases. Furthermore, the work pipeline and resourced developed within this project represent a potential starting point for additional *in vivo* or *in vitro* experiments addressing other biological questions regarding the pathogenic mechanisms of parasites in this phylum.

Keywords: Vertical transmission; *Toxoplasma gondii*; Placental tropism; CRISPRCas9 genome wide libraries.

038

***Trypanosoma cruzi* isolates naturally adapted to congenital transmission display a unique strategy of transplacental passage**

Faral-Tello Paula^{1#}; Greif Gonzalo¹; Romero Selva²; Cabrera Andrés^{1,2,3}; Oviedo Cristina²; González Telma²; Libisch Gabriela¹; Arévalo Ana Paula⁴; Varela Belén⁵; Verdes José Manuel⁵; Crispo Martina⁴; Basmadján Yester²; Robello Carlos^{1,6*}

¹Laboratorio de Interacciones Hospedero Patógeno/UBM; Institut Pasteur de Montevideo. # Present address: Laboratory of Apicomplexan Biology; Institut Pasteur de Montevideo; Montevideo; Uruguay.

²Departamento de Parasitología y Micología; Facultad de Medicina; Universidad de la República; Montevideo; Uruguay

³Unidad de Microbiología; Instituto de Patobiología; Facultad de Veterinaria; Universidad de la República; Montevideo; Uruguay

⁴Unidad de Biotecnología en Animales de Laboratorio; Institut Pasteur de Montevideo; Uruguay

⁵Unidad de Patología. Departamento de Patobiología; Facultad de Veterinaria; Universidad de la República; Montevideo; Uruguay

⁶Departamento de Bioquímica; Facultad de Medicina; Universidad de la República; Montevideo; Uruguay. * Corresponding author (email: robello@pasteur.edu.uy)

Vertical transmission (VT) of *Trypanosoma cruzi* has become of importance in the total incidence of Chagas disease due to success in vector control programs and the installation of the disease in non-endemic countries. Molecular mechanisms of VT are still not fully elucidated in part because of the lack of faithful models and VT isolates. For the present study, we isolated natural strains vertically transmitted through three generations of human patients and proceeded to study their molecular mechanism of VT. No parasitemia was detected in immunocompetent mice, but they were able to induce a strong immune systemic response and colonize different organs. In a murine VT model, results indicate that infection with the different strains did not affect mating, pregnancy or resorptions. Regarding VT isolates, they display a low parasitemia and virulent profile but very efficiently colonize placental tissue, which results in higher vertical transmission rates compared to high virulence strains. Using a transcriptomic approach, we observed that the virulent strain modulated more than 2500 placental genes, VT strains modulated 150, and none of

the modulated genes is shared between them. VT strains downregulate genes associated with cell division and replication and upregulate immunomodulatory genes leading to anti-inflammatory responses and tolerance. The virulent strain stimulates a strong pro-inflammatory immune response, and this molecular footprint correlated with histopathological analyses. We herein describe a unique placental response regarding the passage of *T. cruzi* VT isolates across the maternal-fetal interphase, challenging the current knowledge derived mainly from studies of laboratory-adapted or highly virulent strains.

Keywords: Vertical transmission; *Trypanosoma cruzi*; Placental tropism; transcriptomics

043

Imagenología funcional mitocondrial y envejecimiento: un análisis en monocitos humanos

Hornos, Nadia¹; Pereira, Mariana¹; Failache, Clara¹; Silva, Lucía¹; Winiarski, Erik¹; Cassina, Patricia¹; Martínez-Palma, Laura¹

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El envejecimiento es un problema de salud pública debido a las múltiples enfermedades prevalentes en esta etapa de la vida. El envejecimiento se asocia a un estado pro-inflamatorio crónico sistémico vinculado a una reprogramación metabólica. Estudios previos indican una disminución de la actividad respiratoria mitocondrial en monocitos de individuos mayores de 60 años comparada con la de menores de 35 años. Existe evidencia de que la función mitocondrial se encuentra vinculada con la morfología mitocondrial.

Este estudio propone analizar si la diferencia reportada en la función mitocondrial de los monocitos de individuos de diferente edad se correlaciona con cambios en la morfología.

Trabajamos con 2 grupos etarios, adultos jóvenes (18-35 años) y adultos envejecidos (60-85 años). Se obtuvieron muestras de sangre periférica y se aislaron monomorfonucleares mediante centrifugación en gradiente de densidad y luego se purificaron monocitos mediante inmunoselección negativa. Una parte de la muestra obtenida se utilizó para microscopía confocal y otra para respirometría.

Se obtuvieron imágenes (stacks para el análisis 3D) de microscopía confocal de monocitos marcados con Mitotracker Green. Se realizó un análisis morfométrico de la red mitocondrial utilizando los programas ImageJ y Huygens. Se determinaron parámetros morfológicos incluyendo número, longitud, volumen, esfericidad. Los datos preliminares muestran diferencias en el número y el volumen total mitocondrial de los monocitos entre ambos grupos. Esperamos correlacionar estos resultados con los parámetros bioenergéticos obtenidos por respirometría de alta resolución.

Palabras clave: envejecimiento, mitocondria, monocitos, análisis morfométrico

052

Caracterización de la quiescencia de las células madre en larvas de *Hymenolepis microstoma*

Failache, Emilia¹; Montagne, Jimena¹; Preza, Matías¹; Guarnaschelli, Inés¹; Koziol, Uriel¹

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los cestodos son platelmintos parásitos que causan numerosas enfermedades zoonóticas. El ciclo de vida de estos organismos es complejo, e incluye a la oncósfera, una forma larvaria reducida especializada en la infección del hospedador intermediario. Estudiando el desarrollo de la oncósfera del cestodo modelo *Hymenolepis microstoma* mediante microscopía confocal y electrónica, identificamos seis células con morfología indiferenciada que se localizan próximas a las glándulas de penetración. Estas células, denominadas células germinativas, son las únicas que poseen capacidad proliferativa, y son fuente de nuevas células para la remodelación de los tejidos durante la metamorfosis larvaria. Utilizando el análogo de timidina EdU, demostramos que estas células entran una última vez en fase S durante el desarrollo tardío de la oncósfera, pero no ingresan en mitosis. Además, en la oncósfera infectiva, presentan un contenido de ADN 4c, indicando que se encuentran arrestadas en la fase G2 del ciclo celular. La quiescencia en G2 de células madre es inusual en animales, pero ha sido descrita como un mecanismo para la rápida re-entrada al ciclo, lo que podría ser de importancia durante la infección del hospedador intermediario.

Para confirmar que las células germinativas se encuentran arrestadas en G2, analizaremos la expresión de la ciclina B como marcador de células en G2/M. Los cestodos tienen un complemento reducido de ciclinas codificadas en el genoma, por lo que previamente confirmaremos la utilidad de este marcador, analizando su expresión en el cuello del adulto de *H. microstoma*, donde las células madre se encuentran en proliferación continua.

Palabras clave: cestodos, oncósfera, células madre, quiescencia, G2

054

Más allá de la transcripción: regulación del proteoma celular por p53 durante la respuesta a proteínas desplegadas (UPR)

Ehrlich, Ricardo^{1,2}; *Portela, María Magdalena*^{3,4}; *Perelmuter, Karen*⁵; *Larghero, Irene*¹; *Chalar, Cora*¹; *Fåhraeus, Robin*^{6,7,8,9}; *Durán, Rosario*³; *Bollati-Fogolín, Mariela*⁵; *Marín, Mónica*¹; **López, Ignacio**^{1,5}

¹Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Institut Pasteur de Montevideo

³Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

⁴Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁵Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

⁶INSERM UMR 1131 Institut Saint-Louis, Université Paris Cité, París, Francia

⁷RECAMO, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, República Checa

⁸Department of Medical Biosciences, Umeå University, Umeå, Suecia

⁹International Centre for Cancer Vaccine Science, University of Gdańsk, Gdańsk, Polonia

La proteína supresora de tumores p53 es un nodo de control de la homeostasis celular y regula procesos vitales como el ciclo celular, la apoptosis y el metabolismo, entre otros. Si bien su actividad principal es la de regular la transcripción de forma directa, estudios recientes sugieren que p53 también coordina mecanismos de regulación post-transcripcional en diferentes respuestas celulares. Entre ellas se encuentra la respuesta a proteínas desplegadas (UPR, del inglés "Unfolded Protein Response"), una vía adaptativa inducida en condiciones fisiológicas frente a alteraciones de la proteostasis dentro del retículo endoplásmico que se ve perturbada en contextos patológicos como la diabetes, enfermedades neurodegenerativas y cáncer. En este trabajo, estudiamos la variación del proteoma de células H1299 derivadas de carcinoma de pulmón de células no pequeñas humanas, en presencia y ausencia de p53 en condiciones de estrés en el retículo endoplásmico inducido por tratamiento con taspigargina. El estudio proteómico cuantitativo sin marcado ("label-free") se realizó mediante aproximación "shotgun" y usando las intensidades extraídas del cromatograma iónico (XIC, del inglés "Extracted-Ion Chromatogram"). Los resultados muestran que algunos de los efectos típicamente asociados a la activación de la UPR son detectados exclusivamente en presencia de p53, lo que permite comenzar a definir una firma de la UPR dependiente de p53. Asimismo, la comparación del proteoma con el transcriptoma obtenido en el mismo modelo de estudio sugiere que algunos de los factores involucrados son regulados por p53 de forma post-transcripcional, lo que constituye el foco actual de nuestra investigación.

Palabras clave: p53, UPR, proteoma, regulación post-transcripcional

055

Identificación de vías de señalización reguladas por p53 durante la respuesta a proteínas desplegadas (UPR)

*Larghero, Irene*¹; *Costa, Fabrizio*¹; *Perelmuter, Karen*²; *Chalar, Cora*¹; *Ehrlich, Ricardo*^{1,3}; *Bollati-Fogolín, Mariela*²; *Marín, Mónica*¹; *Fåhraeus, Robin*^{4,5,6,7}; **López, Ignacio**^{1,2}

¹Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

³Institut Pasteur de Montevideo

⁴INSERM UMR 1131 Institut Saint Louis, Université Paris Cité, París, Francia

⁵Department of Medical Biosciences, Umeå University, Umeå, Suecia

⁶RECAMO, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, República Checa

⁷International Centre for Cancer Vaccine Science, University of Gdańsk, Gdansk, Polonia

La respuesta a proteínas desplegadas ("Unfolded Protein Response", UPR) se activa cuando ocurre una acumulación de proteínas mal plegadas o desplegadas en el lumen del retículo endoplasmático. Si bien su objetivo principal es restablecer la proteostasis de células normales que producen grandes cantidades de proteínas, alteraciones de la UPR han sido asociadas a patologías como el cáncer, diabetes y enfermedades neurodegenerativas. La UPR es regulada en distintos niveles por diferentes factores entre los que se encuentra p53, una proteína supresora de tumores que actúa como factor de transcripción para una gran variedad de genes asociados al ciclo celular, a la apoptosis y a la reparación del ADN, entre otras respuestas celulares. Estudios recientes sugieren que p53 podría jugar un rol en la coordinación de mecanismos de regulación postranscripcional en diferentes escenarios, siendo la

UPR uno de ellos. Para evidenciar los posibles mecanismos, primero analizamos el transcriptoma de células H1299, derivadas de carcinoma de pulmón de células no pequeñas humanas, en condiciones de estrés en presencia y ausencia de p53 utilizando microarreglos de ADN. Los resultados muestran que, a diferencia de lo que ocurre en otras condiciones, la actividad de p53 durante la UPR promueve una marcada inhibición de la transcripción. Además, la expresión de algunos genes de interés fue corroborada por qPCR y el análisis de sus funciones sugiere que p53 efectivamente regula la UPR, en particular modulando vías de señalización relacionadas a la proliferación celular, procesamiento de pre-ARNm y al plegamiento de proteínas en el retículo.

Palabras clave: p53, UPR, regulación transcripcional, regulación postranscripcional

059

Reacción de omeprazol y H₂S

Lenzi, Janina¹; Benchoam, Dayana^{1,2}; Alvarez, Beatriz^{1,2}

¹Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Universidad de la República

El omeprazol es un profármaco utilizado para tratar la acidez estomacal. Es un sulfóxido que a pH ácido forma una sulfenamida capaz de inhibir la bomba de protones del estómago (H⁺, K⁺-ATPasa). La reacción de la sulfenamida con tioles de esta proteína y otros forma disulfuros mixtos, que decaen a un tioéter en presencia de reductor. Postulamos que la sulfenamida podría reaccionar con sulfuro de hidrógeno (H₂S) formando un persulfuro (RSSH), que decaería a un disulfuro en lugar del tioéter, dando finalmente el tiol 5-metoxi-2-mercaptobenzimidazol. Esta reacción se estudió mediante espectrofotometría y HPLC de fase reversa. El omeprazol decayó en amortiguador citrato a pH 4.5 en un proceso multifásico limitado por una constante de $0.05 \pm 0.01 \text{ min}^{-1}$ que se atribuyó a la formación de la sulfenamida. En cambio, el omeprazol en HCl 87 mM formó en una fase sulfenamida, la cual decayó a pH neutro. La reacción de omeprazol con exceso de H₂S en citrato generó turbiedad, que fue revertida al agregar el reductor tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), sugiriendo la formación de polisulfuros y azufre elemental. Esto no ocurrió utilizando β-mercaptoetanol o concentraciones bajas de H₂S. Los cromatogramas de las reacciones con H₂S presentaron un pico correspondiente al omeprazol (6.3 min) y otro que eluyó a los 10.1 min. Sin embargo, no se evidenció el pico correspondiente al 5-metoxi-2-mercaptobenzimidazol (3.0 min), y el pico de 10.1 min también se observó en omeprazol expuesto a TCEP. A futuro, se realizarán estudios de espectrometría de masa para intentar elucidar los productos formados.

Palabras clave: omeprazol, sulfuro de hidrógeno, tioles, bioquímica redox

063

FSTL1 antagoniza la fosforilación de ERK1/2 durante la formación de la cilia primaria

Santos, Leonardo^{1,3}; Guggeri, Lucia^{2,3}; Escande, Carlos^{1,3}; Badano, José Luis^{2,3}; Prieto-Echagüe, Victoria^{2,3}

¹Laboratorio de Patologías del Metabolismo y el Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo

³Programa INDICyO (Investigación en Diabetes, Inflamación, enfermedades Cardiovasculares y Obesidad), Institut Pasteur de Montevideo

El Síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es una patología caracterizada entre otras manifestaciones por degeneración de retina, malformaciones del sistema nervioso central, disfunción renal, diabetes y obesidad. BBS, así como otras ciliopatías, es causada por defectos en la cilia primaria, un organelo crítico para la transducción de señales y la interacción de las células con su ambiente. En nuestro trabajo previo caracterizamos la relación funcional entre el producto de un gen causante de BBS (BBS4) y Follistatin-like 1 (FSTL1), una glicoproteína secretada vinculada, entre otros procesos, a la adipogénesis. Describimos que BBS4 regula la secreción de FSTL1 y descubrimos una función de FSTL1 en la ciliogénesis mediante experimentos de rescate de largo ciliar usando *knockdown* de FSTL1 y Fstl1 recombinante. Mostramos que FSTL1 extracelular promueve la formación de cilias primarias de manera autónoma de la célula. En este trabajo, nos enfocamos en estudiar el mecanismo de señalización de FSTL1 en su acción parácrina sobre la ciliogénesis. Nuestros resultados sugieren que la transducción de señales por la fosforilación de ERK participa en el efecto parácrino de FSTL1 sobre la ciliogénesis. El *Knockdown* de FSTL1 produce un aumento de la pERK y a su vez la inhibición de p-ERK aumenta el largo ciliar. Experimentos en curso están orientados a la identificación del receptor que participa en esta vía con especial foco en receptores de BMP4 (Bone Morphogenetics Protein 4). En

suma, este trabajo representa avances en nuestro conocimiento de la base molecular de la señalización por FstI1 y potencialmente en su rol en la adipogénesis.

067

Onda instantánea de formación de especies reactivas de oxígeno en heridas de células en cultivo

Rinaldi, Micaela¹; Justet, Cristian²

¹*Cátedra de Bioquímica y Biofísica, Facultad de Odontología, Universidad de la República*

²*Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República*

Cuando se produce una herida, tanto en células en cultivo como en tejidos, se inicia de forma instantánea una onda fugaz de calcio (FCW) que se propaga desde el borde de la herida. En estudios realizados en células de endotelio de córnea de bovino (BCEC) en cultivo se ha encontrado que la FCW depende fundamentalmente del calcio del retículo endoplásmico y en menor medida del calcio extracelular (Justet et al., 2016). Por otra parte, en varios trabajos se ha encontrado que la onda de calcio induce la formación de H₂O₂ (van der Vliet et al. 2014). En este trabajo se busca determinar el rol de la FCW sobre la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Para evidenciar las ROS se utilizó CellROX Green (sonda inespecífica). La salida de calcio del retículo endoplásmico se bloqueó utilizando el ácido ciclopiazónico (inhibidor de la SERCA) o el U73122 (inhibidor de la PLC). Para evitar la entrada del calcio extracelular las heridas fueron realizadas en ausencia de calcio. Nuestros resultados indican que se produce una onda de ROS de forma instantánea luego de realizada la herida que se propaga hasta la cuarta a quinta fila de células. Los experimentos con ácido ciclopiazónico y U73122 no afectaron la formación de ROS. Sin embargo, la ausencia de calcio extracelular bloquea por completo la formación de ROS evidenciada con CellROX Green. En conjunto, los resultados sugieren que en BCEC en cultivo la herida genera una onda instantánea de ROS dependiente en forma exclusiva del calcio extracelular.

Palabras clave: ROS, calcio, cicatrización

070

Puesta a punto de un sistema de crecimiento de raíces en gradiente osmótico

Píriz, Selene¹; Sainz, María Martha¹; Borsani, Omar¹; Sotelo-Silveira, Mariana¹

¹*Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República*

El meristemo radicular debe enfrentar uno de los ambientes más complejos en la tierra: el suelo, cuyas propiedades fisicoquímicas pueden variar dramáticamente en la escala de micras exponiendo a las raíces a distintos tipos de estrés como el osmótico. El estrés osmótico limita la habilidad de las células de absorber agua provocando un retraso o detención del crecimiento. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método que busca simular condiciones de retención de agua similares a las de un suelo en condición de déficit hídrico. Utilizando un gradientómetro establecimos un gradiente osmótico con concentraciones crecientes de manitol (0 a 400 mM) que genera potenciales osmóticos decrecientes (0 a -1.2 MPa) en placas de petri. En dichas placas, se ensayó el porcentaje de germinación de semillas de Col-0. Se observó una disminución del porcentaje de germinación significativa a partir de 250 mM de manitol; 53% con respecto a 0 mM de manitol. Además, este sistema nos permitió cuantificar el crecimiento de la raíz primaria de *Arabidopsis* en condiciones de disponibilidades decrecientes de agua. El fenotipado en este sistema, hasta donde sabemos, no ha sido muy utilizado y abre nuevas oportunidades para realizar estudios moleculares en condiciones que simulan mejor el crecimiento en suelos sometidos a déficit hídrico.

Palabras clave: Gradiente osmótico, *Arabidopsis*, raíz

073

Caracterización de *fpdD*, posible represor general de genes de transportadores de aminoácidos de *Aspergillus nidulans*

Dourron, Juliette¹; Sanguinetti, Manuel¹; Scazzocchio, Claudio^{2,3}; Ramón, Ana¹

¹*Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*

²*Department of Microbiology, Imperial College London, London, United Kingdom*

³*Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), Gif-sur-Yvette, France*

Ante la carencia de fuentes primarias de carbono y/o nitrógeno, los hongos utilizan fuentes alternativas (como los aminoácidos), lo cual requiere de la síntesis de transportadores de membrana específicos y de enzimas para su metabolización. Este trabajo propone la caracterización de un posible represor general de la transcripción de genes

que codifican para permeasas de aminoácidos de *A. nidulans*. Se encontró un mutante en el locus *fpaD* (*fpaD43*), resistente a D-serina y a p-fluorofenilalanina (análogos tóxicos L-Ser y Phe, respectivamente), siendo la mutación semidominante frente al alelo *wild type*. Este mutante presenta alterada su capacidad de transporte de otros aminoácidos y análogos tóxicos. FpaD presenta varios motivos predichos de unión al ADN (un homeodominio y tres dedos de Zn de tipo C2H2) y dos señales de localización nuclear. *fpaD43* porta la mutación Ala388Asp, en uno de los dedos de Zn. En ensayos semicuantitativos por qPCR no se observaron diferencias entre la cepa *fpaD43* y el *wt* a nivel de expresión del ARNm de 10 genes predichos como transportadores de aminoácidos. Se observó que *fpaD* se expresa 3 veces más en el mutante *fpaD43* que en el *wt*. Se secuenció el ARNm para ambas cepas, constatándose que la secuencia predicha como único intrón en las bases de datos está presente en el ARNm y que el codón stop yace 92 nucleótidos antes de lo predicho.

Palabras clave: regulación de la expresión génica, transportadores de aminoácidos, *Aspergillus nidulans*

076

Estudios bioinformáticos y bioquímicos de una mutación en el gen mitocondrial *MT-ND1* y su impacto en la estructura y actividad del Complejo I de la cadena respiratoria

Chaves, Mariana^{a,b}; Spangenberg, Lucía^c; Raggio, Víctor^d; Zabala, Cristina^{e,f}; Cerisola, Alfredo^{f,g}; Lemes, Aída^f; Quijano, Celia^{a,b}; Cassina, Adriana^{a,b}; Graña, Martín^c

^a Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UDELAR, Uruguay

^b Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Universidad de la República, Uruguay

^c Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

^d Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

^e Clínica Pediátrica A, Centro Hospitalario Pereira Rossell, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

^f Centro de Referencia Nacional en Defectos Congénitos y Enfermedades Raras (CRENADECER) del Banco de Previsión Social (BPS), Uruguay

^g Cátedra de Neuropediatría, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

Enfermedades mitocondriales, bioinformática, bioquímica

Las enfermedades mitocondriales constituyen uno de los errores innatos del metabolismo más comunes. Son causadas por mutaciones en el ADN mitocondrial o ADN nuclear generando fallas en la fosforilación oxidativa. Su diagnóstico es difícil dada la amplia variabilidad clínica, y las variantes genéticas de significado incierto obtenidas mediante secuenciación. En este trabajo utilizamos herramientas computacionales para generar hipótesis funcionales sobre la variante del gen *MT-ND1* m.3447 A>C identificada en un paciente. Esta mutación sustituye una glutamina por una histidina en una subunidad (ND1 Q47H) de la NADH deshidrogenasa, entrada de la cadena respiratoria mitocondrial. La modelización estructural con AlphaFold sugiere que la mutación afectaría la orientación de la cadena 1, debido a cambios en las interacciones con subunidades vecinas. Por ejemplo, se perdería una interacción hidrofóbica evolutivamente conservada de la Val40 con la Ala50; y se formaría un nuevo puente de hidrógeno entre la His47 y el Asp51. Dada la ubicación de ND1 en el Complejo I, estos cambios podrían estar afectando el bombeo de protones de la matriz al espacio intermembrana. Para validar estas predicciones, estamos poniendo a punto la medida de respiración dependiente de sustratos del complejo I, usando biopsias musculares, para evaluar individuos sin patologías metabólicas (controles), así como al paciente portador de la mutación. Esperamos que estos estudios permitan comprender la relación entre mutación, función mitocondrial y fenotipo del paciente.

079

Atenuación del virus mayaro (MAYV) mediante el enriquecimiento en CpGs

Ferreiro Fernández, Irene^{1,2}; Fajardo, Álvaro^{1,2,3}; Simón, Diego^{1,2}; Pereira, Mariana^{1,2}; Moreno, Pilar^{1,2}; Moratorio, Gonzalo^{1,2}

¹Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

³Department of Microbiology, NYU Langone Health, New York, NY, EE.UU

Dada la emergencia y reemergencia de arbovirus como el virus Mayaro (MAYV) en la región y la presencia de su principal vector a nivel urbano, el mosquito *Aedes aegypti*, Uruguay se encuentra en riesgo constante. Consecuentemente, urge hallar estrategias de atenuación de estos virus con el fin de generar nuevas estrategias antivirales.

A diferencia de los arbovirus, los virus que únicamente infectan mosquitos presentan genomas con altas frecuencias relativas del di-nucleótido CpG. Además, se ha reportado que el incremento de la frecuencia de este di-nucleótido puede activar eficientemente la respuesta inmune en vertebrados, lo cual explica su sub-representación en virus ARN que infectan solamente vertebrados. En este trabajo se abordó una estrategia de atenuación viral mediante mutaciones sinónimas, basada en ingeniería genética y biología sintética, con el objetivo de generar cepas de MAYV con altas frecuencias de CpGs que dificulten su replicación en células de mamífero. Se partió de un clon infeccioso wild type (WT) y se diseñaron tres clones mutantes de MAYV, aumentando sus frecuencias de CpGs en: toda la región codificante (FG+), exclusivamente en la región no estructural (NS+) y exclusivamente en la región estructural (S+). Se compararon las cinéticas de replicación viral en células A549 a alta y baja multiplicidad de infección. Los virus mutantes presentaron títulos virales menores al virus WT, llegando a diferencias de más de un orden de magnitud en el caso de FG+. En conclusión, el aumento en CpGs dificulta la replicación de MAYV en células A549, generando un fenotipo atenuado.

Palabras clave: arbovirus, atenuación, Mayaro virus

080

Captación celular, reconocimiento y biodisponibilidad de ARNs extracelulares no vesiculares

Blanco, Valentina^{1,2}; **Li Calzi, Marco**¹; **Castellano, Mauricio**^{1,2}; **Cayota, Alfonso**^{1,3}; **Tosar, Juan Pablo**^{1,4}.

¹Laboratorio de Genómica Funcional, Institut Pasteur de Montevideo

²Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República

⁴Unidad de Bioquímica Analítica, CIN, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Contrario a lo que se cree, la mayor parte del ARN extracelular (exRNA) se encuentra por fuera de las vesículas extracelulares (EVs). Esto es así tanto en fluidos biológicos como en medio de cultivo de células humanas. Esto genera obvias interrogantes respecto a la estabilidad de estas moléculas. Nuestro grupo ha demostrado que la mayoría de los exRNAs son fragmentos derivados de tRNAs capaces de formar dímeros, protegiéndose así de la actividad RNasa extracelular. Nos preguntamos entonces si estos exRNAs no vesiculares podrían actuar en la señalización intercelular, siendo internalizados por células receptoras y desencadenando cambios en la expresión génica de las mismas. Para contestar esta pregunta, se incubó células con distintos ARNs sintéticos de 30 nt y se estudió, en primer lugar, si los mismos podían ser internalizados de forma espontánea por líneas celulares humanas. Habiendo demostrado esto, se realizaron ensayos transcriptómicos entre células tratadas y controles. Estos ensayos mostraron cambios en la expresión de genes vinculados a la presentación de antígenos, lo que fue confirmado por RT-qPCR. Posteriormente, nos preguntamos si la internalización espontánea de ARNs no vesiculares estaría restringida únicamente a ARNs pequeños, o podría operar también con ARNs de mayor tamaño. Aunque son rápidamente degradados por las RNasas extracelulares, hemos demostrado la presencia extracelular de ribosomas y ARNs mensajeros en ciertas condiciones experimentales. Para evaluar si los mRNAs extracelulares podrían ser también internalizados de forma espontánea por células epiteliales, transcribimos in vitro los mRNAs de nanoluciferasa y GFP, demostrando su internalización celular y traducción a proteínas funcionales en el citoplasma.

Palabras clave: ARN extracelular, comunicación intercelular, captación espontánea

081

Desarrollo de estrategias de detección molecular de variantes de preocupación de SARS-CoV-2

Perbolianachis, Paula^{1,2}; **Costábile, Alicia**^{1,2,3,4}; **Paz, Mercedes**^{1,2,4}; **Moreno, Pilar**^{1,2,4}; **Moratorio, Gonzalo**^{1,2,4}

¹Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo

³Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Institut Pasteur de Montevideo

En el último año la aparición de variantes de preocupación (VOCs) de SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) se ha asociado con una mayor transmisibilidad, patogenicidad y/o escape inmunológico. La vigilancia genómica intensiva por secuenciación de última generación (NGS) es la técnica por excelencia para identificarlas; sin embargo, esta técnica requiere tiempos y costos elevados que dificultan mantenerla operativa a largo plazo. Para abordar este problema, desarrollamos un conjunto de ensayos *One Step* RT-PCR específicos de detección de deleciones genéticas relevantes presentes en las distintas VOCs (alfa, beta, gamma, delta y ómicron). La puesta a punto de las metodologías se realizó con fragmentos sintéticos y/o con muestras clínicas previamente caracterizadas por secuenciación. Todas las *One Step* RT-PCR desarrolladas mostraron una alta sensibilidad y especificidad para las regiones genómicas dianas. Respecto a los resultados de NGS de 3.322 muestras clínicas, la sensibilidad para detectar las mutaciones específicas de cada VOC por *One Step* RT-PCR fue del 100 %. Por tanto, los enfoques de *One Step* RT-PCR proporcionan métodos de monitoreo rápidos que permiten la detección temprana de variantes, determinar su distribución, así como seleccionar de manera eficiente un subconjunto de muestras para la secuenciación genómica completa, a modo de confirmación de la VOC asignada. Sin embargo, las metodologías de *One Step* RT-PCR requieren actualizaciones continuas a medida que surgen nuevas variantes virales.

Palabras claves: variantes de preocupación, SARS-CoV-2, *One Step* RT-PCR

088

Nanoestructuras en mariposas: un mundo invisible

Pereyra, Mariana¹; Bentancur-Viglione, Gabriela²; Fagúndez, Pablo¹; Morelli, Enrique²

¹Unidad de Bioquímica Analítica, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Sección Entomología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Las nanoestructuras en la naturaleza han estado presentes en animales y plantas por millones de años y gracias al desarrollo de herramientas analíticas, se han descubierto estructuras naturales cuyas funciones se basan en efectos a nanoescala. Muchos trabajos científicos han determinado que las nanoestructuras son las responsables de la hidrofobicidad en las hojas de plantas o del color estructural en las mariposas y plumas de pájaros favoreciendo desarrollos tecnológicos a partir de ellos. Sin embargo, también se han observado nanoestructuras en insectos que presentan superficies transparentes. En particular, existe una controversia en cuanto que si la transparencia se debe exclusivamente a las nanoestructuras y no a la composición química de los componentes del ala. El presente trabajo estudia las nanoestructuras en una especie nativa de mariposa *Episcada hymenaea*. Este insecto tiene la particularidad de que sus alas son transparentes no encontrándose escamas en gran parte de las mismas. A partir del uso de técnicas clásicas de caracterización de materiales como SEM, AFM, FTIR, Reflectancia y Transmitancia se buscó analizar desde un punto de vista estructural y químico de la región transparente para determinar los factores que contribuyen a la transparencia. También se compararon los resultados con los obtenidos para *Saturniidae Heliconisa pagenstecheri*, espécimen que también presenta transparencia en sus alas. Los resultados no sólo permitieron contribuir a dar luz a esta controversia, sino que se propone, además, un modelo de simulación de las características estructurales para determinar parámetros como el índice de refracción que podría ser utilizado en otros especímenes.

Palabras claves: nanoestructuras, transparencia, mariposas, caracterización, índice de refracción

090

Defectos mecánicos en la neurulación primaria

Bosch, Santiago¹; Zolessi, Flavio^{2,3}

¹Sección Biofísica y Biología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Laboratorio Biología Celular del Desarrollo Neural, Institut Pasteur de Montevideo

La Neurulación Primaria es uno de los primeros eventos en el desarrollo embrionario del Sistema Nervioso Central de ciertos grupos de animales (eg: Aves y Mamíferos), por el cual el neuroepitelio inicialmente plano se pliega, llevando al cierre del tubo neural.

Tales cambios de forma en el tiempo implican la acción de fuerzas mecánicas sobre el tejido, ya sean externas (generadas por otros tejidos) o internas (generadas por las propias células del tejido, aún bajo señales provenientes de otros tejidos). Alteraciones en el balance de estas fuerzas pueden llevar a defectos de varios tipos en la

neurulación, entre los cuales destacamos el fallo del cierre del tubo, así como el desprendimiento de células del neuroepitelio sin la pérdida de confluencia (extrusión apical). La complejidad de este sistema de estudio sugiere que cualquiera de estas fallas podría ocurrir como resultado de diferentes desviaciones, involucrando posiblemente diferentes combinaciones de fuerzas, frente al estado normal del neuroepitelio. Utilizando embriones de pollo (cultivados ex ovo en un medio semi-sólido según el método EC) como modelo de Neurulación Primaria, indujimos cambios en el estado mecánico del tejido mediante cortes y técnicas farmacológicas, permitiendo que el desarrollo continuara por un período de tiempo en el que ocurre apreciable cierre del tubo neural en condiciones normales. Encontramos que ambos defectos pueden ocurrir en más de un tipo de situación, acompañados por otros que dependen del tratamiento. Estos resultados son sugerentes a la hora de determinar los componentes que juegan roles importantes en la neurulación en condiciones normales.

Palabras clave: Biología del Desarrollo, Mecanobiología, Neurulación, Extrusión apical

092

Bloqueo del gen de Notch3 en fotorreceptores en diferenciación mediante edición genómica en pez cebra

Mustto, Lucía¹; Aparicio, Gonzalo^{1,2}; Zolessi, Flavio^{1,2}

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Institut Pasteur de Montevideo

Los fotorreceptores son las células más externas de la retina formando la capa nuclear externa (ONL). Conos y bastones presentan una organización planar de tipo mosaico. Dicha distribución se debe a la existencia de contactos célula-célula diferenciales entre los distintos subtipos de fotorreceptores. En el pez cebra la existencia del mosaico se hace evidente al tener una retina enriquecida en conos, contando con cuatro subtipos espectrales. La vía de señalización de Notch se encuentra involucrada en diversos procesos de diferenciación celular. Cuando los receptores de membrana Notch entran en contacto con sus ligandos Delta en células contiguas se produce el clivaje de su dominio intracelular, el cual se transloca al núcleo, donde modula la expresión génica. A partir de bases de datos de secuenciación de ARN de célula única fue posible determinar el enriquecimiento de la expresión de Notch3 en células progenitoras de fotorreceptores. Es así que buscamos bloquear su expresión mediante edición genómica empleando el método CRISPR/Cas9. En función del estudio del gen de Notch3, diseñamos 4 ARN guías contra exones contiguos del mismo gen que dirigen el sitio de corte de la endonucleasa Cas9. Cada uno de los guías fue diseñado contemplando que reconozcan ambas isoformas del gen y a su vez que no tuvieran sitios inespecíficos de unión en otros genes de la familia Notch. Tras la microinyección del complejo ribonucleoproteico en embriones, realizaremos una evaluación fenotípica, analizando su estructura global y particularmente el posicionamiento de los fotorreceptores en la retina utilizando microscopía confocal.

096

Estudio de la expresión y localización de N-Cadherina y productos derivados del clivaje proteolítico en embriones de peces anuales del género *Austrolebias*

Schlueb Bentancur, Hellen¹; Reig, Germán F²; Rossi, Francesco M³; Papa, Nicolás¹; Blanco, Daniel¹; Arezo, María José¹

¹Laboratorio de Biología Molecular de Organismos Acuáticos. Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Centro Integrativo de Biología y Química Aplicada, Universidad Bernardo O'Higgins, Santiago de Chile

³Laboratorio de Neurociencias, Unidad de Neuroplasticidad, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los peces anuales del género *Austrolebias* se desarrollan en charcos de agua temporales, cuyos ciclos de llenado-secado dependen de la periodicidad de las lluvias y la temperatura ambiente. Durante la época de lluvia las larvas eclosionan, crecen y los adultos se reproducen, depositando huevos que permanecen enterrados en el sustrato. Sus embriones pueden desarrollarse de manera continua o detenerse y permanecer en un estadio llamado diapausa. La decisión entre estas trayectorias del desarrollo resulta crucial para la supervivencia de la especie. Comprender los mecanismos que regulan caminos alternativos del desarrollo embrionario resulta imprescindible como insumo para planificar estrategias de conservación de estas especies. Las Cadherinas conforman una familia de glicoproteínas transmembrana cuya función más conocida se relaciona a uniones célula-célula. Resultados obtenidos en nuestro laboratorio muestran una distribución diferencial de N-Cadherina cuando se comparan embriones de *Austrolebias*

en desarrollo continuo versus aquellos detenidos en diapausa I, destacando la presencia de estas proteínas en núcleos de células embrionarias. En este sentido la hipótesis planteada es que la marca observada en núcleo de células embrionarias corresponde a un fragmento citoplasmático de N-Cadherina resultado de su corte proteolítico. En este trabajo se presentan resultados del estudio del patrón de expresión de N-Cadherina en diferentes etapas del desarrollo embrionario: activo y diapausa. Así como la identidad y tamaño del fragmento de N-Cadherina nuclear. Este abordaje es una primera aproximación al estudio de las Cadherinas en células en diapausa I, para acercarnos a comprender el rol de la N-Cadherina en estos estadios tan particulares.

Palabras claves: N-cadherina, peces anuales, desarrollo embrionario

097

Validación de un sistema CRISPR/Cas9 para la inactivación de genes in vivo

Ladra, Camila¹; Colantuono, Lucía^{1,2}; Oliveira-Rizzo, Carolina¹; Duhagon, María Ana^{1,2}

¹Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

El sistema CRISPR/Cas, inicialmente identificado como un sistema inmunitario adaptativo altamente eficiente frente a elementos genéticos extraños en procariotas, se ha convertido en una herramienta de edición genómica aplicable a cualquier organismo, lo que ha revolucionado el estudio de la función de genes *in-vitro* e *in-vivo*. La puesta a punto de este sistema representa un desafío experimental que implica la necesidad de contar con controles adecuados que permitan evaluar la eficiencia de la edición. Para esto, nuestro grupo diseñó un sistema para la inactivación de la proteína reportera mCherry (SaCas9-His, sgRNA, DNA molde) y verificó su funcionalidad *in-vitro*. Este trabajo busca evaluar la eficiencia de edición del sistema *in-vivo*, mediante el seguimiento de la pérdida de fluorescencia en las células editadas. Con este fin, se generó mediante lentivirus una línea celular que expresa de manera estable la proteína mCherry. Para esto, se co-transfectaron los plásmidos lentivirales en la línea celular HEK293t, y se transdujeron células DU145 con los lentivirus producidos. La expresión de mCherry se verificó mediante microscopía de fluorescencia y la eficiencia de transducción se evaluó mediante citometría de flujo. Posteriormente, se transfectaron los componentes del sistema CRISPR/Cas9 sintetizados *in vitro* en las células DU145-mCherry mediante electroporación. Finalmente, la pérdida de fluorescencia se verificó mediante microscopía de fluorescencia y la eficiencia de edición se evaluó mediante citometría de flujo. Este sistema sirve como control para verificar la funcionalidad de los componentes del sistema CRISPR/Cas completamente sintetizados *in vitro* para la inactivación de genes *in-vivo*.

Palabras clave: CRISPR/Cas9, edición genómica, *in-vivo*

099

Efecto de las lesiones producidas por almacenamiento y el estrés oxidativo en la membrana de glóbulos rojos para transfusión

López, Ana Clara^{1,2}; Thomson, Leonor¹; Möller, Matías²

¹Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Udelar

²Laboratorio de Físicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Udelar

Los glóbulos rojos almacenados para transfusión sufren cambios progresivos que afectan la calidad y eficacia terapéutica del preparado. Estas alteraciones, conocidas como lesiones por almacenamiento, incluyen cambios bioquímicos y morfológicos, que conducen a la liberación de microvesículas alterando la membrana del glóbulo rojo. Estos eventos son inducidos al menos en parte por estrés oxidativo. El empleo de técnicas de leucorreducción en los países de la Unión Europea y en parte de los Estados Unidos ha disminuido la incidencia de reacciones adversas, sugiriendo que los leucocitos y sus mediadores serían los responsables. En Uruguay, sólo se leucorreduce el 15% de los volúmenes de glóbulo rojo transfundidos. Con el fin de colaborar en la instauración de políticas sanitarias tendientes a mejorar la provisión de esta importante herramienta terapéutica nos proponemos evaluar el efecto de la leucorreducción en concentrados de glóbulos rojos para transfusión. En este trabajo analizamos el efecto del almacenamiento sobre el estado de la membrana de glóbulos rojos, evaluando cambios en lípidos y proteínas de la membrana y el citoesqueleto, con especial énfasis en modificaciones oxidativas. También se analizó el efecto de la leucorreducción en la dinámica de liberación de microvesículas generadas durante el almacenamiento, estudiando su composición y propiedades.

Palabras clave: glóbulos rojos, leucorreducción, microvesículas, transfusión

100

Estudio *in silico* de las preferencias conformacionales de oligosacáridos derivados de la desfosforilación de antígenos o-específicos de *Escherichia coli* O152, O160 y O173

Vázquez, Sofía¹; Bottini, Gualberto¹; Fontana, Carolina¹

¹Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

Las cepas patogénicas de *E. coli* son causantes de un gran número de enfermedades, y poseen factores de virulencia que les permiten ocasionar daño tanto a humanos como animales. La superficie de la membrana externa de estas bacterias está formada por lipopolisacáridos, cuyas cadenas O-específicas (O-PS) pueden ser útiles para el desarrollo de vacunas polisacáridicas. En este proyecto se busca determinar las preferencias conformacionales de oligosacáridos obtenidos por despolimerización de los O-PS de *E. coli* O152, O160 y O173.¹⁻³ Como estos polímeros poseen enlaces fosfodiéster en su cadena principal, es posible obtener estructuras bien definidas al realizar una completa desfosforilación con HF 40%, obteniéndose pentasacáridos ramificados: α -D-Glcp-(1→2)- β -D-Glcp-(1→3)- β -D-GlcpNAc-(1→3)-[β -L-Rhap(1→4)]-DGlcpNAc, β -D-Galp-(1→3)- β -D-GalpNAc-(1→4)[β -D-Glcp(1→6)]- β -D-GlcpNAc-(1→3)-DGalp y α -D-Glcp-(1→2)- β -D-Glcp-(1→3)- β -D-GlcpNAc-(1→3)[α -L-Fucp-(1→4)]-D-Glcp, respectivamente. Las simulaciones de dinámica molecular se llevaron a cabo a 298 K en cajas de agua cúbicas con 10 Å adicionales de largo desde el borde del oligosacárido, empleando el modelo de agua TIP3, el campo de fuerza CHARMM36 y el software GROMACS. A partir de las trayectorias de estas simulaciones se construyeron mapas conformacionales vinculados a cada uno de los enlaces glicosídicos, de forma de definir las preferencias conformacionales de los oligosacáridos. A futuro se realizarán estudios experimentales empleando espectroscopía de RMN; este análisis se enfocará en el estudio de curvas de crecimiento de NOE para poder estimar distancias protón-protón intraresiduales. Financiación: Proyecto CSIC I+D 2020 #291

[1] Olsson et al. *Carb. Res.* 2005, 340:167–171

[2] Perepelov et al. *Carb. Res.* 2015, 417:89–93

[3] Linnerborg et al. *Carb. Res.* 1999, 320:200–208

Palabras clave: *Escherichia coli*; polisacáridos; conformación; dinámica molecular

102

Mecanismos de internalización y efectos transcriptómicos inducidos por ARNs pequeños encapsulados en vesículas extracelulares

Li Calzi, Marco¹; Blanco, Valentina^{1,2}; Cayota, Alfonso^{1,3}; Tosar, Juan Pablo^{1,4}

¹Laboratorio de Genómica Funcional, Institut Pasteur de Montevideo

²Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República

⁴Unidad de Bioquímica Analítica, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Se sabe que la comunicación intercelular puede estar mediada por diferentes macromoléculas, como los ARNs, y que pueden viajar encapsulados en vesículas extracelulares (EVs). Sin embargo, los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la internalización y reconocimiento de ARNs encapsulados en EVs aún no se comprenden del todo. Para profundizar en estos aspectos, se estudió mediante microscopía láser confocal en células vivas la dinámica de la internalización de EVs marcadas con una tinción lipídica y purificadas por métodos cromatográficos, pudiendo así realizar un seguimiento en tiempo real del camino desde el medio extracelular hacia el interior de la célula. Además, se marcó zonas acídicas intracelulares con sondas dependientes de pH, de modo tal de poder estudiar las interacciones EV-(endo)lisosoma. Nuestros resultados son consistentes con una captación de EVs mediante macropinocitosis, al menos en las líneas celulares estudiadas (MCF-7 y U-2 OS). Inhibidores de la endocitosis afectaron la internalización de las EVs, pero no su interacción con la membrana plasmática. Por otra parte, se marcó el ARN intravesicular con un fluorocromo para poder visualizarlo dentro de EVs y nos encontramos actualmente trabajando en la elaboración de herramientas para estudiar el escape endosomal del ARN vesicular endocitado. Para comprender cuáles son los cambios transcriptómicos inducidos por la llegada de ARNs en EVs a células receptoras, cargamos EVs con ARNs sintéticos, correspondientes a los ARNs más abundantes en el medio extracelular, y las incubamos con células receptoras.

Nuestros resultados son compatibles con un reconocimiento independiente de secuencia a nivel endosomal, presuntamente mediado por receptores de la inmunidad innata

Palabras clave: exosomas, fragmentos de tRNA, microscopía de fluorescencia, transcriptómica, internalización vesicular

103

Development and evaluation of detection and control techniques based on serological and molecular methodologies for *Toxoplasma gondii* in sheep in Uruguay

Tana-Hernández, Leandro¹; Cabrera, Andres¹; Valentin, Alejandra¹; Gonzalez, Fabiana¹; Fierro, S³; Dorsch, Matias²; Giannitti, Federico²; Francia, María¹

¹Apicomplexan Biology Laboratory. Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Plataforma de Investigación en Salud Animal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental INIA-La Estanzuela, Colonia, Uruguay

³Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL)

Sheep husbandry has been central to the economic and social development of Uruguay throughout history. Uruguay is the fifth largest exporter of sheep meat and third of combed wool in the world. Our previous studies determined a high incidence of embryonic and fetal losses due to infection by *Toxoplasma gondii* (58% of studied cases). However, the prevalence of the parasite at the population level, the prevalent genotypes and the routes of infection of sheep flocks in Uruguay are unknown. Here, we determine the prevalent genotypes causing abortion in sheep by molecular and serological techniques. In addition, we isolated two novel strains from sheep (TgUru1 and TgUru2), and characterized them both genetically and phenotypically in vivo and in vitro. Our results reveal that the genetic variability in the country is ample, with a preponderance of atypical, not previously reported, genetic types. Moreover, TgUru1 and 2 display radically distinct phenotypes, whereby the former is highly virulent and fast growing, whilst the latter is slow growing and displays high rates of spontaneous cystogenesis. We are currently analyzing the genetic and transcriptomic bases of these differences, as well as, their implications in the outcome of the disease. We are also analyzing the correlation between our findings in animals, and the human population in the country, in terms of the genetic background of prevalent strains.

Keywords: Abortion, Infections, Livestock Industry, Phenotype, Sheep, *Toxoplasma*, Uruguay

104

Desarrollo de membranas bio compatibles para la liberación controlada de activos

Lluber, Gabriela*¹; Montes de Oca-Vásquez, Gabriela²; Batista Menezes, Diego²; Vega-Baudrit, Jose^{2,3}; Raimonda, Pablo⁴; Lopretti, Mary¹

¹Laboratorio de Técnicas Nucleares Aplicadas a Bioquímica y Biotecnología, Centro de Investigaciones Nucleares, UdelaR, Mataojo 2055, CP 11400, Montevideo, Uruguay. E-mail: gabriela_lluber@hotmail.com

²Laboratorio Nacional de Nanotecnología, Centro Nacional de Alta Tecnología, 10109 Pavas, San José, Costa Rica

³Laboratorio de Ciencias y Tecnologías de Polímeros, Escuela de Química, Universidad Nacional, Campus Omar Dengo, 86-3000 Heredia, Costa Rica

⁴Instituto de ensayo de materiales, Facultad de Ingeniería, UdelaR, Julio Herrera y Reissig 565, Código Postal 11.300

Trabajar en economía circular aumentando el valor agregado de subproductos de diferentes industrializaciones es hoy uno de los mayores temas de interés productivo. La industrialización de granos como la soja es bien conocida por la generación de subproductos, entre ellos aceites de baja calidad que pueden formularse en materiales híbridos con diversas aplicaciones. Por otro lado, los residuos sólidos de la industria camaronera generan subproductos como la quitina que puede transformarse en quitosano soluble y formar parte de nuevos materiales.

El presente trabajo tuvo como objetivo optimizar la obtención de membranas, utilizando aceite de soja y quitosano, como soporte para la liberación controlada de materiales híbridos con potencial aplicación industrial. Las membranas se formularon variando la temperatura (25 y 75°C) y la agitación (200– 400 rpm) obteniendo membranas con diferentes comportamientos. Las membranas se caracterizaron mediante análisis termogravimétricos (TGA), espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de barrido (MEB) y ensayos físicos. De los resultados obtenidos, podemos concluir que las membranas sintetizadas, tienen las mismas propiedades químicas, pero se observan diferencias a nivel físico.

Estructuralmente las membranas poseen tamaños, porosidad y resistencia, obteniendo valores interesantes dentro de las propiedades de las membranas. Este trabajo se enfocó en las características fisicoquímicas dejando para el futuro la incorporación de bioactivos y su liberación.

Palabras claves: bioeconomía, soja, quitosano, membranas, bioactivos

107

Estudios conformacionales del antígeno O-específico de *E. coli* O172 empleando simulaciones de dinámica molecular
Blanco, Andreína^{1,2}; Bottini, Gualberto¹; Fontana, Carolina¹

¹Laboratorio de Espectroscopia y Fisicoquímica Orgánica, Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte (SRA. Facultad de Química), Universidad de la República

²Programa de Posgrados de la Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

La superficie de la membrana externa de *E. coli* está formada por lipopolisacáridos que, generalmente, presentan una cadena polisacárida O-específica (O-PS) que se extiende hacia la parte exterior. La reactividad serológica de esta última permite agrupar a estas cepas en 182 diferentes serogrupos [1]. Si bien esta bacteria no es tan patogénica como otras, actualmente se está produciendo un aumento en su resistencia a antibióticos y por ello es importante contar con vacunas. Actualmente no existen en el mercado vacunas polisacáridas contra cepas de esta especie, pero hay algunas en fase clínica y preclínica que en conjunto cubren solo una docena de serogrupos [1]. *E. coli* O172 está catalogada como productora de shigatoxina, y la cadena principal de su O-PS presenta enlaces fosfodiéster [2]. La desfosforilación de este polímero con HF permite obtener el siguiente pentasacárido: α -D-Glcp-(1→3)- α -L-FucpNAc-(1→3)- α -D-GlcpNAc-(1→3)- α -L-FucpNAc-(1→4)-D-Glcp.

En nuestro grupo de investigación se está trabajando en el desarrollo de vacunas basadas en oligosacáridos, y por consiguiente es de interés estudiar sus preferencias conformacionales en solución, con el fin de evaluar las mejores estrategias de conjugación que permitan mantener los epítopes del polisacárido nativo. Con este fin se llevaron a cabo simulaciones de dinámica molecular utilizando el programa GROMACS y el campo de fuerza CHARMM36; los archivos de entrada fueron generados con la plataforma CHARMM-GUI. Con estos datos se lograron identificar las conformaciones más estables en torno a los cuatro enlaces glicosídico.

Agradecimientos: CSIC I+D 2020 #291

Palabras Claves: *E. coli*, polisacáridos, dinámica molecular, estudio conformacional

[1] Zhu, et al. *Expert Rev. Vaccines*. 2021, 20:1515-1538.

[2] Landersö et al. *Eur. J. Biochem*. 2001, 268:2239-2245

108

Estudio del rol de BBS4 y las cilias en el desarrollo del tejido adiposo

Sosa Redaelli, Ileana¹; Fabregat, Matías^{1,2}; Lepanto, Paola¹; Prieto Echagüe, Victoria¹; Badano, José¹

¹Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Department of Medicine, University of Wisconsin-Madison, School of Medicine and Public Health, Madison, WI, United States

Las cilias primarias son organelos evolutivamente conservados, capaces de sensar y transducir diversos estímulos implicados en la proliferación, la diferenciación y otros procesos esenciales para mantener la homeostasis celular y tisular. En consecuencia, defectos en estos organelos resultan en la aparición de patologías, agrupadas bajo el nombre de ciliopatías. BBS4 es uno de los más de 20 genes asociados a la ciliopatía Síndrome de Bardet-Biedl (BBS). A pesar de ser poco frecuente, algunas de las manifestaciones clínicas de esta enfermedad tienen gran impacto como problemas de salud pública, como es el caso de la obesidad. La obesidad asociada a ciliopatías tendría un doble origen: un defecto a nivel de sistema nervioso central afectando la regulación del balance energético, y problemas a nivel periférico. Distintas evidencias vinculan a las proteínas BBS y las cilias con la adipogénesis, y resultados previos de nuestro grupo mostraron que existe un eje de regulación BBS4-FSTL1-cilia importante en este contexto.

Utilizando células murinas *knockout* para BBS4 (Bbs4-KO), comprobamos que la anulación del gen reduce la presencia de cilias pero no la suprime totalmente. Mediante ensayos de diferenciación *in vitro*, observamos que la vía de señalización mediada por insulina se activa en forma similar en células Bbs4-KO y en células *wild type*, pero las primeras muestran una adipogénesis aumentada, con mayor acumulación de lípidos y niveles más elevados de

marcadores moleculares de diferenciación. Nuestros resultados, por tanto, aportan información funcional sobre las proteínas BBS y las cilias en procesos relevantes para el desarrollo de obesidad en BBS.

111

Nuevas herramientas moleculares para reducir costos de producción de moléculas bioactivas

Bassetti Lucía¹; **Comini Marcelo**^{1,2}; **Pantano Sergio**^{1,3}; **Bollati-Fogolín Mariela**^{1,4}; **Abreu Cecilia**¹

¹Programa de Tecnología Molecular, Celular y Animal (ProTeMCA), Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomátidos, Institut Pasteur de Montevideo

³Laboratorio de Simulaciones Moleculares, Institut Pasteur de Montevideo

⁴Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

La tecnología recombinante ha posibilitado la producción de un amplio repertorio de proteínas de interés con aplicaciones tan variadas como la reproducción, los suplementos alimenticios y la medicina. Sin embargo, los altos costos asociados al proceso de producción y purificación de las proteínas recombinantes impiden su uso en el campo veterinario. En este trabajo empleamos al protozoario no patógeno *Leishmania tarentolae* como sistema económico de expresión de proteínas heterólogas y buscamos desarrollar herramientas que permitan reducir los costos asociados al proceso de purificación de los productos recombinantes. Con este propósito exploramos la utilización de un polipéptido tipo elastina (ELP), que se incorpora a la proteína de interés para lograr purificarla de forma rápida y económica, y otra molécula llamada inteína que posee actividad autoproteolítica y permite remover el ELP del producto final. Los resultados mostraron que *L. tarentolae* es capaz de producir proteínas unidas a ELP y que es posible purificarlas tan solo aumentando la temperatura y concentración salina del medio. La inteína DeltaCM que utilizamos realiza el corte del ELP de forma prematura dentro de la célula, por lo que se evaluarán inteínas alternativas que puedan ser utilizadas en este sistema de producción. Estos resultados son el primer reporte de utilización de ELP e inteínas en la producción de proteínas en *L. tarentolae* y abre un campo muy interesante para futuros desarrollos biotecnológicos.

Palabras clave: *Leishmania tarentolae*, polipéptido tipo elastina (ELP), inteínas

112

Ratones BBS4-/- presentan diferencias basadas en sexo en el manejo del aumento de peso y la glicemia

Fabregat, Matías¹; **Colman Laura**²; **Santos, Leonardo**^{1,3}; **Cal, Karina**^{1,3}; **Florencia Irigoín**^{2,3,4}; **Escande, Carlos**^{1,3}; **Prieto-Echagüe, Victoria**^{2,3}; **Badano, José Luis**^{2,3}

¹Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Patologías del Metabolismo y el Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo

³Programa INDICyO (Investigación en Diabetes, Inflamación, enfermedades Cardiovasculares y Obesidad), Institut Pasteur de Montevideo

⁴Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo

El Síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es causado por la disfunción de un organelo llamado cilias primaria. El fenotipo de BBS incluye degeneración de retina, quistes renales, polidactilia, deterioro cognitivo y obesidad. Se han identificado 22 genes que causan BBS (BBS 1-22). Reportes en pacientes y modelos murinos sugieren diferencias dependientes del sexo en BBS. En pacientes de 12 a 19 años, las niñas tienen un IMC más alto que los niños. Ratones hembra *Bbs4*^{-/-} ganan más peso que los machos del mismo genotipo y edad comparadas con su contraparte WT. En este trabajo analizamos si el aumento de peso y los fenotipos metabólicos asociados, como los defectos en el manejo de la glucosa, están influenciados por el sexo en BBS. Ratones WT y *Bbs4*^{-/-} de ambos sexos fueron alimentados con una dieta rica en grasas (HFD) y sometidos a pruebas de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (Ip-GTT) antes, durante y después de la dieta. Los machos *Bbs4*^{-/-} presentaron mayor intolerancia a la glucosa incluso antes del inicio de la dieta. Por el contrario, las hembras *Bbs4*^{-/-} responden a la dieta de la misma manera que las hembras WT en cada momento a pesar de ganar más peso que los machos. Estos datos preliminares sugieren que los ratones hembra jóvenes *Bbs4*^{-/-} expresan un fenotipo obeso más saludable en comparación con los machos tras una breve exposición a HFD. Comprender los mecanismos subyacentes para la presentación dimórfica observada de BBS podría ayudar a mejorar las terapias para hombres y mujeres con BBS.

113

Diapausa I en peces anuales: un análisis transcriptómico de la expresión diferencial entre embriones de campo y laboratorio

Blanco, Daniel¹; **Papa, Nicolás**¹; **Chavez, Santiago**²; **Chalar, Cora**³; **Sotelo-Silveira, José**²; **Gutiérrez, Verónica**⁴; **Schlueb, Hellen**¹; **Berois, Nibia**¹; **Arezo, María José**¹.

¹Laboratorio de Biología Molecular de Organismos Acuáticos, Sección Biología Celular, Facultad Ciencias, Universidad de la República

²Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

³Sección Bioquímica, Facultad Ciencias, Universidad de la República

⁴Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los estados de dormancia permitieron a los seres vivos conquistar regiones extremas del planeta mediante adaptaciones a ambientes hostiles. Las diapausas de peces anuales son ejemplos de dormancia funcionado como estrategia de supervivencia a la desecación de los charcos estacionales donde habitan. Durante éstas, las actividades vitales disminuyen hasta que las señales ambientales determinan su reactivación. A pesar del papel crucial de las diapausas en el ciclo de vida de los peces anuales, los mecanismos moleculares implicados principalmente en la diapausa I, son desconocidos. Nuestro grupo de investigación se centra en comprender los mecanismos involucrados en la regulación de las diapausas con un enfoque interdisciplinario. En este contexto, estamos analizando la expresión génica diferencial mediante un análisis comparativo entre el repertorio de ARNm de embriones de *Austrolebias charrua* en diapausa I, obtenidos en el laboratorio y en su ambiente natural en relación con embriones en estadios activos. A partir de ellos, se obtuvo un ensamblado *de novo* con 10069 transcriptos totales. El análisis de expresión diferencial detectó 5760 transcriptos que cambian su expresión entre condiciones de laboratorio y campo. Entre los fenotipos de diapausa I (A y B) de los embriones obtenidos en el laboratorio se detectaron 60 transcritos expresados diferencialmente mientras que, en los mismos fenotipos de la naturaleza, se detectaron 62 transcriptos con expresión diferencial. Estos resultados permiten combinar análisis en el laboratorio con estudios de historia de vida de un organismo en un contexto ecológico-ambiental habilitando preguntas que entrelazan las dimensiones ecológica, evolutiva y biología del desarrollo.

Palabras clave: Diapausa I, Peces anuales, *Austrolebias charrua*, Transcriptoma, Expresión génica diferencial

115

Diferenciación *de novo* del sistema nervioso durante la metamorfosis larvaria de *Hymenolepis microstoma*

Montagne, Jimena¹; **Kozioł, Uriel**¹; **Castillo, Estela**²

¹Sección Biología Celular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Biología Parasitaria, Instituto de Higiene, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los cestodos causan enfermedades importantes para la salud humana y animal, en particular en sus formas larvarias. La primera larva, la oncósfera, es un organismo sumamente reducido que contiene un pequeño número de células indiferenciadas (células germinativas). Durante la infección, la oncósfera sufre una metamorfosis en la que se generan *de novo* los tejidos diferenciados del segundo estadio larvario (metacestodo), a partir de las células germinativas. En este trabajo, analizamos la diferenciación del sistema nervioso del metacestodo durante la metamorfosis en el cestodo modelo *Hymenolepis microstoma*. Inicialmente, identificamos las células germinativas proliferantes utilizando el análogo de timidina EdU. Observamos que su ciclo celular es corto ya que el período entre las fases S y M es menor a 2 horas, y el tiempo de duplicación celular es de 10 horas. Para estudiar el desarrollo de nuevas neuronas durante la metamorfosis, analizamos marcadores de neuronas peptidérgicas, colinérgicas, glutamatérgicas y serotoninérgicas mediante hibridación *in situ* fluorescente. Las neuronas diferenciadas se detectan en larvas a partir de las 72 horas de metamorfosis, excepto las serotoninérgicas que aparecen más tardíamente. Las nuevas neuronas aparecen inicialmente en el cerebro en desarrollo y luego también en cordones nerviosos. Mediante experimentos de pulso y seguimiento con EdU *in vivo* observamos la diferenciación de neuronas colinérgicas 24 horas tras la fase S, indicando una rápida diferenciación a partir de células germinativas.

Finalmente, identificamos sub-poblaciones de células proliferantes que expresan homólogos de neuroD y soxB, posibles marcadores de progenitores neuronales, indicando posibles linajes de diferenciación neuronal.

Palabras clave: metamorfosis, diferenciación, neurona, mitosis, célula madre

119

Rol de la mitofusina 1 en el desarrollo y la respuesta a la terapia del melanoma

Tarallo, Doménica¹; Martínez, Jennyfer¹; Leyva, Alejandro²; Durán, Rosario²; Moreno, María³; Quijano, Celia¹

¹Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

²Unidad mixta de Bioquímica y Proteómica Analíticas del Instituto del Institut Pasteur de Montevideo y el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Uruguay

³Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

Las células de melanoma presentan resistencia a la apoptosis y en muchos casos se observa la inducción de la senescencia luego de la quimioterapia, radioterapia o terapias dirigidas. Las células senescentes presentan un fenotipo secretor formado por citoquinas y otros factores proteicos.

Nuestros estudios indican que en células de melanoma la senescencia inducida por el quimioterápico temozolomida conduce a un aumento en las mitofusinas 1 y 2 (Mfn1 y Mfn2).

Mediante proteómica cuantitativa observamos que el silenciamiento de Mfn1 reduce la secreción de proteínas por las células senescentes, y detectamos una caída en la Galectina-9, una proteína inmunosupresora capaz de inducir la apoptosis de linfocitos T. Mediante ELISA confirmamos el aumento en la secreción de Galectina-9, luego del tratamiento, y la inhibición al silenciar Mfn1.

Por otro lado, en un modelo de melanoma de ratón observamos que los tumores generados con las células sin Mfn1 presentaban un menor tamaño que aquellos generados con células control. El volumen tumoral disminuyó aún más al tratar los ratones con dacarbacina, un análogo a la temozolomida. El silenciamiento de Mfn1 produjo un aumento en la infiltración de células del sistema inmune en los tumores y repercutió favorablemente en la supervivencia de los ratones. Particularmente detectamos un aumento de linfocitos T en aquellos tumores sin Mfn1 de ratones tratados con quimioterapia, que podría estar relacionado con la disminución de la secreción de Galectina-9.

Nuestros resultados sugieren que Mfn1 podría ser un blanco farmacológico interesante en el diseño de terapias para esta enfermedad.

Palabras clave: Mitofusina 1, Fenotipo Secretor, Senescencia, Melanoma

124

Inhibición de la tiorredoxina glutatión reductasa de *Echinococcus granulosus* por ácido nitrooleico

Sosa, Martín¹; Steglich, Martina¹; Turell, Lucía¹

¹Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Los nitrolípidos se forman *in vivo* y pueden administrarse de forma exógena. El ácido nitrooleico (NO₂OA) posee un centro electrofílico adyacente al grupo nitro, capaz de formar aductos de Michael reversibles con tioles, tales como cisteínas proteicas. Esta reacción sustenta la acción señalizadora de estos compuestos. Es nuestra hipótesis que el NO₂OA también reacciona con selenocisteínas proteicas. En este trabajo se estudió su reactividad con una forma trunca de la selenoenzima tiorredoxina glutatión reductasa del parásito *Echinococcus granulosus* (EgTGR), que sólo posee el módulo tiorredoxina reductasa (EgTR). Las enzimas salvaje (EgTR_{wt}) y mutante (EgTR_{U596C}) se produjeron de forma recombinante. Se midió la actividad enzimática utilizando ácido 5,5'-ditiobis-2-dinitrobenzoico y NADPH como sustratos, siguiendo la formación del producto ácido 5-tionitrobenzoico. Para EgTR_{wt} se determinó una $k_{cat} \sim 330$ veces más rápida que para EgTR_{U596C}. Para evaluar la reacción con NO₂OA se incubaron concentraciones fijas de EgTR_{wt} con concentraciones variables de NO₂OA, se tomaron alícuotas en el tiempo y se midió la actividad remanente. Se constató que el NO₂OA inhibe a la EgTR_{wt} con una cinética bifásica, lo que podría explicarse como la reacción del NO₂OA con dos residuos distintos de la EgTR. De los ajustes se determinaron las constantes de la fase más lenta como $k_{on} = (1.3 \pm 0.1) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y $k_{off} = (9 \pm 3) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

Para confirmar si una de las fases corresponde a la reacción con la selenocisteína actualmente estamos evaluando la reacción con EgTR_{U596C} e intentando identificar los residuos involucrados por espectrometría de masa.

Palabras clave: nitrolípidos, selenocisteína, enzimas redox

128

Identificación de variantes de UFGT en *Vitis vinifera* L. cv. Tannat asociadas al desarrollo del color de los frutos

Cantero, Jorge^{1,2}; **Da Silva, Cecilia**³; **Paulino, Margot**¹

¹Área Bioinformática, Departamento de Experimentación, Teoría de la Estructura de la Materia, Facultad de Química, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Este, Paraguay

³PDU Espacio de Biología Vegetal del Noreste, sede Tacuarembó, CENUR Noreste, Universidad de la República

Las uvas del cultivar Tannat (*Vitis vinifera* L. cv. Tannat) se utilizan para la producción de vinos de alta calidad de color púrpura intenso característico. Su composición inusualmente alta de compuestos antocianos tales como la malvidina, delphinidina y petunidina monoglucosidos, le otorgan tal coloración. Nuestro objetivo es estudiar la relación entre las variantes de los genes de Tannat, la estructura de las enzimas sintetizadas a partir de ellos, su impacto en la eficiencia catalítica y la relación de la acumulación de antocianos con el desarrollo de la coloración de los frutos. La enzima clave de este estudio fue la antocianidin-3-O-glucosiltransferasa (UFGT), responsable de la formación de antocianinas glucosiladas, precursores para la formación de polímeros pigmentados en cáscaras de uvas. Primero, se identificaron UFGTs putativas por homología de bases. Luego, se estudió la expresión de estos genes mediante la técnica RNASeq evaluando durante distintas etapas del desarrollo del fruto y analizando su expresión diferencial. Se identificaron ocho genes candidatos a codificar UFGT, cuyos niveles de expresión son consistentes con las etapas del desarrollo de color de las uvas y se compararon con los genes presentes en las variedades Pinot noir y Chardonnay, los cuales compartieron un alto grado de similitud (>85%). Adicionalmente, se identificaron cambios puntuales en regiones con el potencial de afectar la eficiencia catalítica y que podrían influir en su capacidad de síntesis de antocianos y en consecuencia en el desarrollo de color de las uvas. Todo ello será estudiado mediante estrategias de modelado molecular. En conclusión, logramos identificar genes específicos de este cultivar que contribuyen a la expresión de las enzimas involucradas en la biosíntesis de antocianos.

Palabras clave: *Vitis vinifera* cv. Tannat, uvas Tannat, vinos, antocianos, UFGT

135

Vigilancia de variantes basada en el gen S de SARS-CoV-2

Salazar, Cecilia^{1,2}; **Ferrés Ignacio**^{1,2}; **Paz Mercedes**^{2,5,6}; **Costábile Alicia**^{2,5,6,7}; **Gregorio, Iraola**^{1,2,3,4}

¹Laboratorio de Genómica Microbiana. Institut Pasteur de Montevideo

²Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Institut Pasteur de Montevideo

³Wellcome Sanger Institute, Hinxton, United Kingdom

⁴Centro de Biología Integrativa, Universidad Mayor, Santiago de Chile, Chile

⁵Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo

⁶Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁷Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En el país se ha llevado a cabo a través del Grupo de Trabajo Interinstitucional (GTi), la vigilancia genómica en tiempo real de las variantes circulantes de SARS-CoV-2 desde inicios del 2021. Durante este período han emergido distintas variantes con cambios a nivel de la secuencia de la proteína S y otras regiones del genoma que le han conferido determinadas ventajas que afectarían distintos aspectos de la biología del virus como su patogenicidad, infectividad, transmisibilidad y capacidad de evasión de la respuesta inmune. Las variantes de preocupación (VOCs, del inglés *variants of concern*) se definen en gran medida por estos cambios característicos en la secuencia del gen S, por lo que podrían actuar como un marcador genético viral. Estas VOCs han sido responsables de las mayores olas de transmisión tanto a nivel global como local.

En este contexto, hemos desarrollado un método de relevamiento rápido y de bajo costo de variantes de SARS-CoV-2 basado en el método de PCR multiplex del gen S y secuenciación con tecnología portable de Oxford Nanopore. El mismo permite la generación de información a gran escala de las variantes que se encuentran en circulación y en contraposición con los métodos basados en qPCR, permite identificar potenciales cambios que determinen la posibilidad de detección temprana de una nueva variante. Esta metodología también es potencialmente transferible a otros microorganismos, permitiendo establecer protocolos de relevamiento rápido para distintos patógenos.

Palabras clave: SARS-CoV-2, gen S, secuenciación, Oxford Nanopore

142

Cannabinoides inhiben la internalización de LDLox en la línea celular de macrófagos J774.1

Musetti, Bruno¹; **Martínez, Guillermo**¹; **Kun, Alejandra**²; **Menchaca, David**³; **Rodríguez-Haralambides, Alejandra**³; **Varela, Javier**⁴; **Moreira-Bahnsen, Edward**⁵ y **Thomson, Leonor**^{1*}

¹Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

²Laboratorio Biología Celular del Sistema Nervioso Periférico-DPAN-IIBCE, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Uruguay; CIBERNED-España

³Química Bioanalítica, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

⁴FOTMER life sciences, Parque de las Ciencias, Canelones, Uruguay

⁵Department of Cell Biology and Physiology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA

Las enfermedades relacionadas con la aterosclerosis son la primera causa de muerte en Uruguay y el mundo. Esta patología se caracteriza por la formación de placas ateromatosas en la capa íntima de arterias.

Estas placas se componen de lípidos, células inflamatorias y del músculo liso, que en presencia de LDL modificada se transforman en células espumosas. Existen sólidas evidencias que relacionan la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDLox) y la formación de las placas de ateroma. Nuestro grupo reportó previamente el efecto antioxidante de extractos de *Cannabis sativa* frente a la oxidación *in-vitro* de LDL mediada por Cu²⁺.

Empleando microscopía confocal y espectroscopía de fluorescencia, observamos que tanto los extractos de *Cannabis sativa* como los fitocannabinoides aislados (THC, THCA, CBD, CBDA) inhiben la internalización de LDLox por macrófagos en cultivo. Tres extractos de cannabis con diferente composición relativa de cannabinoides (alta, intermedia y baja relación THC:CBD) mostraron valores similares de CI₅₀ (5 – 12 µg/mL) al igual que los fitocannabinoides aislados (11-25 µM). Empleando inhibidores de los receptores canónicos de cannabinoides, CBR1 y CBR2, se observó una reversión parcial del efecto inhibitorio inducido por los extractos, indicando la participación de otras vías. Por su parte, el antagonista del receptor TRPV1 (AMG9810), produjo una disminución de la internalización de LDLox aun en ausencia de los extractos. Nuestros resultados refuerzan el potencial uso de fitocannabinoides para el desarrollo de alternativas terapéuticas para la aterosclerosis.

Actualmente estamos tratando de discernir los mecanismos moleculares detrás del efecto inhibitorio sobre la internalización de LDLox.

Palabras clave: Aterosclerosis, cannabinoides, LDLox

144

Efectos de la leucorreducción sobre el ATP y NADPH en glóbulos rojos almacenados para transfusión

Silva, Nicolás^{1,2,3}; **Donze, Marcel**^{1,2}; **Möller, Matías**², **Thomson, Leonor**¹.

¹Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Físicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Carrera Técnico en Hemoterapia, Escuela Universitaria de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La transfusión de sangre desplasmaticada (SD) es la principal herramienta terapéutica para pacientes que presentan bajos niveles de hemoglobina. La SD es obtenida de donantes voluntarios y conservada a 4°C hasta 42 días. Esta sangre puede ser almacenada posterior a un procedimiento de leucorreducción (LR), o no (NLR). Durante el almacenamiento, los glóbulos rojos sufren alteraciones denominadas "lesiones por almacenamiento". Nos interesa estudiar estas lesiones asociadas al metabolismo redox y energético del glóbulo rojo. Nos planteamos la hipótesis que los eritrocitos van perdiendo durante el almacenamiento su capacidad de hacer frente al estrés oxidativo al que se encuentran expuestos, aún más en SD no leucorreducida como consecuencia de la interacción con los glóbulos blancos remanentes, y eso se ve reflejado en una disminución de las concentraciones de NADPH vs NADP⁺. Trabajamos con sangre de donantes de sexo masculino, sanos, no fumadores, y cuantificamos los niveles de ATP y NADPH como parámetro de la actividad glucolítica y reservas energéticas, y como poder reductor, respectivamente. El ATP intracelular fue medido por HPLC, mientras que los niveles de NADPH y NADP⁺ fueron medidos con un método de ciclado de reacciones enzimáticas. Para ambas medidas se cuantificó mediante espectrofotometría. Con respecto al ATP, al igual que lo reportado, observamos que durante el almacenamiento disminuyen las concentraciones, pero

no observamos diferencias significativas entre LR y NLR. En cuanto al NADPH, a diferencia de lo reportado, no observamos diferencias con el paso de los días de almacenamiento y tampoco diferencias entre LR y NLR.

Palabras clave: eritrocito, leucorreducción, metabolismo

145

Mecanobiología en la patogénesis de la enfermedad renal: Regulación del proceso de ciliogénesis durante el desarrollo de quistes renales.

Otero, G¹; Rego, N^{2,3}; Spangenberg, L²; Lepanto, P¹; Irigoín F^{1,4}; Badano, JL¹; Drummond, IA⁵; Cardenas-Rodriguez, M¹

¹Laboratorio de Genética Molecular Humana, Institut Pasteur de Montevideo

²Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo

³Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas-Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República 5 Mount Desert Island Biological Laboratory

Las células epiteliales de los túbulos renales están constantemente sometidas a fuerzas mecánicas debido al líquido que fluye dentro de los mismos. Estas fuerzas mecánicas modulan procesos celulares a través de efectos sobre las cilias que se encuentran expuestas a la luz de los túbulos. Defectos en las cilias exacerbaban el desarrollo de quistes renales, sugiriendo que las cilias juegan un papel central en la fisiología renal. Se ha demostrado que el factor de transcripción *foxj1a* -regulador central del proceso de ciliogénesis- se induce en respuesta al estiramiento epitelial y la formación de quistes renales. En este proyecto proponemos estudiar si en el epitelio renal las fuerzas mecánicas activan factores de transcripción de genes ciliares, como parte de un proceso de retroalimentación normal que regula la homeostasis renal y cumple una función regenerativa. Nuestros resultados preliminares sugieren que las vías de señalización PI3K y Src son necesarias para la inducción de *foxj1a* en respuesta al estiramiento epitelial. Continuando con esta línea, proponemos: i) determinar si PI3K y Src son las quinasas responsables de inducir *foxj1a* mediante la generación de líneas transgénicas de pez cebra, ii) identificar factores de transcripción que, como *foxj1*, son inducidos por estiramiento y también requieren señalización a través de PI3K y Src, iii) identificar elementos génicos reguladores que responden a las vías PI3K y Src y son esenciales para la expresión génica activada por estiramiento. Combinando estrategias genéticas, análisis moleculares y bioinformáticas esperamos aportar a entender la etiología y progresión de la enfermedad quística renal.

Palabras clave: enfermedad quística renal, cilia

151

Rodoquinona: ¿Un transportador de electrones de respuesta a hipoxia, sulfuro y cianuro?

Romanelli Cedrez, Laura¹; Vairoletti, Franco²; Pastorino, Valeria¹; Salinas, Gustavo¹

¹Laboratorio de Biología de Gusanos, Unidad Mixta Facultad de Química, UdelaR – Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Química Farmacéutica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR

En helmintos, la principal forma de obtención de energía en las condiciones de hipoxia del intestino del hospedero involucra una cadena de transporte de electrones (CTE) mitocondrial alternativa en la que la rodoquinona y no la ubiquinona, es el transportador de electrones lipídico y el fumarato y no el oxígeno es el aceptor final de electrones. *Caenorhabditis elegans* no experimenta condiciones de hipoxia, a excepción del estadio de resistencia denominado larva Dauer, el cual se ha especulado que podría estar sujeto a condiciones de hipoxia. Sin embargo, este organismo está expuesto a bacterias patógenas productoras de H₂S y HCN, inhibidores del complejo IV de la CTE canónica, impidiendo que el oxígeno pueda utilizarse como aceptor final de electrones. Nuestros resultados indican que en *C. elegans* la rodoquinona no tiene un rol esencial en condiciones de hipoxia y anoxia, pero sí en respuesta a HCN y H₂S. Estirpes mutantes que no sintetizan rodoquinona (y sí ubiquinona) no sobreviven a condiciones de HCN y H₂S y son más sensibles frente a la bacteria patógena *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (que mata al gusano por generación de HCN), comparado con la estirpe silvestre. Estos resultados sugieren una nueva función de la rodoquinona cumpliendo un rol en la protección del gusano por envenenamiento con HCN y H₂S producidos por patógenos presentes en su ambiente natural. Este rol de la rodoquinona también sería relevante en helmintos que habitan el intestino de sus hospederos, en muchos casos, ambientes ricos en H₂S generado por la microbiota.

Palabras clave: Rodoquinona, sulfuro, *Caenorhabditis elegans*

166

Desarrollo de un módulo automatizado para el fenotipado de líneas de soja expuestas a estrés hídrico

Bentancor, Marcel¹; Casaretto, Esteban²; Quero, Gastón²; Borsani, Omar²

¹Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Iguá 4225, Montevideo 11400, Uruguay

²Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 809, Montevideo 12900, Uruguay

En la última década la genómica funcional se ha visto beneficiada por los avances en las metodologías de secuenciación masiva de ácidos nucleicos y de técnicas de edición genómica. Sin embargo, esto ha puesto de relieve la existencia de limitaciones existentes a nivel de la caracterización fenotípica, para poder lograr un mayor impacto de estos avances en los programas de mejoramiento genético vegetal. Para abordar este cuello de botella en la caracterización fenotípica se han desarrollado plataformas robotizadas de fenotipado vegetal. Sin embargo el costo de las mismas ha resultado ser prohibitivo.

Nuestro grupo está desarrollando una plataforma de fenotipado en modalidad *open hardware*, que ha permitido ya fabricar un primer módulo para el monitoreo gravimétrico e irrigación programada de plantas de soja sometidas a diferentes condiciones de estrés hídrico.

El régimen de irrigación puede ser programado para ser ejecutado automáticamente en función del registro gravimétrico del sistema planta-sustrato. La operación de este módulo puede hacerse a través de Internet o vía Bluetooth. Además de su menor costo de producción, este módulo permite su adaptación a otros cultivos o inclusión de nuevas funciones, tales como la aplicación de diferentes regímenes de fertilización.

Este módulo ha sido creado en el Espacio de Prototipado (espacioprototipado@gmail.com) creado entre los laboratorios de biología molecular vegetal (Facultad de Ciencias) y de bioquímica (Facultad de Agronomía). Un espacio destinado al desarrollo de equipamiento científico en modalidad *open hardware*, y que ofrece sus instalaciones a otras unidades de la UdelaR para el desarrollo o adaptación de nuevos equipos.

Palabras clave: fenómica, soja, estrés

171

Inmunoexpresión de las proteínas caveolina 1, Ki-67, conexina 43 y MOC-31 en el Fibroma ameloblástico, Fibroodontoma ameloblástico y Fibroodontinoma ameloblástico

González, Natalia¹; Beovide, Verónica¹; Bologna-Molina, Ronell²; Sicco, Estefanía²

¹Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad de la República

²Área de Patología Molecular Estomatológica, Facultad de Odontología, Universidad de la República

Fibroma ameloblástico (FA), Fibroodontoma ameloblástico (FOA) y Fibroodontinoma ameloblástico (FDA) son tumores odontogénicos (TO) benignos mixtos que contienen epitelio y mesénquima odontogénico. La falta de clasificación homogénea, unificación de criterios y la eliminación del FOA y FDA por la Organización Mundial de la Salud en 2017, impiden tener un panorama epidemiológico real y actual de los TO mixtos. Al considerar al FOA y FDA como etapas del desarrollo de un odontoma y no como verdaderas neoplasias, nos planteamos la búsqueda de biomarcadores que permitan contribuir al diagnóstico. Se realizó un muestreo no probabilístico, por conveniencia, de las muestras procedentes de la Facultad de Odontología. Se determinó por inmunohistoquímica la expresión de caveolina 1, Ki-67, conexina 43, MOC-31 en los TO, comparándolos con los capuchones pericoronarios y Odontomas. En todos los TO se encontró moderada positividad (5-50%) para MOC-31 en el retículo estrellado, fuerte positividad (>50%) para conexina 43 principalmente en mesénquima y fuerte positividad para caveolina 1 en ameloblastos, retículo y mesénquima. Ki-67 mostró positividad <5% en las células tumorales. Estos resultados confirman una actividad neoplásica tanto epitelial como mesenquimática, con baja tasa de proliferación. Los capuchones y Odontomas mostraron negatividad para todos los marcadores. Estas diferencias en la expresión, sugieren que estas proteínas presentan un rol en los eventos del desarrollo tumoral. La similitud en la expresión entre FOA y FDA con FA, podría contribuir a considerarlas como verdaderas neoplasias y no etapas evolutivas del Odontoma. Continuamos estudiando la expresión de potenciales biomarcadores para optimizar el diagnóstico diferencial.

Palabras clave: Tumor odontogénico, Fibroma ameloblástico, Fibroodontinoma ameloblástico, Fibroodontoma ameloblástico, Inmunoexpresión

173

Estrategias para identificar y caracterizar nuevas proteínas claves en la biología del centrosoma de *Toxoplasma gondii*
Horjales, Sofía¹; Francia, María Eugenia^{1,2}

¹Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Institut Pasteur Montevideo

²Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Toxoplasma gondii, es un parásito apicomplejo causante de la toxoplasmosis. En su ciclo de vida alterna entre hospederos definitivos, gatos y felinos salvajes y varios hospederos intermediarios mamíferos. Infecta crónicamente a un tercio de la población mundial causando morbilidad, pero puede presentar graves consecuencias en inmunocomprometidos y si se adquiere durante el embarazo. Además, genera graves pérdidas económicas para el sector productivo agropecuario. Actualmente no existe tratamiento para la enfermedad crónica.

La búsqueda de blancos terapéuticos ha llevado a intentar comprender los mecanismos de división y regulación del ciclo celular del parásito. El centrosoma de *T. gondii* cumple roles centrales en estos procesos. Adicionalmente presenta características estructurales únicas, y carece homólogos conservados en hospederos vertebrados lo que lo hace un potencial blanco terapéutico.

Nuestro objetivo es identificar y caracterizar proteínas centrosomales de *T. gondii* con funciones claves para la biología de este parásito. Realizamos una búsqueda bioinformática de proteínas centrosomales de *T. brucei* con demostrada localización centrosomal y buscamos sus respectivos homólogos en *T. gondii*. Incluimos también proteínas de *T. gondii* asociadas al centrosoma. Obtuvimos 200 proteínas candidatas y seleccionamos 10 blancos para validar. Mediante la estrategia CRISPR/Cas estamos generando parásitos transgénicos con el fin de confirmar la localización de dichas proteínas. Complementariamente, mediante estrategias de inmunoprecipitación y de identificación de proteínas proximales utilizando TurboID buscamos conocer nuevas proteínas blanco. Comprender el funcionamiento centrosomal de *T. gondii*, no solo aporta el entendimiento del particular ciclo celular y de vida de este parásito, sino que permite buscar potenciales blancos de drogas.

Palabras clave: Toxoplasma, proteínas centrosomales, bioinformática, TurboID

176

Diseño y optimización de LATE-PCR para la obtención de ADN simple hebra como parte de un sistema de detección por oligocromatografía de listeria monocytogenes

Rodríguez, Jesica¹; Pérez, Diana²; Brugnini, Giannina¹; Abella, Belén¹; Lorenzo, Carmen²; Rufo, Caterina¹

¹Laboratorio de Alimentos y Nutrición, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República

²Laboratorio de Biotecnología, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República

Listeria monocytogenes (LM) es un patógeno alimentario que causa listeriosis, una enfermedad con alta mortalidad. Nuestro grupo, buscando obtener métodos rápidos y económicos de detección de patógenos, desarrolló un sistema de detección de LM por oligocromatografía cuyo sustrato se obtiene mediante el calentamiento del producto obtenido de una PCR específica. Con el objetivo de simplificar el método y eliminar el paso de calentamiento post-PCR para obtener la simple hebra de interés, se propuso el desarrollo de una reacción LATE-PCR (Linear-After-The-Exponential-PCR). Para ello se diseñaron los cebadores y la sonda (molecular beacon) y se optimizaron las condiciones de la LATE-PCR de tal modo que se obtuviera la mayor cantidad de producto simple hebra detectado tanto por LATE-PCR como por oligocromatografía. Posteriormente, se estudió el límite de detección, la especificidad y el efecto matriz en la LATE-PCR y en la oligocromatografía. La reacción de LATE-PCR optimizada utiliza una relación cebador en exceso/cebador en defecto de 20/1 en concentraciones 2 μ M/0.1 μ M. El perfil de temperatura es: 98°C 3 min; 40 ciclos de 95°C 15 seg, 66°C 60 seg, 45°C 20 seg.

El límite de detección para la LATE-PCR está entre 0.4 y 0.04 ng/reacción y para la oligocromatografía entre 0.004 y 0.0004 ng/reacción. No se observó efecto matriz, el sistema reconoció las 6 cepas de LM utilizadas y no reaccionó con cepas de *Listeria innocua*, *Salmonella* spp ni *Escherichia coli*. En suma, la LATE-PCR propuesta genera un producto de simple hebra capaz de ser detectado por oligocromatografía sin indicios de reacciones cruzadas.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, oligocromatografía, LATE-PCR

177

Trasladando *Salmonella* a la clínica: generación y caracterización de una cepa mutante de LVR01 con potencial endotóxico reducido

Plata, María Clara¹; Mónaco, Amy¹; Yim, Lucía¹; Chilbroste, Sofía¹; Chabalgoity, Alejandro¹; Moreno, María¹

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

En nuestro Departamento investigamos el potencial de *Salmonella* LVR01 como inmunoterapia, obteniendo resultados alentadores para el tratamiento de distintos tipos de cáncer. Para trasladar esta terapia a la clínica, se debe tener en cuenta el estado general de salud de los pacientes oncológicos que podrían beneficiarse de la misma. Resulta esencial minimizar los posibles efectos tóxicos que *Salmonella* pueda tener para llegar a ensayos clínicos, ya que los pacientes han pasado por varias rondas de tratamiento y pueden presentar secuelas de estas terapias. En este trabajo construimos y evaluamos una cepa derivada de LVR01 con menor actividad pirogénica mediante mutación en el lípido A del LPS. Esta es una molécula bacteriana esencial que actúa como PAMP, desencadenando una respuesta inmune en el hospedador. Se corroboró la ausencia de lípido A, se verificó la velocidad de crecimiento, movilidad y se evaluó *in vivo* su biodistribución y actividad antitumoral. En su conjunto, los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el LPS resulta esencial para el efecto antitumoral de LVR01, evidenciando lo crucial de este PAMP para la inducción de una activación global del sistema inmune que genere una respuesta antitumoral eficiente. Asimismo, su falta influiría en la patogenia de la bacteria, interfiriendo con su capacidad de crecimiento, permanencia y potencial para invadir y matar células tumorales, lo que también podría ir en detrimento de la terapia. Estos resultados constituyen un primer puntapié para la optimización de la terapia, en aras de llegar a la clínica con su mayor potencial.

Palabras clave: Melanoma, Inmunoterapia, *Salmonella*, LPS

179

Análisis descriptivo de la inmunoexpresión de PCNA y su correlación con grado de queratinización en carcinoma ocular de células escamosas en bovinos Hereford

Balemian N.^{1*}, Fernández-Calero T.², Larrañaga C.¹, Verdes J.M.¹, Irabuena O.¹, Pedrana G.¹, Armstrong E.¹

¹Facultad de Veterinaria UdelaR, Ruta 8 y Ruta 102, Montevideo, Uruguay

²Instituto Pasteur de Montevideo, Mataojo 2020, Montevideo, Uruguay

*narine.bal@gmail.com

El antígeno de proliferación nuclear (PCNA) juega un papel importante en los procesos de replicación y reparación del ADN. En carcinomas es utilizado para evaluación del recambio celular y como marcador de la agresividad tumoral. Previamente realizamos el análisis histopatológico describiendo aspectos característicos del carcinoma ocular de células escamosas en bovinos (BOSCC). Se determinó el grado de queratinización mediante la presencia de masas laminadas concéntricas o perlas de queratina. En el presente trabajo se busca correlacionar la inmunoexpresión del PCNA en BOSCC con los grados de queratinización. Se utilizaron bovinos adultos de la raza Hereford (n=5) criados a campo del nordeste del Uruguay. Se fijaron en formaldehído globos oculares tumorales y se procesaron en parafina para inmunohistoquímica. Se realizó la técnica de inmunohistoquímica para la detección de PCNA. Se utilizó anticuerpo primario monoclonal anti ratón (ab29, Abcam, concentración 1:1000) y se revelaron con el kit (mouse specific, HRP/DAB, ab64259). Se capturaron las imágenes con escaner de preparados (https://www.motic.com/As_MoticEasyScan_One) y se analizaron con software mediante ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>). De los 5 tumores, 3 presentaron mayor inmunoexpresión de PCNA que coincide con el mayor número de perlas de queratina. En dos animales se observó leve inmunomarcación de PCNA coincidiendo con escasas perlas de queratina. Los resultados obtenidos permiten mejorar el diagnóstico para determinar la agresividad tumoral en BOSCC analizando en conjunto tanto datos histopatológicos como marcadores de proliferación celular.

Palabras clave: PCNA, queratinización, tumor, ojo, bovino

181

Rol de las modificaciones oxidativas en la proteína alfa-sinucleína

Ivagnes, Rodrigo¹; Chavarría, Cecilia¹; Piñeyro, Dolores M.^{1,2}; Zeida, Ari¹; Mastrogiovanni, Mauricio.¹; Ríos, Natalia¹; Souza, José M.¹

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República

²Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo

Las sinucleinopatías son un grupo de trastornos que se caracterizan por la presencia de agregados fibrilares, siendo la proteína alfa-sinucleína (aS) el principal componente. aS es una proteína presináptica, perteneciente al grupo de proteínas intrínsecamente desordenadas. En condiciones patológicas, en presencia de peroxinitrito (ONOO⁻), sufre modificaciones oxidativas, tales como la nitración de tirosinas y oxidación de metioninas. Nuestro interés radica en estudiar cómo estas modificaciones afectan los fenómenos de formación de oligómeros y fibras de aS.

En este trabajo construimos formas mutantes de aS, que presentan un único residuo de tirosina. Los mutantes fueron caracterizados por diversas técnicas (CD, DLS). Utilizando el tratamiento con ONOO⁻ en bolo como modelo de nitración *in vitro*, se estudió el rol de los residuos de tirosina, y su contribución en la agregación de aS, comparando las formas wt y mutantes tratadas. Se vio que el tratamiento con ONOO⁻ inhibe la formación de fibras tanto para aS, así como para los mutantes. Este tratamiento genera, además, metionina sulfóxido, por lo que, para discriminar el efecto de esta oxidación, utilizamos un agente selectivo para la formación de 3-nitrotirosina, el 1,5-metil-1,4-dinitroimidazol (DNI). Utilizando DNI se confirmó por espectrometría de masa la aparición de especies +180 Da (correspondientes a 4 tirosinas nitradas), así como la ausencia de metioninas oxidadas, y se evaluó esta modificación en la agregación de aS para la proteína wt y un mutante sin tirosinas. Este trabajo contribuirá al estudio del rol de las modificaciones postraduccionales de aS y su contribución a la formación de agregados fibrilares, los cuales son importantes en la patología neurodegenerativa.

Palabras clave: Alfa-Sinucleína, nitración de tirosina, oxidación de metionina, fibras

184

A nitroalkene derivative of salicylate alleviates diet-induced obesity by activation of creatine-dependent thermogenesis

Cal, Karina¹, Leyva, Alejandro², Rodríguez-Duarte, Jorge³, Ruiz, Santiago¹, Colella, Lucía³, Ingold, Mariana³, Santos, Leonardo¹, Villaseca, Cecilia⁴, Gallusi, German³, Ziegler, Lucía⁵, Bresque, Mariana¹, Breining, Peter⁶, Dapuetto, Rosina⁷, Ribeiro, Thais⁸, Lopez, Andrés⁹, Thompson Katie L.⁸, Agorrody, Guillermo⁴, DeVallance, Evan¹⁰, Meadows, Ethan¹¹, Camacho-Pereyra, Juliana¹², Valez, Valeria¹³, Aicardo, Adrián¹³, Contreras, Paola^{1,4}, Vendelbo, Mikkel H.^{6,14}, Jakobsen, Steen¹⁴, Kamaid, Andres², Porcal, Williams^{3,15}, Calliari, Aldo^{1,16}, Verdes, José Manuel¹⁷, Du, Jianhai¹⁸, Wang, Yekai¹⁸, Hollander, John M.¹⁹, White, Thomas A.⁸, Radi, Rafael¹³, Moyna, Guillermo⁹, Quijano, Celia¹³, O' Doherty, Robert²⁰, Kelly, Eric¹⁰, Duran, Rosario,² Chini, Eduardo N.⁸, Lopez, Gloria V.^{3,15}, Batthyany, Carlos³, Escande, Carlos¹

¹Laboratorio de Patologías del Metabolismo y Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo

²Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo

³Laboratorio de Biología Vascul y Desarrollo de Fármacos, Institut Pasteur de Montevideo 4 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Departamento de Ecología y Gestión Ambiental, Centro Universitario Litoral Este, Universidad de la República

⁵Department of Biomedicine, Aarhus University Hospital, Denmark

⁶Área I+D Biomédico, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo, Uruguay

⁷Robert and Arlene Kogod Center on Aging, Mayo Clinic, USA

⁸Laboratorio de Físicoquímica Orgánica, Departamento de Química del Litoral, Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de la República

⁹Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, West Virginia University, USA

¹⁰Mitochondria, Metabolism and Bioenergetics Working Group, School of Medicine, West Virginia University, USA

¹¹Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil

¹² Centro de investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

¹³Department of Nuclear Medicine and PET, Aarhus University Hospital, Denmark

¹⁴Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

¹⁵Unidad de Biofísica, Departamento de Biociencias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

¹⁶Unidad Patología, Departamento de Patobiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

¹⁷Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Department of Biochemistry, West Virginia University, USA

¹⁸Division of Exercise Physiology, West Virginia University, USA

¹⁹Department of Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Microbiology and Molecular Genetics; University of Pittsburgh, USA

Introduction: Obesity-related type II diabetes has dramatically increased global morbidity and mortality. Previously, the ancient drug salicylate demonstrated promise of treatment for type II diabetes, but its clinical use was precluded due to

high dose requirements and concomitant side effects. Recently, we showed that the nitroalkene group of unsaturated nitro-fatty acids can be attached to different molecular scaffolds to confer beneficial drug actions. Taking advantage of this concept, we synthesized a novel nitroalkene derivative of salicylate that we named SANA.

Objectives: To evaluate the functional and metabolic effect of SANA in a diet induced obesity model.

Methods: C57BL/6J adult mice were fed a high-fat diet for 8-20 weeks. SANA (or Salicylate) was mixed with the food. Weight, food intake, glucose, insulin, leptin, triglycerides, free-fattyacid, O₂ and CO₂ consumption were measured. Histopathological analysis of hepatic and white adipose tissues were done. Proteomics, metabolomics and mRNA expression analysis, as well as mitochondria respiration from white adipose tissues were performed.

Results: SANA effectively prevented obesity and alleviated metabolic consequences of established obesity, hyperglycemia and hepatic steatosis. Proteomic, metabolomic and mRNA expression analyses of adipose tissue revealed SANA-mediated stimulation of catabolism, mitochondrial respiration and non-shivering thermogenesis. Indeed, SANA stimulated the recently described creatine-driven heat production pathway evidenced by elevation of tissuespecific creatine synthesis whereas depletion of creatine resulted in the absence of SANA-driven effects.

Conclusion: Taken together, our findings reveal that SANA promotes creatine-dependent thermogenesis which is a suitable pharmacological target for prevention and treatment of obesity.

Palabras clave: Obesity; diabetes; nitroalkene; salicylate, thermogenesis

187

Rol de dos codones no óptimos en la biosíntesis temprana de la proteína de membrana UreA, de *Aspergillus nidulans*

Gómez, Ania¹; Sanguinetti, Manuel¹; Ramón, Ana¹

¹ Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Udelar

El transportador UreA en *Aspergillus nidulans* es una proteína de membrana que media el transporte de urea. Nuestro grupo ha identificado en su ARNm dos codones no-óptimos que codifican para los aminoácidos 24 y 25 localizados en el límite entre el extremo N-terminal y el primer segmento transmembrana. Su sustitución por sinónimos óptimos provoca un fenotipo de crecimiento defectuoso sobre urea como única fuente de nitrógeno a 37°C. Este mutante (*ureA2425*) presenta niveles disminuidos de proteína, mas no niveles menores de ARNm. A 25°C el fenotipo defectuoso es parcialmente corregido. Nuestra hipótesis es que en etapas tempranas de la traducción de UreA, los codones 24-25 determinarían una pausa fundamental para la interacción con la Partícula de Reconocimiento de Señal (SRP). SRP participa en el direccionamiento al retículo endoplásmico (RE) de complejos Ribosoma-Cadena-polipeptídica-Naciente (RNCs), que traducen proteínas destinadas a completar allí su biosíntesis. En este trabajo pretendemos verificar la presencia de la pausa traduccional propuesta, mediante el uso de extractos de traducción *in vitro* de *A. nidulans*. Estos nos permitirán evaluar la velocidad de producción de péptidos de fusión entre el segmento N-terminal y el primer segmento transmembrana, *wt* o *ureA2425*, a la luciferasa. Asimismo, se pretende evaluar la influencia de los codones 24 y 25 en la interacción SRP-RNCs que traducen UreA. Para esto, estamos poniendo a punto una técnica de coinmuprecipitación de los RNCs asociados a SRP, con la finalidad de comparar cuantitativamente los ARNs de *ureA wt* y *ureA2425* que están siendo traducidos.

Palabras clave: *A. nidulans*, SRP, Proteínas de Membrana, Regulación de la Traducción

190

Rol del óxido nítrico (*NO) en la respuesta estomática inicial al déficit hídrico en soja

Casaretto, Esteban¹; Signorelli, Santiago¹; Gallino, Juan P²; Vidal, Sabina²; Borsani, Omar¹

¹Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica

²Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El déficit hídrico limita la producción y reduce la estabilidad del rendimiento en el cultivo de soja. Muchos parámetros se han asociado a tolerancia al déficit hídrico, siendo el control de la pérdida de agua foliar el más determinante. Dado que la mayor pérdida de agua se da a través de los estomas, el objetivo de este trabajo fue profundizar en las respuestas al déficit hídrico en soja a través del control del cierre estomático y determinar cómo este puede afectar el consumo de agua y la tolerancia al déficit hídrico. En este sentido, nos centramos en el óxido nítrico (*NO) como molécula clave en el control del movimiento estomático. Se analizó su cinética de acumulación a partir del establecimiento del déficit hídrico, y su asociación con el cierre estomático. Nuestro trabajo mostró una acumulación de *NO endógeno en las células guarda previo al cierre estomático, lo cual permite postular que ante la percepción

inicial del estrés existe una acumulación de $\cdot\text{NO}$ que inhibe el cierre estomático potencialmente a través del bloqueo de las respuestas a ABA. Este control fino inicial del cierre estomático por el $\cdot\text{NO}$ sería determinante para definir las respuestas finales de pérdida/consumo de agua durante el establecimiento del déficit hídrico

Palabras clave: óxido nítrico, soja, déficit hídrico, estomas

195

Heterogeneidad transcripcional y en la organización de la cromatina en los compartimentos genómicos de tripanosomas

Díaz-Viraqué, Florencia¹; Chiribao, María Laura²; Robello, Carlos²

¹Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Institut Pasteur Montevideo

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La interacción hospedero-parásito está regulada por cambios coordinados en la expresión génica de ambos organismos. Aún se desconoce en gran medida cómo se controlan estos cambios en los tripanosomas, ya que se han descrito muy pocos elementos reguladores transcripcionales. La hipótesis central de este trabajo es que los reordenamientos en la estructura de la cromatina y las marcas epigenéticas son cruciales para la regulación de la expresión génica en el parásito y para el establecimiento de la infección en el hospedero mamífero. En *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi*, los genes antigénicos se encuentran en compartimentos específicos del genoma (subtelomérico y disruptivo, respectivamente). Mediante análisis de datos transcriptómicos y posicionamiento de nucleosomas observamos que estos compartimentos genómicos presentan diferentes características en la expresión génica. Comparando las estructuras tridimensionales de los genomas mediante el análisis de datos de HiC, observamos que la organización 3D de la cromatina está fuertemente asociada con la expresión génica. Existe una correlación entre las estructuras del genoma y los intervalos transcripcionalmente activos o represivos y esto no coincide necesariamente con las unidades de transcripción policistrónicas. También analizamos cómo la metilación del ADN afecta la organización genómica 3D en diferentes etapas del ciclo de vida de *T. cruzi* y observamos que la 5-metilcitosina es la principal marca de metilación del ADN. Existe una fuerte asociación entre la presencia de la marca 5mC con regiones genómicas estructuralmente organizadas que se transcriben activamente. A través de estos estudios, identificamos mecanismos epigenéticos que impactan dramáticamente la expresión génica en los tripanosomas.

Palabras clave: Organización genómica; Regulación de la expresión génica; Cromatina; Compartimerización del genoma.

205

Efecto de la concentración de oxígeno en la respuesta efectora de las células del sistema inmune.

Casella, Ana Clara¹; Pereyra, Josefina¹; Álvarez, María Noel²; Prolo, Carolina¹

¹Centro de Investigaciones Biomédicas, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR ² Departamento de Educación Médica, Facultad de Medicina, UdelaR

La respuesta citotóxica de los macrófagos y otros fagocitos incluye la producción de óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$) y superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dependiente de la óxido nítrico sintasa y de la NADPH oxidasa. Ambas enzimas usan O_2 como sustrato, por lo que su actividad, así como la formación del producto de la reacción entre $\cdot\text{NO}$ y $\text{O}_2^{\cdot-}$, el peroxinitrito, pueden verse afectadas por la concentración local de O_2 . La $p\text{O}_2$ en los tejidos varía entre 2-15 %, mientras que la mayoría de los ensayos *in vitro* se realizan con una $p\text{O}_2$ de 21%.

Para establecer el efecto de la concentración de O_2 , se expusieron macrófagos a diferentes concentraciones de O_2 y se determinó la velocidad de formación de $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{NO}$ y peroxinitrito. Los resultados muestran que la producción de $\text{O}_2^{\cdot-}$ y $\cdot\text{NO}$ disminuyen cuando la $p\text{O}_2$ desciende por debajo de 10%, y por ende también se detecta menor formación de peroxinitrito. Sin embargo, a 6% de O_2 , se conserva casi el 100% de la formación de $\text{O}_2^{\cdot-}$ y un 60 % de la formación de $\cdot\text{NO}$ y $\text{ONOO}\cdot$.

Para evaluar la capacidad citotóxica en estas condiciones se utilizó el modelo de infección por el patógeno *Trypanosoma cruzi*. En línea con los resultados anteriores, se observó que la citotoxicidad es menor a 6% que a 21% de O_2 . Sin embargo, aún a 6% de O_2 , se observa que la activación de los macrófagos para formar peroxinitrito aumenta su capacidad de eliminación de *T. cruzi*, mostrando la relevancia de este oxidante como agente citotóxico en condiciones fisiológicas.

Palabras clave: macrófagos; oxígeno; peroxinitrito, superóxido, óxido nítrico

213

Impacto de la expresión de CD147 en la migración de células de cáncer de próstata metastásico

Martino, Rodrigo¹; Sauer, Lysann²; Pastro, Lucía¹; Rodríguez-Teja, Mercedes¹

¹Departamento de Genética Facultad de Medicina, UdeLaR

²Brandenburg University of Technology Cottbus-Senftenberg, Alemania

El cáncer de próstata es uno de los tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad a nivel mundial. La principal causa de muerte por esta enfermedad es debida al desarrollo de metástasis y la formación de nuevos tumores en huesos y pulmón.

La progresión hacia la metástasis está modulada por la acción de proteasas de la familia de las metaloproteinasas de matriz (MMP). La acción de las MMP es regulada por la proteína de superficie CD147 (también EMMPRIN y BSG) mediante un mecanismo de acción poco conocido. CD147 se encuentra sobre expresado en la mayoría de los tipos de cáncer y su expresión se asocia generalmente a un mal pronóstico de la enfermedad, aunque existe discusión sobre el rol de CD147 en cáncer de próstata metastásico. En este trabajo se buscó estudiar el papel de CD147 en el cáncer de próstata metastásico.

Se utilizó el sistema de edición génica CRISPR-Cas9 para generar líneas celulares de cáncer de próstata metastásico CD147 *knock out* y control. Mediante ensayos de *trans-well* se evaluó la capacidad migratoria e invasiva de las líneas celulares generadas, observándose una disminución en la migración de las células CD147 *knock-out* en comparación con la línea control. Estos resultados apoyan la hipótesis de una función pro-migratoria de CD147 en cáncer de próstata.

Palabras clave: CD147, Cáncer de Próstata, migración

225

Modificaciones oxidativas postraduccionales del factor de crecimiento nervioso (NGF)

Garcimartín, Santiago¹; Tomasina, Florencia¹; Campolo, Nicolás¹; Trias, Emiliano²; Durán, Rosario³; Bartesaghi, Silvina¹; Radi, Rafael¹

¹Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Neurodegeneración, Instituto Pasteur de Montevideo

³Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Inst.de Investigaciones Biológicas Clemente Estable e Inst.Pasteur de Montevideo

El factor de crecimiento nervioso (NGF) es una neurotrofina que cumple un rol importante en la supervivencia, desarrollo y fisiología neuronal, tanto en el sistema nervioso central como en el periférico. Promueve la supervivencia y maduración de diferentes poblaciones neuronales, media la ramificación axónica y tiene actividad neuroprotectora. Experimentos *in vitro* han evidenciado una ganancia de función proapoptótica frente al tratamiento de NGF con peroxinitrito y en otros trabajos se ha detectado la presencia de NGF nitrado *in vivo*, en el contexto de dos enfermedades neurodegenerativas: esclerosis lateral amiotrófica y enfermedad de Alzheimer. En este trabajo se estudiaron las modificaciones oxidativas postraduccionales del NGF generadas por su exposición a peroxinitrito (ONOO-), un oxidante biológicamente relevante que puede participar en reacciones de oxidación por uno o dos electrones, así como también protonarse, para formar ácido peroxinitroso (ONOOH), cuya homólisis da lugar a los radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) y dióxido de nitrógeno ($\cdot\text{NO}_2$), capaces de nitrar residuos de tirosina. El NGF, purificado a partir de glándulas submaxilares de ratón, fue expuesto a un flujo de ONOO- y los productos de reacción a tiempos crecientes de infusión fueron analizados mediante diferentes técnicas. Por SDS-PAGE se determinó la generación de agregados covalentes no reducibles y mediante western blot se detectó la formación de nitrotirosina. El análisis por espectrometría de masas permitió confirmar las observaciones anteriores y determinar el tipo y los sitios de modificación.

En conclusión, se determinaron las principales modificaciones oxidativas que tienen lugar, cuyos efectos biológicos serán ensayados en modelos celulares.

Palabras clave: Factor de Crecimiento Nervioso, Modificaciones oxidativas, Nitración de Tirocinas, Peroxinitrito

231

Identificación y análisis de familias multigénicas *in silico* en *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*

Pereira, Joaquín¹; Berná, Luisa^{1,2,3,4}

¹Unidad de genómica evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Apicomplejos, Institut Pasteur de Montevideo

³Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo

⁴Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo

El phylum Apicomplexa comprende un grupo heterogéneo de protozoarios unicelulares; todos parásitos intracelulares obligados de importancia para la salud humana y animal. Particularmente *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* comparten varias características morfológicas y biológicas, diferenciándose principalmente en su virulencia por sus hospederos intermediarios y definitivos, siendo *T. gondii* una especie zoonótica.

Estas diferencias se han relacionado con la divergencia en factores de virulencia secretados y en el número de genes de familias de proteínas antigénicas de superficie como la familia de antígenos de superficie (SRS), y otras relacionadas con el complejo apical y la invasión celular (ROP, MIC, GRA).

Este estudio realiza una caracterización de distintas familias multigénicas a partir de los genomas de *T. gondii* y *N. caninum*, con énfasis en la familia SRS. Para esto se elaboró un pipeline automático usando los lenguajes Bash y Python que clusteriza, busca y selecciona grupos de genes por homología, realizando un análisis a nivel de secuencia y filogenético, con el apoyo de distintas visualizaciones (histogramas, mapas de calor, dendrogramas y filogramas). Se identificaron un total de 398 clusters (mínimo 5 genes) en *N. caninum* y 506 en *T. gondii*.

Sin embargo, el número de clusters obtenidos relacionados a SRS, ROP, GRA y MIC es mayor en *N. caninum*, coincidente con resultados previos. En particular se identificaron tres clusters de genes de SRS en *N. caninum* no presentes en *T. gondii* lo que sugiere que éstos pueden estar relacionados a una especialización en su rango de hospederos.

Palabras clave: Toxoplasma, familias multigénicas, filogenias, bioinformática

233

An incomplete kynurenine pathway supports rhodoquinone but not *de novo* NAD⁺ biosynthesis in parasitic worms

Comas, Rosina^{1,2}; McReynolds, Melanie. R.³; Shepherd, Jennifer N.⁴; Salinas, Gustavo²

¹Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Química, Universidad de la República

²Unidad mixta Facultad de Química-Institut Pasteur de Montevideo

³Pennsylvania State University

⁴Gonzaga University

Abstract

Background and aims: ATP and NAD⁺ are the energy and redox currencies of life. Under the hypoxic conditions found in the gastrointestinal tract of their hosts, helminths obtain ATP using an alternative electron transport chain in which NADH serves as electron donor and rhodoquinone (RQ) as electron transporter. The kynurenine pathway, which is the main tryptophan catabolic route, generates the precursors for RQ and *de novo* NAD⁺ biosynthesis. Our aim was to address RQ and NAD⁺ biosynthesis in helminths, which have not been thoroughly studied despite their biochemical and potential pharmacological relevance.

Methods: Sequence analysis of helminths genomes for all the genes involved in RQ and NAD⁺ biosynthesis was performed. In-silico derived hypothesis were then experimentally addressed by HPLC-MS target metabolomics.

Results: Of the kynurenine pathway genes, only the kynureninase and tryptophan/indoleamine dioxygenases are encoded by all helminths. Metabolomic analysis in *C. elegans* mutant strains and species lacking the other genes of the pathway revealed that their absence does not preclude RQ biosynthesis. In addition, we found that most helminths were unable to synthesize NAD⁺ *de novo*, relying exclusively on rescue pathways. In line with their streamlined genomes, cestodes are exclusively reliant on nicotinamide for NAD⁺ synthesis. Indeed, the inhibition of the NAD⁺ recycling enzyme nicotinamide phosphoribosyl transferase led to parasite death after 7-days incubation.

Conclusions: Our results demonstrate that an incomplete kynurenine pathway supports RQ but not *de novo* NAD⁺ biosynthesis in helminths, and highlights promising pharmacological targets for helminthiasis.

Keywords: Helminth, *C. elegans*, Drug target, Tryptophan

237

El metabolismo lipídico de los fibroblastos senescentes impacta en el perfil de acetilación proteica

Marmisolle, Inés^{1,2}; Mansilla, Santiago^{2,3}; Bresque, Mariana⁴; Denicola, Ana^{2,5}; Escande, Carlos⁴; Castro, Laura^{1,2}; Quijano, Celia^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Departamento de Métodos Cuantitativos, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Laboratorio de Patologías del Metabolismo y el Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo

⁵Departamento de Fisicoquímica Biológica, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La senescencia celular se caracteriza por el cese de la proliferación y la secreción de factores proinflamatorios. Este estado se desencadena frente a estímulos que dañan el ADN y señales mitogénicas fuertes como la expresión de oncogenes, y cumple un rol en varias patologías humanas incluyendo el cáncer. En la senescencia inducida en fibroblastos por el oncogén RAS (H-RAS^{G12V}) encontramos la síntesis de ácidos grasos inhibida y un aumento de la β -oxidación mitocondrial, mediada por la fosforilación en la Thr172 y activación de la AMPK, que conduce a la inactivación de la acetil-CoA carboxilasa 1 (ACC1). Para estudiar el destino del acetil-CoA, evaluamos los niveles de la aconitasa mitocondrial, una enzima del ciclo de Krebs, y la ATP-citrato liasa (ACL) responsable de exportar el citrato desde la mitocondria al citosol. Los niveles y actividad de la aconitasa disminuyeron (43 % y 42 % respectivamente), mientras que la ACL aumentó sus niveles y su fosforilación en la Ser455 8 veces en las células senescentes, indicando un aumento en su actividad. Debido a que un aumento de acetil-CoA citosólico que podría ser utilizado en procesos de acetilación, evaluamos los perfiles de acetilación de las células senescentes observando cambios en distintos compartimentos subcelulares con respecto a las células control. También detectamos cambios en las desacetilasas dependientes de NAD⁺ sirtuina 3 y 6. Aspiramos a determinar las proteínas que se acetilan en forma diferencial en la senescencia, ya que esta modificación postraduccional regula el metabolismo y la expresión génica celular.

Palabras Clave: senescencia, metabolismo lipídico, acetilación, sirtuinas

238

Análisis *in silico* de los retrotransposones del linaje Athila/Tat en *Acca Sellowiana*

Mangino, Mathias¹; Vaio, Magdalena²; Hector Oberti³; Pritsch, Clara³; Berná, Luisa^{1,4,5,6}

¹Unidad de Genómica Evolutiva Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Evolución y Domesticación de Plantas, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

³Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

⁴Laboratorio de Apicomplejos, Institut Pasteur de Montevideo

⁵Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo

⁶Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo

Los retrotransposones con repeticiones terminales largas (RT-LTR) son un orden diverso de transposones que se replican a través de un intermediario de ARN, generando una nueva copia que se integra en el genoma del huésped. Los RT-LTR están mayormente presentes en genomas eucariotas, siendo particularmente abundantes en los genomas de plantas, constituyendo hasta un 75% del genoma. Comparten similitud estructural y el modo de replicación con los retrovirus. Dentro de la familia de RT-LTR Ty3/Gypsy, el linaje de Athila/Tat está ampliamente distribuido en los genomas de plantas terrestres. *Acca Sellowiana* (Guayabo del país) es una planta nativa perteneciente a las Myrtaceae, una especie diploide $2n=22$, alógama, con un genoma de aproximadamente 345 Mpb/1C que fue recientemente secuenciada en nuestro país, en la cual se identificaron distintas familias de transposones. En el presente trabajo se realizó un protocolo de extracción de RT-LTR y una caracterización bioinformática de los RT-LTR Athila/Tat en *A. sellowiana*. Para esto se obtuvieron secuencias de genes de retrotranscriptasas Athila/Tat de las bases de datos gypsy database 2.0 y RepeatExplorer, se realizó un protocolo de búsqueda para el genoma de *A. sellowiana*, utilizando Blast, extractor.pl, Mafft, Iqtree y lenguajes de programación Bash y R. De esta forma, se desarrolló un protocolo de minería de datos que permite identificar y analizar de manera supervisada los R-LTR de un genoma de interés, mediante homología y características estructurales. Se identificó el linaje de Athila/Tat en *Acca sellowiana* mediante el protocolo.

Palabras claves: Retrotransposon, LTR, Guayabo, genoma

247

Estudio de la reacción de citocromo c con sulfuro de hidrógeno (H₂S)

Pose, Manuela^{1,2}; **Scocoza, Magalí**^{3,4}; **Murgida, Daniel**^{3,4}; **Carballal, Sebastián**^{1,2}; **Radi, Rafael**^{1,2}

¹Centro de investigaciones Biomédicas (CEINBIO)

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR)

³Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (UBA)

⁴Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía (INQUIMAE), CONICET-Universidad de Buenos Aires (UBA)

El sulfuro de hidrógeno (H₂S) es una molécula gasotransmisora generada endógenamente. La evidencia creciente de los efectos moduladores del H₂S en diferentes procesos fisiológicos, ha llevado a la hipótesis de su rol regulador. El H₂S podría actuar como una forma de transducción de señales al promover la modificación postraduccional de proteínas por persulfuración, aunque los mecanismos se encuentran bajo estudio. Entre los diversos blancos a nivel celular, el H₂S puede reaccionar con centros metálicos¹. El citocromo c es una hemoproteína mitocondrial central para el metabolismo celular, que juega un papel fundamental en varios procesos desde la respiración hasta la apoptosis, para ello es capaz de adoptar una variedad de proteoformas ampliamente estudiadas². El citocromo c podría actuar como mediador para la señalización mediada por H₂S. En este trabajo se propone el estudio cinético de la reacción entre H₂S y el citocromo c, así como el análisis por espectroscopía Raman Resonante de la interacción entre H₂S con diferentes proteoformas del citocromo c. A su vez, también se estudia la influencia del H₂S sobre la actividad peroxidática del citocromo c. Mediante los estudios de cinética estacionaria y cinética rápida, en conjunto con el análisis por espectroscopía Raman Resonante, se logró una mejor comprensión del mecanismo de reacción entre H₂S y citocromo c, aportando al entendimiento de la posible interacción entre estos dos componentes en la célula. También se determinó como el H₂S es capaz de influir sobre una de las funciones del citocromo c, como lo es su actividad peroxidática.

Palabras clave: Sulfuro de hidrógeno, Citocromo c, Redox, Señalización

1. Cuevasanta, E., Möller, M. N. & Alvarez, B. Biological chemistry of hydrogen sulfide and persulfides. *Arch. Biochem. Biophys.* 617, 9–25 (2017)

2. Alvarez-Paggi, D. *et al.* Multifunctional Cytochrome c: Learning New Tricks from an Old Dog. *Chem. Rev.* 117, 13382–13460 (2017)

251

Caracterización de GalNAc-T13 como biomarcador de agresividad en cáncer de mama. Análisis de posibles sustratos peptídicos aceptores

Fernandez, Eugenia¹; **Ubillos, Luis**²; **Elgul, Nabila**³; **Festari, María Florencia**⁴; **Mazal, Daniel**⁵; **Pritsch, Otto**^{4,6}; **Alonso, Isabel**³; **Osinaga, Eduardo**^{1,4}; **Berois, Nora**¹

¹Laboratorio de Glicobiología e Inmunología Tumoral, Institut Pasteur de Montevideo

²Servicio de Oncología Clínica, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³CASMU, Centro Asistencial del Sindicato Médico del Uruguay

⁴Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁵Centro Hospitalario Pereira Rossell, Departamento de Anatomía Patológica y Citología del Hospital de la Mujer.

⁶Laboratorio de Inmunovirología, Institut Pasteur de Montevideo

El cáncer de mama es un problema de salud pública, siendo el más frecuente en la mujer y el quinto en mortalidad a nivel mundial. La O-glicosilación aberrante se asocia comúnmente a cáncer y las polipéptido-GalNAc-transferasas (GalNAc-Ts) son glicosiltransferasas consideradas biomarcadores emergentes para esta enfermedad. GalNAc-T13 se ha correlacionado con agresividad en algunos tumores, planteándose como hipótesis la utilidad de esta enzima como biomarcador en cáncer de mama. En el presente trabajo evaluamos la expresión de GalNAc-T13 en 6 líneas celulares de cáncer de mama humano, 338 tumores primarios de mama y 48 ganglios linfáticos metastásicos pareados. Se evaluó la correlación de la expresión de GalNAc-T13 con las características clínicas y la supervivencia de los pacientes. Se encontró expresión de GalNAc-T13 en líneas celulares de cáncer de mama, tanto a nivel de ARNm como de proteína. El 43,8% de los tumores analizados mostró expresión de GalNAc-T13 y ésta fue significativamente mayor en los

ganglios linfáticos metastásicos, lo que se correlacionó con una menor sobrevida global. Se encontró que 5 péptidos previamente identificados como sustratos de GalNacT13 son expresados en cáncer de mama. Esto nos llevó a plantear su posible implicancia en el comportamiento metastásico de estos tumores. Se concluyó que GalNac-T13 puede ser un nuevo biomarcador de subtipos más agresivos de cáncer de mama y discutimos los posibles sustratos peptídicos aceptores de GalNac implicados en el mecanismo de agresividad. Nos encontramos evaluando los mecanismos moleculares implicados en el papel de GalNac-T13 en la biología del cáncer de mama.

Palabras Clave: Cáncer; GalNac-T13; pronóstico; O-glicosilación

254

Caracterización de proteínas inmunogénicas de superficie en *Neospora caninum*

Echeverría, Soledad¹; Ruppel, Florencia¹; Carrion, Federico²; Pritsch, Otto²; Cabrera, Andrés^{1,3}; Robello, Carlos^{1,4}

¹Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Unidad de Biología Molecular,, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Inmunovirología, Unidad de Biofísica de Proteínas, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

³Unidad de Microbiología, Departamento de Patobiología, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay

⁴Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay

Las SRS (SAG1-related proteins) constituyen una familia de proteínas descritas por primera vez en el parásito *Toxoplasma gondii*, como el mayor antígeno de superficie, ancladas por GPI. Posteriormente se fue ampliando la definición de esta familia, y se han caracterizado algunos miembros de la misma en *T. gondii*. Se ha descrito su función tanto en el proceso de adhesión del parásito a la célula hospedera, posible rol en la regulación de la respuesta inmune y estructura en la membrana del quiste. Recientemente se han identificado algunos miembros de esta familia en *Neospora caninum* y realizado sugerencias sobre su potencial rol, si bien aún no se conoce claramente la función de estas proteínas. En este trabajo nos enfocamos en dos de ellas, llamadas p36 y p35. Las mismas son ortólogos de las descritas como SAG1 y SRS2 en *T. gondii* respectivamente. Estas captan nuestro interés, dado su potencial para el desarrollo de antígenos para vacunas y tests de diagnóstico. En este trabajo, se realizó la expresión de p36 y p35 en células de *Drosophila melanogaster*, y se purificaron y se caracterizaron mediante ensayos bioquímicos e informáticos. Ambas proteínas fueron obtenidas de forma soluble, p36 aparece en solución como dímero, siendo coincidente con el resultado obtenido para SAG1 en *T. gondii*. Ambas proteínas fueron reconocidas por sueros de bovinos naturalmente infectados con *N. caninum*., y actualmente estamos llevando a cabo ensayos para evaluar su potencial en diagnóstico y ensayos de protección.

261

The patched-related protein participates in the hedgehog pathway during *Drosophila melanogaster* development

Nieves, Sofía¹; Reyes, Agustina¹; Olivera-Bravo, Silvia²; Cambiazo, Verónica³; Bolatto, Carmen^{1,2}

¹Laboratorio de Biología del Desarrollo, Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo-Uruguay

²Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo-Uruguay

³Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA-Universidad de Chile, Millennium Institute Center for Genome Regulation (CRG), Santiago-Chile

Patched-related (Ptr) gene encodes for a 1169 amino acid protein of 12 putative transmembrane alpha-helices and a sterol-sensing domain that is similar to the topology and domain organization of Patched (Ptc), the canonical receptor of Hedgehog (Hh). The main objective of this work is to explore if Ptr can have a role in the Hh pathway during the development of *Drosophila melanogaster*. Experimental procedure includes: production of a *Ptr*-null mutant fly line (*Ptr/twist*-GFP) and transgenic lines to express double-stranded RNA complementary to the first *Ptr* exon (UAS-*Ptr*-dsRNA) or the complete *Ptr* sequence fused to mCherry tag (UAS-*Ptr*-mCherry); immunolabeling; analysis of adult wings; QPCR assays, and Hh-sensitive luciferase reporter assays in clone 8 (cl-8) cells. Cl-8 cells were transfected with *Ptr*-specific dsRNA or a *Ptr* DNA construct and assayed for changes in Hh-mediated induction of *ptc*-luciferase reporter. Results obtained suggest that Ptr could act as a negative regulator of Hh signaling, and co-

immunoprecipitation assays from cell culture extracts premixed with a conditioned medium revealed a direct interaction between *Ptr* and Hh. Moreover, the immunodetection of Hh pathway targets in null mutant embryos together with the analysis of wing phenotypes produced by *Ptr* overexpression in the imaginal wing discs reinforced the results obtained in cells, strongly suggesting that *Ptr* could be an alternative component in the Hh pathway that function during *Drosophila* development. Financial support: CSIC I+D 2020 ID 313, IBRO-LARC PROLAB y PEDECIBA
Keywords: Patched-related, Hedgehog, development, *Drosophila*

262

Proteínas MARCKS en la morfogénesis del tubo neural en *pez cebra*

Veloz, Lucía^{1,2}; **Zolessi, Flavio R.**^{1,2}

¹Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

²Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

En vertebrados, el tubo neural se forma a partir del ectodermo neural mediante movimientos morfogénicos, en parte mediados por el citoesqueleto de actina y sus proteínas moduladoras. Entre estas se encuentran las proteínas de la familia MARCKS, compuesta por dos miembros en la mayoría de los organismos, y duplicadas en peces teleosteos. Nuestro grupo ha demostrado que los cuatro genes de *pez-cebra* son expresados, y que su *knockdown* produce fenotipos característicos, siendo MARCKSb y MARCKSL1a, particularmente relevantes en la morfogénesis del sistema nervioso central. Este trabajo profundiza la caracterización de estas proteínas generando anticuerpos específicos para estudiar su localización durante el desarrollo. Mediante microscopía confocal en embriones de 14-24 hpf encontramos a MARCKSb distribuída en la membrana plasmática, mientras que MARCKSL1a se presenta en pequeñas partículas citoplasmáticas enriquecidas hacia la región apical de las células de la quilla neural. Evaluamos de forma cualitativa y cuantitativa los fenotipos producidos al bloquear la expresión de *marcks/1a* y la proteína de adhesión N-cadherina (*cdh2*) usando morfolinós y CRISPR-Cas9 y su interacción funcional a través de la inyección de dosis mínimas de morfolinós. Estas no produjeron efectos por sí solas, pero sí al ser co-inyectadas, obteniendo embriones con tubo neural con sección en T. También evaluamos la interacción de MARCKSb y MARCKSL1a mediante esta aproximación, demostrando una cooperación funcional también entre estas. En conclusión, MARCKSb y MARCKSL1a presentan distintos patrones de distribución subcelular, pero ambas cooperan durante la morfogénesis del tubo neural en *pez-cebra*, donde en particular MARCKSL1a parece estar relacionada con N-cadherina.

Palabras clave: Morfogénesis, tubo neural, desarrollo neural

265

Caracterización de la estructura química novedosa del antígeno o-específico de una cepa de *Escherichia coli* (SC-UY1) aislada de diarrea en terneros

Cuchman, Sylvia^{1,2}; **Giannechini, Edgardo**³; **Rivero, Rodolfo**³; **Corvo, Ileana**⁴; **Fontana, Carolina**¹

¹Laboratorio de Espectroscopía y Físicoquímica Orgánica, Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

²Programa de Posgrados de la Facultad de Química, Universidad de la República

³División Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino", Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca

⁴Laboratorio de I+D Moléculas Bioactivas, Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

En la membrana externa de las bacterias Gram-negativas se encuentran los lipopolisacáridos (LPS). La reactividad serológica del antígeno O-específico (PS), que corresponde a la región más externa del LPS, se emplea para definir los 182 serogrupos de *E. coli* reconocidos actualmente. Si bien la mayoría de sus cepas son inofensivas, algunas resultan patogénicas, causando enfermedades como diarrea en terneros; siendo estas responsables de importantes pérdidas económicas y de productividad ganadera mundialmente. En este trabajo se presenta la elucidación estructural de un nuevo O-Ag de una cepa de *E. coli* (SC-UY1) aislada de un caso de diarrea de terneros en Uruguay. Esta cepa se cultivó en medio LB (37°C, 16 h) y se extrajo el LPS utilizando el método de fenol/agua caliente. El PS nativo libre de lípido A (O-PS) se obtuvo mediante tratamiento del LPS en condiciones ácidas suaves, y se purificó utilizando una columna PD-10. El polisacárido O-desacetilado (PS-OH) se obtuvo por hidrólisis de los grupos ésteres del O-PS en medio básico. Ambos materiales (O-PS y PS-OH) fueron analizados utilizando un espectrómetro de RMN

Bruker Avance III 500 MHz en D₂O. El O-Ag está formado por una cadena lineal de unidades repetitivas pentasacáridicas, compuestas por residuos de Fuc/Rha/GlcA/GlcNAc en relación 2:1:1:1. Además, uno de los residuos de Fuc se encuentra 2-O-acetilado en el O-PS. Esta estructura no se corresponde con ningún PS de los serogrupos reportados en *E. coli*, ni en otras especies. Estos hallazgos nos alientan a continuar la caracterización de serogrupos buscando correlacionarlos con la virulencia bacteriana.

Agradecimientos: ANII (POS_NAC_M_2020_1_164490), Proyecto CSIC I+D 2020 #291, PEDECIBA Química.

Palabras claves: *Escherichia coli*, resonancia magnética nuclear, polisacáridos

270

Estudio de Modo de acción de derivados de *p*-quinona con actividad tripanocida mediante modelos experimentales e *in silico*

Ballesteros Andres^{1,2}; Quiroga Cristina³; Ortiz Cecilia³; Benitez Diego³; Denis Pablo⁴; Figueroa David¹; Salas Cristian⁵; Bertrand Jeanluc⁵; Tapia Ricardo⁵; Sanchez Patricio⁵; Miscione Gian Pietro^{1*}; Comini Marcelo^{3*}; Paulino Margot^{2*}

¹COBO, Computational Bio-Organic Chemistry, Chemistry Department, Universidad de Los Andes, Bogotá - Colombia

²Bioinformatics Center, DETEMA Department, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo - Uruguay

³Laboratory Redox Biology of Trypanosomes, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

⁴Computational Nanotechnology, DETEMA Department, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo - Uruguay

⁵Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química y de Farmacia, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago - Chile

Las quinonas desempeñan importantes funciones redox relacionadas con la capacidad de actuar como portadoras de electrones en un amplio rango de potenciales redox y pH. En este trabajo investigamos la bioactividad y el potencial modo de acción contra la forma sanguínea de los tripanosomas africanos de un conjunto de 19 derivados de *p*-quinona fusionados a diferentes anillos. Todos los compuestos, a excepción de una furan-quinona (EC₅₀ = 38 μM), resultaron ser igual o incluso más potentes (EC₅₀ = 0,45-5,5 μM) que el fármaco clínico nifurtimox (EC₅₀ = 5,3 μM) para matar a *Trypanosoma brucei brucei* (*T. brucei*). En comparación con el nifurtimox (índice de selectividad = 19), cuatro de estas moléculas presentaron una selectividad citotóxica entre 2 y 3 veces mayor contra el patógeno. La mayoría de las *p*-quinonas indujeron un rápido y marcado medio oxidativo intracelular en el torrente sanguíneo de *T. brucei*, tal y como revelaron los ensayos realizados con un biosensor redox codificado genéticamente. Los cálculos cuánticos (DFT, M05-2X) sobre los estados oxidado, semiquinona e hidroquinona de los compuestos sugieren que todas las quinonas tienen ΔG favorables para la formación de la semiquinona. Los análisis SAR y QSAR (2D y 3D) revelaron que los sustituyentes y las cargas sobre tres átomos en particular modulan la actividad y la capacidad oxidante de los 19 compuestos. En conclusión, combinando procedimientos experimentales e *in silico* hemos podido identificar y caracterizar los descriptores moleculares que determinan la actividad antiproliferativa y prooxidante de las 19 *p*-quinonas.

Palabras clave: *Trypanosoma brucei*, biosensor redox codificado genéticamente, QSAR, ciclo redox, *p*-quinonas

278

Caracterización de la 3-mercaptopiruvato azufretransferasa de *Trypanosoma brucei brucei*

Gutiérrez, María Victoria¹; Cuevasanta, Ernesto^{2,3}; Comini, Marcelo¹; Bonilla, Mariana¹

¹Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomátidos, Institut Pasteur de Montevideo

²Unidad de Bioquímica Analítica, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La 3-mercaptopiruvato azufretransferasa (MST) es una enzima que participa del metabolismo de azufre de las células, catalizando la transferencia de un átomo de azufre desde el 3-mercaptopiruvato hasta una molécula aceptora. El gen correspondiente se encuentra conservado entre eucariotas, y también está presente en algunos procariotas. Su rol principal aún se desconoce, aunque se sabe que participa en distintas vías de relevancia fisiológica como en la producción de H₂S, la urmilación de proteínas y la tiolación de tRNAs. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar la

MST del parásito *Trypanosoma brucei brucei* (TbMST). Los organismos del género *Trypanosoma* causan enfermedades en humanos y otros mamíferos, catalogadas como enfermedades tropicales desatendidas. Se caracterizó la forma recombinante de la TbMST por gel filtración y el radio hidrodinámico obtenido sugiere que la proteína presenta una conformación incompatible con un monómero globular. Empleando esta proteína se generó un suero anti-TbMST que permitió la caracterización de la forma endógena de la proteína en la forma infectiva del parásito, determinándose que ésta es poco abundante y de localización citosólica. Al regular a la baja la expresión de la TbMST mediante un sistema ARNi, se logró reducir eficientemente su expresión al 10%. Sin embargo, en las diferentes condiciones de cultivo *in vitro* ensayadas en este trabajo, no se observó un fenotipo diferencial. Esto podría deberse a que el remanente de enzima es suficiente para el crecimiento normal del parásito, o que la TbMST no sea una proteína esencial para su forma infectiva, al menos en condiciones *in vitro*.

Palabras clave: 3-mercaptopiruvato azufretransferasa; 3-mercaptopiruvato; *Trypanosoma brucei*

286

El estrés oxidativo inducido por hiperglicemia e inflamación afecta la función del osteoblasto: implicancias en la oseointegración

Suárez Arocena, María Carmen^{1,2}; Rinaldi Jauregui, Micaela ¹; Valez Valeria ^{1,2}

¹Cátedra de Bioquímica y Biofísica, Facultad de Odontología, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Está reportado que la hiperglicemia condiciona un aumento de oxidantes generando estrés oxidativo celular. Esto afecta el metabolismo óseo, tanto disminuyendo la neoformación como incrementando la reabsorción. El aumento de citoquinas pro-inflamatorias circulantes en condiciones de hiperglicemia tiene una relevancia no dilucidada en la producción de oxidantes. Esto puede afectar la integración ósea al titanio de las prótesis oseointegradas. Además, hay evidencia de que los osteoblastos en estas condiciones desvían el metabolismo energético hacia la fermentación láctica similar al efecto Warburg, con lo cual el rol de la mitocondria en este proceso también es controversial. Objetivos: Estudiar el rol del estrés oxidativo en la alteración de la diferenciación celular hacia el linaje osteoblástico, evaluando marcadores de oseointegración y función mitocondrial, en condiciones de hiperglicemia y en un estado pro-inflamatorio *in vitro*. Métodos: Se utilizó un modelo celular de hiperglicemia e inflamación con la línea celular de pre-osteoblastos MC3T3-E1 cultivados en condiciones de normoglicemia e hiperglicemia, con y sin citoquinas pro-inflamatorias. Se analiza la diferenciación celular hacia el linaje osteoblástico. Para la detección de la formación de oxidantes se utilizaron sondas fluorescentes específicas. Además, la funcionalidad mitocondrial se evalúa a través de un analizador metabólico y del potencial de membrana mitocondrial mediante microscopía y citometría de flujo. Resultados preliminares: La hiperglicemia y la presencia de interleuquina-1 β disminuyen la producción de colágeno y calcio en el medio. También hay una mayor producción de oxidantes y daño mitocondrial que empeora en presencia de citoquinas.

288

Desarrollo de un método para la identificación de ARNs no vesiculares intrínsecamente estables en biofluidos

Costa, Bruno ^{1,2}; Li Calzi, Marco ²; Castellano, Mauricio ^{2,3}; Blanco, Valentina ²; Cuevasanta, Ernesto ¹; Litvan, Irene ⁴; Ivanov, Pavel ⁵; Witwer, Kenneth ⁶; Cayota, Alfonso ^{2,7}; Tosar, Juan Pablo ^{1,2}

¹Unidad de Bioquímica Analítica, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Genómica Funcional, Institut Pasteur de Montevideo

³Departamento de Biología Celular y Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Departamento de Neurociencias, University of California San Diego

⁵Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School

⁶Molecular and Comparative Pathobiology and Neurology, Johns Hopkins University School of Medicine

⁷Hospital de Clínicas, Universidad de la República

El ARN extracelular típicamente se estudia en el contexto de vesículas lipídicas (ej: exosomas) o de complejos ribonucleoproteicos. Estas estructuras protegen al ARN de la degradación mediada por ribonucleasas, que son abundantes en los fluidos biológicos. Sin embargo, la mayoría de los ARNs extracelulares no están asociados a vesículas, lo que inmediatamente desencadena una interrogante respecto a su estabilidad. Debido al potencial que

presentan los ARNs extracelulares como biomarcadores de enfermedad en biopsias líquidas, nos propusimos evaluar la vida media de distintos ARNs que sabemos son liberados al medio extracelular, sea en forma de complejos ribonucleoproteicos (ej: ribosomas), o como ARNs desnudos desprovistos de proteínas. Encontramos que, si bien la mayoría de los ARNs son rápidamente degradados en ausencia de proteínas, algunos fragmentos derivados de ARNs de transferencia (tRNAs) presentaron vidas medias largas (de hasta tres horas) en suero, orina, o líquido cefalorraquídeo, aún en ausencia de proteínas protectoras. Mediante el desarrollo de ensayos bioquímicos y la aplicación de métodos separativos en condiciones nativas, descubrimos que estas mitades de tRNA en realidad forman estructuras de mayor tamaño, no reconocibles por las técnicas clásicas, y que este tipo de nuevas estructuras de ARN determina su alta estabilidad en biofluidos. Todo esto nos llevó al desarrollo de un nuevo método de retrotranscripción y amplificación de ARNs extracelulares intrínsecamente estables, que son refractarios a las técnicas de secuenciación actualmente disponibles. Esta nueva metodología permitirá en el futuro aumentar el número y tipo de ARNs pasibles de ser utilizados como biomarcadores tempranos de enfermedad.

Palabras clave: biopsias líquidas; comunicación intercelular; ARNs extracelulares, ARNs no vesiculares, tRNAs

289

Caracterización de líneas deficientes en la triparedoxina peroxidasa mitocondrial de *Trypanosoma cruzi* en la respuesta a estrés

Specker Gabriela^{1,2}; Libisch Gabriela³; Radi, Rafael^{1,2}; Robello Carlos^{1,2,3}; Piacenza, Lucía^{1,2}; Chiribao, Maria Laura^{1,2,3}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Universidad de la República

³Laboratorio de interacciones hospedero patógeno/Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur de Montevideo

Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, tiene un ciclo de vida complejo en el que enfrenta condiciones variables respecto a temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes y exposición a oxidantes.

Las peroxirredoxinas son una familia ubicua de enzimas antioxidantes que detoxifican peróxidos. Además, se ha descrito que estas enzimas pueden cumplir funciones de señalización, chaperona y modulación del sistema inmune. *T. cruzi* contiene dos peroxirredoxinas CPX y MPX, localizadas en el citosol y en la mitocondria, respectivamente. El rol de la MPX en la detoxificación de peróxidos ha sido ampliamente estudiado, además se ha observado que actúa como holdasa y que su expresión aumenta en respuesta a un incremento en la temperatura y a la exposición a nifurtimox. Recientemente, hemos generado líneas de parásitos mutantes nulos parciales para el gen *mpx* mediante CRISPR/Cas9, que expresan menor cantidad de MPX que la línea salvaje. En este trabajo planteamos la caracterización de las líneas deficientes en MPX durante la respuesta a estrés. En este sentido, observamos que epimastigotas deficientes en MPX tienen menor capacidad de recuperación frente al estrés térmico respecto a la cepa salvaje. Además, estas líneas presentan mayor sensibilidad frente a la exposición al Nifurtimox. De manera interesante, encontramos que la deficiencia de MPX afecta de manera negativa la infección a células epiteliales, obteniendo menores índices de infección en las líneas deficientes respecto a la salvaje. Estos resultados indican que MPX juega un rol importante no solo en la respuesta a oxidantes sino a otro tipo de estresores.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, peroxirredoxina mitocondrial, estrés

292

Blanco molecular y mecanismo de acción de la violaceína en cáncer de vejiga

Canclini, Lucía¹; Pazos, Hany¹; López, Ignacio²; García, Cesar²; Castro, Susana²; Alem, Diego¹

¹Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UdelaR

El cáncer de vejiga tiene gran importancia sanitaria por su alta incidencia, ubicándose entre los primeros diez tipos de cáncer a nivel mundial. Las terapias actuales tienen baja efectividad debido a la frecuente aparición de resistencia al tratamiento, además de elevados riesgos asociados a la toxicidad inespecífica, lo que hace necesario encontrar terapias novedosas. Nuestro grupo de investigación demostró anteriormente que la violaceína aislada a partir de bacterias antárticas del género *Janthinobacterium* sp. presenta actividad antiproliferativa en líneas celulares derivadas de cáncer vesical (T24, 253J) a las 24 horas, sin generar daño en el ADN y presentando actividad sinérgica con Cisplatino. El presente trabajo analiza si la violaceína presenta efecto antiproliferativo a tiempos más cortos de

tratamiento y estudia posibles mecanismos de acción y/o blancos moleculares que pueden estar implicados en ese proceso. La violaceína demostró un efecto antiproliferativo de rápida acción, que se observa ya a las 6 horas. Encontramos que la misma se une a agregados proteicos celulares con características amiloides, y que esta unión parece conducir al desensamblaje parcial de los agregados y a la activación de p53. En conclusión, las evidencias sugieren amiloides como blanco molecular de la violaceína en T24. Proponemos como mecanismo que la unión de la violaceína a amiloides conduciría a la liberación de proteínas cuya activación desencadenaría la muerte celular. De corroborarse este mecanismo, las perspectivas en el uso terapéutico de la violaceína se amplían desde su utilidad contra cáncer hacia otras enfermedades cuya patogénesis está asociada a la formación de agregados.

Palabras clave: violaceína, cáncer vesical, mecanismo de acción

294

Impacto de un microambiente envejecido en la función mitocondrial

Lucía Pastro Cardoso¹, María Paula Frade¹, Claudia Chiale¹, Lysann Sauer², Mercedes Rodríguez-Teja¹.

¹Departamento de Genética Facultad de Medicina, UdelaR

²Brandenburg University of Technology Cottbus-Senftenberg, Alemania

A diferencia de otros tumores, el envejecimiento es el principal factor de riesgo del cáncer de próstata. Los productos finales de glicación avanzada (AGEs) se acumulan durante el envejecimiento en la membrana basal (MB) que rodea los *acinos* prostáticos glandulares, produciendo la pérdida de elasticidad del tejido prostático. La rigidez de la MB aumenta las fuerzas tensionales que la misma ejerce sobre la célula y desencadena un cambio en el fenotipo celular, aumentando su capacidad migratoria. Estas fuerzas son transmitidas desde la MB rica en AGEs al ambiente intracelular por el mecano-receptor Endo180 situado en la superficie de la célula epitelial prostática. En este trabajo estudiamos los cambios moleculares producidos por la rigidez de la MB rica en AGEs sobre cultivos 3D de *acinos* prostáticos. Empleando el sistema CRISPR/Cas9 generamos una línea celular prostática Endo180 *knock-out* y su línea control. RNASeq de los cultivos en 3D de las líneas celulares muestran un aumento significativo en la expresión de genes relacionados a la fosforilación oxidativa mitocondrial en células *wild type* y control en ambientes ricos en AGEs versus MB nativas. Este aumento en la expresión no se observó en las células Endo180 *knock-out*, sugiriendo que Endo180 media la activación de la fosforilación oxidativa en ambientes ricos en AGEs. Se analiza el contenido y forma de las mitocondrias mediante tinción *in-vivo* con *Mitotraker green* y la actividad de la enzima citrato sintasa. Estos resultados vinculan al mecano-receptor Endo180 con el metabolismo energético presentándolo como un biomarcador en cáncer de próstata.

Palabras clave: Cáncer de Próstata, AGEs, Endo180 y mitocondria

296

Mediadores lipídicos resolutivos de la Inflamación en macrófagos de fenotipos M1 Y M2

Abramo, Sofía^{1,2}; Mastrogiovanni, Mauricio^{1,2}; Rubbo, Homero^{1,2}; González Perilli, Lucía^{2,3,4}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Unidad Académica de la Licenciatura en Biología Humana, Universidad de la República

⁴Departamento de Educación Médica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La resolución de la inflamación involucra un cambio en el perfil de mediadores lipídicos producidos por los leucocitos, desde eicosanoides mediadores proinflamatorios a mediadores proresolutivos especializados (SPMs). Estos mediadores son sintetizados fundamentalmente por lipoxigenasas (LOXs) de macrófagos y neutrófilos a partir de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) araquidónico (AA), eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). La acción de los SPMs en cascadas de señalización contribuye a eliminar señales proinflamatorias y retornar a la homeostasis. Proponemos que diferencias de expresión y cambios de localización subcelular de LOXs en los fenotipos de macrófagos proinflamatorio (M1) y proresolutivo (M2), determinan una producción diferencial de estos mediadores. Se cultivaron macrófagos humanos derivados de la línea de monocitos THP-1 y monocitos primarios de sangre cuya polarización a fenotipos M1 y M2 es verificada por citometría de flujo y ELISA. Se analizó la producción

de mediadores lipídicos por HPLC-MS/MS, la expresión de LOXs por Western Blot y su localización subcelular por microscopía confocal. Se evidenció que 5 y 12-LOX se expresan en ambos fenotipos macrofágicos, mientras que 15-LOX1 solo en M2. Experimentos en curso con macrófagos suplementados con PUFAs y estimulados con Zymosan, muestran mayores cantidades de mediadores proinflamatorios derivados del AA como prostaglandina E2 y leucotrieno B4 en M1 y de intermediarios de las vías LOXs derivadas de DHA en M2. Como perspectivas, planteamos profundizar en el estudio de la localización subcelular de las LOXs para comprender el mecanismo celular que dirige el cambio en el perfil de la respuesta a nivel del sitio inflamatorio.

Palabras clave: resolución de la inflamación, lipoxigenasas, macrófagos, mediadores lipídicos

303

Activación de la vía de señalización BMP9/10ALK1-ENG-SMAD como estrategia de reutilización de drogas para la terapia de la telangiectasia hemorrágica hereditaria

Chiesa, Camila; Pérez, Valentina; Santos, Leonardo; Escande, Carlos; Ruiz, Santiago

Laboratorio de Patologías del Metabolismo y el envejecimiento, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay

Introducción: La telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT) es un trastorno vascular genético autosómico dominante con una prevalencia de 1 cada 5000 individuos, que hasta el momento no tiene cura. Las manifestaciones más comunes incluyen hemorragias nasales recurrentes, la presencia de vasos sanguíneos dilatados en piel y mucosas, y más grave aún, el desarrollo de malformaciones arteriovenosas (MAV) en distintos órganos. Estas MAVs, pueden causar hemorragia interna, accidentes cerebrovasculares o insuficiencia hepática y cardíaca. Las personas con HHT portan mutaciones con pérdida de función en los genes que codifican para proteínas involucradas en la vía BMP9/10-ALK1-ENGSMAD, bloqueando su señalización. En este trabajo, adoptando una estrategia de reutilización de fármacos aprobados para su uso en el tratamiento de ciertas patologías, testeamos fármacos recientemente identificados como posibles activadores de la vía mencionada, con el fin de evaluar su uso en el tratamiento de HHT. **Hipótesis:** Los fármacos activadores de la vía de señalización BMP9/10-ALK1-ENG-SMAD son capaces de baipasear las pérdidas de función en esta vía y así presentar potencial terapéutico para la HHT.

Materiales y Métodos: Mediante estudios *in vitro* en células HUVEC y el análisis por western blot de marcadores de activación de la vía (fosforilación de SMAD1/5/8 y expresión de ID1), evaluamos la capacidad de activación que tienen los fármacos nitazoxanida, nabumetona e ipriflavona.

Resultados y Discusión: La nitazoxanida, nabumetona e ipriflavona activan la vía BMP9/10-ALK1-ENG-SMAD. Esto confirma resultados previos y evidencia la necesidad de profundizar su estudio para definir su potencial en la terapia de HHT.

Palabras clave: Reutilización de fármacos, nitazoxanida, nabumetona, ipriflavona, Telangiectasia hemorrágica hereditaria

306

Análisis del transcriptoma de dos cultivares de soja en respuesta a la infección con *Diaporthe caulivora*

Mena, Eilyn¹; Reboledo, Guillermo¹; Stewart, Silvina²; Montesano, Marcos^{1,3}; Ponce de León, Inés^{1}*

¹*Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas*

Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

²*Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Cultivos de*

Secano, La Estanzuela, Colonia, Uruguay

³*Laboratorio de Fisiología Vegetal, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*

En Uruguay la soja constituye el principal producto de exportación. Una de las enfermedades que afecta este cultivo es el cancro del tallo, causado por *Diaporthe caulivora*. En este estudio se compararon dos cultivares de soja contrastantes, Williams (susceptible) y Génesis 5601 (resistente), en respuesta a la infección con *D. caulivora*. La enfermedad se desarrolla en ambos cultivares, observándose mayor largo de las lesiones y biomasa del patógeno en el cultivar Williams. Mediante análisis transcriptómicos, se observaron diferentes patrones de expresión de genes entre plantas inoculadas respecto a sus controles y también entre cultivares. En condiciones basales Genesis 5601 presenta mayor expresión de genes que codifican receptores involucrados en detectar a los patógenos y genes relacionados con la defensa vegetal. Además, se observó una activación de la respuesta de defensa más rápida en el cultivar resistente, detectándose a tiempos tempranos 1028 genes sobreexpresados en Genesis 5601 y solo 434

genes en Williams. Los patrones de expresión de genes regulados positivamente y el análisis de enriquecimiento de ontología mostraron que en la activación de defensa vegetal juegan un rol importante la percepción del patógeno, la señalización, las vías hormonales, la ruta de los fenilpropanoides y las proteínas relacionadas con la patogenicidad. Los resultados obtenidos constituyen aportes originales sobre este patosistema y brindan información relevante sobre las bases moleculares y la activación de mecanismos de defensa en la interacción soja-*D. caulivora*, los cuales pueden ser utilizados en los programas de mejoramiento de la soja.

Palabras clave: cancro del tallo de la soja, expresión diferencial de genes, genes de defensa vegetal

309

Resultados de la detección molecular del Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) en camarón rosado *Farfantepenaeus paulensis* (crustacea:decapoda: penaeidae) de Laguna de Rocha, Uruguay

Carnales, Daniela¹; Pereira-Gómez, Mariana^{2,3,4}; Fabiano, Elena²; Fabiano, Graciela^{5,6}; Galli, Leonardo⁷

¹Unidad Académica Patología, Biología y Cultivo de Organismos Acuáticos. Facultad de Veterinaria. Universidad de La República

²Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana (BIOGEM), Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE-MEC)

³Laboratorio Evolución Experimental de Virus. Institut Pasteur de Montevideo

⁴Laboratorio de Virología Molecular. Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁵Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA-MGAP). La Paloma, Rocha

⁶Unidad Académica Ciencia y Tecnología de los Productos Pesqueros. Facultad de Veterinaria. Universidad de La República

⁷Consultor Internacional en Patologías de Organismos Acuáticos y Acuicultura

Farfantepenaeus paulensis, es un importante recurso para la pesca artesanal de las lagunas costeras salobres. Estas lagunas pueden oficiar de sitios de transmisión de patógenos virales. El WSSV, es un virus causante de grandes mortandades en granjas camaroneras en el mundo. Es un virus ADN de doble cadena, envuelto, de forma baciliforme, perteneciente a la familia Nimaviridae, género Whispovirus y es de declaración obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). El objetivo fue monitorear la presencia del WSSV en poblaciones naturales de *F. paulensis* del Uruguay. Se tomaron 165 muestras aleatorias de ejemplares juveniles provenientes de las capturas artesanales de la zafra del 2018 en laguna de Rocha. Los ejemplares se trasladaron en conservadoras refrigeradas al laboratorio de la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA), La Paloma, Uruguay. Se tomaron muestras de branquias para los análisis moleculares, las cuales fueron fijadas en alcohol etílico 95%. Las muestras fueron distribuidas en 33 pools, cada uno de ellos con tejido branquial de 5 individuos. Para identificar la presencia de WSSV en las muestras, se realizó una reacción en cadena de la polimerasa de tipo anidada (Nested-PCR) a tiempo final. No se detectó el WSSV en las muestras analizadas. En otros países de la región, se ha encontrado este virus en poblaciones de *P. paulensis* silvestres y de cultivo. La presente investigación podrá servir como antecedente para la implementación de futuros programas de monitoreo y vigilancia sanitaria.

313

Desarrollo de un sensor genéticamente codificado para el monitoreo de 3-mercaptopiruvato, un metabolito vinculado a la señalización por H₂S

Bonilla, Mariana¹; Oddone, Natalia¹; Gutiérrez, María Victoria¹; Comini, Marcelo¹

¹Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomátidos, Institut Pasteur de Montevideo

El sulfuro de hidrógeno (H₂S) es producido endógenamente por muchos organismos, donde cumple varios roles fisiológicos y como molécula señalizadora. Uno de los metabolitos involucrados en su biogénesis es el 3-mercaptopiruvato (3-MP), que es convertido a piruvato y H₂S por 3-mercaptopiruvato azufretransferasas (MSTs).

En este trabajo diseñamos un biosensor redox genéticamente codificado para monitorear al 3-MP en tiempo real, fusionando las MSTs de *Leishmania major* (LmMST) y de *Arabidopsis thaliana* (AtSTR1) a la proteína redox fluorescente reportera roGFP2. La funcionalidad de estos biosensores en células fue evaluada en primer lugar en *Leishmania tarentolae*, tripanosomátido modelo, no patógeno de humanos, que expresa proteínas recombinantes a

altos niveles y alcanza densidades celulares elevadas, haciendo posible caracterizar las líneas reporteras tanto por citometría como por fluorimetría.

Ambos biosensores exhibieron niveles de expresión muy buenos, homogéneos, que no afectaron el crecimiento y que se mantienen en ausencia del antibiótico de selección. Para evaluar la respuesta de las líneas, usamos como primera aproximación el agregado de 3MP en forma exógena en combinación con digitonina para permitir el ingreso del mismo. La línea *LmMST-roGFP2* exhibió una rápida e intensa oxidación del sensor *LmMSTroGFP2* seguida también de una rápida reversión, que refleja su reducción por los sistemas redox intracelulares, mientras que la respuesta de la línea *AtSTR1-roGFP2* fue muy pobre. A futuro, evaluaremos la funcionalidad de estos sensores en especies de *Leishmania* de relevancia biomédica y en líneas celulares derivadas de órganos y tejidos en los cuales se han sugerido roles pato-fisiológicos asociados al metabolismo del H₂S.

Palabras clave: biosensor, azufretransferasa, MST, 3-mercaptopiruvato, *Leishmania tarentolae*

314

Oxidación y sobreoxidación de peroxirredoxina 3 humana por hidroperóxidos de ácidos grasos

Cardozo, Giuliana^{1,2}; **Mastrogiovanni, Mauricio**^{1,2}; **Radi, Rafael**^{1,2}; **Reyes, Aníbal M.**^{1,2,*}; **Trujillo, Madia**^{1,2,*}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República

La peroxirredoxina 3 (Prx3), una peroxidasa mitocondrial basada en tioles, juega un rol fundamental en la reducción de hidroperóxidos de relevancia biológica, tales como peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y peroxinitrito. Una serie de indicios sugiere que Prx3 puede reducir también hidroperóxidos de ácidos grasos (AG-OOHs). Se propuso identificar y caracterizar la actividad peroxidasa de Prx3 sobre AG-OOHs libres o unidos a fosfolípidos. Siguiendo los cambios de fluorescencia intrínseca de Prx3 durante la reacción de oxidación, se determinaron las constantes de velocidad de oxidación de Prx3 por diferentes AG-OOHs en el orden de 10⁷-10⁸ M⁻¹s⁻¹ a pH 7.8 y 12°C. La reacción con AG-OOHs libres provocó también una rápida sobreoxidación de Prx3, con constantes de velocidad en el orden de 10⁵-10⁷ M⁻¹s⁻¹ a pH 7.8 y 12°C. En concordancia con una constante de velocidad mayor para la sobreoxidación de Prx3 por AG-OOHs libres que por H₂O₂, la adición de un equivalente AG-OOH, pero no de H₂O₂, provocó considerable sobreoxidación de Prx3, lo que fue detectado por diferentes metodologías, incluyendo cinética de estado estacionario, western blot y espectrometría de masas. Si bien nuestros resultados son consistentes con una rápida sobreoxidación de Prx3 por AG-OOHs libres, la cantidad de enzima sobreoxidada resultante es menor a la esperada en función de la constante de velocidad determinada. Esta diferencia es interpretada en base a las asimetrías entre los sitios activos de la enzima dodecamérica. En suma, Prx3 es capaz de reducir AG-OOHs, llevando a una rápida oxidación y sobreoxidación de la enzima.

Palabras clave: Peroxirredoxina; Hidroperóxidos de ácidos grasos; Ácido Araquidónico; Cisteína peroxidática; Sobreoxidación

316

Caracterización de la maquinaria traduccional de *Trypanosoma cruzi*

Rivara Espasandín, Martín^{1,2}; **Santiago Radío**^{1,5}; **Smircich, Pablo**^{1,3}; **Sotelo-Silveira, José**^{1,4}

¹Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

²Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Departamento de Biología Celular y Molecular, Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁵Institute of Evolutionary Biology (CSIC-Universitat Pompeu Fabra), 08003, Barcelona, Spain

Trypanosoma cruzi (*T. cruzi*), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, tiene una regulación de la expresión génica principalmente post-transcripcional, observándose diferentes mecanismos modulatorios. Nuestro grupo ha observado que la regulación traduccional es un mecanismo importante durante la metaciclo. Dado que recientemente se ha descrito en otros modelos biológicos que la composición de los ribosomas podría ser variable a nivel proteico y a su vez tendría impacto a nivel regulatorio, nos planteamos como objetivo un estudio detallado de la composición de la maquinaria traduccional de *T. cruzi* en los estadios epimastigota y tripomastigota metacíclico.

En primer lugar, revisamos la anotación de PR y proteínas asociadas al ribosoma de *T. cruzi* mediante el uso de herramientas de alineamiento local de secuencias, así como de bases de datos específicas de tripanosomátidos, con un posterior curado manual mediante búsquedas bibliográficas exhaustivas. Esta re-anotación, incluye el análisis de número de copias, ubicación espacial en el ribosoma, extensiones en extremos terminales, datos de expresión, así como posibles funciones extra-ribosomales, entre otros. Mediante esta aproximación logramos depurar la anotación existente y sistematizar la información.

Por otro lado, logramos aislar fracciones enriquecidas tanto en monosomas como en polisomas en ambos estadios, mediante ultracentrifugación diferencial en gradiente de sacarosa. Estas fracciones serán analizadas mediante espectrometría de masas, con el objetivo de caracterizar la maquinaria traduccional y comparar abundancias relativas de las PR y proteínas asociadas al ribosoma tanto entre diferentes estadios como entre fracciones asociadas a niveles de expresión diferentes (monosomas y polisomas).

Palabras clave: proteínas ribosomales, anotación, maquinaria traduccional, ultracentrifugación diferencial

CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

120

Plasticidad pigmentaria en cianobacterias formadoras de floraciones

Acuña, Victoria¹; Haakonsson, Signe¹; Viera, Franco¹; Aubriot, Luis¹; Bonilla, Sylvia¹.

¹ Grupo de Ecología y Fisiología de Fitoplancton, Sección Limnología, IECA; Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Las cianobacterias son ubicuas en cuerpos de agua tanto continentales como costeros y comúnmente generan eventos de floraciones tóxicas. Un aspecto que les confiere ventajas sobre otros grupos fitoplanctónicos es su diversidad pigmentaria. El contenido de clorofila *a*, carotenoides y ficobilinas varía entre especies y grupos filogenéticos. Además, existe plasticidad pigmentaria como respuesta a cambios en el recurso lumínico que juega un papel directo sobre el crecimiento de los organismos. La comprensión del vínculo entre el contenido pigmentario y tipo de cianobacterias es clave a la hora de desarrollar aplicaciones en el sensoramiento remoto de las poblaciones. Este trabajo tuvo dos objetivos: i) comparar la estructura pigmentaria de cianobacterias filamentosas formadoras de floraciones y ii) evaluar la respuesta pigmentaria y de crecimiento a distintas intensidades de luz en el rango visible. Se calcularon los cocientes carotenoides/cloa obtenidos por análisis de HPLC y los de ficocianina/cloa derivados de la fluorescencia *in vivo*. Se obtuvieron las tasas de crecimiento máximas para cada cepa cultivada en tres intensidades de luz (10, 50 y 100 $\mu\text{moles fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y los espectros de absorción *in vivo* (aph) por espectrofotometría. Se encontraron distintas respuestas en el crecimiento y estructura pigmentaria entre las cepas. Los resultados contribuyen a entender las estrategias de crecimiento y la ocupación de distintos nichos lumínicos. Además, la información obtenida es especialmente relevante en la caracterización de cianobacterias vinculadas a floraciones de gran extensión y en la generación de información para el monitoreo en zonas costeras.

Palabras clave: ecología de cianobacterias, pigmentos, nicho lumínico

150

La intensificación de la agricultura es la principal causa del aumento exponencial de las floraciones de cianobacterias en el río Uruguay

Carla Kruk^{1,2,3}, Ángel Segura², Gervasio Piñeiro^{4,5}, Pablo Baldassini⁴, Laura Pérez-Becoña⁶, Felipe García-Rodríguez^{3,6,7}, Gonzalo Perera², Claudia Piccini³

¹Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Udelar

²Media CURE, Udelar

³Lab. de Ecología Microbiana Acuática, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

⁴LART-IFEVA, Universidad de Buenos Aires, CONICET, Facultad de Agronomía. Buenos Aires. Argentina

⁵Departamento de Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁶Departamento de Geociencias, CURE-Rocha, Ruta 9 intersección Ruta 15, Rocha, Uruguay

⁷Programa de Pós-graduação em Oceanologia, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, Brazil

Las floraciones de cianobacterias tóxicas están aumentando globalmente en frecuencia e intensidad con efectos negativos en los ecosistemas acuáticos, el uso del agua y la salud humana. Sus principales causas son la eutrofización, la construcción de embalses y las aguas residuales urbanas, así como también la remoción de la vegetación nativa por cultivos, y el cambio y la variabilidad climática. Aquí, realizamos un análisis histórico de los cambios en la abundancia de cianobacterias en el río Uruguay, un gran sistema hídrico clave de América del Sur (ca. 1900 km de largo, 365 000 km² de cuenca). Evaluamos las relaciones entre la abundancia de cianobacterias y los cambios en usos del suelo, el caudal de los ríos, la temperatura y la precipitación desde 1961 hasta el presente. Nuestros resultados muestran un aumento exponencial en la abundancia de cianobacterias durante las últimas seis décadas. Un cambio abrupto en la tasa de aumento a partir del 2000 alcanzando niveles por encima de los niveles de alerta de salud pública desde 2010. Análisis de vías mostraron una fuerte relación positiva entre la abundancia de cianobacterias y el aumento en el área de cultivos en toda la cuenca de drenaje, mientras que la precipitación, la temperatura y el flujo de agua no tuvieron efectos directos. Las proyecciones actuales para cuenca incluyen un aumento continuo en las prácticas agroindustriales intensivas, el aumento de embalses para riego y energía, y aumento de la forestación con especies exóticas. Estas prácticas ya están teniendo graves efectos tanto en los ecosistemas acuáticos como en la salud humana y las proyecciones sugieren que estas tendencias se intensificarán en el futuro. Para evitar mayores riesgos a la salud de las generaciones futuras, se requerirá un cambio a escala nacional y transnacional en las prácticas agrícolas y su sustitución por prácticas agroecológicas.

Palabras clave: floraciones de cianobacterias, usos de suelo, agroindustria, temperatura, precipitaciones, caudales, riesgo a la salud

161

Análisis de comunidades de cianobacterias y microorganismos asociados al sedimento mediante secuenciación del gen 16S ARNr y qPCR en el embalse rincón del bonete

Federici María Teresa¹; Rigamonti, Natalia², Graciela Ferrari²; Rovira, Pablo³; Torres, Pablo⁴; Guerra, Sofía^{1,2}; Simón, Claudia⁵; Ciganda, Verónica⁵

¹Área Recursos Naturales, Producción y Ambiente. Estación Experimental INIA Las Brujas, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

²Departamento de Aguas y Evaluación del Impacto Ambiental. Laboratorios Tecnológicos del Uruguay-LATU

³Sección Bioinsumos. Estación Experimental INIA Las Brujas, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

⁴Programa Carne y Lana. Estación Experimental INIA Treinta y Tres. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

⁵Área Recursos Naturales, Producción y Ambiente. Estación Experimental INIA La Estanzuela, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Las cianobacterias pueden producir cianotoxinas altamente tóxicas para la salud humana y animal. Si bien éstas se asocian al período estival, en los últimos años en Uruguay se han registrado durante todo el año, especialmente en cuerpos de agua lénticos como lagunas, tajamares y embalses. Muchas especies pueden mantener colonias o formas de resistencia asociadas al sedimento, por lo que en este trabajo nos planteamos el estudio de dichas poblaciones en el embalse Rincón del Bonete, mediante la secuenciación del gen 16S ARNr y de la detección de los genes de las principales toxinas por qPCR. En el marco del Proyecto INIA-LATU "Desarrollo y Aplicación de nuevas herramientas moleculares y espectrales para el estudio de las comunidades de cianobacterias en aguas continentales: estudio de caso Embalse Rincón del Bonete", se tomaron muestras de sedimento en 4 sitios con distintos usos de suelo predominantes: forestal, agrícola y ganadero sobre campo natural, y un monte nativo. A partir de éstas se extrajo el ADN utilizando el kit *DNAeasy PowerSoil* para la secuenciación del gen 16S ARNr; así como para la detección de cianobacterias totales (gen 16S ARNr) y genes de microcistinas (*mycE/ndaF*), saxitoxinas (*sxtA*) y cilindrospermopsina (*cyrA*) con el kit *CyanoDect*. Las secuencias correspondientes al filo cianobacterias representaron 0,51%, 0,39%, 1,31% y 1,75% de los microbiomas del sitio agrícola, campo natural, sitio forestal y monte nativo, respectivamente. Asimismo, se lograron detectar y cuantificar exitosamente los genes 16S ARNr, *sxtA* y *cyrA*, indicando la persistencia de ADN o células en el sedimento.

Palabras clave: cianobacterias, secuenciación, gen 16S ARNr, qPCR

200

Variaciones estacionales sobre la diversidad microbiana en lagos de la Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártida marítima

Bertoglio, Florencia^{1,2}; Piccini, Claudia¹; Urrutia, Roberto³; Antoniadés, Dermot²

¹Laboratorio de Ecología Microbiana Acuática, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay

²Geography Department & Centre for Northern Studies (CEN), Université Laval, Quebec, Canada

³Facultad de Ciencias Ambientales / Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Chile

Las extremas condiciones de oligotrofia que caracterizan a la mayoría de los lagos antárticos implican que sean sistemas muy susceptibles a los cambios ambientales y es esperable que las comunidades bacterianas respondan rápidamente a los mismos.

La Península Fildes (Isla Rey Jorge, Península Antártica) se encuentra en una región con alta actividad humana asociada a las bases científicas y con una gran influencia del cambio climático. En este trabajo se analizó la diversidad de las comunidades del bacterioplancton en siete lagos de la Península Fildes, evaluando su variabilidad estacional. Para esto, se tomaron muestras de agua superficial en primavera y otoño (lagos cubiertos de hielo vs. lagos sin hielo), se midieron variables ambientales y se analizó la estructura comunitaria del bacterioplancton (secuenciación del gen ARNr 16S). Se observó que la estación del año fue la mayor forzante de la estructura comunitaria. Se identificaron bacterias indicadoras para cada estación, incluyendo *Flavobacterium*, *Polaromonas* y Oxalobacteraceae en primavera, cuando los lagos presentaban una gruesa capa de hielo, mientras que Frankiales y Verrucomicrobia fueron especies indicadoras de otoño, cuando los lagos se encontraban libres de hielo. Las especies indicadoras de primavera reflejaron condiciones de mayor oligotrofia, mientras que las de otoño indicaron escorrentía desde la cuenca dado que varias de estas especies son comunes en el suelo. Temporadas de deshielo más largas como se han venido dando en la región, podría por lo tanto afectar al bacterioplancton y repercutir en las funciones ecosistémicas que llevan a cabo.

Palabras clave: Bacterioplancton, Diversidad bacteriana, Antártida Marítima

202

La salinidad determina la diversidad del zooplancton en costas del Río de la Plata

Carballo, Carmela¹; Haakonson, Signe¹; Arocena, Rafael¹; Maciel, Fernanda²; Pedocchi, Francisco²; Bonilla, Sylvia¹

¹Sección Limnología, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay

²Instituto de Mecánica de los Fluidos e Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Av. Julio Herrera y Reissig 565, 11300, Montevideo, Uruguay

Los estuarios son ambientes sometidos a una alta variabilidad espacio-temporal, la cual determina la estructura de las comunidades planctónicas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la dinámica del mesozooplancton y sus relaciones con las condiciones ambientales en una zona costera y mixohalina del Río de la Plata, Uruguay. Se seleccionaron dos sitios a 500 m de la costa en Punta del Tigre, San José. Se realizaron muestreos bimensuales (primavera y verano) y trimestrales (otoño e invierno), desde noviembre de 2014 a julio de 2019 (n=32). El área de estudio fue poco profunda (<4 m), oligohalina y mesoeutrófica. Presentó variaciones marcadas de conductividad y temperatura a lo largo del tiempo. Se observaron períodos relativamente largos de conductividad muy baja alternados con altas conductividades por períodos de corto tiempo. Se identificaron 68 taxa de zooplancton, 3 pertenecientes a la Subclase Copepoda, 16 al Suborden Cladocera, 46 al Filo Rotifera, 3 al meroplancton (organismos transitoriamente planctónicos) y 1 perteneciente al grupo "otros". La ocurrencia de especies registradas con biomasa $\geq 5\%$ del total respondió a las variaciones en conductividad, con mayor dominancia y riqueza de rotíferos en condiciones de baja conductividad. La comunidad zooplanctónica mostró diferencias en su biomasa entre todos los muestreos. Los cambios registrados en la conductividad y la temperatura fueron variables claves para explicar las diferencias de la biomasa de los grandes grupos y la diversidad de la comunidad zooplanctónica.

Palabras clave: copépodos, rotíferos, estuario

217

Moluscos de la costa rocosa uruguaya: primera caracterización morfológica y morfométrica de *Lottia subrugosa* (gastropoda)

Bravo, Francisco; Santos, Leandro; Silveira Angela; Ponce de León, Rodrigo; Volonterio, Odile
 Sección Zoología de Invertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

La biodiversidad global está siendo afectada negativamente. El cambio climático ha dado lugar a la mayor tasa de calentamiento global del último milenio y a sequías, derretimiento de los casquetes polares e inundaciones. Una herramienta para evidenciar esto, en los hábitats costeros, son organismos marinos como las lapas, cuya utilidad radica en su escaso movimiento. Los cambios ambientales las afectan al punto de expresarse fenotípicamente en su conchilla. En la bibliografía regional hay escasos estudios con esta fauna. Para generar conocimiento preliminar que sirva de base para futuras comparaciones se planteó realizar un estudio morfológico y morfométrico de *Lottia subrugosa* (d'Orbigny, 1846). Se colectaron manualmente al azar 20 individuos en Cerro del Rivero, Rocha; se conservaron en frío para procesarlos en el laboratorio, donde aún vivos se les tomaron medidas de peso (balanza digital). Una vez removido el tejido blando se tomó también peso seco. Luego largo, alto, y ancho (calibre digital). Cada conchilla se fotografió y su forma fue analizada con el software *tpsDig*. La población presentó tamaños medios de 12,0mm, 9,6mm y 4,6mm para largo, ancho y alto respectivamente, resultando su talla mucho menor que las de Brasil. Las correlaciones de ancho y alto con el largo de la conchilla son lineales ($R^2=0.9582$ y 0.8255) mientras que con el peso es exponencial ($R^2=0.8861$). Para la vista lateral, el componente principal 1 explica 40% de la varianza, el 2, 30% y el 3, 10%. Para la vista dorsal, el 1 explica 30%, el 2, 20% y el 3, 10%.

Palabras clave: Moluscos, costa, Uruguay, morfología, morfometría

218

Estudio comparativo de las variaciones morfológicas, morfométricas y cromáticas de *parochlus steinenii* (díptera), de humedales próximos al glaciar Collins (Península Fildes) en la Isla Rey Jorge (Shetland del Sur, Antártida marítima)

Silveira, Angela; Bravo, Francisco; Santos, Leandro; Ponce de León, Rodrigo; Volonterio, Odile
 Sección Zoología de Invertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En la Antártida marítima habitan cuatro especies de insectos dípteros: las nativas, *Parochlus steinenii* y *Belgica antarctica* y las bioinvasoras, *Eretmoptera murphyi* y *Trichocera maculipennis*. Los datos poblacionales evidencian que los adultos de *P. steinenii* muestran variación morfométrica intra- e interpoblacional asociada a la ubicación geográfica. Dichos datos fueron evidenciados en 1985 por Edward & Usher, quienes estudiaron dos poblaciones de *P. steinenii* de dos islas cercanas, que se encuentran separadas solo por 120 Km de distancia (isla Ardley e isla Livingston, Shetlands del Sur). Se ha postulado que esta variación sería consecuencia del aislamiento geográfico en condiciones climáticas adversas. El presente trabajo tuvo como objetivo general evaluar la existencia de variaciones morfológicas, morfométricas y cromáticas de machos y hembras de *P. steinenii* a distancias menores a las previamente estudiadas. Los especímenes fueron colectados en enero de 2019 con trampas de caída en un transecto paralelo al glaciar Collins en la Península Fildes, Isla Rey Jorge. Se obtuvieron 1098 individuos de *P. steinenii* (♀ 752; ♂ 346). En general, los resultados hallados en cuanto a la variabilidad cromática, morfológica y morfométrica se encuentran dentro de lo reportado para la especie, y no se hallaron diferencias significativas entre las dos poblaciones estudiadas, separadas por sólo 2 km. Se confirma entonces que aún en condiciones extremas *Parochlus steinenii* evidencia una variabilidad similar a la de otras especies de Chironomidae. Este aspecto debe tenerse en cuenta cuando se plantea considerar a esta especie como indicadora de cambio climático en la Antártida.

Palabras clave: Cambio climático global, Dípteros antárticos, Isla Rey Jorge, *Parochlus steinenii*, Variabilidad

ECOLOGÍA

116

Nicho poblacional como propiedad emergente: ¿Existen individuos claves?

Garrido, Federico^{1,2}; Costa-Pereira, Raul³; Naya, Daniel²; Franco-Trecu, Valentina²

¹Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA)

²Departamento de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³ *Departamento de Biología Animal, Instituto de Biología, Universidad Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brasil*

Los isótopos estables de C y N permiten estimar la amplitud del nicho total (TNW) bidimensionalmente, representando la diversidad de recursos consumidos. La varianza interindividual (BIC) incorpora las distancias entre los individuos, mientras que la varianza intraindividual (WIC) considera el rango de recursos de cada individuo. El TNW emerge de la suma de ambos componentes de varianza. Nuestro objetivo fue evaluar la existencia de un impacto diferencial en el TNW entre los individuos de la población. Fueron utilizados los valores isotópicos de vibrisas de dos especies de pinnípedos, *Otaria flavescens* (n=18) y *Arctocephalus australis* (n=20). El TNW fue estimado por medio de GLMMs y el impacto de cada individuo fue calculado como la diferencia entre el TNW al remover el individuo y el TNW con todos los individuos. Se estimaron tres propiedades del nicho individual en relación al poblacional: el tamaño, la ubicación (central o periférica) y (iii) orientación. El impacto del individuo en el TNW en función de las propiedades de su nicho fue evaluado con GLM. Encontramos 26 individuos que generan la expansión del TNW y solo 12 que generan su contracción. Sin embargo, apenas 8 individuos presentaron un impacto desproporcional con relación al resto de los individuos. Además, se encontró que, tanto los individuos de *O. flavescens* con áreas grandes, ya sea centrales como periféricas producen el mayor impacto, provocando la expansión y contracción de TNW, respectivamente ($p=0,02$). Nuestros resultados destacan la importancia de considerar la heterogeneidad individual como mecanismo estructurador del nicho trófico poblacional.

Palabras clave: nicho trófico; variación intra e interindividual; isótopos estables

133

Hábitos alimenticios y especialización trófica en hembras adultas del león marino sudamericano (*Otaria flavescens*)
Yaffé, Lucía¹; Vales, Damián²; Crespo, Enrique²; Franco-Trecu, Valentina¹

¹*Departamento de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (UdelaR), Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay*

²*Laboratorio de Mamíferos Marinos, Centro Nacional Patagónico (CENPAT), CONICET, Blvd Brown 2915, 9120 Puerto Madryn, Chubut, Argentina*

La especialización trófica individual (ITS) refiere a la diversificación en el uso de los recursos entre los individuos de una población, y es frecuente en poblaciones naturales, pudiendo afectar numerosos procesos ecológicos y evolutivos. Si bien en la población argentina de *Otaria flavescens* se han realizado numerosas investigaciones sobre los hábitos alimenticios de las hembras, los mismos siempre han sido inferidos a partir de tejidos de sus crías. Por otro lado, se desconoce el grado de ITS que presentan las hembras de esta población. El uso de vibrisas, tejidos inertes de crecimiento continuo, nos permite estimar el grado de ITS, a partir de los valores repetidos, que representan información de los hábitos tróficos de cada individuo en un período de 2 a 3 años. En este contexto, nuestro objetivo fue estimar el grado de ITS en las hembras del león marino sudamericano en Isla Arce, Chubut, Argentina. Para ello realizamos el análisis de isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en vibrisas de 12 hembras. A nivel poblacional, el rango de $\delta^{13}\text{C}$ fue mayor (2,64) que el rango de $\delta^{15}\text{N}$ (2,43), sugiriendo que la diversidad trófica podría asociarse mayormente al hábitat de forrajeo. Sin embargo, las estimaciones de ITS (paquete RInSp) indican un grado moderado-alto para el $\delta^{15}\text{N}$ (0,65), y bajo para el $\delta^{13}\text{C}$ (0,31). El aporte de cada hembra al nicho isotópico poblacional (RINI-SIBER) varió entre 0,21 y 0,74% (media=0,39). A diferencia de otras poblaciones, nuestros resultados indican que esta población estaría compuesta por hembras altamente especializadas, mientras otras muestran hábitos generalistas.

Palabras clave: especialización trófica individual; isótopos estables

189

Caracterización del metabolismo y crecimiento del caracol manzana *Pomacea* spp. (Perry, 1810) en función de la temperatura

Féola, Florencia¹; Crisci, Carolina¹; Gómez, Julio¹; Segura, Angel¹

¹*Centro Universitario Regional del Este (Cure, Rocha)*

La agro-industria basada en insumos causa impactos en la región, afectando ecosistemas acuáticos que reciben parte de las sustancias aplicadas. Entonces, es relevante conocer los efectos en los organismos para monitorear y tomar medidas de gestión. Para evaluar estos efectos se emplean especies nativas (bioindicadoras); previamente es necesario conocer sus respuestas en condiciones controladas. *Pomacea* spp. es un organismo nativo ampliamente

utilizado como bioindicador. Pero son escasas las caracterizaciones de su metabolismo y sus respuestas funcionales a la temperatura. Fueron realizados dos ensayos: i) respuestas metabólicas a diferentes temperaturas donde seis ejemplares por tratamiento fueron expuestos a 6, 12, 18, 24 y 30°C. Fueron registrados: Consumo de oxígeno (mgO₂/g.h; CO), Tasa de Excreción de Amonio (µgNH₄/g.d; TEA) y Tasa de Ingestión (mg/g.d; TI). ii) crecimiento anual: 21 caracoles fueron mantenidos a temperatura ambiente (TA) y 21 en condiciones de laboratorio (TL) por 390 días. Se registró individualmente el crecimiento en masa y la TI. Se ajustaron modelos estadísticos en R. En i), CO (0-0.07mg/g) y TEA (05.90µgNH₄/g.d) aumentaron gradualmente hasta 22 y 27°C respectivamente, disminuyendo posteriormente. La TI (3.07-776.7 mg/g.d.) aumentó con la temperatura hasta los 30°C. En ii), TA presentó mayor variabilidad (15.94 ±6.33) que TL (16.35± 2.3°C). El modelo von Bertalanffy fue ajustado al crecimiento y la TI aumentó con la temperatura, siendo mayor en TA. Se evidenció un efecto de la temperatura, con óptimos caracterizados. Los resultados obtenidos pueden considerarse para el mantenimiento en cautiverio de *Pomacea* spp., ensayos biológicos y conocer su estado en el ambiente.

Palabras clave: bioindicador, temperatura, metabolismo

GENÉTICA

009

Búsqueda de marcadores epigenéticos con valor pronóstico en leucemia mieloblástica aguda

Cappetta Mónica¹; **Pereyra Silvana**¹; **Dell'Oca Nicolás**¹; **Salvarrey Florencia**¹; **Neumann Rita**²; **May Celia**²; **Elizondo Victoria**^{3,4}, **Manrique Gonzalo**^{3,4}, **Pérez Verónica**³, **Bertoni Bernardo**¹; **Zubillaga María Noel**^{3,4}

¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Department of Genetics, College of Medicine, University of Leicester, UK

³Laboratorio de Biología Molecular, Asociación Española Primera en Salud

⁴Laboratorio de Biología Molecular, Médica Uruguaya Corporación de Asistencia Médica (MUCAM)

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) es la leucemia aguda más frecuente en adultos mayores. Estudios genómicos identificaron nuevas variantes somáticas epigenéticas y genéticas en genes candidatos recurrentes en pacientes LMA con importancia clínica y terapéutica. En Uruguay, el pronóstico clínico se basa en marcadores citológicos, citogenéticos y moleculares. Sin embargo, algunos pacientes presentan cariotipo normal al diagnóstico sin otros marcadores, dificultando predecir su evolución. Buscando describir nuevos biomarcadores en pacientes LMA de Uruguay, analizamos la metilación en promotores de 13 genes candidatos en 37 muestras de médula/sangre de pacientes al debut de la enfermedad y 3 controles sanos. Los promotores fueron amplificados a partir de ADN tratado con bisulfito y secuenciados utilizando MinIONNanopore. Se diseñó un *pipeline* bioinformático para determinar el estado de metilación de cada CpG en las regiones estudiadas. Detectamos regiones hipermetiladas en los promotores de *DNMT3A*, *IDH1*, *FLT3* y *JAK3* en pacientes LMA en comparación con controles. También describimos en los promotores de *TP53*, *NRAS*, *WT1*, *ASXL1* y *SH2B3* sitios CpG específicos diferencialmente metilados en pacientes LMA (Wilcoxon test, p<0,05). Más interesante aún, detectamos sitios CpG específicos hipermetilados en los promotores de *FLT3*, *DNMT3A*, *IDH1*, *TP53*, *JAK3* y *NRAS* en pacientes con una manifestación extremadamente aguda de la enfermedad en comparación con el resto de los pacientes (p<0,05). Presentamos el primer estudio epigenético en pacientes uruguayos con LMA. Estos resultados serán validados en muestreo mayor y analizados junto con datos clínicos/paraclínicos, con el fin de estudiar su relevancia y aporte a la evaluación clínica personalizada del paciente.

Palabras clave: leucemia, metilación del ADN, marcadores, promotores

048

Análisis de metilación de promotores en genes candidatos de parto prematuro severo

Pereyra, Silvana¹; **Sardina, Angela**¹; **Neumann, Rita**²; **May, Celia**²; **Bertoni, Bernardo**¹; **Sapiro, Rossana**³; **Cappetta, Mónica**¹

¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Department of Genetics, College of Medicine, University of Leicester, UK

³Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

El parto prematuro (PPT), definido como el parto antes de las 37 semanas de gestación, constituye un síndrome multifactorial complejo, de etiología incierta. Por lo tanto, es clave desarrollar enfoques que integren datos genéticos,

transcriptómicos, epigenéticos y epidemiológicos, para identificar biomarcadores que permitan avanzar en la medicina traslacional

Aquí, estudiamos los niveles de metilación de promotores génicos en genes candidatos para PPT severo, seleccionados por encontrarse expresados diferencialmente en PPT severos en una población uruguaya. Hipotetizamos que los cambios de expresión observados puedan correlacionarse con cambios epigenéticos.

Analizamos el ADN de tejido corioamniótico de 6 PPT severos y 4 partos a término. El ADN genómico se trató con bisulfito de sodio y se amplificaron 13 promotores de genes candidatos, para hacer una secuenciación dirigida (MinION, Oxford Nanopore) usando un kit de Barcoding. Las lecturas filtradas se alinearon al genoma de referencia humano (hg38) usando Bismark con parámetros personalizados, y se obtuvo su estado de metilación. Detectamos regiones hipometiladas en PPT severos en comparación con los controles. Encontramos metilación diferencial en promotores entre pacientes y controles en los genes *NRN1* y *MAMDC2* (test de Wilcoxon, $p < 0,05$). También estudiamos la correlación entre los niveles de metilación de sus promotores y su expresión diferencial en estos grupos.

En suma, describimos un pipeline bioinformático útil para evaluar el estado de metilación en cualquier enfermedad genética compleja. Además, reportamos el primer análisis epigenético en PPT en una población uruguaya, encontrando genes diferencialmente expresados que tienen metilación diferencial en sus promotores.

Palabras clave: parto prematuro, metilación del ADN, epigenética, nanopore, MinION

083

Análisis comparativo de “repeatoma” en especies crípticas de *Rhodnius ecuadorensis*

Matto-Cardell, Belén¹; Panzera, Francisco¹; Pita, Sebastián¹

¹ Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Udelar

Rhodnius ecuadoriensis es una especie de triatomino (Hemiptera: Reduviidae) hematófago con gran importancia sanitaria en Ecuador y Perú. Como todas las especies de triatominos, es capaz de transmitir el parásito *Trypanosoma cruzi* causando la enfermedad de Chagas. Trabajos recientes proponen la existencia de al menos dos especies crípticas ya que poblaciones de *R. ecuadorensis* pueden ser reconocidas por su diferente distribución geográfica, morfología y citogenética. Se identificaron dos grupos: silvestres en Ecuador vinculados a palmeras de tagua (*Phytelephas aequatorialis*), y asociadas al peridomicilio en Perú. A nivel citogenético, las diferencias entre ambos grupos radica en la localización del cluster ribosomal 45S. Ante esta problemática nos propusimos continuar con el análisis de secuencias repetidas y su distribución en el genoma. En esta oportunidad se analizó a cada grupo a nivel genómico comparando la totalidad de secuencias repetidas de sus genomas (“repeatoma”), para así determinar los principales cambios ocurridos durante este proceso de diferenciación. Los análisis fueron realizados con diversos programas bioinformáticos, como RepeatExplorer utilizando lecturas de NGS. Los resultados obtenidos indican que ambos genomas son muy similares a nivel de composición de secuencias repetidas. La fracción más abundante en ambos genomas se corresponde a ADN satélite (ADNsat), identificándose las mismas familias. Sin embargo, observamos una considerable diferencia en la cantidad de algunas de estas familias identificadas. Las consecuencias estructurales que estos cambios puedan causar en estos genomas restan por ser dilucidadas, así como su rol en la diferenciación de ambos grupos.

Palabras clave: *Rhodnius ecuadoriensis*, polimorfismos de ADNsat, especies crípticas, genética de poblaciones

121

Estudios farmacogenéticos para comprender la metabolización del antipsicótico clozapina en pacientes con esquizofrenia resistente del Hospital Vilardebó

Menéndez, Clara¹; Blanco, Valentina²; Gaiero, Camila¹; Guevara, Natalia³; Acuña, Sabrina³; Maldonado, Cecilia³; Vázquez, Marta³; Mato, Mauricio⁴; Mañana, Adriana^{4,5}; Piriz, Norma⁴; Ricciardi, Carina⁴; Toledo, Mauricio⁶; Cayota, Alfonso^{2,7}; Badano, José Luis¹; Spangenberg, Lucía^{7,8}; Olmos, Ismael⁴; Cardenas-Rodriguez, Magdalena¹

¹Laboratorio de Genética Molecular Humana-Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Genómica Funcional-Institut Pasteur de Montevideo

³Departamento de Ciencias Farmacéuticas Facultad de Química/Universidad de la República

⁴Unidad de Farmacología Clínica-Hospital Vilardebó/Administración de los Servicios de Salud del Estado

⁵Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Vilardebó/ Administración de los Servicios de Salud del Estado

⁶Instituto Universitario CLAEH-Facultad de Medicina

⁷Departamento Básico de Medicina-Hospital de Clínicas/Facultad de Medicina/Universidad de la República

⁸Unidad de Bioinformática-Institut Pasteur de Montevideo

La esquizofrenia es una psicosis crónica heterogénea que se estima afecta a más de 30.000 personas en nuestro país. Existen antipsicóticos efectivos para su tratamiento, sin embargo, 30% de los pacientes no responden adecuadamente, es decir son resistentes al tratamiento. La clozapina (CZP) es un antipsicótico atípico, que presenta una efectividad superior para la esquizofrenia resistente. Debido a sus efectos adversos, su uso requiere de un monitoreo constante de los pacientes. Se metaboliza por las enzimas CYP1A2, CYP3A4, CYP2C19 y CYP2D6, y existe una asociación entre la respuesta al tratamiento y las variantes alélicas de estos genes. En nuestro país no se realizan estudios genéticos para complementar el tratamiento con CZP, por lo que se vuelve relevante conocer el perfil metabolizador de los pacientes para poder realizar ajustes precisos de las dosis. En este proyecto nos proponemos analizar las variantes alélicas de una cohorte de pacientes con esquizofrenia resistente y correlacionarlo con los niveles plasmáticos de CZP y su respuesta al tratamiento. Para esto, desarrollamos un protocolo de secuenciación de los genes *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2C19* y *CYP2D6*, por medio de *next-generation sequencing* (NGS) utilizando sondas diseñadas para las regiones genómicas de interés (Illumina). Nuestro panel de sondas permite analizar las regiones exónicas e intrónicas que presentan polimorfismos relevantes para la metabolización de CZP. A su vez, el protocolo permite optimizar recursos a través de la construcción de librerías de *pools* de pacientes. En suma, nuestro proyecto aportará a la optimización del uso de la CZP incorporando la genética del paciente.

Palabras clave: farmacogenómica, esquizofrenia, clozapina

143

Modificación de la señalización extracelular de astrocitos con daño genético inducido por etanol y corticosterona

Reyes-Ábalos Ana Laura^{1,3}; **Olivera Bravo Silvia**²; **Álvarez-Zabaleta Magdalena**¹; **Di Tomaso María Vittoria**¹

¹Depto. de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable-MEC

²Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable-MEC

³Unidad de Microscopía Electrónica de Barrido, Facultad de Ciencias-UdelaR

La liberación de vesículas extracelulares (VEs) y de su carga bioactiva al espacio extracelular es una forma de comunicación célula-célula que contribuye a la homeostasis celular, regula procesos fisiológicos y el desarrollo y la progresión de diversas enfermedades. En el sistema nervioso central, los astrocitos brindan soporte homeostático a las neuronas y realizan parte de sus funciones mediante VEs. Dependiendo del contexto funcional, los astrocitos liberan señales asociadas a neuroprotección o al daño neural. Sin embargo, se conoce poco como el daño al ADN astrocitario influye sobre la comunicación mediada por VE. Para evaluar este punto, analizamos la morfología y la cantidad de VE en cultivos de astrocitos hipocampales de ratas normales en condiciones controles o inductoras de daño genético [etanol (EtOH) 400 mM, corticosterona (CTS) 1 µg/mL, EtOH+CTS, 1 hora]. El análisis mediante microscopía electrónica de barrido mostró VEs con diversa morfología y tamaño, localizadas sobre el soma o sus prolongaciones, que frecuentemente contactaban o se extendían sobre astrocitos vecinos. Las formas más complejas, los tamaños mayores, así como la densidad más alta de VEs, predominaron en astrocitos con alteraciones en el ADN, sugiriendo que el daño genético desencadenaría una respuesta celular que incluye la señalización intercelular mediada por VEs. Por lo tanto, la respuesta celular al daño agudo al ADN es compleja y parece exceder los mecanismos nucleares de respuesta, pudiendo existir mecanismos adicionales que repercuten sobre la célula dañada y sobre su comunicación con las demás células neurales.

Palabras clave: vesículas extracelulares, astrocitos, daño genético inducido, etanol, corticosterona

153

Evaluación de la resistencia a marchitez bacteriana en germoplasma avanzado de Papa (*Solanum tuberosum*)

Viera, Luciana¹; **Alcoba, Florencia**²; **González-Barrios, Pablo**³; **Rodríguez, Gustavo**⁴; **González-Arcos, Matías**⁵; **Ferreira, Virginia**²; **Galván, Guillermo**³; **Siri, María Inés**²; **Gaiero, Paola**³; **Vilaró, Francisco**^{1,3}

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de la Empresa

²Facultad de Química, Universidad de la República

³Facultad de Agronomía, Universidad de la República

⁴INIA Las Brujas

⁵INIA Salto Grande

Una de las principales enfermedades que afecta al cultivo de la papa es la marchitez bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*. Las variedades comerciales no cuentan con niveles considerables de resistencia a este patógeno. Una potencial fuente de resistencia son los parientes silvestres de la papa distribuidos en Uruguay. La especie *Solanum commersonii* se ha incorporado al Programa nacional de mejoramiento, generando germoplasma avanzado por hibridación y retrocruzas. Con este trabajo se busca caracterizar la resistencia a marchitez bacteriana en germoplasma seleccionado del Programa nacional de papa y otros materiales promisorios de diverso origen. Se utilizaron dos métodos de evaluación de resistencia; inoculación de las plantas crecidas en cámara de crecimiento y en macrotúnel. Para ambos ensayos se utilizó un diseño en bloques completos al azar. Se realizó un seguimiento periódico de síntomas mediante apreciación visual en planta y evaluación de tubérculos asintomáticos mediante BIO-multiplex PCR, para detectar latencia. Se observó que los clones evaluados presentaron diferentes niveles de resistencia a la infección y todos presentaron latencia. Se realizó un análisis de varianza de los valores de AUDPC de cada ensayo y se estudió la correlación de los dos métodos utilizando el coeficiente de Spearman. Dadas las dificultades de control del patógeno, los materiales resistentes identificados tienen gran potencial dentro de una estrategia de control integrado o para utilizar en cruzamientos que complementen además con resistencia a otras enfermedades importantes como tizón tardío o sarna común.

Palabras clave: *Ralstonia solanacearum*; parientes silvestres de la papa; introgresión; retrocruza; muchera

157

Análisis de variantes de número de copias en cáncer de mama esporádico en el Uruguay

Brignoni, Lucía^{1,2}; Cappetta, Mónica¹; Artagaveytia, Nora²; Bertoni, Bernardo¹

¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El cáncer de mama es un grave problema de salud mundial. En Uruguay 1.800 mujeres son diagnosticadas y 600 fallecen por esta enfermedad anualmente. El cáncer de mama esporádico representa entre 90-95% del total y las mutaciones puntuales no explican su desarrollo. Las variantes de número de copias (CNVs) presentan gran diversidad entre individuos y poblaciones; y su asociación con enfermedades complejas es cada vez más relevante. Aún no se han descrito CNVs asociados a cáncer de mama en Uruguay. El riesgo de padecer esta enfermedad varía entre poblaciones. La población uruguaya es única en términos de mestizaje imposibilitando extrapolar resultados obtenidos en poblaciones europeas o latinoamericanas, haciendo necesario determinar biomarcadores de riesgo propios de nuestra población. Con este objetivo, realizamos un análisis bioinformático de CNVs a partir de datos de metilación sitio-específica obtenidos por microarray en muestras de ADN de sangre periférica de 24 mujeres con cáncer de mama esporádico y 13 controles sanas. Detectamos 3 CNVs diferenciales entre pacientes y controles (FDR < 0.05) ubicados en las regiones 6p21.31, 10p12.31 y 10q26.13. Estos CNVs los estamos validando mediante qPCR en un muestreo mayor. Habiendo analizado hasta el momento 45 pacientes y 45 controles de las 200 muestras objetivo, no observamos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos para ningún CNV. Si bien estos resultados son preliminares nos abren nuevas posibilidades de aportar al estado del conocimiento sobre la relevancia de este tipo de variantes en el desarrollo del cáncer de mama esporádico en el Uruguay.

Palabras clave: cáncer de mama esporádico, variantes de número de copia, biomarcadores

160

Genome-wide association mapping in a nested population representative of elite breeding in Uruguay

Verocai, Maximiliano¹; Baraibar, Silvina²; Cammarota, Lorena³; Cardozo, Fernanda⁴; Germán, Silvia²; Gutiérrez, Lucía⁵; Locatelli, Andrés⁶; Pardo, Fernanda⁷; Castro, Ariel¹

¹Departamento de Producción Vegetal, Estación Experimental "Dr. Mario A. Cassinoni", Facultad de Agronomía, Universidad de La República, Ruta 3 Km.363, Paysandú, Uruguay

²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental La Estanzuela, Ruta 50, Km11, Colonia, Uruguay

³Latitud, LATU Foundation, Av Italia 6201, Montevideo 11500, Uruguay

⁴Maltería Uruguay S.A. Ruta 55, Km26, Ombúes de Lavalle, Uruguay

⁵Department of Agronomy, University of Wisconsin, 1575 Linden Dr., Madison, WI, USA

⁶Polo Agroalimentario e Industrial, Centro Universitario de Paysandú, Universidad de la República, Ruta 3, km 363, Paysandú, Uruguay

⁷Maltería Oriental S.A., Camino Abrevadero 5525, Montevideo 12400, Uruguay

Uruguayan Barley production has a strong dependence on modern European germplasm which combines high grain yield potential and excellent malting quality, even though it has limited adaptation to non-optimum environments due to its late flowering and reduced photoperiod sensitivity. Previous genomic studies in Uruguay have focused in relevant traits, but none have worked with germplasm representative of the national breeding programs. Thus, our goal was to identify chromosome regions associated with yield and phenological traits in germplasm representative of the crosses used in local breeding programs. We used a population of double haploid lines obtained from crosses between modern European cultivars and local well-adapted germplasm. The phenotypic data base was obtained by measuring ten phenological and eight agronomic traits during four consecutive years at four locations in Uruguay in normal (optimum) and late (nonoptimum) sowing dates. The population was genotyped with 6340 SNPs covering all chromosomes. We found 6 QTL hotspots localized on chromosomes 1H, 2H, 3H, 6H and 7H. We propose *PPD-H1*, *HvFT2* and *Vrn-H3* genes as candidates for the hotspots located on 2H, 3H and 7H, respectively. The *PPD-H1* region is likely to be the most important in our conditions since it reduces the cycle length in late plantings, with the potential of reducing yield and quality losses in more limiting environments. The population used may allow a more direct utilization of the results in breeding.

Keywords: Barley; Plant breeding; Phenology; Adaptation

165

Predicción de secuencias de inserción en genomas bacterianos utilizando algoritmos de machine learning

Barros, Miguel Angel^{1,2}; Iriarte, Andrés²; Traglia, Germán Matías²

¹Maestría en Data Mining, Universidad De Buenos Aires

²Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Las secuencias de inserción (IS) son elementos genéticos móviles que tienen la capacidad de desplazarse desde una determinada región del genoma hacia otra. La IS es una fuente de variabilidad genética que podrían brindar rasgos adaptivos a distintas especies bacterianas, por ejemplo resistencia antibiótica. Sin embargo, la identificación de las IS presenta dificultades debida a los rasgos genéticos variables entre los distintos tipos existentes.

Objetivo: diseñar un programa basado en algoritmo de aprendizaje automatizado que permita identificar IS sobre diferentes especies de genomas bacterianos.

Materiales y métodos: Se trabajó con un dataset inicial de 8.223 de secuencias aminoacídicas de IS (base de datos: ISFinder) y 8.223 secuencias aminoacídicas de nonIS (base de datos: PDB) que se utilizaron para entrenar el modelo. Se evaluaron 6 clasificadores: Regresión Logística, Support Vector Machines (SVM), Stochastic Gradient Descent (SGD), Xtreme Gradient Boosting (XGBoost), Random Forest y Light Gradient Boosting Machine (LGBM). Para validar el rendimiento del modelo se incluyeron cinco genomas de referencia: *Escherichia coli* K-12, *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18, *Acinetobacter baumannii* AYE, *Staphylococcus aureus* Newman y *Pseudomonas aeruginosa*.

Resultados: El clasificador que obtuvo los mejor fue XGBoost, mediante el cual se obtuvieron valores de 93.98% en Sensitividad, 94.1% en Especificidad y 94% en Accuracy en la etapa de entrenamiento y testing. El análisis mediante BLAST sobre los falsos positivos demostró que XGBoost fue capaz de identificar nuevas IS.

Conclusión: El programa desarrollado nos permitió identificar y clasificar las IS con una alta especificidad e sensibilidad sobre genomas bacterianos.

Palabra clave: Genómica, Machine Learning, Bacteria, Secuencias de Inserción

167

Análisis de genes de resistencia a acaricidas de *Rhipicephalus microplus* colectadas en establecimientos del norte del Río Negro.

Bicco Giuliana¹; Saporiti Tatiana¹; Correa Yemina¹; Álvarez Guzmán¹; Randall Lia¹; Corvo Ileana¹

¹Laboratorio de Moléculas Bioactivas, Dpto. de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

La garrapata común del ganado (*Rhipicephalus microplus*) es la ectoparasitosis más importante de la ganadería a nivel mundial y en particular en nuestro país, debido a los problemas sanitarios y pérdidas económicas que produce.

Actualmente existe resistencia del parásito a la mayoría de los acaricidas de uso comercial, por lo que es uno de los problemas más importantes que afecta la producción ganadera del país.

Se han reportado mutaciones en diferentes genes asociadas a la resistencia, en particular se han descrito alelos de resistencia a piretroides sintéticos (mutación en el dominio II S4-5 y en el dominio III S6 del canal de sodio), a fipronil (mutación *rdl* en el canal de cloro controlado por el ácido gama-aminobutírico) y a amitraz (mutación en el receptor octopamina betaadrenérgico y en el receptor de octopamina/tirosina).

En este trabajo se planteó identificar los alelos asociados a resistencia a acaricidas en garrapatas adultas y huevos de 25 establecimientos del Norte del Río Negro, en los cuales se identificaron individuos resistentes a uno o más fármacos mediante el test de inmersión de adultos. Para el análisis se extrajo el ADN genómico y se amplificaron mediante PCR las regiones génicas asociadas a la resistencia a estos acaricidas. Se obtuvieron los fragmentos esperados y mediante secuenciación se caracterizaron los alelos de resistencia presentes en las garrapatas colectadas. Estos resultados contribuyen al conocimiento del perfil genético de las garrapatas de nuestro país, en el contexto de la optimización del uso de acaricidas como estrategia de control integral de esta parasitosis.

Palabras clave: garrapata del ganado, acaricidas, resistencia

169

Nueva aplicación citomolecular para detectar exposición a bajas dosis de radiaciones ionizantes

Liddle, Pablo^{1,2}; **Perini, Valentina**¹; **Cordón, Jaime**³; **Mila, Rafael**³; **Bracesco, Nelson**⁴; **Martínez-López, Wilner**^{1,2}

¹Departamento de Genética, IIBCE

²Servicio de Biodosimetría, IIBCE

³Centro cardiovascular Universitario (CCVU), Hospital de Clínicas, Facultad de medicina, UdelaR ⁴Laboratorio de Radiobiología, Facultad de medicina, UdelaR

Las roturas de doble cadena en el ADN inducen la fosforilación de la histona H2AX a gammaH2AX en respuesta a radiaciones ionizantes y agentes radiomiméticos. Esta fosforilación se expande ≈2Mb alrededor de la lesión permitiendo su visualización como *foci* nucleares por inmunocitofluorescencia. Esta alcanza su máximo 15-60 min postdaño, disminuyendo hasta desaparecer (≈ 24h post-daño). En presencia de inhibidores de deacetilasas de histonas, como el ácido valproico (VA), ha sido descrito un aumento del tiempo de vida media de gammaH2AX, al retrasarse la desfosforilación a H2AX. Por tal motivo, nos propusimos analizar la cinética de inducción/remoción de gammaH2AX tras la exposición de la línea celular de queratinocitos humanos denominada HaCaT al radiomimético bleomicina (40 ug/mL por 1h) o en tratamientos combinados con VA (1.5 mM) ya sea pre- (24h) o posttratamiento a diferentes tiempos de recuperación postdaño (1h, 3h, 6h y 24h). Para todos los tratamientos se comparó el número promedio de *foci* empleando un sistema automatizado de análisis por microscopía de fluorescencia (Metasystems, GmbH). Resultados preliminares sugieren un incremento significativo del número de foci 3h posttratamiento con VA. Esta sensibilización al radiomimético producido por la exposición a VA, permitiría utilizar gammaH2aX como biodosímetro de daño genético primario inducido por radiaciones ionizantes en trabajadores expuestos reiteradamente a bajas dosis.

Palabras clave: gammaH2AX, ácido valproico, biodosímetro

174

Vigilancia genómica de SARS-CoV-2 en Uruguay: un abordaje interinstitucional

Paz, Mercedes^{1,2,3}; **Costábile, Alicia**^{1,2,3,4}; **Rego, Natalia**⁵; **Salazar, Cecilia**^{1,6}; **Perbolianachis, Paula**^{1,2,3}; **Spangenberg, Lucía**⁵; **Ferrés, Ignacio**^{1,6}; **Arce, Rodrigo**^{1,2,3}; **Fajardo, Alvaro**^{1,2,3}; **Fernández-Calero, Tamara**⁵; **Arleo, Mailen**¹¹; **Possi, Tania**¹¹; **Reyes, Natalia**¹¹; **Bellin, Inés**¹¹; **Bilbao, Lucia**¹¹; **Bentancor, Ma Noel**¹¹; **Lizasoain, Andrés**⁷; **Bortagaray, Viviana**⁷; **Moller, Ana**⁷; **Chappos, Odhille**⁸; **Duquía, Melissa**⁸; **González, Belén**⁸; **Griffero, Luciana**⁸; **Méndez, Mauricio**⁸; **Techera, Ma Pía**⁸; **Zanetti, Juan**⁸; **Bengoechea, Virginia**¹²; **Rivera, Bernardina**^{1,9}; **Maidana, Matías**^{1,9}; **Alonso, Martina**^{1,9}; **Alonso, Cecilia**⁸; **MedinaJulio**¹; **AlbornozHenry**¹⁰; **Colina, Rodney**⁷; **Noya, Veronica**¹¹; **Tedesco, Sofia**¹²; **Abin, Andres**¹²; **Moerzinger, Patricia**¹²; **Iraola, Gregorio**^{1,6}; **Moratorio, Gonzalo**^{1,2,3}; **Moreno, Pilar**^{1,2,3}

¹Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Insitut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo

³Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁵Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo

⁶Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur de Montevideo

⁷CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

⁸Centro Universitario Regional Este, Universidad de la República

⁹Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Institut Pasteur de Montevideo

¹⁰Facultad de Medicina, Universidad de la República

¹¹Laboratorio de Biología Molecular, Sanatorio Americano

¹²Laboratorio ATGen

Los esfuerzos sin precedentes para secuenciar el genoma de SARS-CoV-2 permitieron monitorear en tiempo real los cambios en el genoma viral durante la pandemia. Estos cambios pueden afectar algunas de las propiedades del virus, lo que llevó a que la OMS clasifique a algunas variantes de SARS-CoV-2 como variantes de preocupación (VOC). Las VOCs cambiaron la dinámica de dispersión viral por su mayor transmisibilidad, severidad o capacidad de evasión a anticuerpos generados por infecciones naturales o por la vacunación. Se creó un grupo de trabajo interinstitucional para la vigilancia genómica del SARS-CoV-2 a fin de identificar tempranamente las variantes circulantes. Entre mar-2021 y ago-2022 se recopilieron más de 13,000 muestras positivas las cuales fueron analizadas mediante RT-qPCR y secuenciación genómica. Este trabajo permitió determinar que hasta feb-2021 circuló el linaje B.1.1.28 del cual derivó el linaje P.6 que denominamos "Variante Uruguaya". En feb-2021 se reportan múltiples introducciones independientes de la VOC gamma, responsable de la primera ola de contagios. A fines de jun-2021 detectamos el ingreso de la VOC delta, la cual desplazó a la variante gamma llegando a configurar el 100% de las muestras analizadas, hasta que fue reemplazada por sublinaje B.A1 de la VOC ómicron, (dic-2021). Esta variante causó la segunda ola de contagios, alcanzando un récord de casi 14,000 casos diarios. Actualmente co-circulan los sublinajes BA.2, BA.4 y BA.5 de ómicron. A la fecha, continuamos monitoreando las variantes y reportando los resultados obtenidos a las autoridades nacionales.

Palabras clave: SARS-CoV-2, Genómica, Variantes de Preocupación, Oxford Nanopore

201

Olaparib no potencia el efecto de bleomicina en células vero, incluso en presencia de inhibidores de ATM, DNA-PK y LigIV

Perini, Valentina¹; Schacke, Michelle¹; Liddle, Pablo¹; Keszenman, Deborah²; Lafon-Hughes, Laura^{1,2}

¹Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Departamento de Genética, Montevideo

²Laboratorio de Radiobiología Médica y Ambiental, Grupo de Biofísicoquímica, Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de la República (UdelaR), Salto

Las roturas de cadena doble del ADN (RCD) pueden conducir a muerte celular o inestabilidad genómica y transformación maligna. Las RCD inducen la fosforilación de H2AX en dominios de cromatina flanqueantes, formando focos γ H2AX que son inmunodetectables. Dicha fosforilación, crítica para el reclutamiento de otras proteínas para reparar la rotura, suele ser catalizada por ATM, DNA-PK, ATR, pero también puede depender de VRRK1, una quinasa menos estudiada. Las RCD se pueden reparar por recombinación homóloga (HR) o mediante unión de extremos no homólogos (NHEJ) canónica (C-NHEJ) o alternativa (A-NHEJ). En C-NHEJ están implicadas DNA-PK, 53BP1 y Ligasa IV (LigIV). En cambio, A-NHEJ es dependiente de poliADP-ribosil polimerasa-1 (PARP-1), que cataliza la síntesis de un polímero de ADPribose denominado poli-ADP-ribose (PAR). El inhibidor de PARP Olaparib (OLA) muestra letalidad sintética con proteínas mutadas de HR (BRCA-1/2) y C-NHEJ (LigIV). Sin embargo, los límites de la letalidad sintética no están claros. Algunos pacientes de cáncer que presentan la mutación de BRCA no responden al tratamiento con OLA, mientras otros sin alteración conocida en HR o C-NHEJ sí responden. La bleomicina (BLEO) es un agente quimioterapéutico radiomimético. A fin de estudiar los límites de la letalidad sintética, células VERO fueron expuestas a BLEO y OLA en concomitancia con un pool de 3 inhibidores (3i) de DNA-PK (KU-0060648), LigIV (SCR7-pirazina) y ATM (KU55933). Una subpoblación fue resistente a BLEO, incluso en presencia de OLA y 3i. Con respecto al(los) mecanismo(s) detrás de la resistencia, se han descartado algunas hipótesis y se sugieren hipótesis alternativas.

204

***Acca sellowiana*: un primer transcriptoma *de novo* y análisis de expresión en genes involucrados en la biosíntesis de flavonoides en tejidos florales**

Oberti, Héctor¹; Gutiérrez-González Juan José²; Mangino, Mathias¹; Silva, Martín¹; Pritsch, Clara¹

¹Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay;

²Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de León, León, España

Acca sellowiana (Myrtaceae) o guayabo es un árbol frutal nativo con flores comestibles ricas en flavonoides, metabolitos ampliamente conocidos por exhibir propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas. Para iniciar la investigación sobre los mecanismos moleculares relacionados a la biosíntesis y regulación de estos compuestos este trabajo se enfocó a ensamblar y anotar un transcriptoma *de novo* de hoja y flor, identificar genes asociados a la vía de flavonoides y analizar su expresión diferencial en tres estadios de desarrollo de la flor. A partir de 59 Gb de lecturas de secuenciación de ARN (ARN-seq) de hojas y flores en etapas F1, F2 y F3 de desarrollo se ensambló un transcriptoma de 309 Mb que incluyó 221.649 transcritos no redundantes (N50: 2644nt) de los cuales 48,5% se anotaron funcionalmente. Identificamos 8.198 transcritos candidatos involucrados en 10 vías diferentes de "metabolitos secundarios de plantas". Detectamos transcritos para el 81 % del repertorio de enzimas de la vía de biosíntesis de flavonoides, entre ellos, los 10 principales genes estructurales de la ruta de flavonoides (C4H, CHS, CHI, FNS, F3H, F3'H, F3'5'H, FLS, DFR, ANS).

Del análisis de expresión diferencial entre etapas florales: F1/F2, F1/F3 y F2/F3 detectamos cambios en la expresión para 8 de 10 enzimas estructurales que sugieren cambios en el contenido de flavonoides desde F1 a F3. Estos datos serán validados próximamente mediante qRT-PCR y análisis químicos. De esta forma, estudio constituye una base para la minería de genes funcionales y mecanismos regulatorios de la biosíntesis de metabolitos secundarios de interés en guayabo.

Palabras clave: transcriptoma, guayabo, flavonoides

212

Role of *fasciola hepatica* small RNAs in the interaction with the mammalian host

Fontenla, Santiago¹; Langleib, Mauricio¹; de la Torre Escudero, Eduardo²; Domínguez, María Fernanda¹; Robinson, Mark W.²; Tort, José¹

¹Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay

²School of Biological Sciences, Queen's University Belfast, 19 Chlorine Gardens, Belfast, Northern Ireland

MicroRNAs are important post-transcriptional regulators of gene expression being involved in many different biological processes and are key players in developmental timing. Additionally, recent studies have shown that miRNAs released from parasites can regulate the expression of host genes.

In the present work, we studied the expression patterns of ncRNAs of various intramammalian life-cycle stages of the liver fluke, *Fasciola hepatica*, as well as those packaged into extracellular vesicles and shed by the adult fluke. The miRNA expression profile of the intra-mammalian stages shows important variations, despite a set of predominant miRNAs that are highly expressed across all stages. We generated a curated pipeline for the prediction of putative target genes that reports only sites conserved between three different prediction approaches. This pipeline was tested against a curated database of the 3' UTR regions of *F.hepatica* genes to detect miRNA regulation networks within liver fluke. Several functions related to the host immune response or modulation were enriched among the targets of the most highly expressed parasite miRNAs, stressing that they might be key players during the establishment and maintenance of infection.

Additionally, we detected fragments derived from the processing of tRNAs in all developmental stages analyzed and documented the presence of novel long tRNA fragments enriched in vesicles.

We confirmed the presence of at least 5 putative vault RNAs, that are expressed across different stages and enriched in vesicles. The presence of tRNA fragments and vtRNAs in vesicles raise the possibility that they could be involved in the host-parasite interaction.

Keywords: *Fasciola hepatica*; microRNA (miRNA); tRNAs; vault RNA (vtRNA); extracellular vesicles (EVs)

263

Búsqueda y caracterización de Amps en transcriptoma de hoja y flor de *Acca sellowiana*

Rossi F, Oberti H, Pritsch C, Rodríguez-Decuadro S

Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Agronomía, UDELAR

Los péptidos antimicrobianos (AMP) son pequeños péptidos ricos en cisteína que forman parte del sistema inmune innato de plantas y animales. Su bioprospección en la flora nativa de Uruguay es aún incipiente pese a su valioso potencial para el desarrollo de alternativas de control de infecciones (humanos, animales, plantas), y para la agroindustria, en la preservación de alimentos. Este trabajo se propuso identificar y caracterizar genes que codifican AMPs de tipo defensinas, esnaquinas, tioninas, heveínas, ciclótidos y proteínas de transferencia de lípidos (LTP) en el frutal nativo *Acca sellowiana* (Myrtaceae), conocido como guayabo del país. La búsqueda de secuencias candidatas basada en homología se realizó en un transcriptoma *de novo* de flor y hoja ensamblado por nuestro grupo. Se utilizaron como *query* secuencias AMP reportadas, preferentemente de especies filogenéticamente cercanas a *A. sellowiana*. Se retuvieron hits con E-value menor a 10^{-2} y con evidencia de coincidencia con al menos tres de las cisteínas de los motivos típicos de cada AMPs.

En total, se seleccionaron 178 secuencias candidatas que corresponden a 23 defensinas, 49 esnaquinas, 7 tioninas, 12 heveínas, y 87 LPT. No se detectaron secuencias con similitud a ciclótidos. Mediante alineamientos múltiples con AMP de referencia, las secuencias candidatas de defensinas y esnaquinas se agruparon en sub-familias o grupos, evidenciando una alta riqueza de variantes AMP en *A. sellowiana*. Se seleccionaron secuencias de esnaquinas, defensinas y heveínas para su validación mediante amplificación de ADN genómico, para caracterizar las secuencia exón-intrón de cada gen y confirmar algunas isoformas observadas.

273

Evaluación de la resistencia a tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en genotipos de una colección núcleo de parientes silvestres de papa en condiciones controladas

Hernández-Lista, Natalí¹; Moreira, Victoria²; González-Barrios, Pablo³;

Rodríguez, Gustavo⁴; González-Arcos, Matías⁵; Galván, Guillermo⁶; Vilaró, Francisco⁶; Gaiero, Paola¹

¹Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República.

²Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

³Departamento de Biometría y Estadística, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

⁴INIA Las Brujas

⁵INIA Salto Grande

⁶Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

El tizón tardío de la papa, causado por *Phytophthora infestans*, es la enfermedad más importante del cultivo a nivel mundial. Una de las medidas de manejo para su control es la resistencia genética, introgresando genes de resistencia de parientes silvestres de la papa originarios de Centroamérica. Se ha reportado resistencia en algunas accesiones de especies silvestres que se distribuyen en Uruguay. En este trabajo se evaluó la resistencia a *P. infestans* en una colección núcleo de 43 clones de parientes silvestres. Se hicieron inoculaciones en condiciones controladas con un aislado de *P. infestans* en hoja desprendida y en planta entera a partir de plantas de la colección núcleo multiplicadas por esquejes. En el ensayo de hoja desprendida, se observaron tres grupos de genotipos, uno más susceptible agrupando el 11,6% de los genotipos en un rango de valores del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) entre 45,2-58,7, otro intermedio con 65,1% de los genotipos en un rango de AUDPC entre 28,3-44,2 y por último uno más resistente con 23,3% de los genotipos en un rango de AUDPC entre 8,7-25,6. En el ensayo de planta entera también se obtuvieron distintos niveles de resistencia y se pudo correlacionar los rankings de los dos ensayos con datos preliminares obtenidos a campo. Se encontró gran diversidad de resistencia en la colección núcleo, esto permite continuar en la exploración de las fuentes de resistencia y valorización de recursos genéticos de papa en Uruguay.

Palabras clave: *Solanum commersonii*, *S. malmeanum*, *S. chacoense*, resistencia parcial, recursos genéticos

276

Desarrollo de un método efectivo para la obtención y análisis de genomas completos de parvovirus canino mediante PCR-multiplex-NGS

Condon, Emma¹; **Panzer, Yanina**¹; **Grecco, Sofía**¹; **Pérez, Ruben**¹

¹*Genética de Microorganismos, Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

El parvovirus canino (CPV-2) genera la parvovirusosis canina, una enfermedad entérica relevante en canes. Es un virus de 5.2 kb, con genoma ADN simple hebra de polaridad negativa, que codifica para 2 proteínas estructurales (VP1, VP2) y 2 no-estructurales (NS1, NS2). Emergió en 1978 por un salto de hospedero y se expandió produciendo una pandemia. En 1979 se identificó una nueva variante antigénica, CPV-2a, que reemplazó a CPV-2. Posteriormente surgieron las variantes CPV-2b (1984) y CPV-2c (2000).

Actualmente las tres variantes circulan mundialmente con diferentes frecuencias. La variación antigénica de CPV-2 depende del aminoácido presente en la posición 426 de VP2: 2a (Asn), 2b (Asp) y 2c (Glu). Esta clasificación no refleja las relaciones filogenéticas, ni es muy adecuada para analizar la evolución viral. El análisis de genomas completos es una excelente alternativa para la clasificación y el análisis evolutivo de CPV-2.

En este trabajo, desarrollamos un sistema de PCR-multiplex-NGS para obtener el genoma completo de CPV-2. Diseñamos dos pools de cebadores capaces de amplificar el genoma mediante amplicones solapados. En los cebadores incluimos adaptadores para la secuenciación Illumina, evitando usar el kit de construcción de librerías. Validamos nuestro desarrollo usando la cepa original CPV-2 y las tres variantes antigénicas provenientes de países latinoamericanos. El PCR-multiplex-NGS resultó ser una herramienta eficaz, rápida, robusta y económica, permitiendo obtener 250 genomas con cobertura 2000x por corrida de secuenciación ($8 \times 10^6 \times 300$ ciclos). Esta metodología permitirá incrementar significativamente el número de genomas disponibles en las bases de datos, aportando a la epidemiología viral.

Palabras clave: virus, Parvovirus canino, PCR-multiplex, NGS, genoma completo

295

Cambios en el nivel global de metilación del ADN en células prostáticas por acumulación de AGEs en matriz extracelular

Frade María Paula¹, **Pastro Lucía**¹, **Sauer Lysann**², **Cappetta Mónica**¹, **Rodríguez-Teja Mercedes**¹

¹*Departamento de Genética Facultad de Medicina, Udelar*

²*Brandenburg University of Technology Cottbus-Senftenberg, Alemania*

El envejecimiento es el principal factor de riesgo del cáncer de próstata. Durante el envejecimiento se acumulan productos finales de glicación avanzada (AGEs) en la membrana basal (MB) que rodea a los *acinos* glandulares prostáticos. Los AGEs entrecruzan los componentes de la MB y producen la pérdida de la elasticidad del tejido prostático. Los cambios en la rigidez de la MB son detectados por el mecano-receptor Endo180 que se localiza en la membrana plasmática de las células epiteliales prostáticas. El receptor reconoce el colágeno glicado, que se encuentra en la MB rica en AGEs y desencadena un cambio en el perfil de expresión génica que tiene aspectos en común con los cambios asociados al comienzo de la transformación maligna de este tejido. En este trabajo se analizan los niveles de metilación global del ADN en cultivos 3D de *acinos* prostáticos generados sobre MB ricas en AGEs o nativas, y se valora el papel del mecano-receptor Endo180 como mediador de estos cambios epigenéticos. Los resultados preliminares muestran un aumento en el nivel global de metilación del ADN en cultivos 3D sobre MB rígida (rica en AGEs) comparando con los niveles observados en cultivos sobre MB nativa. Este trabajo busca identificar los mecanismos fisiopatogénicos que contribuyen con el desarrollo del cáncer de próstata y aportar a la identificación de posibles blancos terapéuticos.

Palabras claves: Cáncer de Próstata, AGEs, Epigenética, Endo180

317

Biología molecular aplicada al laboratorio forense

Echenique Valeria¹; **D'Aiuto Natali**¹; **Domínguez Verónica**¹; **Cortazzo Patricia**¹

¹*Laboratorio Biológico, Dirección de Criminalística, Dirección Nacional de Policía Científica, Ministerio del Interior, Uruguay*

Introducción: El objetivo principal del Laboratorio de Genética Forense es la resolución de casos (establecer relaciones de parentesco, identificar personas, o bien, asociar sospechosos) mediante la obtención de perfiles genéticos a partir de diferentes tipos de muestras orgánicas como sangre, semen, células epiteliales, tejidos muscular y óseo, entre otros. Dichos perfiles se obtienen mediante el análisis de marcadores STR's (Short Tandem Repeats),

que presentan varias ventajas para su utilización en la identificación forense, dado que son codominantes, polimórficos y no codificantes.

Métodos: El primer paso luego de la evaluación de indicios, es la extracción de ADN, a través de técnicas orgánicas o comerciales: Maxwell® o PrepFiler™, obteniéndose una muestra de 50 µL. Seguidamente, la muestra obtenida se cuantifica mediante q-PCR (Real Time PCR) utilizando kits comerciales como Quantifiler™ TRIO o Quantifiler™ HP, dependiendo de la necesidad de analizar el cromosoma Y. Teniendo en cuenta la concentración de ADN obtenida, se realiza la amplificación por PCR (Polymerase Chain Reaction) mediante diferentes kits comerciales (VERIFILER PLUS, GLOBAL FILER, VERIFILER EXPRESS, YFILER PLUS, NGM). La utilización de uno u otro kit dependerá de factores como concentración final, degradación y sexo. Para la secuenciación del producto de PCR se realiza una electroforesis capilar utilizando un secuenciador ABI 3500.

Resultados: Se obtienen perfiles genéticos de cromosomas autosómicos y/o del cromosoma Y.

Conclusión: Mediante el empleo de las diferentes técnicas de biología molecular es posible, a través de la obtención de dichos perfiles genéticos, la resolución de casos criminalísticos.

Palabras clave: STR's, PCR, q-PCR

318

Alta diferenciación de ILDR1, un gen asociado a la hipoacusia no sindrómica, entre poblaciones humanas. (High differentiation of ILDR1, a gene associated to nonsyndromic hearing impairment, between human populations)

Sergio V. Flores^{1*}, Juan Pablo Alvarez-Lobos¹, Alejandro Levi-Monsalve²

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile

²Departamento de Antropología, Universidad de Chile

*sergio.flores1@cloud.uaautonoma.cl

Los estudios de asociación genética han contribuido a detectar más de un centenar de genes de pérdida auditiva no sindrómica. Entre ellos, ILDR1 (*Immunoglobulin-like domaincontaining receptor 1*) es un candidato de alto perfil, asociado a hipoacusia, y expresado preferentemente en las células ciliadas del oído interno. Aquí se analiza el patrón de diferenciación genética de ILDR1 entre 26 poblaciones humanas, totalizando 2504 individuos de cinco superpoblaciones: África, Asia Oriental, Asia Meridional, Europa y Latino América. Se recuperaron los genotipos de 920 SNPs bialélicos de la base de datos 1000 Genomes, y se analizaron utilizando VcfTools y BayeScan. Tras aplicar un límite MAF (frecuencia alélica mínima) de 0,05, 57 SNPs se obtuvieron para análisis posteriores. Se observó una diferenciación significativa, estimada por el estadístico FST, dentro de cada superpoblación ($P_{\text{exact}} < 0,05$), especialmente en Asia oriental, Asia meridional y Latino América. El análisis bayesiano mostró evidencias de una fuerte selección divergente en el SNP rs4974395, que corresponde a una variante intrónica. El alelo ancestral de rs4974395 (guanina) tiene una frecuencia global del 41%, que va desde el 20% en México hasta el 80% en Japón.

Por lo tanto, esta variante ha experimentado una rápida evolución, con un aumento del alelo derivado (adenina) durante la divergencia ocurrida entre las superpoblaciones aquí analizadas. Los patrones de divergencia tanto para ILDR1 como para el rs4974395 sugieren que los rasgos asociados a este gen (discapacidad auditiva asociada a la edad) fueron probablemente objeto de selección natural durante la emigración desde África, desde hace unos 100.000 años atrás.

Nuestros resultados sugieren que rs4974395 debería incluirse en nuevos estudios de variantes genéticas asociadas a hipoacusia. Asimismo, se apoya aquí la perspectiva del papel de la audición como rasgo bajo presión selectiva durante la microhistoria evolutiva de nuestra especie, como han propuesto otros autores.

INGENIERÍA BIOMÉDICA

140

Dinapenia en la musculatura flexo-extensora de rodilla medida con DINABANG®

Bianchi, Santiago^{1,2}; González, Julio^{1,2}; Jara, Linnette^{1,2,3}; Lanús, Gabriela²; Rey, Andrés^{2,4}; Santos, Darío^{2,3,4} y Simini, Franco³

¹Estudiante de un Programa de Apoyo a la Investigación Estudiantil PAIE de CSIC 2021

²Escuela Universitaria de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Núcleo de Ingeniería Biomédica, Facultades de Medicina e Ingeniería; Universidad de la República

⁴Departamento de Rehabilitación y M F, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Uruguay

Introducción: La artrosis de rodilla (AR) afecta la fuerza flexo-extensora de la rodilla (isquiosurales/cuádriceps). Se diagnostica la dinapenia en la clínica mediante la aplicación de resistencia manual a la acción muscular, clasificándola utilizando escalas subjetivas de tasación. Se denomina dinapenia a la pérdida de fuerza (dina=fuerza, penia=pérdida), que se cuantifica mediante dinamómetros o dispositivos especialmente diseñados como DINABANG®.

Hipótesis: Los pacientes con AR pierden más fuerza del cuádriceps que de isquiosurales en comparación con individuos saludables.

Materiales y métodos: Medimos la fuerza de los isquiosurales y del cuádriceps en ambos miembros en 10 individuos saludables (\bar{X} 29,2 \pm 7,3 años y IMC \bar{X} 23,0 \pm 2,7) y 7 pacientes con AR (\bar{X} 60,0 \pm 4,9 años y IMC \bar{X} 29,6 \pm 3,3) con AR. Todos firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas. Se utilizó un banco (Chakadina) para posicionar a las personas y DINABANG® para medir la fuerza máxima isométrica de los isquiosurales y del cuádriceps.

Resultados: La fuerza flexora y extensora en la rodilla, de los voluntarios saludables fue de 270 N y 480 N, y en los pacientes con AR, 130 N y 180 N, respectivamente. La pérdida de fuerza fue de 55 % en isquiosurales y 64% en el cuádriceps.

Discusión y conclusiones: Varias investigaciones determinaron que los pacientes con AR pierden la fuerza del cuádriceps debido a procesos artrogénicos. Hemos medido que la dinapenia es porcentualmente mayor en el cuádriceps que en los isquiosurales, usando un dispositivo original DINABANG®

Palabras clave: Rodilla, Artrosis, Fuerza, Dinapenia, DINABANG®

228

Pruebas iniciales de campanas de descompresión ABDOPRE para la reducción de la presión intraabdominal

Sánchez, Pablo¹; Urruty, Luciana¹; David, Marcelo ²; Pracca, Francisco³; Gaiero, Cristina³ y Simini, Franco¹

¹Núcleo de Ingeniería Biomédica de las Facultades de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Department of Electrical Engineering, Jerusalem College of Technology – LevAcademic Center, Jerusalem, Israel

³Departamento de Medicina Intensiva, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Introducción: La hipertensión intraabdominal está presente en la mitad de los pacientes de medicina intensiva y está asociada a pronósticos adversos, a pesar de la descompresión quirúrgica. Estamos desarrollando ABDOPRE que consiste en la aplicación de una campana con presión negativa.

Objetivos: Evaluar el desempeño de las campanas de ABDOPRE para reducir la presión intraabdominal.

Materiales y métodos: Las campanas de ABDOPRE fueron diseñadas en dos tamaños, 14 y 20 litros. Fueron fabricadas en polimetilmetacrilato (PMMA) -polímero termoplástico transparente- y espuma Armaflex para el contacto dérmico. Cada campana tiene conectores para la bomba de vacío y un sensor de presión. Se coloca la campana de tamaño adecuado sobre el abdomen y se conecta a una bomba de vacío de 2W (Zhirong Huaguan) del dispositivo ABDOPRE. Como es práctica clínica, se mide la presión intraabdominal (PIA) mediante sonda intravesical y monitor multiparamétrico. De acuerdo al protocolo presentado al Comité de ética del Hospital de Clínicas, se registra la PIA antes y después de aplicar ABDOPRE en hasta tres etapas a pacientes con diagnóstico de hipertensión intraabdominal.

Resultados:

Paciente	IMC	Vol. campana (litros)	PIA inicial (mmHg)	PIA final (mmHg)	Reducción (%)	Tiempo de Aplicación (min)
1	28.3	14	23	15	34.7	4.0 + 4.0
2	48.0	14	22	17	22.7	4.0 + 2.0
3	38.1	20	32	25	21.8	6.0 + 5.0

4	33.7	14	12	6	50	3.5 + 2 + 3
5	32.4	14	10	3	70	4.0 + 4.0
6	27.8	14	10	6	40	4.0
Media	34.7		18	12	40	4.2 + 3.4 +3

Discusión y conclusiones: La aplicación de ABDOPRE redujo la PIA en los seis pacientes que tenían indicación, en un 40% promedio, siempre al menos 20%, lo que confirma publicaciones anteriores. Confirmamos el buen desempeño de la espuma Armaflex, confirmando pruebas en fantoma. El tamaño de 14 litros fue el más utilizado debido a la complejidad de los pacientes vistos. Para la de 20 litros una bomba de mayor potencia podría mejorar su desempeño.

Palabras clave: Presión Intraabdominal (PIA), ABDOPRE, bomba de vacío, campana de decompresión, hipertensión intraabdominal

249

Fisiopatología del pie diabético y signos precusores de lesiones

Ribeiro, Lucía¹; **Morales, Isabel**¹; **Mendoza, Beatriz**²; **Simini, Franco**¹

¹Núcleo de Ingeniería Biomédica de las Facultades de Medicina e Ingeniería, Universidad de la República, Uruguay

²Cátedra de Endocrinología y Metabolismo, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay

Introducción: La neuropatía, la enfermedad vascular y las alteraciones en la respuesta ante infecciones, sumadas a la reducción de la movilidad articular, determinan la generación de presiones anormales en el pie de un paciente diabético. Por lo tanto, repetidos traumatismos pueden generar úlceras cutáneas. Nos proponemos estudiar la fisiopatología del pie diabético para anticipar tales lesiones.

Objetivo: Describir cuantitativamente los signos precusores de lesiones del pie diabético y en particular la integridad del tejido epidérmico.

Metodología: La búsqueda bibliográfica comprendió las complicaciones crónicas micro y macroangiopáticas de la diabetes y las variables utilizadas para evaluar el pie diabético, privilegiando magnitudes físicas medibles.

Resultados: Los artículos describen las etapas que llevan a las úlceras del pie diabético, la co-morbilidad y su prevención. Sin embargo, no encontramos valores numéricos de variables medibles que estén asociados a la generación de lesiones. Están asociados al pie diabético la oximetría transcutánea, el índice tobillo-brazo, presión sistólica, temperatura y presión plantar. Se deduce que la monitorización de estas variables puede contribuir al diseño de alertas tempranas durante la marcha. A pesar de que los artículos no aportan evidencia numérica, podemos postular valores plausibles como límites a ser verificados posteriormente. Están asociados con lesiones una temperatura > 31.7°C, presión de oxígeno percutánea < 60 mm Hg y el índice tobillo brazo entre 0.4 y 0.8.

Conclusiones: La temperatura, el oxígeno y el índice tobillo-brazo pueden constituir un índice de riesgo de lesión inminente. Palabras clave: lesión, pie diabético, prevención

INMUNOLOGÍA

005

Inducción farmacológica de hemoxigenasA1 prolonga la sobrevivida de alotrasplantes a través de la regulación por Tmem176b

Galliussi, Germán^{1,2}; **Noboa, Javier**^{2,3}; **Russo, Sofía**^{2,3}; **Charbonnier, David**²; **Usal, Claire**⁴; **Collera, Lucía**^{1,5}; **Porcal, Williams**^{1,5}; **López, Gloria Virginia**^{1,5}; **Leyva, Alejandro**⁶; **Durán, Rosario**⁶; **Cuturi, María Cristina**⁴; **Anegón, Ignacio**⁴; **Hill, Marcelo**^{2,3}; **Batthyány, Carlos**¹; **Segovia, Mercedes**^{2,3}

¹Laboratorio de Biología Vasculat y Desarrollo de Fármacos, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Inmunoregulación e Inflamación, Institut Pasteur de Montevideo

³Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, UDELAR, Montevideo, Uruguay

⁴INSERM UMR 1064 Center for Research in Transplantation and Immunology, Nantes, Francia

⁵Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay

⁶Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo e Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los trasplantes de órganos/tejidos son la única solución definitiva cuando existe falla funcional pero la baja disponibilidad de donantes y el rechazo crónico continúan siendo un problema en medicina. Las terapias actuales se basan en el uso prolongado y dosis altas de inmunosupresores con efectos adversos significativos, generando necesidad del desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas que mejoren las actuales. Nuestro grupo ha mostrado el rol inmunoregulador del canal catiónico Tmem176b en el contexto del alotrasplante y estamos analizándolo como blanco terapéutico. Además, sintetizamos y caracterizamos un nitroalqueno antiinflamatorio derivado del ácido salicílico (SANA) que activa a Tmem176b y prolonga la supervivencia de trasplantes de piel necesitando de Tmem176b. SANA también induce la expresión de hemoxigenasa-1 (HO-1) (enzima con efectos antiinflamatorios/tolerógenos) en células dendríticas y macrófagos THP-1, siendo mayormente significativa en células dendríticas Tmem176b wild-type en comparación con las knockout. SANA disminuye marcadores fenotípicos de maduración (MHCII/CD86) en estas células de forma dependiente de HO-1. Nuestros resultados *in-vivo* muestran que SANA prolonga la supervivencia del trasplante, pero cuando administramos a los animales un inhibidor de HO-1 este efecto se pierde. En adición, los ratones tratados con SANA presentan mayor porcentaje de células dendríticas expresando HO-1 en ganglios drenantes de animales wild-type comparado a los knockout para Tmem176b. En suma, la activación del eje Tmem176b/HO-1 parece ser importante para prolongar la supervivencia del trasplante. Este trabajo contribuye a la comprensión de la función de una molécula inmunoreguladora como blanco para el desarrollo de estrategias de inmunomodulación en el contexto del alotrasplante.

Palabras clave: Trasplantes; Hemoxigenasa-1; Tmem176b; inmunomodulación; nitroalquenos

012

In silico design and experimental evaluation of peptide-base vaccines against secondary cystic echinococcosis

Sebastián Miles¹, Sylvia Dematteis¹, Gustavo Mourglia-Ettlin¹

¹Área Inmunología, DEPBIO/IQB, Facultad de Química/Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Vaccines are among the most important advances in medicine throughout the human history. However, conventional vaccines exhibit two main drawbacks, being its design and production expensive and work-intensive, while including unnecessary antigenic loads. Peptide-based vaccines are attractive alternatives, since they can be designed mainly *in silico*, can be produced cheaply and safely, and are able to induce immune responses exclusively towards protective epitopes. Yet, a proper peptide design is needed, not only to generate peptide-specific immune responses, but also for them to recognize the native protein in the occurrence of a natural infection. Herein, we propose a design workflow for peptide-based vaccines including novel steps assuring the cross-recognition of native proteins. In this regard, we increased the probability of generating efficient antibodies through the selection of linear B cell epitopes free of post-translational modifications followed by analyzing the 3D structure similarity between the peptide in solution vs within its parental native protein. This workflow was applied to a set of seven previously suggested potential protective antigens against the infection by *Echinococcus granulosus* sensu lato. Finally, two peptides were obtained showing the capacity to induce specific antibodies able to exert anti parasite activities in different *in vitro* settings, as well as to provide significant protection in the murine model of secondary echinococcosis.

Keywords: Peptide-base vaccines, *Echinococcus granulosus*, bioinformatics, in silico design, helminth

035

Capacidad adyuvante de saponinas de *Q. brasiliensis*: evaluación a corto y largo plazo en una vacuna experimental de influenza

Rivera-Patron, Mariana¹; Moreno, María¹; Silveira, Fernando¹

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

Los adyuvantes son componentes fundamentales para lograr vacunas más eficaces, aunque pocos de ellos inducen respuestas tipo Th1, necesarias para combatir patógenos intracelulares y cáncer. Las saponinas, particularmente las obtenidas del árbol chileno *Quillaja saponaria*, se incluyen como adyuvantes en vacunas veterinarias y humanas. Debido a su toxicidad, se utilizan formuladas en complejos inmunoestimulantes (ISCOMs), manteniendo su capacidad

inmunoestimulante y evitando sus efectos nocivos. Nuestro grupo reportó por primera vez la formulación de ISCOMs con saponinas del árbol nativo *Q. brasiliensis*, y demostró su capacidad adyuvante frente a distintos antígenos virales, incluyendo influenza, caracterizada por una potente respuesta tipo Th1 y producción de anticuerpos con potencial neutralizante. En este trabajo evaluamos cómo estos adyuvantes activan el sistema inmune innato (SII) a tiempos tempranos (6-24hs post-inoculación), en términos de reclutamiento de granulocitos y linfocitos, producción de óxido nítrico en macrófagos, y procesamiento antigénico por células dendríticas. Dado que una buena estimulación del SII condiciona las características de la respuesta adaptativa, evaluamos la respuesta antígeno-específica a largo plazo (60 días postpriming) de una vacuna contra influenza conteniendo ISCOMs de *Q. brasiliensis* en ratón. Las saponinas nativas lograron inducir una potente respuesta humoral a lo largo de todo el ensayo, y promovieron una respuesta de células T de memoria y productoras de anticuerpos a largo plazo comparable a la inducida por las saponinas comerciales. Este estudio permitió avanzar en la caracterización de los mecanismos de acción de estos novedosos adyuvantes, aunque se deben continuar estudiando mediante herramientas más poderosas, como las tecnologías ómicas.

Palabras clave: Vacunas, adyuvantes, saponinas, ISCOMs, *Quillaja brasiliensis*

041

Producción de calibradores recombinantes quiméricos para su uso en ensayos serológicos COVID-19

Márquez, Belén¹; Pírez, Macarena¹; Segovia, Paula¹; Padula, Carolina¹; González-Sapienza, Gualberto¹, Lassabe, Gabriel¹
¹ Área Inmunología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

Los inmunoensayos serológicos permiten determinar los niveles de diferentes clases de anticuerpos en suero. En particular, pueden ser utilizados para evaluar la respuesta humoral frente a enfermedades infecciosas mediante la cuantificación de IgG. Estos inmunoensayos necesitan ser calibrados para poder establecer un valor de corte de la señal que permita distinguir resultados positivos y negativos. Los calibradores suelen ser sueros positivos previamente caracterizados, lo cual acarrea desventajas: 1- al acabarse un suero calibrador deben validarse y caracterizarse nuevos sueros para reemplazarlo, 2- por su naturaleza policlonal no pueden ser completamente caracterizados, y 3- son reactivos inestables.

Una alternativa atractiva consiste en la producción de un calibrador recombinante que imite a la clase de inmunoglobulinas que se busca cuantificar. Pueden ser producidos ilimitadamente en cualquier laboratorio, altamente puros y caracterizados por distintos métodos, y almacenados en soluciones que optimicen su estabilidad. En este proyecto se produjeron dos calibradores quiméricos para incorporar en inmunoensayos serológicos COVID-19 con el objetivo de cuantificar IgGs contra la proteína de nucleocápside (N) y contra el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína Spike del Sars-Cov-2. Ambos calibradores, compuestos por un dominio nanobody (anti-N y anti-RBD, respectivamente) fusionado a la región Fc de IgG humana, fueron producidos en cultivos de células HEK293T con rendimientos altos (10mg/L de cultivo). Una vez purificados, fueron funcionales en inmunoensayos de serología, presentaron altas afinidades de unión contra sus respectivos antígenos (entre 1-10nM) y demostraron ser estables luego de 4 semanas de incubación en estudios de estabilidad acelerada a 37 °C.

Palabras clave: nanobody, inmunoensayo, COVID-19

060

Efectos inducidos por la glutatión Transferasa 1 de *Echinococcus granulosus* sobre el fenotipo de macrófagos murinos

Muniz-Lagos, Ana Clara¹; Mourglia-Ettlin, Gustavo¹; Fernández, Verónica¹

¹Área Inmunología - DEPBIO - Facultad de Química, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

Echinococcus granulosus es el parásito cestodo causante de la hidatidosis. Nuestro grupo estudia diversos aspectos de la interacción hospedero-parásito que involucran a las proteínas glutatión transferasas (GSTs) parasitarias, ya que son importantes enzimas detoxificantes y se ha sugerido que las GSTs de helmintos parásitos tienen acciones inmunomoduladores en sus hospederos. En este contexto, presentamos aquí, el estudio de los efectos inducidos por la forma recombinante de la GST1 de *E. granulosus* (rEgGST1) sobre células inmunes, específicamente macrófagos. Para ello, analizamos *in vitro* cómo rEgGST1 afecta el fenotipo de la línea celular RAW 264.7 de macrófagos murinos. En primer lugar, incubamos células RAW 264.7 con concentraciones crecientes de rEgGST1 y, mediante citometría de flujo, analizamos la expresión de los marcadores de activación CD86 e IA^d; encontrando que rEgGST1 no modifica su expresión. Luego, enfrentamos células RAW 264.7 con LPS como modelo de estímulo pro-inflamatorio; y tanto en

ensayos de co-estímulo como de pre-condicionamiento con rEgGST1, observamos que esta indujo efectos negativos sobre la expresión de CD86. En paralelo, realizamos ensayos análogos para estudiar la producción celular de óxido nítrico, cuantificándolo mediante reacción de Griess en sobrenadantes de cultivo y observamos que rEgGST1 no modifica su producción. En suma, nuestros resultados sugieren que rEgGST1 sería capaz, en parte, de modular negativamente las respuestas pro-inflamatorias de macrófagos, comúnmente asociadas con mecanismos óptimos de respuesta anti-parasitaria. Actualmente estamos evaluando si estos fenómenos se bloquean mediante anticuerpos específicos para rEgGST1 lo que podría ser beneficioso para el hospedero.

Keywords: Echinococcus granulosus, glutatión transferasa, inmunomodulación

074

Desarrollo local de un test de antígeno para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2

Segovia, Paula¹; **Lassabe, Gabriel**¹; **González, Gualberto**¹

¹ *Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, Universidad de la República*

Durante la pandemia de COVID-19 los tests de detección de antígeno han constituido una herramienta crucial en el control de los contagios. Los mismos en su mayoría utilizan anticuerpos monoclonales convencionales para detectar la proteína de nucleocápside (proteína N) de SARS-CoV-2. En este trabajo se desarrolló un ensayo ELISA bioluminiscente para su detección utilizando anticuerpos monodominio recombinantes (nanobodies), los cuales presentan diversas ventajas frente a los anticuerpos convencionales, destacándose su alta estabilidad y facilidad de expresión en sistemas procariontes. A partir de una llama (*Lama glama*) inmunizada con proteína N se seleccionó mediante Phage Display un par de nanobodies de alta afinidad contra este antígeno, utilizados para optimizar un ensayo ELISA que permitiera su detección. Apuntando a obtener un test de alta sensibilidad, el mismo fue diseñado en formato bioluminiscente, para lo cual el nanobody de detección fue expresado en forma recombinante fusionado a NanoLuc, una enzima luciferasa de pequeño tamaño que se destaca por su alta intensidad de luminiscencia y buena estabilidad. Mediante el análisis de muestras de hisopado nasofaríngeo previamente caracterizadas por RT-qPCR (positivas n=47, negativas n=68) se determinó que la sensibilidad del test es 79% y su especificidad es 100%, valores comparables a los de tests de antígeno disponibles comercialmente. Se trata de un ensayo altamente sensible y de bajo costo, que utiliza reactivos fácilmente reproducibles a partir de su secuencia aminoacídica y que pueden producirse en forma recombinante con buenos rendimientos. P.S. agradece a la ANII por su beca de maestría.

Palabras clave: Inmunoensayo ELISA, nanobodies, NanoLuc, test de antígeno

094

Generación de anticuerpos monodominio biespecíficos con potencial aplicación en terapia antitumoral

Duarte, Diego¹; **Moreno, María**²; **González, Gualberto**¹

¹ *Laboratorio de Inmunología Instituto de Higiene, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República*

² *Departamento de Desarrollo Biotecnológico Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República*

Introducción: Los anticuerpos biespecíficos son una gran familia de proteínas que tienen la capacidad de reconocer dos antígenos o epítopes diferentes. Están presentes en una gran variedad de formatos y una alternativa que está teniendo un rápido crecimiento es la generación de los mismos utilizando anticuerpos monodominio (nanobodies (Nbs)).

Hipótesis: Provocar un efecto antitumoral en modelos murinos de tumores empleando nanobodies biespecíficos (b-Nbs), generados por la combinación de diferentes Nbs con un Nb antiPD-L1, de forma que:

1-Promuevan una conexión entre células inmunes efectoras y células tumorales.

2-Aumenten la especificidad de unión hacia células dendríticas.

Materiales y métodos: Producción de b-Nbs de forma recombinante en *E. coli* o HEK293T. Evaluación de su funcionalidad mediante ELISA y citometría de flujo. Evaluación de la actividad antitumoral en modelo B16F10 ratones C57Bl/6 y CT26 en ratones Balb/c.

Resultados: En el modelo B16F10 la combinación de un Nb anti-PD-L1 con un Nb contra un receptor de células dendríticas fue la que mostró un mayor efecto, aunque el mismo fue moderado. En el modelo CT26 el mismo biespecífico mostró un potente efecto antitumoral.

Discusión: El efecto antitumoral puede deberse a la conexión dendrítica-célula tumoral y/o un aumento de especificidad de unión por células dendríticas actuando como inhibidor de punto de control.

Conclusiones: Mediante el uso de un b-Nb generado por la combinación de un Nb contra un receptor de células dendríticas y un Nb contra PD-L1 se observó un potente efecto antitumoral en el modelo CT26.

Palabras clave: b-Nbs, terapia antitumoral, anti-PD-L1, CT26

095

Peptidomiméticos de los receptores *scavenger* CD5 y CD6 como potenciales agentes profilácticos en hidatidosis experimental

González-Porcile, Clara¹; Miles, Sebastián¹; Iriarte, Andrés²; Mourglia-Ettlin, Gustavo¹

¹Área Inmunología - DEPPIO - Facultad de Química, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Biología Computacional - Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La hidatidosis es la zoonosis parasitaria causada por el cestodo *Echinococcus granulosus sensu lato*. En humanos, la remoción quirúrgica de quistes puede generar recidivas, evidenciando la necesidad de terapias profilácticas. En este sentido, nuestro grupo reportó que la administración exógena de los ectodominios recombinantes solubles de los receptores *scavenger* humanos CD5 y CD6 (rshCD5 y rshCD6) induce protección en el modelo murino de hidatidosis secundaria. Además, observamos que ambas proteínas inducen fenómenos de inmunomodulación en ratones infectados y exhiben efectos antiparasitarios intrínsecos en ensayos *in vitro*. Los efectos profilácticos inducidos por rshCD5 y rshCD6 son potencialmente capaces de ser replicados por peptidomiméticos. Mediante estrategias *in silico* se diseñaron 6 peptidomiméticos que fueron sintetizados comercialmente. Luego, su actividad antiparasitaria intrínseca fue analizada en cultivos anéxicos de protoscolec. Como resultado los peptidomiméticos mostraron diferencias en la acción protoscolicida, tanto entre ellos como respecto a sus proteínas de origen. Por otro lado, mediante ensayos de citotoxicidad sobre macrófagos RAW264.7, y ensayos de actividad hemolítica, se evaluó la biocompatibilidad de los peptidomiméticos con sistemas mamíferos, donde no se observaron efectos potencialmente tóxicos. Finalmente, los ensayos de protección profiláctica en el modelo murino de hidatidosis secundaria mostraron resultados promisorios para los peptidomiméticos del receptor CD5. En suma, nuestros resultados sugieren que la acción profiláctica de rshCD5 frente a la hidatidosis secundaria podría ser replicada mediante el uso de peptidomiméticos, abriendo así nuevas oportunidades para la prevención de potenciales recidivas quirúrgicas.

Palabras clave: *Echinococcus granulosus*; peptidomiméticos; receptores *scavenger*

148

Papel de la glicosilación alterada del VEGF en cáncer de pulmón

Cedrés, María Eugenia^{1,2}; da Costa, Valeria¹; Giacomini, Cecilia²; Freire, Teresa¹

¹Laboratorio de Inmunomodulación y Vacunas, Depto de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

La glicosilación alterada es un fenómeno muy común en los adenocarcinomas. La glicosilación participa en fenómenos de adhesión, migración y proliferación de las células tumorales y su alteración se ha relacionado con la agresividad y la menor supervivencia de pacientes con cánceres epiteliales. Nuestro grupo de trabajo ha puesto a punto un modelo preclínico de cáncer de pulmón que permite analizar el papel de la alteración de la glicosilación en el crecimiento tumoral, en la evasión inmunológica y en el proceso de angiogénesis. Nuestros resultados muestran que los tumores con glicosilación alterada secretan mayores niveles del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) lo que se asocia a su vez a una mayor inmunoregulación en el microambiente tumoral y un proceso potenciado de vascularización. De hecho, las células tumorales con glicosilación alterada promueven una mayor tubulogénesis y migración de células endoteliales *in vitro*, que se inhibe al bloquear VEGF. Por ello, nos focalizamos a analizar como la glicosilación alterada puede favorecer la función del VEGF. Para ello produjimos VEGF recombinante en las células tumorales de pulmón con glicosilación normal y alterada, para estudiar su glicosilación y cómo ésta se asocia con la capacidad de activar su receptor específico. Estos resultados contribuirán a la comprensión de los mecanismos moleculares asociados a la glicosilación aberrante y su función en la angiogénesis en el cáncer de pulmón.

Palabras clave: cáncer de pulmón, VEGF, glicosilación aberrante

196

Estudio del impacto del estrés materno sobre la composición de la leche durante la lactancia exclusiva

Herrera, María Laura¹; Pomi, Julieta¹; Rodríguez-Camejo, Claudio¹; Puyol, Arturo²; Farías, Carolina³; Hernández, Ana¹

¹Cátedra de Inmunología, IQB/Faculta de Ciencias-DEPBIO/Facultad de Química

²Banco de Leche Humana-CHPR

³Instituto de Psicología de la Salud, Facultad de Psicología

La leche materna aporta componentes nutricionales y bioactivos con efectos beneficiosos sobre la salud infantil. Su composición es dinámica, altamente variable e influenciada por la fisiología materno/infantil. Nos preguntamos si el estrés materno podría impactar en la composición de la leche a través de circuitos psico-neuro-endócrinos. Se estudió un grupo de 52 madres primerizas (33 años promedio), con partos a término (47.4% cesáreas), nivel educativo medio-superior y actividad laboral remunerada (93-95% respectivamente). La lactancia exclusiva hasta los seis meses fue mantenida por 49/52. En dos momentos (2-3 y 5-6 meses postparto) se valoró el estrés materno mediante cuestionarios de escala de estrés percibido (EEP) y se analizaron muestras de leche matinales correspondientes. Se observó un incremento secuencial en los scores de EEP (medianas: 29 vs 32, $p=0.0001$), con valores similares de cortisol en leche (3.9 vs 2.9 ng/ml). La concentración de macronutrientes no cambió significativamente: proteínas (14.8 vs 15.2 mg/ml), carbohidratos (108.1 vs 105.2 mg/ml), grasas (29.3 vs 28. mg/ml). Los niveles de anticuerpos IgA (167.0 vs 167.7 $\mu\text{g/ml}$) e IgG (15.2 vs 15.8 $\mu\text{g/ml}$) también fueron constantes, observándose una correlación significativa entre IgA y cortisol ($r=0.2356$; $p=0.021$). Es relevante que un aumento del estrés materno en un periodo breve no implique cambios significativos en las propiedades nutricionales e inmunológicas de la leche. Los resultados indican que el cortisol en leche no es un buen biomarcador de estrés, pero podría participar en la regulación neuroendócrina de la producción de IgA en glándula mamaria y/o el "homíng" de plasmocitos.

Palabras clave: estrés, leche materna, lactancia, anticuerpos, cortisol

230

El efecto adyuvante de la región Fc aumenta cientos de veces adicionando un dominio anti-CD11C en antígenos quiméricos

Padula, Carolina¹; Rossotti, Martín²; Lassabe, Gabriel¹; González-Sapienza, Gualberto¹

¹Área Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, Universidad de la República

²Human Health Therapeutics Research Centre, National Research Council Canada, Ottawa, ON, Canada

La región Fc de anticuerpos confiere efecto adyuvante al incorporarla en antígenos quiméricos; por otro lado, el direccionamiento (*targeting*) de antígenos mediante su fusión a anticuerpos contra receptores de células dendríticas (CD) también potencia la respuesta inmune contra los mismos. En nuestro grupo se han seleccionado anticuerpos monodominio (*nanobodies*-Nbs) contra el receptor CD11c murino, marcador de CD. Inicialmente, la capacidad de *targeting* de estos Nbs se exploró generando una quimera con la región Fc de la IgG1 humana como antígeno (Nb-hFc), que se expresó en células HEK293T en forma de homodímero. En ratones inmunizados con una única dosis de 2 μg y sin adyuvante, se obtuvo un título de anticuerpos IgG contra hFc de $\approx 1/10000$ a los 7 días, 100 veces superior al obtenido cuando el Nb anti-CD11c se sustituyó por un Nb irrelevante. Esta respuesta se incrementó en un orden, entrecruzando el Nb-hFc con un anticuerpo anti-humano en la inmunización. Se trató de reproducir este efecto con ovoalbúmina como antígeno modelo en una quimera similar, con o sin hFc, y los resultados demostraron que el *targeting* provisto por el Nb anti-CD11c y el efecto adyuvante del componente Fc funcionan en forma sinérgica y presentan gran potencial para mejorar la respuesta inmune contra antígenos vacunales. Actualmente estamos trabajando en la generación de antígenos quiméricos que incluyan ambos elementos, así como en la introducción de Nbs agonistas del receptor CD40 como dominios activadores, para lo cual ya se han seleccionado candidatos por *phage display*.

Palabras clave: nanobodies, Fc, células dendríticas, inmunización

250

Desarrollo de un método diagnóstico para la neosporosis bovina

Ruppel, Florencia¹; Echeverría, Soledad¹; Giannitti, Federico²; da Silva Silveira, Caroline²; Armendano, Joaquín³; Cabrera, Andrés^{1,4}; Robello, Carlos^{1,5}

¹Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Plataforma de Investigación en Salud Animal

³Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina

⁴Unidad de Microbiología, Departamento de Patobiología, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay

⁵Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay

Neospora caninum es un parásito intracelular obligatorio, considerado uno de los principales agentes causantes de aborto en el ganado bovino a nivel mundial, provocando pérdidas económicas severas en la industria ganadera. El diagnóstico de la neosporosis en sistemas de producción extensivos presenta importantes limitaciones, debido principalmente a la dificultad en la recuperación de fetos abortados. En este contexto, las técnicas serológicas indirectas permiten una aproximación en la asociación del aborto con *N. caninum*. Es así que, utilizando como herramienta la reciente caracterización de aislados autóctonos de *Neospora caninum*, el objetivo del presente estudio es desarrollar un ELISA *in house* para el diagnóstico serológico de la neosporosis bovina, buscando disminuir costos, aumentando la sensibilidad y especificidad de la técnica.

Tras el escalado y producción del aislado Nc-Uru1, se optimizó un protocolo para la obtención de proteínas totales a partir de taquizoítos del parásito. Se sensibilizaron placas con los antígenos generados, y se analizó un banco de sueros procedentes de cuatro tambos con historia reciente de abortos (n=227), previamente caracterizados por medio de cuatro kits diagnósticos comerciales. Como resultado, se pudo determinar un punto de corte ("*cut off*") para el ELISA *in house* desarrollado, que permite predecir los resultados obtenidos con los kits comerciales. Según el criterio de unanimidad, el *cut off* fue de 0,261, con una Sensibilidad de 87,4% y una Especificidad de 87,1%. Paralelamente, se analizaron las muestras mediante la técnica de Western Blot, de forma de mejorar la validación del ELISA desarrollado.

Palabras clave: *Neospora caninum*, diagnóstico, serología

MICROBIOLOGÍA

001

Caracterización de las comunidades microbianas involucradas en el proceso de remoción biológica de fósforo en plantas de tratamiento de aguas residuales

Martínez, Andrea¹; Etchebehere, Claudia¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

El fósforo es un insumo fundamental en la producción mundial de alimentos por su uso como fertilizante. A su vez, representa un importante problema ambiental por ser uno de los principales contaminantes del agua, ya que su descarga estimula la eutrofización en los ecosistemas, por lo que debe ser eliminado de las aguas residuales antes de su vertido. La remoción biológica de fósforo a través de la tecnología *Enhanced Biological Phosphorus Removal* (EBPR) puede ser utilizada como parte del tratamiento secundario de las aguas residuales mediante el sistema de lodos activados.

Este proceso presenta importantes ventajas económicas y ambientales frente a la precipitación fisicoquímica y significa un paso fundamental para la recuperación posterior del fósforo.

En este trabajo se realizó la caracterización microbiológica mediante secuenciación masiva del gen 16S rRNA de lodos de sistemas de lodos activados de tres plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) instaladas en Uruguay: una maltería, una avícola, y una de aguas residuales domésticas.

Este análisis permitirá obtener información sobre la presencia, abundancia y composición de grupos de organismos relevantes en el proceso de remoción biológica de fósforo, en particular, sobre los organismos acumuladores de fósforo (PAO). Los resultados de este análisis aún están siendo procesados, y significarán un insumo inicial fundamental para el trabajo a futuro donde se realizará la instalación y seguimiento de reactores EBPR a escala de laboratorio, alimentados con efluentes reales, con el objetivo de contribuir al desarrollo de esta tecnología en las PTAR instaladas en el país.

Palabras clave: remoción biológica de fósforo, organismos acumuladores de fósforo

007

Obtención y caracterización de mutantes del rizobio *Cupriavidus* sp. UYMMa02a involucrados en las primeras etapas de la interacción con plantas hospederas

Ferreira, Virginia¹; Armand Ugón, Virginia¹; Eastman, Ignacio¹; Rodríguez, Cecilia¹; Platero, Raúl¹

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

Las simbiosis entre leguminosas y rizobios aumentan la fertilidad del suelo y el rendimiento de los cultivos mediante la fijación biológica de nitrógeno (FBN).

Los rizobios se adaptan a diferentes condiciones ambientales y eventualmente nodulan las raíces o los tallos de plantas leguminosas compatibles, llevando a cabo la FBN. En Uruguay, se ha encontrado una gran variedad de especies de leguminosas nativas naturalmente noduladas por beta-rizobios, en su mayoría pertenecientes al género *Cupriavidus*.

Teniendo en cuenta que la mayor parte del conocimiento sobre la base genética de la simbiosis se basa en cepas modelo pertenecientes a alfa-rizobios, resulta necesario estudiar los mecanismos implicados en el establecimiento de simbiosis entre beta-rizobios y leguminosas.

Nuestro grupo de investigación ha determinado un importante número de genes y proteínas expresados diferencialmente por *Cupriavidus* sp. cepa UYMMa02A, cuando la misma es expuesta a la presencia de flavonoides inductores de la nodulación o cuando es cultivada en presencia de su planta hospedera. En este trabajo se generaron mutantes nulos de genes expresados diferencialmente con el objetivo principal de determinar la importancia y el rol de estos genes durante la vida libre de este rizobio y durante su interacción simbiótica con Mimosas. Para ello, se construyeron vectores no replicables para llevar a cabo las mutaciones sitio dirigidas en los genes de interés en la cepa UYMMa02A.

El estudio de estas funciones permitirá esclarecer su participación en la interacción beta-rizobio-leguminosa, y por otro lado generará conocimiento sobre factores moleculares implicados en la promoción de crecimiento y salud vegetal.

Palabras clave: rizobios, leguminosas, simbiosis.

008

Descripción de '*Candidatus Methylobacter titanii*', la primera especie de *Methylobacter* clado 2 obtenida de la Antártida

Roldán, Diego M. ¹; Menes, Rodolfo Javier ¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Microbiología, Departamento de Biociencias (Facultad de Química) y Unidad Asociada del Instituto de Química Biológica (Facultad de Ciencias), UdelaR, Montevideo, Uruguay

El género *Methylobacter* fue propuesto por Bowman en 1993. Consta de 5 especies y 2 especies candidatas. El género pertenece a los metanótrofos Tipo-I (*Gammaproteobacteria*) y dentro de este grupo los del clado 2 son los más ubicuos y activos en varios ecosistemas, principalmente terrestres y de agua dulce. Hasta la fecha no se han comunicado aislamientos ni genomas pertenecientes a este clado provenientes del hemisferio sur. El objetivo de este estudio fue caracterizar enriquecimientos de metanótrofos colectados de sedimentos lacustres en la Península Fildes (Isla Rey Jorge, Antártida). Se analizaron 4 enriquecimientos por secuenciación masiva y herramientas bioinformáticas para el ensamblado de los genomas a partir de metagenomas (MAG), identificando los correspondientes a metanótrofos. La filogenia basada en el gen ARNr 16S ubicó a las cepas K-2018 MAG008 y D1-2020 MAG004 dentro de *Methylobacter* clado 2, con alta similitud a *M. tundripaludum* SV96^T (97,88-98,56% respectivamente).

Se determinaron los valores de identidad nucleotídica promedio (ANI) con resultados <95% (84,8-85,0%) y valores de hibridación ADN-ADN digital (dDDH) con resultados <70% (30,2-30,3%). Los análisis cinéticos de los enriquecimientos mostraron valores de constantes de afinidad Km (13,0-17,0 μmol) y v_{max} (0,04 μmol·h⁻¹) de consumo de metano que indican una baja afinidad por el sustrato y óptimos de actividad cercanos a los 15 °C.

En conclusión, se propone una nueva especie candidata '*Candidatus Methylobacter titanii*' que representa la primera especie del clado 2 del género *Methylobacter* obtenida de la Antártida.

Palabras clave: Antártida, lagos polares, metano, metanótrofos, *Methylobacter* clado 2

016

Dissecting Hepatitis C virus translation efficiency from a population standpoint

Echeverría, Natalia^{1,2}; **Perbolianachis, Paula**^{1,2}; **Gámbaro, Fabiana**¹; **Amaya, Lucas**³; **Beaucourt, Stéphanie**⁴; **Cristina, Juan**¹; **Moratorio, Gonzalo**^{1,2}; **Moreno, Pilar**^{1,2}

¹Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay

³Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno" (CEMIC), Buenos Aires, Argentina

⁴Viral Populations and Pathogenesis Laboratory, Institut Pasteur, Paris, France

Background/Aims: Hepatitis C Virus (HCV) is an RNA virus which recruits the ribosome directly to a structured region of the 5' end of the genome: the internal ribosome entry site (IRES). Although it is highly conserved, nucleotide (nt) variations may result in inefficient translation. Hence, this work aims to dissect the translation efficiency of HCV populations to select impaired translation variants. In addition, the contribution of intra-host IRES translation heterogeneity is explored.

Methods: Natural IRES variants were studied using chimeric reporter full-genome HCV clones (non-replicative). *In vitro* transcribed viral RNAs were co-transfected with a capped reporter mRNA into Huh7.5 cells to study relative translation efficiency (RTE) by bioluminescence assays. Results were compared to those obtained *in vitro*. IRES intra-host variability was recapitulated in *ex vivo* assays with transfected RNA amounts resembling each variant frequency within the viral population. Viruses harbouring low efficiency variants (LEVs) were generated in cell-culture for future long-term stability assays.

Results: Some low frequency (<10%) and master variants exhibit a statistically significant 40–70% reduction in RTE. Some variants exhibit dissimilar behavior in terms of RTE between *ex vivo*/full genome and *in vitro*/bicistronic assays. IRES heterogeneity seems to increase translation efficiency. Some LEVs show slower replication kinetics during initial steps of viral generation.

Conclusions: Different natural IRES variants exhibit dissimilar RTEs. Cellular and viral genetic contexts play key roles in IRES-driven translation studies. Translation efficiency seems to be affected and modulated at the population level. Finally, we confirmed that some LEVs have an attenuated phenotype *ex vivo*.

Keyword: translation efficiency, HCV clones, low efficiency variants, translation attenuation

017

Microbiota fecal del cerdo Pampa Rocha, recurso genético propio de la zona este uruguaya

Gastón, Azziz¹; **Giménez, Matías**²; **Carballo, Cecilia**³; **Espino, Nandy**³; **Barloco, Nelson**³; **Batista, Silvia**²

¹Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

²Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

³Unidad de Producción de Cerdos, Centro Regional Sur, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

El cerdo Pampa Rocha (PR) es una raza que surge en la zona este de Uruguay como consecuencia del asilvestramiento de cerdos inicialmente introducidos por colonizadores españoles y portugueses durante el siglo XVIII. Estos cerdos se caracterizan por presentar una rusticidad tal que los hace aptos para la cría en sistemas al aire libre, con mínima utilización de antibióticos como agentes terapéuticos. A pesar de su valor como recurso genético, la orientación en la producción de cerdos hacia sistemas intensivos ha resultado en que la explotación comercial de esta raza sea prácticamente inexistente. La cría de estos animales se encuentra limitada fundamentalmente a emprendimientos con fines de conservación, de investigación y educacionales. A modo de valorizar el recurso genético que representa el cerdo PR, en este trabajo nos propusimos caracterizar la microbiota fecal analizando muestras de cuatro hembras adultas. Se secuenció mediante Illumina, los amplicones del gen del ARNr 16S obtenido de muestras de ADN de heces de estos cerdos. Los resultados obtenidos se compararon con aquellos equivalentes obtenidos de otros cerdos y depositados en bases de datos públicas. Las estructuras poblacionales de la microbiota fecal de PR fueron comparadas con las de otras 5 razas y cruza de cerdos. Los resultados obtenidos permiten concluir que las microbiotas de las distintas razas se diferencian entre sí en todos los niveles taxonómicos analizados. La microbiota del cerdo PR presentó dos familias y cuatro géneros indicadores, los cuales están asociados principalmente a la digestión de fibras.

Palabras clave: microbiota fecal, producción de cerdos, recursos genéticos animales

021

Diversity and functional role of the phylum Chloroflexi in aerobic and anaerobic full scale wastewater treatment systems through metagenome-assembled genomes analysis

Bovio-Winkler, Patricia¹; **Cabezas, Angela**²; **Etchebehere, Claudia**¹

¹*Microbial Ecology Laboratory, Department of Microbial Biochemistry and Genomic, Biological Research Institute "Clemente Estable", Avenida Italia 3318, CP: 11600, Montevideo, Uruguay*

²*Instituto Tecnológico Regional Centro Sur, Universidad Tecnológica, Francisco Antonio Maciel s/n, CP: 97000, Durazno, Uruguay*

Wastewater could be treated in aerobic (activated sludge) or anaerobic (methanogenic), systems. Although both processes perform the organic matter degradation, the metabolic pathways and the microbial communities involved are very different. The phylum Chloroflexi is abundant in both systems, but its metabolic role in these different systems remains unknown due to the lack cultured representative species. This work aims to determine the phylogenetic position and physiology of Chloroflexi in these systems. For that, we analyzed metagenomes from 31 activated sludge (AS) and 37 methanogenic fullscale reactors available in databases. 558 metagenome assembled genomes (MAGs) affiliated to the Chloroflexi were obtain. Aerobic and methanogenic reactors presented different Chloroflexi families. Interestingly, 107 MAGs (dereplicated high-quality MAGs (>90 completeness, <5 contamination) were not detected in the Genome Taxonomy database (GTDB). This indicates that a high proportion of Chloroflexi species involved in wastewater treatment still remains unknown. The functional analysis showed that most of MAGs presented diverse genes for the degradation of complex organic carbon substrates. But the pathways to obtain energy are different, Chloroflexi members from aerobic reactors have the potential to perform aerobic and anaerobic respiration and the ability to ferment.

Meanwhile, Chloroflexi members from methanogenic reactors showed the potential to perform only fermentation. Our work showed that Chloroflexi from aerobic and anaerobic reactors are phylogenetically different, shared the hydrolytic capability but presented different ways to obtain energy. A large genome catalogue was obtained for future analyses to decipher their role in a wide diversity of ecosystems.

Keywords: Chloroflexi, metagenomes, MAGs, diversity, meta-analysis

023

Comunidad microbiana en suelos bajo campo natural y mejoramiento extensivo de la región centro-sur

Gastón, Azziz¹; **Frade, Cristina**²; **Valverde, Ángel**²; **Igual, José M.**²; **Del Pino, Amabelia**³; **Rodríguez, Andrea**¹; **Lezama, Felipe**⁴

¹*Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República*

²*Grupo de Interacción Planta-Microorganismo, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca, CSIC, España*

³*Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República*

⁴*Departamento de Sistemas Ambientales. Facultad de Agronomía, Universidad de la República*

La ganadería es una actividad económica de suma importancia para nuestro país. La producción de ganado se puede realizar sobre campo natural, aunque cada vez es más frecuente la utilización de sistemas más intensivos. Una de las prácticas habituales es el mejoramiento del campo natural, el cual se basa en la siembra de una leguminosa sobre la vegetación existente y la aplicación de fertilizante fosforado. En este contexto, se lleva a cabo por parte de los Departamentos de Sistemas Ambientales y Suelos y Agua de FAGRO, un proyecto cuyo objetivo es conocer el efecto de estas prácticas sobre la comunidad vegetal del campo natural y las propiedades químicas del suelo. A partir de ese proyecto surge como pregunta qué sucede con las comunidades microbianas del suelo. Para conocer el impacto de esta práctica sobre dichas comunidades se seleccionaron 5 sitios pareados (consistentes en parcelas lindantes de campo natural y mejoramiento) en la región Centro-Sur (Florida y Lavalleja). Se extrajo ADN de muestras de suelo y se secuenciaron los amplicones de los genes del ARNr16S, ITS y phoD, con el fin de determinar las poblaciones de bacterias, hongos y microorganismos mineralizadores de P, respectivamente. Asimismo, se determinaron las actividades enzimáticas de las muestras y el perfil de ácidos grasos derivados de fosfolípidos.

Los resultados se encuentran actualmente en análisis, y las conclusiones que surjan de ellos serán presentadas en el congreso.

Palabras clave: diversidad microbiana, mineralización de fósforo, praderas naturales

030

Resistencia transferible a fosfomicina en cepas productoras de carbapenemasas en Uruguay

Cristóforo-Sírtori, Lucía¹; López-Vega, Mariana²; Bado, Inés¹; Camou, Teresa²; Vignoli, Rafael¹; García-Gabarrot, Gabriela²; García-Fulgueiras, Virginia¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdeLaR

²Unidad de Bacteriología, Departamento de Laboratorios, Ministerio de Salud Pública icristofalo@higiene.edu.uy

Introducción: en *Enterobacteriaceae* la resistencia antibiótica a carbapenemes es un problema creciente y las carbapenemasas son el principal mecanismo de resistencia involucrado.

Hipótesis: *Klebsiella pneumoniae* es la especie productora de carbapenemasas preponderante.

Materiales y métodos: Identificación/susceptibilidad antibiótica de enterobacterias resistentes a carbapenemes (*Vitek2-System*, programa de vigilancia MSP-2019). Caracterización por PCR de carbapenemasas.

Resistencia a fosfomicina (RFOS) y colistina (RCOL) según: diluciónagar (EUCAST-2021) y test-Enterobacteriales (CLSI-2021), respectivamente.

En cepas resistentes PCR para: *fosA3* (RFOS) y *mcr-1* (RCOL).

Ensayos de movilidad plasmídica: cepa receptora *E.coli*-J53-2/rifampicina (150ug/mL)-ceftazidime-(2ug/mL).

Resultados: Se identificaron 63 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* (Kpn, 85%) y 11 de *Escherichia coli* (Eco, 15%) productoras de carbapenemasas (total=74). Para Kpn la distribución de genes fue: 42 *bla*_{NDM}, 19 *bla*_{KPC}, 1 *bla*_{OXA-48}, 1 *bla*_{NDM}-*bla*_{KPC}; para Eco: 7 *bla*_{NDM}, 3 *bla*_{KPC}, 1 *bla*_{NDM}-*bla*_{KPC}.

En 5% de las cepas se encontró RFOS mediado por *fosA3*: 3 Eco (27%), 1 Kpn (2%) y RCOL en 7%: 5 Kpn (8%); *mcr-1* no fue detectado. No hubo aislamientos RFOS/RCOL. Se encontró 73% de plásmidos conjugativos y *bla*_{NDM} se movilizó más frecuentemente (76%) que *bla*_{KPC} (63%).

Discusión: Kpn productora de carbapenemasas fue preponderante. NDM fue la principal carbapenemasa con gran capacidad de diseminación. Los niveles globales de RFOS/RCOL fueron bajos, pero en Eco se destaca RFOS elevada (27%) y no se detectó RCOL donde Kpn fue responsable de esta resistencia. La elevada detección de RFOS transferible es alarmante para Eco y podría dificultar el tratamiento antibiótico empírico con fosfomicina.

Palabras Clave: Enterobacterias, Carbapenemasas, Resistencia a Fosfomicina

036

Relevamiento de plagas y patógenos que afectan a las abejas melíferas en Uruguay

Palacios, Sofía¹; Arredondo, Daniela¹; Campá, Juan²; Zunino, Pablo¹; Antúnez, Karina¹

¹Laboratorio de Microbiología y Salud de las Abejas, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay

²Dirección de Laboratorios Veterinarios, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Montevideo, Uruguay

En los últimos años, la preocupación por las pérdidas de colonias de abejas *Apis mellifera* ha crecido en todo el mundo. En Uruguay, estas pérdidas alcanzan el 20-30% anual, siendo las infecciones por plagas y patógenos una de las principales causas. El objetivo de este trabajo fue realizar un relevamiento a nivel nacional de las principales plagas y patógenos que afectan a estas abejas. En otoño-invierno muestreamos 100 colonias de todo el país, de forma representativa según la densidad de colonias por departamento. Analizamos la presencia del ácaro *Varroa destructor* y virus ARN en abejas nodrizas, los hongos *Nosema apis* y *Nosema ceranae*, y el tripanosomátido *Lotmaria passim* en abejas pecoreadoras y la bacteria *Paenibacillus larvae* en miel, siguiendo métodos estándar (recuento directo y microscópico, cultivo microbiológico, PCR, RT-qPCR). Los patógenos más prevalentes fueron *V.destructor*, *L.passim* y *N. ceranae* (62, 60 y 55%). Le siguen el Virus de las alas deformes (30,6%), el Virus de la cría ensacada (26,5%), el virus de la parálisis crónica (24,5%) y el Virus de las celdas reales negras (22,4%). Finalmente, *P.larvae* presentó una prevalencia de 10% y el Virus de la parálisis aguda 6,1%. No se detectaron el Virus de la parálisis aguda israelí, el virus Kashmir ni *N.apis*. Estos resultados muestran que los principales patógenos están presentes y ampliamente distribuidos en Uruguay, y a la vez resalta la importancia de los monitoreos para alertar sobre la situación sanitaria y el ingreso de nuevas amenazas.

Palabras clave: pérdida de colmenas, Uruguay, patógenos

040

Seguimiento de genes de resistencia a antibióticos críticos en diferentes etapas de la vida productiva del ave

Coppola Nadia¹; Cordeiro Nicolas¹; Trenchi Gustavo²; Bado Ines¹; Vignoli Rafael¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Veterinario de libre ejercicio de la profesión

La resistencia antimicrobiana (RAM) está aumentando en todo el mundo. Las cefalosporinas de tercera generación (C3G) y quinolonas son considerados antibióticos de importancia crítica por la OMS. Uruguay desarrolla políticas para contener la RAM en salud animal desde el 2011. Pero la importación de animales vivos podría introducir microorganismos multidrogo-resistentes (MDRO). Buscamos detectar genes de resistencia a C3G y quinolonas en diferentes etapas de la vida del ave. Muestreamos, 2 embarques de aves importadas de Brasil al día 1, a las 5, 18 y 30 semanas de vida, en 2021. Se aislaron *E. coli* resistentes, se identificaron por Maldi-Tof, se estudiaron los perfiles de resistencia por disco difusión y los genes de RAM por PCR. Estudiamos 68 *E. coli*, 33/68 fueron productoras de BLEE. Al día 1, a las 5 y 30 semanas se aislaron *E. coli* con el gen *bla*_{CTX-M-8} y con *bla*_{CTX-M-55} y *bla*_{CTX-M-8} simultáneamente. En todas las fechas se observó *E. coli* con *bla*_{CTX-M-55}. 32/68 *E. coli*, portaban genes *qnr*. Donde el gen *qnrA* se observó en las 4 fechas. A partir de la semana 5 el gen *qnrB* y en la semana 18 *qnrE*. Se evidenció la presencia y permanencia de BLEE y genes *qnr*, en diferentes etapas de la vida productiva del ave. Demostrando que los mecanismos de resistencia que ingresan al país con las aves, se mantienen en el tiempo, pudiendo estos animales actuar como reservorios de dichos genes siendo un potencial riesgo para la salud animal y humana.

Palabras clave: resistencia, aves, BLEE, *qnr*

042

La resistencia del aire: búsqueda de mecanismos de resistencia antibiótica a partir de muestras de aire

Ferreira, Federica¹; Tequer, Lea²; Macció, Laura³; Vignoli, Rafael¹; Bado, Inés¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR

²Universidad ORT Uruguay

³Laboratorio Aravanlabs

La avicultura utiliza antibióticos para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas. Su excesiva utilización conlleva a la aparición de bacterias multirresistentes, implicando un riesgo para la salud animal y humana.

Hipótesis: existen bacterias con resistencia a antibióticos en muestras de aire de avícolas.

Se analizaron 27 muestras de aire, recuperadas mediante el equipo CAPTŪS, de dos avícolas durante el periodo septiembre-octubre 2021. Los bacilos Gram negativos (BGN), obtenidos a partir de estas muestras, capaces de crecer en medios suplementados con ciprofloxacina, ceftriaxona o colistin, fueron identificados mediante MALDI-TOF y su susceptibilidad antibiótica estudiada utilizando antibiograma por disco-difusión, siguiendo las normas CLSI. Se determinó la presencia de mecanismos de resistencia mediante PCR.

Resultados: Se obtuvieron 27 aislamientos de BGN; (11) *E. coli*, (7) *E. cloacae*, (4) *Pseudomonas spp.*, (2) *Acinetobacter spp.*, (1) *K. pneumoniae*, (1) *Alcaligenes spp* y (1) *M. organii*. 14/27 aislamientos fueron resistentes a ceftriaxona, 8 a amoxicilina-ácido clavulánico, 5 a cefepime, 2 a ceftazidime, y uno a ciprofloxacina y gentamicina. Todos los aislamientos fueron sensibles a trimetoprim-sulfametoxazol. 2/27 aislamientos presentaron sinergia positiva para beta-lactamasas de tipo AmpC y 4/27 presentaron betalactamasas de espectro extendido, (4) CTX-M-2, (2) CTX-M-grupo3 y (2) CTX-M-15. Se detectaron genes de resistencia a antibióticos considerados de importancia crítica para la salud humana en muestras de aire. Este trabajo expone los tres pilares considerados en el concepto de Una Salud, donde el ambiente de los servicios avícolas presenta microorganismos potencialmente peligrosos para los seres humanos.

Palabras clave: Resistencia Antimicrobiana; Una Salud; Salud Animal; Granjas; Aire

050

Metanogénesis en lagos antárticos: potencial de producción de metano y diversidad de arqueas metanogénicas

Machin, Valentina¹; Menes, Javier¹

¹Área de Microbiología, Facultad de Química y Unidad Asociada a Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El metano es uno de los principales gases de efecto invernadero que contribuye al cambio climático. En particular, en la Antártida se observó un aumento de la temperatura de 3,4 °C en los últimos 50 años. Por lo tanto, es de crucial interés obtener información del comportamiento de las arqueas metanogénicas con la temperatura. El objetivo del

trabajo fue estudiar el efecto del aumento de temperatura (5-20 °C), y la adición de sustratos metanogénicos (acetato e H₂/CO₂), sobre la velocidad de producción de metano (VPM) y estructura de la comunidad metanogénica en seis lagos de agua dulce de la Antártida marítima (Isla Rey Jorge). En ensayos en microcosmos, se observó que el incremento de la temperatura aumentó significativamente las VPM a 20 °C. La adición de sustratos metanogénicos también tuvo un efecto potenciador en la metanogénesis. Sin embargo, a 20 °C se obtuvieron VPM más altas a partir del H₂/CO₂ con respecto a las VPM obtenidas en microcosmos con acetato. Con la secuenciación masiva de genes ARNr 16S y *mcrA* para el análisis de la comunidad de arqueas y metanógenos, se demostró que los géneros metanogénicos más abundantes fueron *Methanosarcina*, *Methanosaeta* y *Methanobacterium*. Además, se observó que la comunidad de arqueas sufre una reestructuración con el aumento de la temperatura y adición de sustrato metanogénico frente a la comunidad *in situ* y los principales metanógenos involucrados en estas condiciones fueron los pertenecientes a los géneros *Methanosaeta* y *Methanosarcina*.

Palabras claves: Cambio climático, metano, metanógenos, *mcrA*, ARNr 16S

051

Aportes alóctonos y autóctonos del complejo *Microcystis aeruginosa* en el estuario del Río de la Plata

Facundo Lepillanica¹; Gabriela Martínez de la Escalera¹; Carla Kruk^{1,2}; Inés O'Farrell³; Claudia Piccini¹.

¹Lab. Ecología Microbiana Acuática. Depto. Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay

²Facultad de Ciencias y CURE, Universidad de la República (UDELAR), Montevideo, Uruguay

³Depto. de Ecología, Genética y Evolución, Instituto IEGEBA (CONICET-UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Las floraciones tóxicas de cianobacterias del complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) se asocian a las condiciones eutróficas de los ecosistemas acuáticos, agravadas por el crecimiento agroindustrial en Uruguay. En estudios previos propusimos que la clave del éxito del CMA es la presencia de ecotipos especializados en distintas condiciones ambientales de salinidad, temperatura y turbidez. En este trabajo nuestro objetivo fue evaluar los mecanismos que determinan la distribución de estos ecotipos en condiciones de eventos climáticos extremos, analizando la floración del verano de 2019 debida a lluvias y caudales extremos. Para ello, buscamos identificar los principales aportes alóctonos y autóctonos del CMA comparando situaciones de lluvias y caudales habituales con condiciones hidrológicas extremas. Se extrajo el ADN de muestras de agua provenientes del cauce y de embalses de los ríos Negro y Uruguay, así como del Río de la Plata, las que se genotiparon mediante análisis de curvas de desnaturalización (HRM) del gen *mcyJ* y técnicas de aprendizaje automático. Se encontró que bajo condiciones habituales de precipitación los ecotipos que predominan en el río y en sus embalses son los adaptados a agua dulce y cálida, encontrándose hasta la zona media del estuario. En condiciones de precipitaciones extremas, los ecotipos de agua dulce provenientes de embalses y ríos son arrastrados hacia el tramo medio del estuario. Pasado dicho evento, el tramo medio del estuario es nuevamente dominado por ecotipos de aguas salobres y marinas, indicando que son las condiciones locales y estacionales las que determinan qué ecotipos proliferarán en el estuario.

Palabras clave: *Microcystis aeruginosa*, ecotipos, Río de la Plata

053

Producción de ácido láctico y valorización de suero de queso mediante comunidades microbianas

Etchelet, Inés¹; Fuentes, Laura¹; Nunez Ferraz, Antônio Djalma¹; Castelló, Elena²; Etchebehere, Claudia¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Laboratorio BioProa, Facultad de Ingeniería, UdelaR

El ácido láctico es producido a partir de glucosa derivada de materiales almidonados, lo que afecta su costo de producción y puede competir con el suministro de alimentos. El suero de queso es un subproducto generado en grandes cantidades durante la fabricación de queso. La disponibilidad de lactosa y otros nutrientes esenciales para el crecimiento de microorganismos lo hace una potente materia prima para la producción de diferentes bioproductos. El objetivo de este trabajo es estudiar la producción de ácido láctico utilizando suero de queso y comunidades microbianas. Se realizaron experimentos en batch para evaluar la influencia del pH inicial y la

concentración de inóculo en el proceso. Se evaluaron 11 condiciones, tanto en ausencia como presencia de buffer (NaHCO_3). Se determinaron los azúcares reductores totales, la concentración de ácido láctico y el pH. Las comunidades microbianas del inóculo y de las muestras con mayor producción de ácido láctico se analizaron mediante secuenciación masiva del gen del ARNr 16S. En el ensayo sin buffer la máxima producción de ácido láctico (13 g/L) ocurrió a las 48 horas de la condición 4 (pH 7 y 25% de inóculo). La comunidad microbiana estuvo dominada por los géneros *Streptococcus* y *Lactococcus*. En el ensayo con buffer, la máxima producción de ácido láctico (20,1 g/L) correspondió a las 48 horas de la condición 3 (pH 7 y 5% de inóculo). La comunidad estuvo enriquecida con *Lactococcus* y Enterobacteriaceae. Estos resultados son consistentes con la alta producción de ácido láctico obtenida.
Palabras clave: ácido láctico, suero de queso, fermentación

056

Caracterización molecular de especies ambientales del complejo *Cryptococcus neoformans* / *gattii*

Corallo, Belén¹; del Palacio, Agustina¹; Bórmida, Victoria²; Puime, Andrés²; Pan, Dinorah¹

¹Sección Micología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Unidad de Parasitología y Micología, Departamento de Laboratorios de Salud Pública, Ministerio de Salud Pública

Las especies del complejo *Cryptococcus neoformans* / *gattii* son especies responsables de infecciones fúngicas invasivas, la cual ocurre por inhalación de esporas ambientales. Ambos complejos de especies difieren en sus características ecológicas, bioquímicas y genéticas. En este trabajo se identificaron las especies del complejo *C. neoformans* / *gattii* presentes en diferentes reservorios ambientales de Montevideo. Para ello se realizaron muestreos ambientales en los parques urbanos: Parque Rodó, Parque Batlle, Parque Rivera y el Prado durante los años 2017-2018. Las especies de *Cryptococcus* aisladas fueron identificadas mediante estudios morfológicos y pruebas en medio Dprolina y Canavavina-Glicina-azul de Bromotimol. Se realizó además la caracterización genotípica mediante RFLP del gen URA5 y PCRs múltiples específicas para el complejo *C. neoformans* / *C. gattii* y se les determinó la sensibilidad a siete fungicidas mediante la técnica de EUCAST. Se muestrearon 10 especies de árboles, 104 suelos y 92 muestras de guano de aves en los cuatro parques. De los 119 aislamientos obtenidos, 23.5% correspondieron a *C. neoformans* var. *grubii* genotipo VNI A α y 76.5% a *C. gattii* genotipo VGI (Ba, BaBa, Ba). Los aislamientos de *C. gattii* mostraron una menor sensibilidad a los fungicidas estudiados respecto a los aislamientos de *C. neoformans*. Este trabajo permitió realizar por primera vez en el país, una descripción de los genotipos ambientales de *Cryptococcus neoformans* / *gattii* para un abordaje eco epidemiológico de patógenos fúngicos prevalentes e identificar, también por primera vez, a *Eucalyptus robusta* como el principal nicho ambiental de ambos complejos de especies.

Palabras clave: *Cryptococcus*, tipificación molecular, sensibilidad antifúngica, ecoepidemiología

058

Aplicación de la técnica LAMP para la detección de genes de virulencia de STEC en muestras ambientales de agua y fecas de fauna nativa

Figueroa, Yamila^{1*}; Martínez de la Escalera, Gabriela¹; Coitiño, Hugo^{2,3}; Croci, Carolina¹; Bertoglio, Florencia¹; Lepillanica, Facundo¹; Piccini, Claudia¹; Umpiérrez, Ana¹

¹Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avenida Italia 3318 Montevideo, Uruguay

²ONG ECOBIO Uruguay

³INFRAVERDE Uruguay

*yfigueroa89@gmail.com

El virotipo *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno zoonótico y los bovinos son su reservorio principal. En humanos puede producir desde diarrea hasta síndrome urémico hemolítico, asociándose a brotes graves con mortalidad. Además de contaminar alimentos STEC puede persistir en el ambiente, por ejemplo en sistemas acuáticos y animales, constituyendo una importante preocupación para la salud pública. Es por tanto relevante contar con un método rápido y sensible para detectar estos patógenos en el ambiente. La amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) es un método basado en ácidos nucleicos rápido, preciso y fácil de realizar en condiciones de laboratorio y en el campo. El objetivo del trabajo fue poner a punto un protocolo de LAMP para detectar STEC en muestras ambientales. Se emplearon *primers* de la literatura para detectar los genes de virulencia *stx1*, *stx2* (toxinas

Shiga 1 y 2), *rfbE* (marcador O157:H7) y *uidA* (β -glucuronidasa *E. coli*), que se ensayaron en cepas STEC de referencia (ATCC). Una vez confirmada la especificidad de los *primers*, se aplicó el protocolo a fecas de guazubirá, ñandú y carpincho y a muestras de agua obtenidas de la microcuenca del arroyo Los Chanchos (Villa Serrana). Las muestras se procesaron con y sin pre-enriquecimiento en TSB. Se detectó STEC-*stx2+* tanto en muestras de agua como en los enriquecimientos de diferentes puntos de la microcuenca, y ausencia de STEC en fecas. La técnica de LAMP para STEC redujo considerablemente el tiempo de detección del patógeno y evidenció su utilidad para monitoreo ambiental.

Palabras clave: STEC, LAMP, aguas, fecas

061

Explorando las bases moleculares involucradas en la interacción simbiótica entre beta-rizobios y sus leguminosas hospederas

Rodríguez-Esperón, MC^{1,2}; Alonso, Verónica^{1,2}; Eastman, Ignacio^{1,2}; Ferreira, Virginia^{1,2}; Elena, Fabiano²; Platero, Raúl^{1,2}

¹Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Los rizobios, bacterias del suelo pertenecientes a las subdivisiones alfa y beta de proteobacterias, se caracterizan por establecer asociaciones simbióticas con plantas de la familia *Fabaceae* (1). Durante dicha interacción, flavonoides y otros compuestos presentes en los exudados radiculares de la planta hospedera, actúan como inductores de la expresión de genes *nod* bacterianos, claves para el mutuo reconocimiento. Si bien este mecanismo estaría conservado en interacciones entre beta-rizobios y sus leguminosas hospederas, existe escasa información sobre la o las moléculas implicadas en la interacción *in vivo*. Recientemente hemos demostrado que el flavonoide luteolina es capaz de inducir la expresión diferencial de 145 genes en el β -rizobio *Cupriavidus necator* UYPR2.512. Entre estos, se identificaron genes codificantes para proteínas implicadas en la respuesta al estrés, en la homeostasis de metales y en la remodelación de la superficie, además de una fuerte inducción de los genes *nod* (2). En este trabajo nos propusimos identificar las señales químicas involucradas en el diálogo que ocurre durante la interacción simbiótica entre *Cupriavidus necator* UYPR2.512 y su planta huésped; *Mimosa pudica*. Para ello, los exudados radiculares de plantas de *M. pudica*, crecidas en presencia o ausencia del simbiote bacteriano, fueron colectados y analizados mediante cromatografía acoplada a espectrometría de masas. Entre los compuestos observados se identificaron azúcares, carbohidratos, polioles y ácidos orgánicos, pero ningún flavonoide. Determinar el rol biológico de los compuestos identificados en la interacción, así como las vías metabólicas involucradas, nos brindará una información detallada de los primeros pasos de la interacción entre beta-rizobios y sus leguminosas hospederas.

Palabras clave: beta-rizobios, exudados radiculares, diálogo molecular

1. Willems A., Plant Soil (2006) 24;287(1-2):3-14.

2. M. C. Rodríguez-Esperón and G. Eastman, Environ Microbiol 2022 Jan;24(1):240-264

065

Escherichia coli patógenas asociadas a mortalidad de terneros de lechería en Uruguay

Fernández, Magalí¹; Vignoli, Rafael²; Bado, Inés²; Zunino, Pablo¹, **Umpiérrez, Ana¹**

¹Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Avenida Italia, 3318. Montevideo, Uruguay

²Departamento de Bacteriología y Virología. Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Udelar. Avenida Alfredo Navarro, 3051. Montevideo, Uruguay
 mafetri@gmail.com

La mortalidad de terneros en tambos de Uruguay es elevada, y está asociada principalmente a enfermedades infectocontagiosas. *Escherichia coli* causa infección intestinal y extraintestinal, por lo que la presencia de ciertos factores de virulencia podría asociarse a la mortalidad de los animales. El objetivo de este trabajo fue caracterizar *E. coli* intestinales y extraintestinales aisladas de terneros de lechería muertos entre 2015 y 2017. Mediante PCR, se buscaron genes de virulencia de *E. coli* patógenas. También se evaluó la diversidad intraespecífica y el perfil de resistencia a antibióticos. Se estudiaron 221 aislamientos pertenecientes a 17 terneros, identificándose 85 perfiles de virulencia diferentes. Veinte aislamientos se clasificaron como STEC (productora de toxina Shiga, n=13), NTEC (necrotóxigena, n=3) y EPEC (enteropatogénica, n=4). Los genes codificantes para el sideróforo lucD y las adhesinas Afa8E, F17 y PapC

estuvieron en alta prevalencia en el ambiente intestinal y extraintestinal, mientras que el genotipo *stx1+/eae+/ehxA+* (codificantes de la toxina tipo Shiga I, intimina y enterohemolisina, respectivamente) estuvo más representado en el intestinal. Todos los aislamientos STEC/NTEC/EPEC fueron multirresistentes a antibióticos (de grupo de betalactámicos, aminoglucósidos, quinolonas y sulfonamidas) y 11 portaban el gen de resistencia transferible a quinolonas *qnrB*. El PFGE, no mostró similitud entre aislamientos intestinales ni entre extraintestinales, ni tampoco por su perfil genético. Con estos resultados, se especula que los genes *stx1*, *eae* y *ehxA* podrían tener algún rol en la mortalidad de los terneros. Además, la multirresistencia desafiaría los tratamientos, aumentando el riesgo de muerte.

Palabras clave: *E. coli* intestinales, *E. coli* extraintestinales, STEC, multirresistencia a antibióticos, *qnrB*

066

Crónica de una muerte anunciada: interacción entre hongos y nanopartículas de plata biogénicas mediante criomicroscopía electrónica

Estevez, María Belén¹; **Faccio, Ricardo**²; **Alborés, Silvana**¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Área de Microbiología, Facultad de Química, Udelar

²Centro NanoMat & Grupo de Física, Facultad de Química, Udelar

Las nanopartículas de plata biogénicas resultan de gran interés en contraste a las obtenidas por métodos físicos y químicos dadas las ventajas ambientales y económicas que ofrece su síntesis. Entre sus aplicaciones se encuentra el uso como agentes antimicrobianos por lo que comprender los mecanismos que están implicados en dicha actividad es fundamental dado el potencial terapéutico de las mismas. Además, las interacciones de las nanopartículas biogénicas con los microorganismos dependen de las características de las mismas (forma, tamaño, carga, agente estabilizante). En trabajos previos realizados por el grupo de investigación se ha estudiado, mediante Microscopía Raman Confocal, la interacción entre las nanopartículas sintetizadas a partir de dos cepas de hongos (*Penicillium expansum* y *Phanerochaete chrysosporium*) y células bacterianas y fúngicas. Los resultados mostraron que las nanopartículas interaccionan uniéndose a las células y afectándolas a varios niveles. Para complementar estos resultados, en el presente trabajo se empleó criomicroscopía electrónica (CRYO-EM) para estudiar el efecto del tratamiento de nanopartículas biogénicas sobre las células fúngicas de *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Penicillium expansum* bajo condiciones que no alteran las muestras biológicas. Las imágenes obtenidas por CRYO-EM muestran alteraciones en la morfología, así como daño estructural, tanto en hongos levaduriformes como filamentos sometidos al tratamiento con las nanopartículas biogénicas en comparación a las células sin tratamiento.

Financiación: Proposal TEM-Artica-20210454, LNNano, CNPEM, Campinas, Brasil

Palabras clave: nanopartículas biogénicas, antifúngicos, criomicroscopía electrónica

068

Acción de las nanopartículas de oro sobre biofilms bacterianos

Cruz Jorge, Erlen¹; **Navarro Martínez, Nicolás**^{1, 3,5}; **José González, María**¹; **Sánchez, Sofía**^{2,3,5} **Morales, Javier**^{2,3,5}; **Robino, Luciana**⁴; **Scavone, Paola**¹

¹Laboratorio de Biofilms Microbianos, Depto. de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Fac.de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

³Advanced Center for Chronic Diseases, Universidad de Chile

⁴Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Universidad de la República

⁵Center of New Drugs for Hypertension (CENDHY), Universidad de Chile

Los métodos de tratamiento y prevención de infecciones asociadas con biofilms incluyen el uso de antibióticos. Sin embargo, la alta resistencia de las bacterias y los biofilms bacterianos a los antibióticos convencionales los hace cada vez menos efectivos. Una alternativa es el uso de nanopartículas de oro (AuNps). La hipótesis de este trabajo es que las Au-Nps tendrían actividad antibiofilm frente a *S. aureus* 6538, *A. baumannii* 19606 y *P. aeruginosa* 902, *E. coli* 144 y *P. mirabilis* 2921 (Montevideo, Uruguay). Los Au-Nps se obtuvieron utilizando una variante del sistema de reacción clásico de Turkevich/Frens, utilizando ácido tetracloroáurico (III) trihidratado y citrato de sodio dihidrato como precursores. Estas se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Visible y dispersión dinámica de luz con potencial Z. La acción de las Au-Nps sobre los biofilms bacterianos se determinó semicuantitativamente a diferentes concentraciones por el método cristal violeta en placa de 96 pocillos. Los Au-Nps sintetizados presentan un radio hidrodinámico de ~ 37 nm, con un índice de polidispersidad de 0,24 y un potencial Z de -27 mV. Las Au-Nps fueron

capaces de inhibir la formación de biofilms de *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *P. mirabilis* en comparación con el control sin Au-Nps. Además, los Au-Nps erradicaron el biofilms maduro de *A. baumannii* y *P. mirabilis*; no así con los biofilms de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Estos resultados sugieren que las Au-Nps sintetizadas presentan un potencial interesante para la prevención de infecciones relacionadas con biofilms bacterianos.

Palabras clave: Biofilms, nanopartículas de oro, inhibición, erradicación

069

Resistencia a antibióticos de importancia crítica de máxima prioridad en *Escherichia coli* aisladas de cerdos en producción de Uruguay

Freire, Bibiana¹; Coppola, Nadia²; Bado, Ines²; Castro, Gustavo¹; Vignoli, Rafael²

¹Unidad Académica Animales de Granja, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

²Instituto de Higiene, Laboratorio de Virología y bacteriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema de salud de la actualidad. Antibióticos como ceftriaxona (CRO), ciprofloxacina (CIP) y colistina (COL) son considerados de importancia crítica, de máxima prioridad por la OMS. Los microorganismos multirresistentes presentes en los sistemas productivos pueden afectar tanto humanos como animales. El trabajo buscó determinar la presencia de *E.coli* resistentes a CRO y COL aisladas de muestras fecales de cerdos en producción de Uruguay. Se muestrearon 3 establecimientos (n=90) durante 2020 - 2021. Se realizó la búsqueda *E.coli* resistentes, la identificación por Maldi-Tof, la determinación de perfiles de resistencia por disco difusión de Kirby-Bauer y la búsqueda de los genes de RAM por PCR. 57 animales presentaron aislamientos resistentes a CRO y 20 animales a COL. Se trabajó con 92 *E. coli*: 74/92 crecieron en medio con CRO, 62/74 presentaron BLEE y 12/74 presentaron AmpC. Se detectó la circulación de derivados de *bla*_{CTX-M-15}(8/62) y *bla*_{CTX-M-2}(2/62), derivado de *bla*_{CTX-M-8}(3/62), derivados de *bla*_{CTX-M-9}(5/62), *bla*_{SHV}(8/62), *bla*_{TEM}(6/62) y *bla*_{CMY} 12/12. Se evidenció la asociación del gen *qnr-S* junto con *bla*_{CMY} en los tres establecimientos. 20/92 aislamientos fueron resistentes a COL, donde 2/20 se evidenció el gen *mcr-1*. Se demostró circulación de *E.coli* portadoras de genes de resistencia a antibióticos críticos, siendo los genes del grupo *bla*_{CTX-M} los más frecuentes y se evidenció *E.coli* portadoras del gen *mcr-1*. El uso inadecuado de antibióticos críticos en animales de producción podría ser un factor de selección de microorganismos resistentes, siendo un riesgo para la comunidad.

Palabras clave: salud animal, antimicrobianos, cerdos, farmacorresistencia

071

Composición de especies de *Fusarium* afectando la principal zona productiva de trigo en Uruguay y evolución de su sensibilidad a triazoles luego de la aplicación a largo plazo

Brancatti, Gianella¹; Garmendia, Gabriela¹; Pereyra, Silvia²; Vero, Silvana¹

¹Área de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay

La Fusariosis de la Espiga (FE) es una enfermedad que afecta cultivos de cereales a nivel mundial, disminuyendo su rendimiento y valor debido a la contaminación de los granos con micotoxinas. Es causada por varias especies de *Fusarium*, de las cuales *Fusarium graminearum* es considerada el principal agente etiológico. El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de *Fusarium* que actualmente causan FE en trigo proveniente de la principal zona productiva de Uruguay, conocer su quimiotipo potencial y evaluar su sensibilidad a triazoles. Se obtuvieron 586 cultivos monospóricos de *Fusarium* spp. a partir de granos de trigo infectados, de los cuales 655% perteneció al complejo de especies *Fusarium graminearum* (FGSC). El 96,3% de esos aislamientos presentó quimiotipo 15-ADON y el resto presentó quimiotipo NIV. La segunda especie predominante fue *F. poae* (18,1%) seguida de *F. avenaceum* (8,2%) y *F. tricinctum* (3,9%) lo cual representa una preocupación para la seguridad alimentaria debido a la posible contaminación de los granos con otras micotoxinas además de los tricotecenos. Se detectó un aumento en la tolerancia a tebuconazol de los aislamientos de *Fusarium* spp. uruguayos con respecto al último relevamiento realizado en el país (2011) y se sentó una base de datos de sensibilidad a epoxiconazol y prothioconazol. Serán necesarios más análisis para determinar si los aislamientos más tolerantes son resistentes a los fungicidas bajo condiciones de campo. Los resultados de estos estudios podrían presentar importantes consecuencias sobre las estrategias de manejo de la FE implementadas en Uruguay.

Palabras clave: Fusarium, Trigo, Fusariosis de la espiga, Triazoles, Micotoxinas

077

Evaluación de la presencia de microorganismos en la orina de personas sanas y con patología urinaria mediante diferentes técnicas de cultivo

Sauto, Rafael¹; **Morales, Cecilia**²; **Robino, Luciana**²; **Scavone, Paola**¹

¹Laboratorio de Departamento de Microbiología, Instituto de investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

²Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La vejiga urinaria se consideraba un órgano estéril, sin embargo trabajos recientes demuestran la existencia de una microbiota urinaria en sujetos asintomáticos. Nos propusimos evaluar la presencia de bacterias en la orina de personas asintomáticas y con patología urológica utilizando distintos métodos de cultivo, y de bacterias intracelulares de vejiga. Las muestras se sembraron mediante urocultivo estándar -UcE- y expandido EQUc- en distintas condiciones de cultivo y atmosféricas. La presencia de bacterias intracelulares se evaluó con una técnica de lisis celular y cultivo y mediante microscopía láser confocal (MLC). Se recolectaron por la técnica de chorro medio 114 muestras de orina (51 de sexo femenino -7 niñas- y 63 de sexo masculino -14 niños-). De 69 asintomáticos y 45 sintomáticos. En UcE hubo crecimiento bacteriano en 91/114 muestras (79,8 %), 57 asintomáticos (83%) y 34 sintomáticos (75,6%). En EQUc, hubo crecimiento en 107/114 (94%), 67 asintomáticos (97,1%) y 40 sintomáticos (88,9%). En asintomáticos y sintomáticos, el EQUc permite detectar crecimiento en un 15% más en relación al UcE ($p=0,28$ y $p=0,0001$). Se observaron bacterias intracelulares por la técnica de cultivo en 54/114 muestras de orina, 26/69 asintomáticos (38 %) y 28/45 sintomáticos (62 %), $p=0,013$. Hasta el momento se analizaron por ambas técnicas (cultivo y MLC) 87 muestras, en 38 (44%) se evidenciaron bacterias intracelulares (19/56 asintomáticos y 19/31 sintomáticos, $p = 0,0023$). Estos estudios confirman la presencia de bacterias en la orina de personas sanas. El EQUc presenta mayor rendimiento para la búsqueda de microorganismos en orina.

Palabras clave: Microbiota urinaria, Urocultivo expandido

078

Nanopartículas de óxido de zinc dopadas con magnesio tienen actividad contra biofilm bacterianos

Navarro Martínez, Nicolás^{1,3}; **Cruz Jorge, Erlen Y.**¹; **González, María José**¹; **Sánchez Sofía**^{2,3,5}; **Morales, Javier O.**^{2,3}; **Robino, Luciana**⁴; **Scavone, Paola**¹

¹Laboratorio de Biofilms Microbianos, Depto. de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

³Advanced Center for Chronic Diseases, Universidad de Chile

⁴Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Universidad de la República

⁵Center of New Drugs for Hypertension (CENDHY), Universidad de Chile

El aumento de la resistencia bacteriana es un problema prioritario para la OMS, por lo que el desarrollo de nuevas tecnologías y terapias efectivas es necesaria. Una de las estrategias de resistencia bacteriana es la formación de biofilms, estas estructuras son comunidades sésiles irreversiblemente adheridas a una superficie biótica o abiótica, y son muy difíciles de erradicar con terapias convencionales. Una alternativa es el uso de nanopartículas metálicas, como óxidos de zinc (ZnO:MgO-Nps). La hipótesis de este trabajo es que las ZnO:MgO-Nps tienen actividad antibiofilm en *S. aureus* ATCC 6538, *A. baumannii* ATCC 19606 and *P. aeruginosa* ATCC 902, *E. coli* 144 y *P. mirabilis* 2921 (Montevideo, Uruguay). ZnO:MgO-Nps fueron sintetizadas por método de precipitación con acetatos de zinc y magnesio en presencia de hidróxido de potasio. Las nanopartículas fueron caracterizadas por espectroscopia UV-Vis, y su radio hidrodinámico y potencial zeta fueron determinados en un Zetasizer ZS (Malvern Instruments). La actividad sobre los biofilms fue determinada por cristal violeta en las concentraciones 1.5x, 1x y 0.5x. Las ZnO:MgO-Nps sintetizadas presentaron un radio hidrodinámico de ~210 nm, con un Pdl de 0.45, y un Z-potencial de ~15 mV. Estas Nps fueron capaces de inhibir la formación de biofilms de *A. baumannii*, *P. mirabilis* y *E. coli*, comparados con el control. Por otro lado, fueron capaces de erradicar los biofilms de *A. baumannii* y *E. coli*. Estos resultados sugieren que las ZnO:MgO-Nps sintetizadas tienen un uso potencial en la prevención de infecciones causadas por biofilms bacterianos.

Palabras clave: biofilms, nanopartículas, zinc

084

Generación y caracterización de una cepa fluorescente de LVR01 como herramienta para el estudio del efecto antitumoral de *Salmonella*

Quintana, Antonella; Yim, Lucía; Chabalgoity, Alejandro; Moreno, María; Mónaco, Amy

Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República
 Las inmunoterapias contra el cáncer basadas en el uso de microorganismos han recobrado interés en las últimas décadas. El potencial antitumoral de la bacteria *Salmonella* LVR01 como inmunoterapia ha sido demostrado en nuestro laboratorio en numerosos modelos murinos de cáncer. Para continuar con estos estudios, se vuelve fundamental la generación de una cepa fluorescente de LVR01, que permitiría realizar estudios en el contexto de infecciones *in vitro* e *in vivo*, mediante microscopía o citometría de flujo, entre otros. En este trabajo construimos mediante electroporación del plásmido pBBR1 en LVR01 una cepa fluorescente, llamada LVR01-pCHERRY, y la caracterizamos. Se comparó con la cepa parental su capacidad de crecimiento, y se evaluó estabilidad plasmídica. Asimismo se está evaluando *in vivo* biodistribución a nivel local y sistémico a lo largo del tiempo así como la estabilidad plasmídica. Determinamos que la replicación del plásmido le impone una pequeña carga metabólica al inicio del crecimiento, pero luego el tiempo de replicación se mantiene incambiado en ambas cepas. Este retraso inicial no repercute en la estabilidad del plásmido, que se mantuvo siempre en niveles altos. Entendemos que la generación de esta herramienta tiene un gran potencial para profundizar los resultados obtenidos con LVR01 por ser una transformación estable. Se plantea utilizarla para estudiar la invasividad de LVR01 luego de infecciones en células tumorales e inmunes, y comparar distintos aspectos de las bacterias intracelulares vs. extracelulares. Esta herramienta permitirá generar nuevo conocimiento relevante para la optimización racional de la inmunoterapia en miras de una futura aplicación clínica.

Palabras clave: Cáncer, Inmunoterapias, *Salmonella* fluorescente

106

Vigilancia genómica de SARS-CoV-2 en aguas residuales a través de secuenciación masiva dirigida

Cancela, Florencia¹; Ramos, Natalia¹; Smyth, Davida²; Etchebehere, Claudia³; Berois, Mabel¹; Rodríguez, Jesica⁴; Rufo, Caterina⁴; Alemán, Alicia⁵; Borzacconi, Liliana⁶; González, Elizabeth⁷; López, Julieta⁷; Botto, Germán⁸; Mirazo, Santiago^{1,9}; Trujillo, Mónica¹⁰

¹Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Department of Life Sciences, Texas A&M University-San Antonio, San Antonio, Texas, Estados Unidos

³Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

⁴Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República

⁵Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁶Instituto de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

⁷Departamento de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

⁸Departamento de Métodos Cuantitativos. Facultad de Medicina. Universidad de la República

⁹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene. Facultad de Medicina, Universidad de la República.

¹⁰Department of Biological Sciences and Geology, Queensborough Community College of The City University of New York, Queens, Nueva York, Estados Unidos

Recientemente la Organización Mundial de la Salud publicó pautas para implementar el monitoreo del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales, una herramienta económica complementaria a las estrategias clásicas de vigilancia epidemiológica. Luego de su emergencia en noviembre de 2019, nuevas y sucesivas variantes de SARS-CoV-2, denominadas variantes de preocupación (VOCs) Alfa, Beta, Gamma, Delta y Omicron, han evolucionado aumentando su transmisibilidad y/o su capacidad de evadir la respuesta inmune, a través de la adquisición de mutaciones fundamentalmente en la proteína Spike (S). En este escenario, la secuenciación masiva dirigida de alta cobertura permite: 1. Monitorear la evolución de la epidemia de SARS-CoV-2; 2. Determinar la frecuencia relativa de las VOCs circulantes y 3. Detectar precozmente la aparición de nuevas variantes o no variantes no presentes en muestras clínicas. En este trabajo estudiamos la abundancia y frecuencia relativa de mutaciones asociadas a VOCs de SARS-CoV-2 en aguas residuales de distintos puntos de Uruguay en forma periódica durante un año. El estudio demostró la presencia de

secuencias con mutaciones asociadas a la VOC *Gamma* (P1) previo a su detección en casos clínicos en el país y permitió identificar tempranamente en muy baja frecuencia la presencia de marcadores genéticos asociados a *Delta*. Las secuencias detectadas en las aguas residuales fueron siempre detectadas también en las secuencias de muestras clínicas. La secuenciación masiva dirigida de alta cobertura es una herramienta útil y económica de vigilancia epidemiológica para SARS-CoV-2 y la misma tecnología debería poder aplicarse para el monitoreo de otros patógenos. **Palabras clave:** SARS-CoV-2; vigilancia genómica; aguas residuales; secuenciación masiva dirigida

109

Caracterización de genes de resistencia a oximinocetolinas de *Escherichia coli* recuperadas de urocultivos
Ávila Pablo¹; Inchausti Agustín¹; Acevedo María José¹; Inés Bado¹, Nicolás Cordeiro¹, García-Fulgueiras Virginia¹; Vignoli Rafael¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

Introducción: Las infecciones del tracto urinario (ITUs) constituyen la segunda infección más frecuente en primer nivel de atención, causadas principalmente por *E.coli*. Las oximinocetolinas son muy utilizadas en el tratamiento de las ITUs. La resistencia mediante betalactamasas ha causado un gran impacto a nivel terapéutico.

Este trabajo busca caracterizar los genes de resistencia a oximinocetolinas de *E.coli* recuperadas de urocultivos.

Materiales y métodos: Se trabajó con 1063 aislamientos de *E.coli* de urocultivos de la mayor parte del país. A aquellos aislamientos con CIM a oximinocetolinas mayor a 1ug/mL se les identificaron los genes de betalactamasas mediante PCR y secuenciación, y se determinaron los secuenciotipos exitosos (ST 69-73-95-131) por PCR.

Resultados: De los 1063 aislamientos, 74 (6,96%) presentaron resistencia a oximinocetolinas. De estos 36 presentaron *bla*CTX-M-15, 11 *bla*CTX-M-14, 10 *bla*CMY-2, 10 *bla*CTX-M-2, 5 *bla*CTX-M-27, 3 *bla*CTX-M-55, 2 *bla*CTX-M-65 y 1 *bla*CTX-M-8. Seis aislamientos tuvieron 2 betalactamasas, 2 *bla*CTX M-15/CTX-M-2 y una *bla*CTX-M-15/CMY-2, 2 *bla*CTX-M-15/CTX-M-14, *bla*CTX-M-15/CTX-M-27, *bla*CTX-M-2/CMY-2. Se detectaron 19 ST131 y 3 ST69.

Discusión: CTX-M-15 fue la BLEE predominante, desplazando a CTX-M-2. Destacamos a CMY-2, poco frecuente en aislamientos urinarios. CTX-M-55, CTX-M-27 y CTX-M-65 comienzan a ser encontradas más frecuentemente en nuestro territorio. ST131 fue el secuenciotipo exitoso más detectado, relacionado a *bla*CTX-M-15, CTX-M-27, CTX-M-14 y CTX-M-55.

Conclusión: CTX-M-15 es la BLEE más frecuente en nuestro país, aunque otras variantes podrían hacerse cada vez más habituales en nuestro territorio. La presencia de CMY-2 puede llegar a afectar determinados tratamientos empíricos reduciendo opciones terapéuticas.

Palabras clave: Resistencia antibiótica, ITU, *E.coli*, BLEE, oximinocetolinas

114

Descifrando la composición y variabilidad del microbioma intestinal humano en América Latina

Iraola, Gregorio¹; The Latinbiota Consortium

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay

La composición del microbioma intestinal humano es determinante en la salud y varía fundamentalmente por factores ambientales como la dieta, sin embargo los estudios disponibles actualmente se han centrado principalmente en poblaciones del hemisferio norte y países altamente industrializados. Por esta razón, creamos el Consorcio Latinbiota, una iniciativa internacional para estudiar el microbioma de los latinoamericanos. Entre 2019 y 2020, realizamos el análisis metagenómico de más de 600 muestras de 8 países, lo que resultó en más de 18,000 genomas procariotas y más de 47,000 genomas virales ensamblados. Estos representan 361 especies procariotas y 7,938 especies virales nuevas. La comparación con 6,182 metagenomas intestinales saludables de todo el mundo mostró que el microbioma latinoamericano es más similar al africano, y juntos son los más diversos del mundo. Dentro de América Latina detectamos 239 procariotas y 1,307 virus sobrerrepresentados en genomas no cultivados de la familia Oscillospiraceae, la cual se asocia a un estilo de vida no industrializado. En particular, la composición del viroma intestinal confirió una firma geográfica más fuerte que la fracción bacteriana, lo que enfatiza la importancia de utilizar un enfoque multi-dominio para modelar fenotipos asociados al microbioma. También los genomas de microbiomas latinoamericanos están enriquecidos en genes de resistencia a múltiples antibióticos, lo que destaca la necesidad de una gestión cuidadosa del uso de antibióticos en América Latina. En general, nuestro

estudio representa un gran paso hacia el trazado de un mapa genómico completo del microbioma intestinal humano en todo el mundo.

Palabras clave: microbioma intestinal, metagenómica, América Latina, resistencia a antibióticos

117

Evaluación de nanopartículas de plata con potencial efecto antibiofilm

González, María José¹; **Cruz, Erlen**¹; **Navarro, Nicolás**^{1, 3}; **Sanchez, Sofía**²; **Morales, Javier**^{2, 3}; **Robino, Luciana**⁴; **Scavone, Paola**¹

¹Laboratorio de Biofilms Microbianos, Depto. de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

³Advanced Center for Chronic Diseases, Universidad de Chile

⁴Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Universidad de la República

Los biofilms microbianos son comunidades bacterianas adheridas de forma irreversible a una superficie y entre ellas y embebidas en una matriz polimérica extracelular de producción propia. Los biofilms bacterianos son muy difíciles de erradicar con los antibióticos convencionales. Es por esto que es importante incrementar la búsqueda y el desarrollo de nuevas terapias y tecnologías para el tratamiento efectivo de infecciones producidas por bacterias formadoras de biofilms. Una alternativa es el uso de nanopartículas metálicas, como las de plata (Ag-Nps). El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antibiofilm de AgNps sobre *S. aureus* ATCC 6538, *A. baumannii* ATCC 19606, *P. aeruginosa* ATCC 902, *E. Coli* 144 y *P. mirabilis* 2921. Las Ag-Nps fueron sintetizadas en nuestro laboratorio de forma química. Fueron caracterizadas por espectro UV-visible, radio hidrodinámico y potencial z (Zetasizer ZS). La actividad antibiofilm se evaluó empleando diferentes concentraciones y midiendo la biomasa del biofilm con la técnica de cuantificación con cristal violeta en placas de 96 pocillos.

Las Ag-Nps presentaron un radio hidrodinámico de ~20 nm con un índice de polidispersión de 0,32 y un potencial Z de -35 mV. Las Nps fueron capaces de inhibir y erradicar la formación del biofilm de *A. baumannii*, *E. coli*, y *P. mirabilis* en comparación al control sin Nps. Este efecto no fue observado en *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Los resultados sugieren que estas AgNps podrían ser empleadas en el tratamiento y prevención de la formación de biofilms por bacterias patógenas.

Palabras clave: Biofilm; Nanopartículas; Patógenos

122

Evaluación de suplementos nutricionales para mejorar la salud y productividad de colmenas de abejas melíferas, en forestaciones de *Eucalyptus grandis*

Alarcón Matilde¹; **Castelli Loreley**¹; **Branchiccela Belén**²; **Fripp Santiago**^{1,2}; **Invernizzi Ciro**³; **Antúnez Karina**¹

¹Laboratorio de Microbiología y Salud de las Abejas, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

²Sección Apicultura, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

³Sección Etología, Facultad de Ciencias, UdelaR

Entre las principales causas de pérdidas de colmenas de abejas *Apis mellíferas* a nivel mundial se encuentra la deficiencia nutricional y problemas sanitarios. La hipótesis del presente trabajo consiste en que la suplementación proteica de colonias de abejas melíferas, antes y durante su estadía en plantaciones de *Eucalyptus grandis*, afecta la salud de las mismas, reflejándose en la fortaleza y productividad de la colmena. En febrero se prepararon cinco grupos de 20 colmenas, que recibieron diferentes tratamientos: el grupo A (control) no recibió suplementación, el grupo B recibió el producto comercial Apiprot, el grupo C el producto comercial Feedbee, el grupo D una torta de preparación casera y el grupo E una torta de polen polifloral. Las colmenas se trasladaron a una forestación de *E. grandis* en Rivera, y se mantuvieron durante 2,5 meses. Al inicio y final del ensayo se analizó la fortaleza y productividad de la colmena, el estado nutricional de las abejas y el nivel de infección por el hongo *Nosema ceranae*. Los resultados muestran que la suplementación con polen polifloral aumentó la población de abejas, no observándose efecto, de ningún suplemento en la cría. La suplementación con polen polifloral, Apiprot y torta casera aumentó la producción de miel. Actualmente estamos evaluando el efecto de estos tratamientos en el estado

nutricional de las abejas (peso seco) y en la infección por *N. ceranae*. Estos resultados son alentadores y los productos estudiados podrían constituir una estrategia para mejorar la salud y productividad de las colmenas.

Palabras clave: *Apis mellifera*, *Eucalyptus grandis*, nutrición, salud

125

Vínculos entre el desarrollo de las colonias del complejo *Microcystis aeruginosa* y su microbiota

Croci, Carolina¹; **Martínez de la Escalera, Gabriela**¹; **Deus Álvarez, Susana**¹; **Lepillanca, Facundo**¹; **Kruk, Carla**^{2,3}; **Segura, Angel**³; **Piccini, Claudia**¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana Acuática, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay

²Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay

³Departamento MEDIA (Modelización Estadística de Datos e Inteligencia Artificial), CURE, UdelaR, Rocha, Uruguay

Las cianobacterias del Complejo *Microcystis aeruginosa* (CMA) forman colonias de cientos de células inmersas en un mucílago compuesto por exopolisacáridos y proteínas. En él habita una diversidad de bacterias cuya interacción con las cianobacterias se supone fundamental para el éxito del organismo. Se ha descrito que el mucílago varía en espesor, densidad y composición durante el ciclo de crecimiento colonial y en distintas condiciones ambientales, lo que determinaría distintas interacciones CMA-microbiota. En este trabajo se empleó una aproximación basada en secuenciación masiva del gen ribosomal 16S (región-V4), analizando tanto ADN (estructura comunitaria) como ARN (fracción activa) proveniente de distintas fracciones de tamaño de CMA obtenidas del embalse de Salto Grande. Los resultados mostraron una mayor riqueza de la microbiota en las colonias más pequeñas (<20µm), siendo Alphaproteobacteria (orden Rhizobiales) y Bacteroidetes los grupos más activos. Por otro lado, Betaproteobacteria presenta su mayor actividad en las colonias medianas (20-60µm), debido a la abundancia de Sutterellaceae. Al aumentar el tamaño colonial las Proteobacteria se vuelven menos activas y los Bacteroidetes disminuyen su abundancia y actividad. La fracción mayor (>60µm), dominada por Proteobacteria, es donde la microbiota presenta menor actividad. Estos resultados indican que la estructura y los grupos activos de la microbiota del CMA son tamaño-específicos. La disminución de actividad al aumentar el tamaño colonial sugiere un vínculo estrecho entre la microbiota y la formación de las colonias, probablemente asociado a un mecanismo tipo biofilm multiespecífico en el que las colonias grandes constituyen la etapa final de maduración previa a la dispersión.

Palabras clave: CMA, colonias, microbiota

131

Efecto del glufosinato de amonio y sulfoxaflor en la microbiota intestinal, inmunidad y supervivencia de abejas melíferas

Castelli, Loreley^{1*}; **Branchiccela, Belén**²; **Zunino, Pablo**¹; **Antúnez, Karina**¹

¹Laboratorio de Microbiología y Salud de las Abejas, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

²Sección Apicultura, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

*Autora de correspondencia: castelli.loreley@gmail.com

Las abejas *Apis mellifera* son importantes insectos polinizadores encargados del mantenimiento de ecosistemas naturales y de la producción agrícola. En los últimos años se han reportado grandes pérdidas de colmenas, siendo la intoxicación con pesticidas una de las causas. La aparición de cultivos resistentes a estos pesticidas, o los efectos perjudiciales en organismos no blanco, han impulsado el uso de moléculas alternativas, como el herbicida glufosinato de amonio (GA) y el insecticida sulfoxaflor (S). Dado que no existen reportes sobre su efecto en abejas, nuestro objetivo fue evaluar el impacto de la exposición crónica a dosis subletales de GA y S en la microbiota intestinal, inmunidad y supervivencia. Se colectaron abejas recién emergidas, se dividieron en grupos y se alimentaron con jarabe con dosis subletales de pesticidas: Ensayo 1: GA 500 µg/ml, GA 50 µg/ml y jarabe sin pesticidas como control. Ensayo 2: S 1 µg/ml, S 0,5 µg/ml, S 0,25 µg/ml, S 0,125 µg/ml y control. A 7 días de exposición se evaluó la composición y diversidad de la microbiota intestinal mediante secuenciación masiva y qPCR, la expresión de genes inmunes mediante RT-qPCR, y la supervivencia de las abejas. La exposición crónica a dosis subletales de GA y S disminuyó la supervivencia de las abejas, alteró la microbiota intestinal y la expresión de diferentes genes vinculados a la

inmunidad individual y social. Estos resultados demuestran el impacto negativo de los pesticidas en la salud de las abejas y son útiles para entender las causas de las pérdidas de colmenas.

Palabras clave: inmunidad, pesticidas, microbiota

136

***Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación aisladas de equinos de Uruguay**

Luce Cecilia³; Coppola Nadia¹; Ríos Cristina³; Cansela Guillermo²; Bado Ines¹; Vignoli Rafael¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Veterinario de libre ejercicio de la profesión

³Departamento de Salud Pública, Unidad Salud Pública Veterinaria, Facultad de Veterinaria

La resistencia a antimicrobianos (RAM) es un problema creciente a nivel mundial. Las cefalosporinas de tercera generación (C3G) son consideradas antibióticos de importancia crítica para la medicina humana según la OMS. En Uruguay, se ha evidenciado la circulación de enterobacterias portadoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (CTX-M-15, CTX-M-55, CTX-M-2, CTX-M-8) en diferentes sistemas productivos (aves, cerdos y bovinos). Sin embargo, hasta el momento no se ha estudiado en equinos la circulación de *Escherichia coli* con BLEE. En este estudio se buscó determinar la presencia de *E. coli* resistente a C3G aisladas de muestras fecales de equinos del hipódromo de Maroñas de Uruguay. Se muestrearon 21 equinos pura sangre de carrera en competición. Se realizó la búsqueda *E. coli* resistentes a C3G mediante aislamiento en medio suplementado con ceftriaxona (CRO), se identificaron por Maldi-Tof, se determinaron los perfiles de resistencia por disco difusión y la búsqueda de los genes de RAM por medio de estudios moleculares. 3/21 equinos presentaron *E. coli* productoras de BLEE.

Se trabajó con 5 *E. coli* en las cuales se observó que todas eran portadoras de *bla*_{CTX-M-15}. 1/5 fue resistente a ciprofloxacina, 4/5 a trimetoprim sulfametoxazol y 5/5 a gentamicina. Si bien estos son estudios preliminares, ya se evidencia la circulación de BLEE en equinos de competición de nuestro país, junto con resistencia a otras familias de antibióticos, reafirmando la importancia del término "Una Salud" por la posibilidad de transmitir de equinos a humanos bacterias con potencial zoonótico portadoras de BLEE.

Palabras clave: resistencia, equinos, BLEE

137

Mejora en la detección y clasificación de plásmidos a partir de ensamblados fragmentados y completos

Giménez, Matías^{1,2,3}; Ferrés, Ignacio^{1,3}; Iraola, Gregorio^{1,3,4,5}

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur Montevideo

²Laboratorio de Microbiología Molecular, Depto. BIOGEM, Instituto Investigaciones Biológicas Clemente Estable

³Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Institut Pasteur Montevideo

⁴Wellcome Sanger Institute, Hinxton, Cambridge, United Kingdom

⁵Centro de Biología Integrativa, Universidad Mayor, Santiago de Chile

Los plásmidos son elementos genéticos móviles que cumplen un rol muy importante en la adaptación de bacterias. El estudio de plásmidos a partir de datos de secuenciación presenta algunos desafíos que derivan de la fragmentación de *contigs* generados a partir de lecturas cortas. Esto determina la necesidad de discriminar entre *contigs* derivados de secuencias plasmídicas o cromosómicas.

A pesar de que actualmente las tecnologías de secuenciación de lecturas largas permiten obtener replicones completos, aún persiste la necesidad de diferenciar plásmidos de otros elementos genéticos circulares. En este trabajo presentamos plaSquid, una herramienta que expande la detección de plásmidos y mejora los esquemas de clasificación en tipos de replicones y grupos de movilidad, tanto en sensibilidad como en precisión, respecto a otras herramientas disponibles. Cuando utilizamos plaSquid para analizar cerca de 10.5 millones de *contigs* metagenómicos, los resultados revelaron un incremento de 2.7 veces en la diversidad filogenética de plásmidos.

Asimismo, utilizamos plaSquid para observar el rol de los plásmidos en la distribución de genes de resistencia a antibióticos en diferentes ambientes, desde ciudades a estaciones espaciales. En resumen, presentamos una aproximación mejorada para el estudio de la biología de plásmidos a partir de ensamblados genómicos y metagenómicos, tanto circularizados como fragmentados.

141

Biofilms y su vinculación en infecciones profundas de prótesis de cadera en Uruguay

Reyes, Natalia¹; González, M¹; Navarro, N¹; Lenzi, J⁴; Menendez, J³; Robino, L²; Scavone, P¹.

¹Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Departamento de Bacteriología y Virología Médica, Instituto de Higiene, UdelaR

³Banco de Prótesis de Uruguay

⁴Department of Biology, University of North Dakota, USA

Las infecciones de prótesis articular son un problema de relevancia médica, derivando en muchos casos en la remoción de la prótesis. Los principales agentes etiológicos son *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. La formación de biofilms podría explicar fallas en los tratamientos antibióticos. Clindamicina es uno de los antibióticos indicados para el tratamiento en estos pacientes. El presente trabajo identifica los microorganismos aislados a partir de las prótesis de cadera, evalúa su capacidad de formar biofilms y el potencial inhibitorio de clindamicina sobre los biofilms. De 21 prótesis removidas en el Banco de Prótesis entre 2019-2021, se removieron microorganismos mediante sonicado en 15 de ellas. Los microorganismos aislados fueron *S. aureus* (6/15), *S. epidermidis* (6/15), *Corynebacterium xerosis* (2/15), *Klebsiella pneumoniae* (1/15) y *Pseudomonas aeruginosa* (1/15). Se evaluó la formación de biofilms en 10 *Staphylococcus* mediante técnica de cristal violeta, en medio TSB + glucosa 1% y 24h de incubación. Las 10 cepas fueron fuertes formadoras de biofilms. Se realizó ensayo de inhibición de la formación de biofilms utilizando clindamicina desde el tiempo cero del ensayo. De las 10 cepas, 7 presentaron sensibilidad a clindamicina en estado planctónico. No se observó inhibición de la formación del biofilms con clindamicina en ninguna concentración testada, tanto en el grupo de cepas sensibles como en el grupo de cepas resistentes. Se concluye que el agente etiológico mayoritariamente encontrado en las infecciones de prótesis de cadera es *Staphylococcus spp.* Las cepas aisladas son fuertes formadoras de biofilms. Clindamicina no inhibió la formación de biofilms en cepas sensibles.

146

Rol de la microbiota intestinal en la respuesta a la inmunoterapia en el cáncer en Uruguay

Riera, Nadia¹; Parada, Andrés¹; Peñalba, Florencia¹; Elgul, Nabila¹; Pittini, Álvaro²; Carlos, Meyer³; Cawen, María Laura³; Ferrari, Aracely³; Laureiro, Elena³; Alonso, María Isabe³; Malvasio, Silvina³; Berois, Nora²; Osinaga, Eduardo²; Iraola, Gregorio^{3,4}

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Glicobiología e Inmunología Tumoral, Institut Pasteur de Montevideo

³Departamento de Oncología, Centro Asistencial del Sindicato Médico del Uruguay

⁴Wellcome Sanger Institute

Las terapias que utilizan como blanco los puntos de control inmunológicos (como PD-1/PDL1 y CTLA4) han revolucionado la medicina y el tratamiento del cáncer avanzado. Recientemente, se ha identificado un rol del microbioma intestinal en esta respuesta, evidenciando una ventana de oportunidad para la detección de biomarcadores así como nuevas terapias. El microbioma intestinal está altamente influenciado por factores ambientales y la región geográfica. Los estudios loco-regionales son fundamentales para identificar patrones relevantes en el desarrollo de nuevas herramientas clínicas. En este trabajo evaluamos la composición del microbioma intestinal de pacientes oncológicos uruguayos antes y después del comienzo de la inmunoterapia. Veintitrés pacientes oncológicos fueron reclutados para participar en este estudio. Utilizando metagenómica por shotgun comparamos las comunidades microbianas, las familias de genes y las rutas metabólicas de pacientes oncológicos (n=16) con una cohorte uruguaya sana (n=68).

Se encontraron diferencias en la abundancia relativa de 48 bacterias y 1.548 vías metabólicas en pacientes oncológicos con respecto a la cohorte control. Entre ellas *Flavonifractor plautii* y *Intestinimonas butyriciproducens* se encontraron en mayor abundancia en pacientes oncológicos. Identificamos genes asociados a la producción de isobutanol a partir de piruvato en mayor abundancia en la cohorte sana. Actualmente estamos comparando los resultados de la cohorte de pacientes uruguayos con los disponibles en las bases de datos de estudios de otros países (n=382). Estos resultados pueden impulsar el desarrollo de biomarcadores como nuevas herramientas de predicción de respuesta así como de potenciales probióticos como intervenciones complementarias.

Palabras clave: microbioma, metagenómica, puntos de control inmunitario

149

Screening de actividad α -fucosidasa en hongos

Cedrés, María Eugenia¹; Herrera, Lorena¹; Rodríguez Paula²; Giacomini, Cecilia¹

¹Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República

²Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones, Departamento de Biociencias-Departamento Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

La interacción glicanos – receptores proteicos es responsable de diversos procesos fisiológicos. Por lo cual, alteraciones en los patrones de glicosilación celular puede dar lugar a diversas enfermedades. Las exoglicosidasas son excelentes herramienta en el análisis glicómico y acopladas al análisis por espectrometría de masa contribuyen a la elucidación de la composición glicosídica de los glicanos de las glicoproteínas y en particular a la identificación de los enlaces glicosídicos. Dentro de los azúcares presentes en glicoproteínas se destacan N-acetilglucosamina, manosa, galactosa, glucosa, N-acetil galactosamina y fucosa. En particular el rol de la fucosa es relevante en procesos tumorales y de infección parasitaria o viral. En este contexto es interesante la purificación de enzimas con actividad α -fucosidasa. Este trabajo se enfoca en la búsqueda de α -fucosidasas extracelulares en hongos aislados del ambiente. Se realizó el screening en 9 hongos diferentes utilizando las siguientes condiciones de cultivo: fucosa 0.25% como inductor, 30 °C, 150 rpm y 5 días de incubación y p-nitrofenil α -L-fucopiranososa como sustrato para la evaluación de la actividad. Se obtuvo actividad en una cepa de *Fusarium* sp. A los efectos de maximizar la producción de la enzima se estudió la influencia del inductor (fucosa 0.25% y mucina gástrica porcina (PGM) 1%) y el tiempo de cultivo (5 y 7 días). La mayor producción de enzima (53 U/L) se obtuvo utilizando fucosa como inductor y 5 días de incubación a 30°C y 150 rpm, mientras que no se observó expresión de la enzima cuando se utilizó PGM como inductor.

Palabras clave: α - fucosidasa, Glicobiología, Fucosa

154

Uso de probióticos para mejorar la salud de las abejas melíferas

Arredondo, Daniela¹; Añón, Guillermo¹; Harriet, Jorge²; Campá, Juan²; Zunino, Pablo¹; Antúnez, Karina¹

¹Laboratorio de Microbiología y Salud de las Abejas, Departamento de Microbiología, IIBCE, MEC, Montevideo, Uruguay

²Sección Apicultura, DILAVE, MGAP, Canelones, Uruguay

Por su estilo de vida y el manejo que reciben, las abejas *Apis mellifera* son blanco de diferentes plagas y patógenos. A su vez, la exposición a productos sintéticos y antibióticos puede favorecer la disbiosis a nivel gastrointestinal. La administración de probióticos pertenecientes a la microbiota nativa, como aditivos en alimentos, es una estrategia ampliamente utilizada en diversos animales con el fin de mantener el equilibrio de la microbiota y concomitantemente la salud. En nuestro laboratorio se obtuvo un probiótico compuesto por 4 cepas nativas de *Apilactobacillus kunkeei*, aisladas de la microbiota intestinal de *A. mellifera*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de su administración en la fisiología, inmunidad y susceptibilidad a patógenos en larvas y abejas adultas a nivel individual, así como en aspectos sanitarios y productivos en colonias de producción. En ensayos de laboratorio se observó que el probiótico disminuye la mortalidad ocasionada por *Paenibacillus larvae* en larvas y reduce el número de esporas de *Nosema ceranae* en abejas adultas, a su vez, se observaron cambios en la expresión de genes vinculados a la fisiología e inmunidad. Por otra parte, la administración del probiótico en colonias de producción fue capaz de disminuir la infección por *Varroa destructor* y *N. ceranae*, no afectando la fortaleza de la colonia o la producción de miel. Si bien el uso de probióticos podría ser una estrategia interesante para su uso en *A. mellifera* es importante confirmar que efectivamente funcionan en nuestro objeto de estudio en condiciones naturales.

Palabras clave: probióticos, *Apilactobacillus kunkeei*, salud de las abejas melíferas, plagas y patógenos

159

Aumento de la carga mutacional como estrategia antiviral en coronavirus

Pereira-Gómez, Marianoel^{1,2}; Costábile, Alicia^{1,2,3}; Moreno, Pilar^{1,2}; Moratorio, Gonzalo^{1,2}

¹Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los virus de ARN muestran una alta susceptibilidad a mutágenos químicos que producen fuertes pérdidas de la eficacia biológica y, en algunos casos, la extinción de las poblaciones virales. Este fenómeno se conoce como mutagénesis letal y se ha propuesto como una estrategia antiviral que consiste en "saturar" a las poblaciones con una carga mutacional elevada que tiene como consecuencia la producción de una menor descendencia viable. En este trabajo evaluamos el efecto de la mutagénesis como estrategia antiviral en coronavirus utilizando como modelo el virus de la hepatitis murina (MHV), el cual está filogenéticamente muy relacionado con SARS-CoV-2. Para ello, estudiamos candidatos para aumentar la tasa de mutación viral y determinamos la cinética de replicación *in vitro*, la infectividad específica (partículas virales/genomas) y la identificación de mutaciones candidatas a producir atenuación viral o resistencia al tratamiento. Los resultados de los ensayos de citotoxicidad mostraron un rango de concentraciones donde no se observaron diferencias significativas en la viabilidad celular. Los resultados preliminares del crecimiento viral evidenciaron que, tras cinco pases seriados, el crecimiento del virus se vio disminuido entre un 10 y un 40% en presencia de las drogas candidatas. Asimismo, se presentan los resultados de la cinética de replicación e infectividad específica de las poblaciones virales en ausencia y en presencia de los tratamientos. Finalmente, se discute en este contexto la variación genética entre las poblaciones tratadas y no tratadas. Este estudio pretende contribuir a entender mejor la mutagénesis en coronavirus sugiriendo a la misma como estrategia antiviral.

Palabras clave: virus ARN, coronavirus, mutación, evolución, mutagénesis

164

Organoides intestinales: una herramienta versátil para el estudio *in vitro* de patologías del epitelio intestinal

Pagotto, Romina¹; Daghero, Hellen¹; Cancela, Saira¹; Medeiros, Andrea^{2,3}; Quiroga, Cristina²; Crispo, Martina⁴; Francia, M. Eugenia^{5,6}; Comini, Marcelo²; Bollati-Fogolín, Mariela¹

¹Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomátidos, Institut Pasteur de Montevideo

³Depto de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Unidad de Biotecnología de Animales de Laboratorio

⁵Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Institut Pasteur de Montevideo

⁶Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los organoides intestinales son estructuras multicelulares tridimensionales y autoorganizadas que recrean la morfología, diversidad celular y fisiología del intestino, constituyendo, de esta forma, modelos del epitelio intestinal de mayor relevancia que las líneas celulares tradicionales. En nuestro laboratorio hemos implementado el cultivo de organoides intestinales murinos, ovinos y bovinos, a partir de células madre adultas como herramientas de reducción del uso de animales de experimentación y para estudiar distintas patologías asociadas al epitelio intestinal. En este sentido, se generaron y caracterizaron organoides intestinales murinos reporteros del factor nuclear kappa B (NF- κ B), los cuales pueden ser aplicados para el estudio de diferentes inmunomoduladores en contextos inflamatorios. También se emplearon organoides derivados de colon murino para comprender el rol del epitelio intestinal en la infección y persistencia del parásito *Trypanosoma cruzi*. Como primera aproximación, cultivos de organoides en 2D y 3D fueron infectados con *T. cruzi*, evaluándose la distribución y carga parasitaria mediante microscopía confocal. Otra aplicación de estos modelos está enfocada al estudio del parásito *Toxoplasma gondii*. La diferenciación sexual de *T. gondii* está restringida al intestino felino, dificultando su estudio. Para modelar este proceso, organoides intestinales murinos fueron "felinizados", suplementando los cultivos con ácido linoleico e inhibiendo a la enzima delta-6-desaturasa. Estos resultados destacan la versatilidad del empleo de los organoides intestinales como herramientas para modelar *in vitro* patologías que involucran al epitelio intestinal, contribuyendo al principio de reducir el uso de animales de experimentación y aportando modelos más representativos de la fisiología y organización tisular.

Palabras clave: organoides intestinales, modelo celular, Trypanosoma, Toxoplasma

168

Evolución y genómica comparada de la espiroqueta patógena *Leptospira borgpetersenii*

Ferrés, Ignacio^{1,2}; Ciuffo, Camila³; Salazar, Cecilia^{1,2}; Zarantonelli, Leticia³; Buschiazzo, Alejandro^{4,5}; Picardeau, Mathieu^{5,6}; Iraola, Gregorio^{1,2,7,8}

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

²Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

³Laboratorio de la Unidad Mixta Pasteur + INIA, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

⁴Laboratorio de Microbiología Molecular y Estructural, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

⁵Pasteur International Unit, Integrative Microbiology of Zoonotic Agents, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay/Institut Pasteur, Paris, France

⁶Institut Pasteur, Biology of Spirochetes Unit, Paris, France

⁷Wellcome Sanger Institute, Hinxton, Cambridge, CB10 1SA, United Kingdom

⁸Center for Integrative Biology, Universidad Mayor, Santiago de Chile, Chile

Leptospira borgpetersenii es una especie patógena dentro del género *Leptospira* el cual consta de unas 68 especies o especies candidatas. *L. borgpetersenii* se trata de una especie patógena obligada capaz de infectar y producir leptospirosis en humanos, animales de granja y roedores, entre otros mamíferos. Hasta la fecha no hay una descripción genómica y evolutiva de la especie, aunque existen reportes de manifestaciones clínicas diferenciales dependiendo de las cepas con las que se infecten los distintos hospederos.

Nos propusimos realizar un análisis prospectivo de la estructura poblacional de la especie mediante un abordaje evolutivo y de genómica comparativa, partiendo de genomas públicos entre los que se encuentran algunos secuenciados a partir de muestras de bovinos infectados en Uruguay. Se reconstruyó el pangenoma de la especie, y se identificaron 2375 genes *core*, y 8179 genes accesorios. A partir de los genes *core* se realizó una inferencia filogenética, identificándose dos grandes grupos con rangos de hospedero diferenciales: uno con un rango de hospedero diverso (A), mientras que el otro mayoritariamente de genomas aislados de bovinos (B). Este agrupamiento también fue recuperado en un posterior análisis del genoma accesorio mostrando patrones de presencia y ausencia de genes distintos. Se estudió la virulencia de cepas representantes de ambos linajes en un modelo murino de infección subletal y se demostró que las cepas pertenecientes al linaje B logran infectar por vía de mucosas pero no establecen una colonización a nivel renal, mientras que la cepa del linaje A logra infectar y colonizar el parénquima renal.

Palabras clave: *Leptospira borgpetersenii*, genómica comparada, evolución, pangenoma

170

Una salud: circulación del virus de la Hepatitis E (HEV) en aguas residuales y animales de compañía

Icasuriaga, Romina^{1,4}; Hergatacorzian, Valentina¹; Cuevas, Santiago¹; Olivera, Mauricio¹; Berois, Mabel¹; Grecco, Sofía²; Pérez, Ruben²; Panzera, Yanina²; Benech, Alejandro³; Florencia, Cancela¹; Mirazo, Santiago^{1,4}

¹Sección Virología. Facultad de Ciencias. Universidad de la República

²Sección Genética Evolutiva. Facultad de Ciencias. Universidad de la República

³Departamento de Pequeños Animales, Facultad de Veterinaria. Universidad de la República

⁴Departamento de Bacteriología y Virología. Instituto de Higiene. Facultad de Medicina. Universidad de la República

La infección por el Virus de la Hepatitis E (HEV) es la principal causa de hepatitis aguda en regiones endémicas de África y Asia. En países con mayor nivel de desarrollo constituye una zoonosis emergente de creciente impacto en salud pública.

En este contexto, los principales reservorios de la infección suelen ser los cerdos domésticos y los jabalíes. Si bien la identificación de especies susceptibles aumenta constantemente, la información acerca de nuevos posibles reservorios para HEV en Uruguay es aún escasa. Con el objetivo de explorar potenciales reservorios para HEV y profundizar su epidemiología molecular en el país, nos propusimos, con un enfoque de Una Salud, detectar y analizar por RT-PCR y qRT-PCR la presencia de HEV en muestras de aguas residuales colectadas durante un año y en 31 animales de compañía. Se detectó la circulación de ARN viral en aguas residuales, que presentaron un muy alto porcentaje de identidad nucleotídica con secuencias previamente reportadas en casos clínicos humanos y en suinos. A su vez, se identificó la presencia de cepas de HEV o HEV-like en 4 perros y 2 gatos de compañía.

El estudio de zoonosis emergentes con un abordaje holístico de Una Salud, puede aportar información acerca de la epidemiología y los mecanismos de transmisión que contribuyan a la mitigación del impacto de estas infecciones en salud pública. Este estudio sugiere que los perros y gatos pueden ser potenciales reservorios de HEV, aunque su rol en la transmisión zoonótica debe ser investigado más en profundidad.

Palabras clave: HEV, Una Salud, animales de compañía, aguas residuales

172

Creación de un banco de microorganismos de pacientes oncológicos respondedores a la inmunoterapia de puntos de control

Peñalba, Florencia¹; Riera, Nadia¹; Florez, Valeria¹; Parada, Andrés¹; Elgul, Nabila¹; Pittini, Álvaro²; Carlos, Meyer³; Cawen, María Laura³; Ferrari, Aracely³; Laureiro, Elena³; Alonso, María Isabel³; Malvasio, Silvina³; Berois, Nora²; Osinaga, Eduardo²; Iraola, Gregorio^{1,4}

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Glicobiología e Inmunología Tumoral, Institut Pasteur de Montevideo

³Departamento de Oncología, Centro Asistencial del Sindicato Médico del Uruguay

⁴Wellcome Sanger Institute

El conjunto de microorganismos que habitan dentro del intestino humano, o microbioma intestinal, ha sido asociado a diferentes fenotipos de salud y enfermedad. En la última década, se ha evidenciado que existe un rol del microbioma intestinal de los individuos con cáncer que contribuye a la respuesta a la inmunoterapia de inhibidores de puntos de control. Géneros de microorganismos como Akkermansia, Ruminococcus y Bifidobacterium presentes en el intestino se han asociado a mejor respuesta clínica. En este trabajo utilizando métodos dependientes de cultivo evaluamos la composición del microbioma intestinal de pacientes oncológicos uruguayos respondedores a la inmunoterapia. Se recolectaron muestras de materia fecal de cinco pacientes y se realizaron aislamientos bacterianos en condiciones anaeróbicas (0.01-0.03% oxígeno). Las muestras obtenidas se plaquearon en diversos medios de cultivo entre ellos YCFA, BHI y BHI suplementado con mucina. Además de las técnicas por dilución seriada, utilizamos un método suplementando etanol para favorecer la recuperación de bacterias esporulantes. Las colonias aisladas fueron caracterizadas mediante amplificación y secuenciación del gen de ARN ribosomal 16S. Se lograron identificar más de 300 aislamientos bacterianos tras el análisis de muestras de 5 pacientes. Nuestros resultados incluyen bacterias de los géneros Clostridium, Enterococcus, Escherichia y Lactobacillus. En un futuro, esperamos evaluar la respuesta de algunos aislamientos en modelos animales. Estos resultados podrían impulsar el desarrollo de probióticos como intervención complementaria como también el desarrollo de posibles biomarcadores.

Palabras clave: cáncer, biobanco, microorganismos anaerobios

175

Estudio de inóculos definidos como controladores biológicos de *A. Flavus* en silos de grano húmedo de sorgo

Gonda Mariana¹; Garmendia Gabriela¹; Rufo Caterina²; Vero Silvana¹

¹Área Microbiología (DepBio), Facultad de Química, Universidad de la República

²Laboratorio de Alimentos y Nutrición, Instituto Polo Tecnológico, Facultad de Química, Universidad de la República

Los silos pueden presentar 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 frecuente en silos de sorgo en Uruguay es *Aspergillus flavus*, especie conocida como productora de aflatoxinas. Una estrategia que se utiliza para inhibir el deterioro fúngico en los silos son los inoculantes microbianos. En este contexto se estudió al kefir de agua (KA) como inoculante de cuarta generación. El KA es una bebida producida por fermentación de soluciones azucaradas utilizando gránulos de KA, formados por bacterias ácido-lácticas, ácido-acéticas y levaduras embebidas en una matriz de polisacáridos. Los resultados del estudio mostraron que los microorganismos del KA controlan el crecimiento de *A. flavus* en los mini-silos de sorgo durante la fase aerobia inicial. La comunidad microbiana del KA se estudió por secuenciación masiva e integrantes de esta comunidad fueron aislados e identificados.

Dichos microorganismos fueron evaluados en forma individual y en grupos buscando un bioinoculante definido con el cual se controlará el crecimiento de *A. flavus* en forma similar a la obtenida con la comunidad completa. Se realizaron mini-silos experimentales inoculados con diferentes combinaciones de aislamientos del KA y *A. flavus*. El crecimiento del hongo se determinó por qPCR. Los resultados mostraron que un inóculo mixto compuesto por dos bacterias ácido-lácticas, dos levaduras y una bacteria ácido-acética en presencia de compuestos solubles del sobrenadante del KA logró inhibir el crecimiento de *A. flavus*, de igual manera que el KA completo.

Palabras clave: Kefir de agua, *A. flavus*, Biocontrol

183

Análisis genómico de *clostridioides difficile* ayuda a entender la diversidad y expansión transcontinental en esta especie
Parada, Andrés¹; Costa Duarte, Daniela¹; Florez, Valeria¹; Iraola, Gregorio^{1,2}

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Wellcome Sanger Institute, UK

Clostridioides difficile, (*C. diff*) es el agente etiológico más común de diarreas intrahospitalarias asociadas al uso de antibióticos. Cerca del 50% de los pacientes hospitalizados están colonizados por *C. diff*, pero bajo disbiosis intestinal casi el 15% desarrolla la infección que va desde diarrea hasta la muerte. A partir del año 2000 hubo un aumento inusual en la incidencia de infecciones por *C. diff* en América del Norte y Europa asociados a la cepa RT027. Más recientemente se han identificado otros linajes de interés en Asia y Latinoamérica. A través de análisis filogenéticos, ahora se entiende cómo distintos linajes han adquirido resistencia a antibióticos facilitando su expansión transcontinental. Sin embargo, dado que casi todos los estudios genómicos se han enfocado en conocer las dinámicas en Europa y Norteamérica, restaba saber qué linajes de *C. diff* están presentes en Latinoamérica. Para caracterizar la evolución del grupo, analizamos 1497 genomas completos de *C. diff*, incluyendo 369 muestras de Latinoamérica y se realizaron análisis filogenéticos, de pangenoma y de diversidad funcional. El análisis filogenómico identificó dos nuevos linajes y clarificó la posición filogenética de los 6 grandes linajes que componen *C. diff*. Se discute la diversidad funcional, las diferencias en la presencia de resistencia antimicrobiana y toxinas en distintos grupos de *C. diff*. La inclusión de genomas provenientes de Latinoamérica permitió recuperar una filogenia robusta y ayudó a entender la evolución del grupo. Los análisis sugieren que esta región ha actuado tanto como una fuente y como sumidero de dispersión a otros continentes.

Palabras clave: filogenómica, pangenoma, antibióticos

186

Análisis cuali-cuantitativo de Rotavirus en aguas residuales en un contexto de pandemia por COVID-19

Cuevas, Santiago¹; Hergatacorzian, Valentina¹; Icasuriaga, Romina¹; Olivera, Mauricio¹; Mirazo, Santiago^{1,2}; Berois, Mabel¹

¹Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Cátedra de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los virus entéricos son virus de transmisión fecal-oral, estos se pueden transmitir de forma directa humano-humano, o indirecta a través de la ingestión de alimentos y/o agua contaminada. En esta categoría destacan los Rotavirus grupo A (RVA), principal causante de gastroenteritis infecciosa en niños menores a 5 años, y que infectan tanto a humanos como animales; cuya presencia en matrices ambientales ha sido ampliamente estudiada.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la presencia y prevalencia de este virus en aguas residuales en un contexto de pandemia y emergencia sanitaria por SARS-CoV-2. A partir de muestras extraídas semanalmente del afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Melo, se evaluó la presencia y concentración de RVA. El muestreo abarcó el primer semestre del año 2021, momento en el cual circulaba la variante de preocupación Gamma de SarsCoV-2, el confinamiento de la población no era obligatorio, pero si recomendado y se había iniciado el plan masivo de vacunación. La detección y cuantificación absoluta se efectuó mediante ensayos moleculares de RT-qPCR. Se confirmó la presencia de RVA en 21,9% de las muestras, acumuladas en los meses de abril a junio, coincidiendo con el inicio del descenso de la temperatura, algo que es esperable con la aparición de gastroenteritis por RVA en la población. Los resultados obtenidos son discutidos en base a datos disponibles de circulación y detección de SarsCov-2, así como otros datos de detección de RVA a nivel ambiental previo a la pandemia.

Palabras clave: Rotavirus, SARS-CoV-2, aguas residuales, carga viral

194

Rol de la cadena pesada de la miosina no muscular IIA (MYH9) en la internalización viral

Ponce, Matías¹; Ansin, Natalia^{1,2}; Sarute, Nicolás^{1,3}

¹Laboratorio de Interacciones Virus Célula, Institut Pasteur de Montevideo

^{1,2}Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR

^{1,3}Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, UdelaR

Los virus han desarrollado la capacidad de explotar funciones celulares esenciales para ingresar y replicarse en distintos tipos celulares y, a su vez, las células hospederas han desarrollado refinados mecanismos de restricción para

contrarrestar las etapas del ciclo infeccioso viral, incluyendo la internalización de partículas virales. Recientemente demostramos que la proteína reguladora de señales alfa (SIRPA) limita la internalización de virus envueltos pertenecientes a diversas familias. SIRPA es una glicoproteína transmembrana cuya señalización celular bloquea la fagocitosis dependiente de actina filamentosa, debido a la defosforilación de la cadena pesada de la miosina no muscular IIA (MYH9), una proteína motora que facilita la ingestión fagocítica, cuya fosforilación en los residuos de tirosina 277Y/1805Y es indispensable para su activación y función en la fagocitosis.

Mediante el silenciamiento de la expresión de MYH9 utilizando ARNi y la inhibición farmacológica de su actividad ATPasa, hemos identificado que MYH9 aumenta los niveles de infección/internalización de virus endocíticos cuya entrada es limitada por la expresión de SIRPA. Para analizar si la fosforilación de tirosina es relevante para su función en la entrada viral, hemos generado mutantes de MYH9 "fosfoinactivos" en base a un constructo de MYH9 wild-type (WT) fusionado a GFP para determinar su localización subcelular y contribución a la endocitosis viral. Nuestros primeros resultados muestran que la sobreexpresión de MYH9-WT favorece la internalización viral, mientras que la expresión de un mutante con residuos de fenilalanina en las posiciones 277 y 1805 (MYH9-2F) no incrementó los niveles de internalización respecto a la expresión endógena de MYH9.

Palabras clave: miosina no muscular IIA, virus endocíticos, internalización viral

207

Caracterización de la expresión de las nitrogenasas presentes en la bacteria promotora del crecimiento vegetal *Kosakonia radicincitans* UYSO10

Olave, Ma Eugenia¹; de los Santos, María Cecilia¹; Platero, Raúl²; Battistoni, Federico¹; Taulé, Cecilia¹

¹Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo. Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas (BIOGEM), Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Ministerio de Educación y Cultura, Uruguay

²Laboratorio de Microbiología Ambiental. BIOGEM, IIBCE. MEC

La bacteria endófito promotora del crecimiento vegetal (PCV) *Kosakonia radicincitans* UYSO10 tiene la particularidad de presentar en su genoma dos operones codificantes para la enzima nitrogenasa (enzima responsable de la fijación biológica del N): el clásico operón *nif* que codifica para la Mo-nitrogenasa, y el alternativo *anf* que codifica para la Fe-nitrogenasa. En esta cepa se demostró que ambas enzimas son funcionales y que la FBN está involucrada en la PCV de plantas de caña de azúcar. A continuación, se construyeron plásmidos donde se clonaron delante del gen reportero *msfGFP*, las regiones promotoras de los operones que codifican para ambas nitrogenasas. Estos plásmidos fueron incorporados en la cepa UYSO10.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la expresión de las Mo- y Fe-nitrogenasa presentes en el genoma de la cepa UYSO10.

En primera instancia se puso a punto un ensayo *in vitro* en placas de 96 pocillos para evaluar la expresión de los promotores. A continuación se crecieron las diferentes cepas en medio de cultivo NFCC con las siguientes modificaciones: i- variación de las fuentes de carbono y nitrógeno; ii- diferentes concentraciones de molibdeno y vanadio; iii- incubación a distintas temperaturas; iv- sustituyendo las fuentes de C y N por exudados radiculares o líquido apoplástico de plantas de caña de azúcar. La expresión de los promotores se evaluó midiendo directamente la fluorescencia del gen reportero (*msfGFP*) de los cultivos bacterianos utilizando un fluorímetro.

Los resultados mostraron la predominancia de la expresión del promotor de la Mo-nitrogenasa sobre el de la Fe-nitrogenasa.

Palabras clave: *Kosakonia radicincitans*, endófito, caña de azúcar, fijación biológica de N, nitrogenasa

210

Producción de bioetanol de segunda generación con una levadura termotolerante a partir de aserrín de eucalipto

Moure, Santiago^{1,2}; Guigou, Mairan¹; Cebreiros, Florencia¹; Cabrera, Noel²; Clavijo, Leonardo²; Rodao, Juan Martín

²; Camesasca, Laura¹; Vila, María Eugenia¹; Liguori, Alberto¹; Ferrari, Mario Daniel¹; Lareo, Claudia¹

¹Departamento de Bioingeniería, Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

²Grupo de Ingeniería de Procesos Forestales, Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

La generación de residuos de eucalipto (aserrín) se ha incrementado en Uruguay con el crecimiento de la industria pulpera, utilizado principalmente para producir energía. Representa una biomasa lignocelulósica promisoriosa para obtener biocombustibles y productos químicos renovables.

En este trabajo el aserrín fue pretratado con ácido (0.6% H₃PO₄, 45 min, 160°C), seguido de un tratamiento alcalino (14% NaOH, 60 min y 155°C). Se obtuvieron 17 g/L de xilosa en el primer hidrolizado y se separó un 76% de lignina en el licor del segundo tratamiento. En el sólido resultante (82% glucano, 2% xilano y 19% lignina), se estudiaron tres configuraciones de hidrólisis enzimática y fermentación: hidrólisis y fermentación separadas (SHF), sacarificación y fermentación en simultáneo con prehidrólisis (PSSF), y sacarificación y fermentación en simultáneo (SSF). La diferencia de temperaturas óptimas en las etapas de hidrólisis enzimática y fermentación supone un desafío para las configuraciones en simultáneo, por ello se evaluó el uso de una cepa de levadura termorresistente capaz de fermentar a mayores temperaturas (37, 39, 41°C). Se utilizó una cepa industrial de *Saccharomyces cerevisiae* Thermosacc®.

Se trabajó con una carga de sólido de 18%, carga enzimática de 25 FPU/g_{glucano} Cellic Ctec2 y agitación orbital 100-150 rpm. Se alcanzó una eficiencia global de fermentación de 40-49% y una concentración final de etanol de 60-73 g/L. La mejor configuración de fermentación resultó SSF, a una temperatura de 41°C; bajo estas condiciones se logró obtener 170 m³ de etanol por tonelada de aserrín y una productividad de 3 g/Lh.

Palabras clave: Levadura termotolerante, Bioetanol, Biorrefinería, Residuos forestales

215

Diversidad y actividad bacteriana en un lago antártico de la Península Fildes (lago Uruguay)

Leites, Lucía¹; Bertoglio, Florencia^{1,2}; Piccini, Claudia¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana Acuática, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay

²Geography Department & Centre for Northern Studies (CEN), Université Laval, Quebec, Canada

Los lagos antárticos poseen bajos aportes de nutrientes y de materia orgánica, además de poseer redes tróficas simplificadas dominadas por el bucle microbiano. La Península Antártica es la zona del continente con mayor actividad humana y con una gran influencia del cambio climático. Esto podría resultar en aumentos de los flujos de materia orgánica y de nutrientes hacia los lagos allí presentes, repercutiendo en la actividad metabólica y en la diversidad bacteriana. Sin embargo, no toda la comunidad del bacterioplancton se encuentra activa en un momento determinado y poco es sabido acerca de cómo las condiciones ambientales en estos ecosistemas repercuten sobre su actividad. El objetivo de este trabajo es conocer la actividad y diversidad bacteriana del Lago Uruguay, localizado en la Península Fildes (Isla Rey Jorge, Península Antártica). Para ello, se cuantificarán las bacterias con respiración celular activa, mediante un colorante redox fluorescente (CTC) incubado en muestras de agua del lago. La contabilización celular será manual mediante microscopía confocal, estimando la proporción de bacterias metabólicamente activas en relación a la abundancia total (cuantificadas mediante tinción con DAPI). Finalmente, la diversidad bacteriana será analizada mediante secuenciación masiva de una región del gen ARNr 16S. Resultados preliminares indican una abundancia bacteriana de 2.9 x 10⁵ células/mL, de las cuales el 58.7% se encontraron asociadas a partículas. Esto podría relacionarse con las escasas fuentes de carbono disuelto en el sistema, resultando en una importante asociación entre el bacterioplancton y la materia orgánica particulada.

Palabras clave: Bacterioplancton, Actividad bacteriana, Diversidad bacteriana

221

Defensinas de plantas nativas: congorosa versus ibirapitá

Castro Rosas, Roberto¹; Barraco Vega, Mariana²; Juan Pablo Barboza²; Susana Rodríguez, Decuadro³; da Rosa, Gabriela^{2,4}; Cecchetto, Gianna^{1,2}

¹Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Salto, Uruguay

Entre la amplia gama de moléculas de defensa contra microorganismos patógenos, producida por plantas, destacan los péptidos antimicrobianos (AMPs-*antimicrobial peptides*), para el desarrollo de nuevos fármacos con acción antibiótica o como agentes de diagnóstico de infecciones en salud humana y animal y en agroindustria. En particular, las defensinas vegetales, AMPs básicos (45-54 aminoácidos) con estructura terciaria compacta estabilizada por puentes disulfuro, consideradas no tóxicas para células de mamíferos y baja generación de resistencia debido a la diversidad de modos de acción. En este trabajo se compara el reservorio de defensinas, identificado en transcriptomas ensamblados *de novo*, de las especies nativas *Peltophorum dubium* (ibirapitá) y *Maytenus ilicifolia* (congorosa), con el fin de ampliar el repertorio conocido y definir futuras aplicaciones. La robustez de los ensamblados se validó mediante amplificación específica y secuenciado. Se identificaron 18 secuencias no publicadas, siendo congorosa la especie con mayor diversidad de secuencias y a nivel del motivo γ -core GX_ACX₃₋₁₀C con relación a ibirapitá GX_ACX₄₋₈C. Ocho candidatos representativos, están siendo subclonados y producidos en *E.coli* para determinar microorganismos susceptibles (actividad antimicrobiana), blancos subcelulares de acción y estabilidad en función de temperatura y pH. Las defensinas clásicas con motivo GX_ACX₆C son las más abundantes (cuatro cada especie) y conservadas, con solo tres cambios en X6 (R_{1,5}/H, F₃/L). La incidencia en la actividad/afinidad de estos residuos se evalúa por simulaciones y por sustitución en EcgDf11, péptido sintético (11 aminoácidos) derivado de una defensina de ceibo, con capacidad de unión a microorganismos blanco demostrada previamente. Palabras clave: péptidos antimicrobianos, diversidad, estructura-función.

223

“Análisis de las amilasas presentes en cepas de *Aureobasidium pullulans* nativas para su aplicación a la producción de cerveza”

Tourné, Florencia¹; **Schinca, Cecilia**²; **Medina, Karina**²; **Panizza, Paola**¹

¹Departamento de Biociencias, Laboratorio de Biocatálisis y Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química, Universidad de la República

²Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Laboratorio de Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, Facultad de Química, Universidad de la República

Existe un gran interés en la industria nacional cervecera por elaborar productos que escapen del patrón normal y permitan diversificar su comercialización. En este sentido, se propone contribuir con el proceso de elaboración de cervezas bajas en calorías, mediante el estudio de la actividad enzimática amilasa de cepas de *Aureobasidium pullulans* nativas, la cual influiría en el desarrollo del producto de interés por su implicación en la descomposición e hidrólisis del almidón. En trabajos previos se han aislado diversas cepas de este microorganismo, algunas de las cuales presentaron potencial como productoras de amilasas extracelulares en ensayos preliminares. En este trabajo se realizó el cultivo de dos cepas de *Aureobasidium pullulans* en medios de producción, obteniendo extractos enzimáticos con actividad amilasa, los cuales fueron analizados por SDS-PAGE. Se evaluaron métodos de concentración y conservación de la enzima con vistas a su posible uso en la industria cervecera. Paralelamente, se analizaron las secuencias de amilasas y glucoamilasas de *Aureobasidium pullulans* previamente reportadas, y se diseñaron primers dirigidos a zonas conservadas para los distintos grupos de enzimas. Utilizando dichos primers, se amplificaron fragmentos de estas enzimas en nuestras cepas de interés, los cuales fueron secuenciados. Se encontró que las cepas estudiadas presentan una batería de enzimas amilasas y glucoamilasas responsables de su capacidad de degradar almidón, las cuales muestran diferencias con las enzimas previamente reportadas. En conclusión, *Aureobasidium pullulans* de origen nativo es un microorganismo con potencial para mejorar la efectividad de los procesos cerveceros, con miras al desarrollo de cervezas funcionales.

Palabras clave: Cerveza; *Aureobasidium pullulans*; α -amilasa; actividad enzimática

224

Adaptación transcontinental del patógeno asociado a bovinos *Campylobacter fetus*

Costa, Daniela¹; **Parada, Andrés**¹; **Ferrés, Ignacio**¹; **Iraola, Gregorio**¹

¹Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur Montevideo

Campylobacter fetus es una especie bacteriana asociada al hospedero, con linajes asociados a infecciones genitales en bovinos y otros asociados a infecciones oportunistas en humanos. Se asume que las infecciones en ganado bovino y asociadas a fallas reproductivas, causantes de la enfermedad conocida como Campylobacteriosis Genital Bovina (CGB), son

debidas, en gran medida, al clon adaptado a bovinos denominado ST-4. En este trabajo demostramos que este clon en realidad presenta una estructura poblacional marcada que consiste en cuatro linajes, primariamente asociados a Europa y América del Sur. Utilizamos un abordaje filogenético a partir de una colección global de genomas de más de 200 cepas, a partir del cual obtuvimos evidencias que señalan que el clon bovino se originó aproximadamente hace 500 años, y que pudo haber arribado desde Europa durante el período de colonización de América Latina. Detectamos eventos de recombinación específicos en genes involucrados a la evasión del sistema inmune del hospedero, y una expansión de los elementos genéticos móviles, como adaptaciones genómicas que resultaron de la evolución alopatrica transcontinental de las poblaciones de *C. fetus*. Nuestro marco evolutivo reveló una estructura poblacional en *C. fetus* de origen bovino que no había sido apreciada anteriormente, que facilitará la investigación en epidemiología y el desarrollo de herramientas moleculares de diagnóstico y para el combate de las infecciones genitales en bovinos causadas por este patógeno.

Palabras clave: *Campylobacter fetus*; genómica; filogenómica

226

Regulación de los genes implicados en el catabolismo de D-xilosa en *Herbaspirillum seropedicae* Z69

Malán, Ana Karen ^{1,2}; Castro Sowinski, Susana ²; Batista, Silvia ¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La D-xilosa es el segundo carbohidrato más abundante en la naturaleza. Se encuentra en la biomasa lignocelulósica, uno de los residuos agroindustriales más importantes. Sin embargo, no es ampliamente utilizada a nivel industrial para generar productos con valor agregado, ya que los microorganismos utilizados clásicamente no son capaces de metabolizarla eficientemente y/o presentan represión catabólica por sustrato, lo que enlentece los procesos. *Herbaspirillum seropedicae* es una β -proteobacteria capaz de crecer en presencia de D-xilosa y acumular más del 50% de su peso seco como poli-3-hidroxibutirato, biopolímero termoplástico y biodegradable. Para el catabolismo de D-xilosa emplea rutas no-fosforilativas. En este trabajo se estudiaron los mecanismos regulatorios implicados en el metabolismo de D-xilosa en *H. seropedicae* Z69. El mutante apolar dirigido en el gen regulador *xyIR* presentó crecimiento reducido (50%) en D-xilosa al ser comparado con la cepa salvaje. Además, la actividad D-xilosa deshidrogenasa en extractos libres de células de Z69 Δ *xyIR* crecida con D-xilosa como única fuente carbonada se redujo drásticamente (95%) comparada con la de la cepa salvaje cultivada en las mismas condiciones. Por otro lado, se identificó que los genes *xyIFGH* (transportador de D-xilosa del tipo ABC), y los genes *xyIBD* y *xyIC* (enzimas de la ruta no-fosforilativa superior) se encuentran formando operones diferentes, cuya expresión es activada por XylR. Los genes *xyIA* y *mhpD* (rutas no-fosforilativas inferiores) y *araB* no están regulados por *xyIR*. Finalmente, mediante EMSA, se observó que rXylR se une a las regiones promotoras de los genes *xyIFGH* y/o *xyIR* y a la región promotora de *xyIBD*.

Palabras clave: D-xilosa, *Herbaspirillum seropedicae*, XylR

227

Producción recombinante y caracterización bioquímica de una *dyp*-peroxidasa de la bacteria antártica *Pseudomonas* sp. Au10

Cagide, Célida ¹; Marizcurrena, Juan José ¹; Vallés, Diego ²; Álvarez, Beatriz ³ y Castro-Sowinski, Susana ^{1,2}

¹Sección Bioquímica, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, 11400 Uruguay

²Laboratorio de Biocatalizadores y sus Aplicaciones, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, 11400 Uruguay

³Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, 11400 Uruguay

Las DyP peroxidases (Dye-decolorizing Peroxidase) son hemoproteínas que catalizan la oxidación dependiente de H₂O₂ de varios sustratos. También llevan a cabo la degradación de la lignina, aunque con baja actividad. Identificamos un gen *dyp* en el genoma de un microorganismo antártico tolerante al frío (*Pseudomonas* sp. AU10). La proteína recombinante (rDyP-AU10) producto de este gen, se produjo utilizando *Escherichia coli* como hospedero, se purificó mediante cromatografía de afinidad con metales inmovilizados (IMAC) y cromatografía de exclusión molecular (SEC),

y se realizó su caracterización bioquímica parcial. Detectamos que rDyP-AU10 se produce principalmente como un dímero y tiene características que se asemejan a las enzimas psicrófilas como son: una alta actividad a baja temperatura (20 °C, usando ácido 2,2'Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico - ABTS - como sustrato), inestabilidad térmica, bajo contenido de arginina y prolinas, y un bolsillo catalítico con una superficie más grande que las DyP peroxidasas de algunos microorganismos mesófilos y termófilos. Determinamos los parámetros cinéticos de rDyP-AU10 para los sustratos e hidroquinona, y analizamos la formación de los compuestos I y II, según se mostrará en el póster. Además, comprobamos que rDyP-AU10 decolora tintes de uso habitual en la industria textil, y degrada lignina kraft, lo que sugiere que esta enzima puede tener un uso potencial en la biorremediación de colorantes, así como en las industrias de la pulpa de celulosa y de los biocombustibles.

234

Evaluación de la adaptación al ambiente intestinal de serovares de *Salmonella enterica* con diferente capacidad patogénica

Martínez-Sanguiné, Adriana¹; **Traglia, Germán**¹; **D' Alessandro, Bruno**¹; **Chabalgoity, Alejandro**¹; **Betancor, Laura**²; **Yim, Lucia**¹

¹Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdeLaR

²Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdeLaR

La salmonelosis es una de las principales enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial. Ésta se puede manifestar como una gastroenteritis autolimitada, o en formas más graves como infecciones invasivas o extra-intestinales. Se ha descrito la delección o inactivación de genes implicados en el metabolismo anaerobio central (importantes para proliferar en el intestino) en serovares invasivos de *Salmonella*. Nuestros estudios previos de proteómica comparativa entre el serovar Dublin (invasivo) y Enteritidis (serovar gastrointestinal), crecidos en condiciones que simulan el intestino de mamíferos, mostraron varias proteínas involucradas en la utilización de etanolamina (un compuesto presente en el intestino), ausentes en los proteomas de S.Dublin pero presentes en los de S.Enteritidis. Hipotetizamos que el serovar Enteritidis está mejor adaptado que Dublin para respirar anaeróticamente etanolamina utilizando aceptores de electrones alternativos al O₂ como el tetrionato (generado como consecuencia de la inflamación). Esta capacidad le permitiría competir mejor con la microbiota intestinal.

En este trabajo analizamos comparativamente el crecimiento de ambos serovares en medio mínimo suplementado con etanolamina como única fuente de C en anaerobiosis, demostrando que Enteritidis crece significativamente mejor. Resultados de *ensayos in vivo* en el modelo murino sugieren que Enteritidis genera mayor respuesta inflamatoria intestinal que Dublin lo cual favorecería la presencia de tetrionato y la proliferación de *Salmonella* en el intestino. Se discutirán resultados de análisis de expresión de reguladores del operón *eut* y comparaciones genómicas de la vía de síntesis de cofactores, tendientes a aportar pistas acerca de los mecanismos responsables del silenciamiento de este operón en S.Dublin.

Palabras clave: *Salmonella*, etanolamina, patogenicidad

239

Variación de la colonización y diversidad fúngica en raíces de plantas de campo natural respecto al fósforo disponible

Rodríguez Rodríguez, Natalia¹; **Gonnet, Rebeca**¹; **Michelini, Diego**²; **Naya, Hugo**³; **Rodríguez-Blanco, Andrea**¹

¹Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

²Estación Experimental de Facultad de Agronomía Salto, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

³Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

Las plantas han desarrollado diferentes estrategias para enfrentar la deficiencia de fósforo disponible en la mayoría de los suelos de campo natural. La asociación con hongos benéficos mediante una interacción simbiótica provee a la planta de P inaccesible para esta. El objetivo de este trabajo fue estudiar la plasticidad de la comunidad fúngica de las raíces al variar el fósforo disponible. Se realizó un ensayo en invernáculo en macetas incluyendo 4 especies de plantas (*Adesmia bicolor*, *Baccharis genistelloides*, *Cyperus aggregatus* y *Paspalum notatum*) y 3 niveles contrastantes de fósforo agregado. Se cuantificó la colonización de hongos en raíces mediante la observación en microscopio de raíces teñidas identificando estructuras de hongos micorrízicos (hifas, arbusculos, vesículas y ovillos)

y de hongos septados oscuros (*DSE*). Los datos se analizaron ajustando un MLGM. La colonización micorrízica disminuyó al aumentar el fósforo para todas las especies, excepto *C. aggregatus*. Todas las especies presentaron hifas de *DSE*, en *A. bicolor* la colonización fue significativamente superior en el nivel intermedio, mientras que para *B. genistelloides* disminuyó al aumentar el P. La especie con mayor colonización micorrízica y de *DSE* fue *P. notatum* y la menos micorrizada *C. aggregatus*. La colonización micorrízica varió entre especies y nivel de P, mientras que el efecto en los *DSE* dependió de la especie. Para estudiar la comunidad fúngica, se amplificó y secuenció la región ITS2 en muestras de raíces. El preprocesamiento de datos se realizará utilizando DADA2 y UNITE para asignación taxonómica. Se estudiará la diversidad e identificarán taxas diferencialmente representadas.

Palabras clave: micorrizas; campo natural; plasticidad; fósforo; *DSE*

241

Análisis de la producción de biofilms en cepas de *Staphylococcus aureus* causantes de infecciones invasivas en niños
Br. Parnizari Andrés¹; **Dra. Mota Inés**^{1,2}; **Lic Reyes Natalia**¹; **Dra Robino Luciana**¹; **Dr Varela Gustavo**¹; **Dra. Pardo Lorena**¹⁻³

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Microbiología del Centro Hospitalario Pereira Rossell, Administración de los Servicios de Salud del Estado

³Clínica Pediátrica "C", Facultad de Medicina, Universidad de la República

Introducción: Se ha estudiado en *S. aureus* la capacidad de producir biopelículas. Estas estructuras protegen a los microorganismos de condiciones hostiles, como la temperatura, escasez de nutrientes, humedad, células del sistema inmune y de algunos fármacos.

Objetivo: Estudiar la producción de *biofilms* en aislamientos de *S. aureus* provenientes de infecciones invasivas en menores de 15 años asistidos en el Hospital Pereira Rossell desde 2011 al 2017.

Materiales y métodos: Se estudiaron 52 aislamientos. Se determinó la susceptibilidad antibiótica por VITEK 2 y la presencia del gen *mecA* por PCR. Se tipificó el SCC*mec* cuando correspondía según Kondo. Se analizaron el tipo de infección, ingreso a cuidados intensivos (UCI) y complicaciones. Se buscaron genes de virulencia. Se analizó el *biofilm* con réplicas técnicas y biológicas según Villegas y col y se clasificaron en débiles, moderadas o fuertemente formadoras.

Resultados: Se estudiaron 52 aislamientos de los cuales 67% corresponden a bacteriemias. Veintidos (42%) fueron meticilino resistentes (SAMR) y portaron el gen *mecA*. Portaron el SCC*mec* tipo IV 15 aislamientos. Asociaron resistencia a otros antibióticos 4 cepas. Presentaron TSST 14% y PVL 15%. Ingresaron a UCI 7 pacientes. Del total, formaron *biofilm* 37 (71%): débilmente 14, moderadamente 20 y fuertemente 3. Estas últimas no se asociaron con la topografía de las infecciones, ni con la evolución. De las no formadoras de *biofilm* (15), 9 fueron SAMR.

Conclusiones: Se documentó la capacidad de formar biofilms pero es necesario profundizar en estos hallazgos para dilucidar su rol en las infecciones en niños.

Palabras claves: *S. aureus*, biofilms, meticilino resistencia

242

Desarrollo de metodologías para el estudio de la prevalencia de bacterias patógenas para los seres humanos en frutas y hortalizas de Uruguay

Ernst, Deborah¹; **Yim, Lucía**²; **Rufo, Caterina**³; **Ibáñez, Facundo**⁴

¹Área Agroalimentos, INIA Las Brujas

²Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR

³Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, UdelaR

⁴Área Agroalimentos, INIA Las Brujas

Las Frutas y Hortalizas fundamentales en una dieta sana y nutritiva, son responsables de un creciente número de casos de enfermedad causados por bacterias patógenas a nivel mundial. Los patógenos de mayor relevancia son *Salmonella* spp., *Escherichia coli* formadora de toxinas Shiga (STEC) y *Listeria monocytogenes*. En nuestro país, el control y prevención del consumo de productos contaminados es limitado principalmente por el alto costo de los métodos de detección. En este trabajo se propuso implementar una metodología de detección por High Resolution Melting (HRM), antecedida por PCR en Tiempo Real (PCR-RT), como una alternativa sensible y de bajo costo que permita detectar los tres patógenos simultáneamente. Se seleccionaron de literatura 28 pares de cebadores con características adecuadas de selectividad y especificidad, que generen amplicones menores a 300 pares de base y

%GC entre 30 y 80%. Se determinó la temperatura de disociación práctica para cada par de cebadores y se seleccionaron aquellos que distaran más de 2°C entre sí para permitir la identificación de cada patógeno. Finalmente se seleccionó una combinación de 7 pares de cebadores incluyendo un control interno para utilizar en una misma reacción. Se realizaron ajustes de las concentraciones de MgCl₂, de cebadores y del número de ciclos de la reacción. En conclusión, este trabajo generó los insumos necesarios para implementar la detección simultánea en una única reacción de PCR-RT seguida de HRM de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., 4 genes de STEC junto a un par de cebadores que opera como control interno de la reacción.

Palabras clave: enfermedades transmitidas por alimentos, frutas y hortalizas contaminadas, detección de patógenos, High Resolution Melting

248

Arqueas involucradas en la producción de biogás en reactores industriales de bebidas

Cecilia Callejas¹; **Alina Méndez**¹; **Iván López**¹; **Liliana Borzacconi**¹

¹BIOPROA, Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

La digestión anaerobia es el proceso biológico responsable de la producción de biogás (mayoritariamente CO₂ y CH₄) y una biotecnología aplicada al tratamiento de residuos industriales líquidos y sólidos con alta carga orgánica. Este proceso se sostiene sobre una comunidad microbiana anaerobia que funciona concertadamente para degradar la materia orgánica compleja presente en los residuos tratados. La formación de metano es catalizada exclusivamente por arqueas metanogénicas, estas se pueden agrupar por distintos criterios, entre ellos el filogenético y el energético. Este último comprende arqueas i) hidrogenotróficas (utilizan H₂/ formato y CO₂), ii) metilotróficas (utilizan compuestos metilados) o iii) acetogénicas (utilizan acetato). Asimismo, la formación de metano en reactores se da principalmente por la vía acetoclástica, sin embargo si esta vía se encuentra inhibida por algún motivo, la metanogénesis podría darse por la vía hidrogenotrófica. En este trabajo se plantea conocer la estructura filogenética de la comunidad microbiana presente en tres reactores industriales de efluentes líquidos y especular la vía de formación de metano. Se secuenciaron librerías de amplicones del gen de rARN de 16S con primers específicos para arqueas y bacterias empleando ADN y cADN como molde. Se compararon las abundancias de las bibliotecas de ADN y cADN para especular acerca de los miembros más activos y se compararon los resultados con actividades metanogénicas específicas con acetato o H₂/ formato y CO₂ como sustrato. Debido a que no se conoce con profundidad si la metanogénesis hidrogenotrófica es robusta o por el contrario, vulnerable a la desestabilización del reactor a largo plazo o frente a un shock de carga orgánica, es necesario primero generar información que apoye los resultados de actividad metanogénica para confirmar nuestra hipótesis.

Palabras clave: biogás, arqueas, rARN de 16S

252

Dilucidando el impacto del sistema inmune en el moldeado de genomas de arbovirus

Simón, Diego^{1,2,3}; **Megrián, Daniela**⁴; **Paz, Mercedes**^{1,2,5}; **Ferreiro, Irene**^{1,2}; **Pereira-Gómez, Marianoel**^{1,2}; **Fajardo, Álvaro**^{1,2}; **Musto, Héctor**³; **Moreno, Pilar**^{1,2,5}; **Moratorio, Gonzalo**^{1,2,5}

¹Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

²Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

³Laboratorio de Genómica Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

⁴Microbiologie Structurale, Institut Pasteur, CNRS UMR 3528, Université de Paris, Francia

⁵Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

Los arbovirus se mantienen en la naturaleza cumpliendo un ciclo entre un vertebrado y un vector artrópodo. Vertebrados y artrópodos están separados por más de seiscientos millones de años de evolución. Esta divergencia se manifiesta, por ejemplo, en importantes diferencias en sus sistemas inmunes. Para este trabajo se incluyeron diferentes arbovirus y virus específicos de insectos, y sus principales hospederos y/o vectores. A partir de abordajes computacionales hemos estudiado su composición genómica, donde se evidencian patrones distintivos entre ambos tipos de ciclos replicativos. Los pares de citosina y guanina unidos por enlaces fosfodiéster (CpG) son firmas genómicas relevantes. Los arbovirus están empobrecidos en CpG, en contraste con la alta frecuencia observada en virus que infectan exclusivamente insectos. Aún cuando los vectores artrópodos presentan heterogeneidad en sus

frecuencias de CpG, las propiedades composicionales exhibidas por los arbovirus parecen estar determinadas por la presión del sistema inmune vertebrado.

Recientemente se ha empezado a comprender el mecanismo de acción de la proteína antiviral con dedos de zinc (ZAP). En vertebrados se une preferentemente a regiones de ARN virales ricas en pares CpG. Al analizar nuestros resultados en conjunto, podemos afirmar que los artrópodos carecen de ortólogos de ZAP. Aun así, en sus proteomas encontramos parálogos de ZAP con funciones celulares diferentes a la de ZAP como PARP1, PARP5 y PARP16. Aunque se ha reportado actividad antiviral en varias de las proteínas de la familia PARP, queda mucho por entender sobre la evolución de esta familia multigénica y sus mecanismos de acción antiviral.

Palabras clave: arbovirus, firmas genómicas, proteínas antivirales, sistema inmune

256

¿El sexo influye sobre la respuesta inmune humoral anti-*leptospira* en seres humanos?

Iglesias, Tamara¹; **Caetano, Ana**¹; **Meny, Paulina**¹; **Menéndez, Clara**¹; **Varela, Gustavo**¹; **Hernández, Ana**²; **Mourglia-Ettlin, Gustavo**²; **Schelotto, Felipe**¹

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Departamento de Inmunología, Instituto de Higiene, Facultad de Química/Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Objetivo: Evaluar la respuesta inmune humoral (IgG, IgM e IgA sérica) en mujeres y hombres con y sin infección por *Leptospira*.

Materiales y métodos: Se estudiaron 203 sueros de pacientes, 57 mujeres (M) y 146 hombres (H) categorizados como infectados o no infectados de acuerdo al resultado de la técnica de microaglutinación (MAT). Los títulos de anticuerpos se establecieron analizando diluciones seriadas al doble, de todos los sueros en un ensayo de ELISA indirecto en fase sólida "casero". Los resultados se analizaron por Mann-Whitney considerando significativas las diferencias con $p \leq 0.05$.

Resultados y discusión: Veintiocho mujeres y 72 hombres fueron categorizados como infectados. Veintinueve mujeres y 74 hombres fueron incluidos en el grupo sin infección. Cuando se compararon los títulos de los diferentes tipos de anticuerpos se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres sin infección reciente a nivel de IgG (M) e IgA (H). En el caso de los sujetos infectados se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres a nivel de IgG (H) e IgM (H).

Conclusiones: Los datos sugieren que habría exposición previa en ambos grupos con diferencia de IgG a favor de mujeres. En cambio, en el grupo de infectados los títulos IgM e IgG fueron mayores en hombres. Esta diferencia sugiere que los varones infectados responderían más que las mujeres y explicaría, en parte, la peor evolución en ellos, vinculada al depósito de inmunocomplejos o a una menor actividad bactericida en el suero de los hombres es debido a una mayor concentración de IgA.

Palabras clave: Leptospirosis; respuesta inmune; ELISA; MAT

257

Inhibición de biofilm por complejos metálicos en *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC-2

Magallanes, Carmen¹; **Santi, Eduardo**²; **Borthagaray, Graciela**¹; **Torre, María H**²; **Márquez, Carolina**^{1,3}

¹Laboratorio de Microbiología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Química, UdeLaR Montevideo

²Laboratorio de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, UdeLaR Montevideo

³Instituto de Química Biológica, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias, UdeLaR Montevideo

Klebsiella pneumoniae (Kp) es una Enterobacteria que causa infecciones serias asociadas a la producción de biofilm y al desarrollo de resistencia a múltiples drogas (RMD). Considerando la dificultad del tratamiento debido a la impermeabilidad del biofilm a los antibióticos y la escasez en el desarrollo de estos últimos, es de suma importancia investigar sobre nuevos agentes con potencial para inhibir el biofilm que puedan ayudar de forma cooperativa a mejorar los tratamientos. Estudios recientes, han demostrado la eficacia de varios compuestos metálicos para inhibir o erradicar el biofilm, en distintas especies bacterianas. En este trabajo se evaluaron varios complejos de cobre con sulfonamidas heterocíclicas y complejos polioles de Zn y Cu, en su capacidad para inhibir la formación de biofilm en aislamientos clínicos de Kp productoras de KPC (Kp-KPC). Se seleccionaron dos cepas de Kp-KPC productoras de biofilm y fenotipo RMD provenientes de herida operatoria. La inhibición de biofilm se ensayó mediante técnica estática con tinción de

crystal violeta en placas de 96 pocillos y el rango de concentración ensayado fue 1280-2,5ug/ml y 128-16ug/mL para las sulfonamidas y los polioles respectivamente. Se observó inhibición hasta el 70% del biofilm a concentraciones 1280ug/mL y 640 ug/ml para los complejos de sulfonamidas y de hasta el 90% a concentraciones de 128ug/mL y 64ug/mL para los polioles. Estos resultados son alentadores en tanto, que estos compuestos tendrían el potencial para ser utilizados en combinación con la antibioticoterapia en el tratamiento de infecciones asociadas a biofilms.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*, Biofilm, Complejos metálicos

260

Análisis genómico comparativo de cepas de *Clavibacter michiganensis* con virulencia diferencial en plantas de tomate
Alcoba, F¹; Ferreira, V.¹; Siri, María Inés¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Área Microbiología, DEPPIO, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Clavibacter michiganensis (Cm) es la bacteria causante del cancro bacteriano del tomate, una de las enfermedades más importantes que afectan la producción de este cultivo en todas las regiones productoras del mundo. Estudios previos realizados sobre cepas aisladas en Uruguay y representativas de la diversidad existente, permitieron identificar cepas de Cm con virulencia diferencial en tomate. Sin embargo, se desconoce si el fenotipo observado está asociado con un repertorio diferencial de genes involucrados en la virulencia de Cm. Para verificar esta hipótesis este trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis genómico comparativo de cinco cepas de Cm con virulencia diferencial. Se incluyó en el análisis una cepa avirulenta capaz de colonizar los tejidos vegetales pero sin producir síntomas de marchitamiento (MAI1001), y cuatro cepas de Cm de agresividad alta o intermedia. Se secuenciaron los genomas de las mismas mediante la plataforma MinION-Nanopore, recientemente adquirida por nuestro grupo, así como mediante tecnología Illumina HiSeq.

Se generaron ensamblados híbridos de buena calidad, se anotaron y se realizaron múltiples análisis comparativos que permitieron evaluar el repertorio genético de cada cepa. No se encontraron diferencias sustanciales en los repertorios de genes de virulencia previamente reportados. Sin embargo, se identificaron tres genes de función desconocida de origen plasmídico (pCM2) que están presentes en todas las cepas agresivas y ausentes en la cepa MAI1001. Estos genes constituyen buenos candidatos que serán analizados en futuros estudios como nuevos factores de virulencia de este importante patógeno.

Palabras clave: *Clavibacter michiganensis*, cancro bacteriano, tomate, genómica

266

Caracterización de bacterias antárticas oxidadoras de manganeso

Sanabria, Yasmina¹; Panzera, Matilde¹; Roldán, Diego¹; Fabiano Elena¹; Amarelle, Vanesa¹.

¹Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Clemente Estable. Av. Italia 3318, Montevideo-Uruguay

Las bacterias oxidadoras de manganeso (BOM) son capaces de oxidar Mn (II) a Mn (III)Mn (IV), generando óxidos de manganeso (MnOx). Las BOM tienen interesantes aplicaciones biotecnológicas, entre ellas, la producción de biofiltros para la remoción de Mn (II) y Fe (II) en agua potable. A partir de una colección de BOM de origen antártico, seleccionamos 4 de ellos para caracterizar en profundidad. Se secuenciaron, anotaron, y analizaron los genomas. Según los valores de ANII, 3 aislamientos corresponden a nuevos géneros de *Arthrobacter* (UYMnOx7), *Sporosarcina* (UYMnOx9), y *Janthinobacterium* (UYMnOx13).

La cepa UYMnOx20 es la única que pudo ser asignada a nivel de especie, tratándose de *Pseudomonas deceptionensis*. En todos los aislamientos logramos identificar genes candidatos a ser responsables de la oxidación de manganeso ya sea mediado por multicobre oxidasas (*cumA* en UYMnOx20, *cotA* en UYMnOx9 y UYMnOx7, y *copA* en los 4 aislamientos) o por hemoperoxidasas (*mopA* en UYMnOx13). Para la cepa *Pseudomonas deceptionensis* UYMnOx20 se determinaron las condiciones óptimas de producción de MnOx en medio R2A líquido, siendo las mismas 20°C, pH6,5, y 0,5mM de MnCl₂. Actualmente nos encontramos determinando las condiciones óptimas de producción de MnOx para las cepas UYMnOx7, UYMnOx9 y UYMnOx13.

Palabras clave: bacterias oxidadoras de manganeso, MnOx, bacterias antárticas

267

Datación de linajes de *Salmonella enterica* serovar enteritidis circulantes en Uruguay mediante reloj molecular
D'Alessandro, Bruno¹; Traglia, Germán¹; Martínez-Sanguiné, Adriana¹; Chabalgoity, J Alejandro¹; Yim, Lucía¹; Betancor, Laura²

¹Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Udelar

²Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Udelar

Salmonella enterica serovar Enteritidis es una de las principales causas de enfermedad transmitida por alimentos (ETA) a nivel global. En Uruguay, el primer brote asociado a este serovar se detectó en 1995 y desde ese momento prevalece como causa de ETA. Nuestros resultados previos muestran que en Uruguay circulan 2 linajes genéticos principales, que denominamos E1 y E2, siendo E2 aislado en mayor proporción en períodos de ocurrencia de brotes epidémicos.

En este trabajo, nos propusimos determinar la datación del origen de estos linajes utilizando análisis filogenético bayesiano a partir de 86 genomas uruguayos.

Realizamos una reconstrucción filogenética a partir de un modelo de reloj molecular estricto y un modelo poblacional coalescente con tamaño poblacional constante.

Los resultados indican que la epidemia por *S. Enteritidis* en nuestro país se asoció al ingreso a mediados de los años 80 (1985 con un IC95% 1982-1987) de una cepa fagotipo 4 muy similar a aquellas que originaron la epidemia en Europa a comienzos de los años 80. De este ancestro común se habría originado el linaje E1 en 1986 (IC95% 1983-1988) y el linaje E2 en 1990 (IC95% 1988-1992) que continúan circulando hasta hoy en Uruguay. Los resultados reafirman la validez de nuestros análisis anteriores, utilizando métodos de máxima verosimilitud. También dan soporte a la hipótesis de que la epidemia por *S. Enteritidis* en Uruguay se origina con la introducción de una cepa europea perteneciente a un linaje que se diseminó globalmente. Nos proponemos ampliar el análisis utilizando genomas representativos de toda sudamérica.

Palabras clave: Salmonella, reloj molecular, filogenética, epidemiología molecular

271

Análisis de la actividad antiviral de la proteína reguladora de señales alfa (SIRPA)

Ansín, Natalia^{1,2}; Ponce, Matías¹; Sarute, Nicolás^{1,3}

¹Laboratorio de Interacciones Virus Célula, Institut Pasteur Montevideo

²Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La proteína reguladora de señales alfa (SIRPA) es una glicoproteína transmembrana con dos inmunorreceptores con motivos de inhibición basados en tirosina a nivel citoplasmático (ITIM) que regula negativamente la fagocitosis. La fosforilación de ambos ITIMs favorece el reclutamiento y activación de las fosfatasa de tirosina SHP, las cuales defosforilan diferentes sustratos culminando con la inhibición de la fagocitosis.

El estado de fosforilación de SIRPA aumenta considerablemente por la interacción con CD47 y otras moléculas en células diana y se considera que la interacción SIRPA-CD47 es una señal negativa del tipo "no me comas" que protege a células viables de ser fagocitadas.

Nuestro interés en analizar el solapamiento entre la endocitosis viral y la fagocitosis proviene de estudios con los arenavirus del Nuevo Mundo (ANM) Junín y Tacaribe, donde demostramos que la ubiquitina ligasa con motivos tripartitos 2 (TRIM2) limita la entrada de ANM a células murinas y humanas a través de su interacción con SIRPA. Sorpresivamente, determinamos que SIRPA es un factor antiviral pleiotrópico que restringe la endocitosis de virus envueltos de diversas familias, incluyendo flavivirus (Zika), filovirus (Ébola) y coronavirus (SARS-CoV-2). Recientemente demostramos que la infección viral favorece la fosforilación de tirosina de SIRPA y que esta modificación es indispensable para su actividad antiviral; sin embargo, la expresión de CD47 en las partículas virales no limita la endocitosis viral en células expresando SIRPA.

Por lo tanto, actualmente estamos investigando cuáles son las señales moleculares que determinan la fosforilación y activación de SIRPA para limitar la endocitosis viral.

Palabras clave: SIRPA, rol antiviral, endocitosis viral

280

Interacción y actividad de la fosfatasa PtpA de *Mycobacterium tuberculosis* con la proteína trifuncional humana, una enzima clave de la oxidación de los lípidos en la mitocondria

Herrera Fernando¹; Margenat Mariana²; Irving Vivian²; García Tania²; Betancour Gabriela²; Villarino Andrea²

¹Departamento de Física, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral

²Instituto de Biología, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Durante la infección por *Mycobacterium tuberculosis*, la fosfatasa de tirosina PtpA, es introducida en el citosol del macrófago donde modula la respuesta inmune innata. Además, nuestro grupo demostró que PtpA podría actuar en el metabolismo de los lípidos al actuar sobre la subunidad alfa de la enzima trifuncional humana (*hTFP*), clave en la β -oxidación de ácidos grasos, que deja de ser detectada en la mitocondria de macrófagos infectados con la cepa virulenta *Mtb*-H37Rv. En este contexto, buscamos evidencias que indiquen que PtpA es el factor bacteriano responsable de dicho efecto. Mediante acoplamiento molecular y dinámica molecular determinamos las regiones estabilizadas al formarse el complejo PtpA-*hTFP* e identificamos por espectrometría de masas y análisis de secuencias a la P-Tyr-271 de *hTFP* como el blanco específico de PtpA. Dicho residuo se ubica en una hélice de la *hTFP* relevante para su localización mitocondrial y actividad. El complejo obtenido por acoplamiento molecular se comparó con el obtenido con AlphaFold. Además, utilizando las formas recombinantes de las proteínas de interés o la *hTFP* inmunopurificada y diversas técnicas bioquímicas (SPR, fluorescencia del Trp, SEC) se determinó la constante de disociación del complejo, se sugirió que ambas subunidades de la *hTFP* son necesarias para la interacción/actividad con PtpA y se demostró que la ubiquitina (reportado activador de PtpA) no activa a la PtpA al actuar sobre la *hTFP* como sustrato. En conjunto, se proporciona evidencia adicional que respalda a PtpA como el factor bacteriano responsable de desfosforilar la enzima clave de la β -oxidación de ácidos grasos.

283

Estudio de los mecanismos involucrados en la promoción del crecimiento de plantas de caña de azúcar por la cepa *Kosakonia radicincitans* UYSO10

de los Santos, María Cecilia; Battistoni, Federico; Taulé, Cecilia

¹Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo. Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas (BIOGEM), Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Ministerio de Educación y Cultura, Uruguay

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PCV) tienen un gran potencial para mejorar la sustentabilidad de la explotación de los cultivos. Los endófitos bacterianos habitan los tejidos internos de las plantas, y en muchos casos está demostrada su capacidad PCV. Sin embargo, poco se conoce de sus mecanismos de acción y las bases moleculares de la interacción endófito-planta. *Kosakonia radicincitans* UYSO10 es un endófito diazotrofo de caña de azúcar, productor de ácido indol-acético, y PCV de la variedad comercial LCP85384. Asimismo, en trabajos previos utilizando una aproximación proteómica, se observó que cuando la cepa UYSO10 fue crecida en co-cultivo con plantas de caña de azúcar, se expresaron varias enzimas de las vías de producción de acetoina y 2,3-butanodiol (asociados a la activación de la respuesta sistémica inducida de la planta, así como a la PCV). Este trabajo tiene como objetivo profundizar en el rol de los mecanismos PCV de la cepa *Kosakonia radicincitans* UYSO10 en la interacción con caña de azúcar, en particular, el rol de la producción de acetoina y 2,3-butanodiol. La estrategia consiste en la construcción de mutantes por eliminación completa del marco de lectura abierto en genes que codifican para enzimas claves en la vía de síntesis de acetoina y 2,3-butanodiol. Asimismo se construirán mutantes complementadas con los genes escindidos, mediante la incorporación de los plásmidos conteniendo al gen eliminado junto con su promotor nativo. Finalmente, las cepas mutantes serán caracterizadas *in vitro* e *in vivo* en interacción con la planta. Se presentarán avances de los resultados.

Palabras clave: *Kosakonia radicincitans*, endófito, caña de azúcar, acetoina-2,3butanodiol, promoción del crecimiento vegetal

291

Caracterización microbiológica del proceso de compostaje de residuos avícolas con y sin MEN

Rodriguez Rodriguez, Natalia¹; Carro, Gastón²; Bajsa, Natalia¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana, Dpto BIOGEM, IIBCE, MEC

²Urufértil, San Jacinto, Canelones

El compostaje termofílico es una alternativa de tratamiento y revalorización de los residuos generados por la industria avícola. Los microorganismos eficientes nativos (MEN) han demostrado mejorar los procesos de compostaje. El objetivo de este trabajo fue caracterizar microbiológicamente el proceso de compostaje de residuos avícolas sin (control) y con agregado de MEN (tMEN). Se analizaron los materiales al inicio (residuos avícolas: gallinaza y cama de pollo, aserrín, compost inóculo, tierra) y por triplicado las pilas de compost de cada tratamiento en las distintas fases del compostaje (inicial, termófila, mesófila y final). Se utilizó el método de recuento en placa para determinar las poblaciones de bacterias heterótrofas, hongos filamentosos, levaduras, actinobacterias y lactobacilos. Se realizó la comparación de medias considerando como factores el tratamiento y la fase de compostaje utilizando el software R. Al comparar los tratamientos en las diferentes fases se observó que en tMEN fueron significativamente superiores las levaduras y lactobacilos en fase inicial, mientras que las heterótrofas y actinobacterias en fase mesófila. La mayoría de los microorganismos presentaron recuentos significativamente inferiores para ambos tratamientos en fase termófila. Además, para tMEN fueron significativamente superiores las heterótrofas en fase inicial, los lactobacilos y las levaduras en fase final, y para control fueron significativamente superiores las levaduras en fase mesófila, las actinobacterias en fase inicial y los lactobacilos en fase final. Se caracterizó la dinámica microbiológica del compostaje; el agregado de MEN cambió la composición en ciertas fases. Se continuará la caracterización de las comunidades mediante secuenciación masiva de ADN.

Financiación: Proyecto INIA - FPTA 374

Palabras clave: compost; revalorización; recuentos; microorganismos eficientes; acelerador de compostaje

299

Degradación de taninos condensados e hidrolizables mediada por hongos filamentosos para la producción de bioetanol a partir de sorgo

Arbildi, Erika ¹; Álvarez, Angie ¹; Rufo, Caterina ²; Vero, Silvana ¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Área Microbiología, DEPPIO, Facultad de Química, UdeLaR

²Laboratorio de Alimentos, Polo Tecnológico de Pando. Facultad de Química, UdeLaR

El bioetanol constituye una alternativa a los combustibles fósiles, obtenible de fuentes renovables. En nuestro país es producido a partir de caña de azúcar (ALUR Bella Unión) y de cereales, entre ellos el sorgo (ALUR Paysandú).

Los sorgos se clasifican según su contenido en taninos, en cultivares de bajo (0,0- 0,4 %), medio (0,4-1,0 %) y alto (1,0-10 %) tanino. En la actualidad la producción del etanol se realiza mediante sorgo de bajo tanino, debido a que estos interfieren con los procesos enzimáticos disminuyendo el rendimiento. No obstante, el sorgo de alto tanino tiene ventajas productivas sustanciales como inhibir el desarrollo de hongos y el ataque de pájaros.

El presente trabajo plantea como objetivo la obtención extractos enzimáticos de origen fúngico capaz de hidrolizar taninos condensados e hidrolizables presentes en sorgo de alto tanino. Para ello a partir de 10 muestras de tierra, té y compost se aislaron 24 hongos capaces de crecer en taninos de sorgo como única fuente de carbono. Se obtuvieron 17 hongos productores de taninas, capaces de hidrolizar taninos hidrolizables, y 7 hongos capaces de crecer en taninos condensados. Se determinó la actividad de los extractos enzimáticos, libres de células, hallando un extracto de una cepa identificada como *Alternaria alternata* capaz de hidrolizar taninos condensados, y extractos del género *Aspergillus spp.* capaces de producir taninas. Como perspectiva de este trabajo se incluye determinar las condiciones óptimas de actividad y producción de los extractos.

Palabras clave: Taninos, bioetanol, sorgo, tanasa

304

Borrador del genoma de la bacteria antártica *Pseudomonas* sp. AU10: sus características genómicas para hacer frente a un entorno hostil

García Laviña, César¹; Morel, María A²; Castro-Sowinski, Susana¹

¹Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Udelar

²Laboratorio de Microbiología de Suelos, Facultad de Ciencias, Udelar

Las bacterias del género *Pseudomonas* son Gamma-Proteobacterias que habitan diferentes ecosistemas y, presentan gran plasticidad metabólica. En este trabajo presentamos el borrador del genoma de una *Pseudomonas* de origen antártico, denominada AU10, y algunos experimentos que validan la información. AU10 posee un gran genoma (> 6

Mb) tal cual se espera para un microorganismo de origen ambiental y, con gran similitud con otras *Pseudomonas* antárticas. Basada en varios índices (OGRO, ANI, dDDH Y TYGS) pertenecería al grupo de las *Pseudomonas* fluorescentes, validado según la construcción de su árbol filogenético. Presenta resistencia a betalactámicos y aminoglicósidos, así como a metales pesados, comprobado por métodos estándares en mesada. La reconstrucción de sus vías metabólicas por KEGG sugiere que AU10 utiliza la vía de Entner-Doudoroff, presenta una cadena respiratoria ramificada, así como transportador para azúcares, polioles, aminoácidos, dipéptidos y ácidos dicarboxílicos; produce moléculas de reserva como glucógeno, polihidroxialcanoatos y polifosfatos, sideróforos y receptores de hemina para la captura de hierro, así como varias exo-enzimas hidrolíticas; la producción de sideróforos y exo-enzimas se demostró también en mesada. Finalmente, AU10 presenta un gran plásmido+5 con genes involucrados en la competencia natural, integrasas y profagos. Durante la presentación del poster, se realizará una descripción de los elementos encontrados y de los experimentos que llevaron a verificar algunas de las propiedades de AU10. También se presentará una discusión sobre cuáles son las ventajas adaptativas, que los elementos encontrados, le confieren a AU10 en el gélido ambiente antártico.

Palabras clave: *Pseudomonas*, genoma, Antártida

305

Identificación y caracterización genómica de especies de *Pantoea* asociadas a pudriciones de bulbos y lesiones foliares en cultivos de cebolla en Uruguay

De Armas, Stefanie¹; Denis, Nicol¹; Shin, Gi Yoon²; Kvitko, Brian²; Vicente, Esteban³; Galván, Guillermo A⁴; Siri, María I¹

¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Área Microbiología, DEPBIO, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Departamento de Fitopatología, Universidad de Georgia, Athens, Georgia, EE. UU

³Estación Experimental Salto Grande, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Salto, Uruguay

⁴Departamento de Producción Vegetal, Centro Regional Sur (CRS), Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Canelones, Uruguay

La oferta nacional de cebolla (*Allium cepa* L.) tiene variaciones interanuales significativas, asociadas principalmente a las pérdidas durante la conservación poscosecha por podredumbres bacterianas. A partir del relevamiento realizado en Uruguay durante el período 2015-2020, se generó una colección de 59 aislados que fueron asignados a cinco especies mediante la técnica *Multilocus Sequence Analysis* (MLSA): *P. ananatis*, *P. agglomerans*, *P. allii*, *P. eucalypti* y *P. vagans*. Se destaca la especie *P. eucalypti* por su mayor prevalencia y porque no ha sido anteriormente reportada como patógena de cebolla. Además, mediante PCR convencional se determinó la presencia de dos clusters genéticos (HiVir y *alt*) asociados a la patogenicidad de *P. ananatis* en cebolla. El objetivo de este trabajo es confirmar esta identificación a nivel genómico y caracterizar determinantes genéticos asociados a la virulencia en especies de *Pantoea* patógenas de cebolla mediante análisis genómico comparativo. Para la identificación de los aislamientos se calcularon índices de similitud global (ANI, dDDH), confirmándose la identificación obtenida previamente por MLSA. Por último, para el análisis genómico comparativo, se realizó blast de nucleótidos utilizando genomas de cepas de *Pantoea* con clusters genéticos asociados con enfermedades de la cebolla, encontrándose una amplia distribución del cluster *alt* en diferentes especies de *Pantoea*, mientras que el cluster HiVir se encontró en los aislamientos de *P. ananatis*. Cabe destacar que también se encontró un cluster denominado Halophos reportado recientemente en la mayoría de los aislamientos de *P. allii*. Esta información podrá ser utilizada posteriormente para el desarrollo de métodos moleculares de diagnóstico.

Palabras clave: *Allium cepa* L., *Pantoea*, análisis genómico

308

Empleo de microARN para redireccionar y potenciar la actividad oncolítica de enterovirus humanos.

Aldunate, Fabián^{1,2}; Arce, Rodrigo^{1,2}; Simón, Diego^{1,2}; Joaquín, Hurtado^{1,2}; Moreno, Pilar^{1,2}; Moratorio Gonzalo^{1,2}

¹Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

²Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

El cáncer constituye uno de los mayores desafíos para la salud pública, con más de 19 millones de casos y una proyección del 47% de casos para 2040. A pesar de los avances en los tratamientos clásicos, como la cirugía o

quimioterapia, persiste una elevada nocividad y muchos tumores presentan un alto grado de resistencia. En este contexto, surge la necesidad de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas con potencial lítico para células malignas con la menor toxicidad posible en células normales. Los virus oncolíticos (VOs), son capaces de mediar la replicación selectiva en células tumorales y la consiguiente lisis tumoral. El virus Coxsackie (CV), enterovirus humano, ha emergido como candidato promisorio por presentar un tropismo intrínseco en diferentes modelos tumorales. En este sentido, ya existen ensayos clínicos con el CV A21, sin embargo, no existe hasta la fecha ensayos clínicos con el virus Coxsackie B3 (CVB3). Utilizando los perfiles de expresión diferencial de microARNs en células normales versus tumorales, es que pretendemos emplear al microARN supresor de tumores miR145 como potenciador de la actividad oncolítica de CVB3. El miR145 se encuentra reprimido en numerosos tumores, incluyendo los carcinomas de pulmón, hígado y páncreas.

En este trabajo se analizaron las características oncolíticas del CVB3, así como se intentó reducir su tropismo hacia células normales, mediante la inserción por ingeniería genética de secuencias diana del miR145 en el genoma viral. De esta manera restringir la capacidad replicativa viral solo en células que carecen del miR145 (células normales) por el mecanismo de silenciamiento RISC-Argonauta.

Poder impedir la replicación del virus en células normales sumado a su tropismo intrínseca del CVB3 hacia células tumorales aportaría un nuevo nivel de bioseguridad para el tratamiento con este VO.

Palabras clave: virus oncolítico, terapia antitumoral, microARN

MICROSCOPIA E IMAGENOLÓGIA

062

Neuromastos durante el desarrollo post eclosión de peces *Austrolebias charrua*: distribución corporal, estructura y características subcelulares

Brizolara Facundo^{1,3}; **González, Florencia**^{1,3}; **Serra, Rocío M.**^{1,3}; **Caggiani, Brunella**^{1,3}; **Chaves Mariana**^{1,3}; **Herrera, María Laura**^{1,2}; **Silva, Stephanie**¹; **Rosillo, Juan Carlos**^{1,4}; **Fernández, Anabel**^{1,5}; **Casanova, Gabriela**³

¹Laboratorio de Neurobiología Comparada, Departamento de Neurociencias Computacionales e Integrativas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

²Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁵Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El sistema mecano sensorial de la línea lateral es altamente elaborado en peces del género *Austrolebias* principalmente en la región cefálica. Estos receptores cumplen un papel fundamental en la supervivencia de los peces. El patrón de distribución de los neuromastos en la región cefálica es un carácter especie-específico. En este estudio, mediante el empleo de distintos abordajes metodológicos, se analizan por primera vez las características de estos mecanorreceptores en *A. charrua*. El uso de diferentes microscopias permitió analizar los neuromastos en su distribución, diseño y número durante los 3 primeros meses post-eclosión. El marcado con Daspei (marcador vital específico de las células ciliadas de neuromastos), mostró la distribución y el aumento en el tiempo de la población de mecanorreceptores.

La inmunomarcación con BrdU mostró que las células basales son los progenitores proliferantes de las células ciliadas. La microscopía electrónica de barrido permitió visualizar el diseño en la cabeza y en el cuerpo de los neuromastos así como el conjunto de cilios que se encuentran en el ápice de las neuronas receptoriales. Mediante microscopía electrónica de transmisión identificamos la organización, la morfología de los distintos tipos celulares, así como la ultraestructura típica de cada una ellas.

La complejidad en el diseño, así como el número de neuromastos distribuidos en toda la superficie corporal en esta especie, sugieren que podemos estar en presencia de un mecanismo sensorial eficiente en cuerpos de agua temporales, en los que la supervivencia de la especie se encuentra altamente condicionada por cambios ambientales extremos.

Palabras clave: neuromastos, alevines, *Austrolebias charrua*

089

Síntesis de nanopartículas de oro conjugadas a proteínas para inmunofenotipado de exosomas por microscopía electrónica

Fagúndez, Pablo^{1,2,3}; **Li Calzi, Marco**²; **Olivera, Álvaro**⁴; **Méndez, Eduardo**³; **Tosar, Juan Pablo**^{1,2}

¹Unidad de Bioquímica Analítica, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Genómica Funcional, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

³Laboratorio de Biomateriales, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Laboratorio de Alta Resolución, Departamento de Desarrollo Tecnológico, Centro Universitario Regional Este, Universidad de la República, Rocha, Uruguay

El empleo de nanopartículas de oro (AuNPs) como sistema de inmunomarcación ha sido empleado desde hace décadas para la identificación de estructuras biológicas, en conjunto como la microscopía electrónica de transmisión (TEM). El abordaje más comúnmente utilizado consiste en inmovilizar anticuerpos específicos sobre la superficie de las AuNPs, e incubarlas con la muestra a ser reconocida, evidenciando luego el reconocimiento por TEM, aprovechando las propiedades electrón-densas del oro. En este trabajo se buscó un abordaje diferente. Con base en las técnicas que hemos desarrollado para optimizar la síntesis de AuNPs bioconjugadas a proteínas de interés (Fagúndez et al. Heliyon 2021), se llevó a cabo la inmovilización de proteína A/G sobre AuNPs, para su empleo como agentes de detección de vesículas extracelulares (EVs). Estas últimas provienen del sobrenadante de medio de cultivo, incubadas con anticuerpos dirigidos contra tetraspaninas de superficie (CD9/CD81) y purificadas mediante cromatografía de exclusión molecular. El inmunoensayo se realizó sobre grillas de cobre, optimizándose los tiempos de incubación y de bloqueo. Las imágenes TEM fueron analizadas con el *software* FIJI. Como controles se emplearon AuNPs modificadas con seroalbúmina bovina (BSA) y EVs incubadas con anticuerpo irrelevante. Los resultados mostraron que el 74% de las EVs observadas mostraron unión a AuNPs/AG, teniendo el 42% dos o más AuNPs. Para las EVs marcadas con anticuerpo irrelevante, solo el 6% mostró marcación, y no se observaron EVs con más de una AuNP/AG. Estos resultados muestran la capacidad de las AuNP/AG como reactivo versátil para la inmunomarcación de estructuras biológicas, lo que abre la posibilidad de emplearlas en otro tipo de inmunoensayos.

Palabras clave: Microscopía electrónica, nanopartículas, vesículas extracelulares

147

Caracterización por Resonancia Magnética (MRI) de un modelo murino intracraneal de glioblastoma multiforme de alto grado de malignidad

Reyes, Ana Laura¹; **Paolino, Andrea**¹; **Dapuetto, Rosina**¹; **Arredondo, Florencia**¹; **Isaurralde, Fabiana**¹; **Garagorry, Francisco**³; **Bello, Brian**³; **Gambini, Juan Pablo**¹; **Duarte, Pablo**¹; **Huart, Natalia**²; **Savio, Eduardo**¹

¹Área de Imagenología Preclínica, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo, Uruguay

²Escuela Universitaria de Tecnología Médica (EUTM), Facultad de Medicina, Udelar, Montevideo, Uruguay

³Cátedra de Anatomía Patológica, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Udelar, Montevideo, Uruguay

El glioblastoma multiforme es uno de los tumores cerebrales primarios más importantes por su morbimortalidad, así como el más frecuente entre los adultos y con mayor riesgo debido a que se presentan muy agresivos, con crecimiento expansivo e infiltrante. Disponer de modelos animales validados es fundamental para la investigación y el estudio de enfermedades humanas. Los avances en nuevos equipamientos son cada vez más importantes para estudiar los modelos murinos antes de su traslación a ensayos clínicos. En particular, los ratones inmunocomprometidos se han vuelto fundamentales en la investigación preclínica del cáncer y lograr tener modelos bien caracterizados es imprescindible. Nuestro objetivo es evaluar en que momento del desarrollo tumoral es posible su detección mediante las diferentes secuencias por MRI. Se utilizaron ratones nude (N: NIH (S)-Foxnu), de 11-12 semanas, inoculados vía intracraneal/ortotópico con células humanas LN-229 (100.000cels/2 μ L) (ATCC® CRL-2611™) de glioblastoma multiforme GIV radiosensibles. El seguimiento por MRI se realizó en 4 estadios: semana pre inoculación (control), semana 0 (inoculación, proceso inflamatorio), semanas 2 y 4 pos inoculación. Se empleó un equipo de MRI3T (Mediso®), utilizando las secuencias: Eco de Gradiente 3D (GRE), ponderado en T1, con alta

definición anatómica; Fast Spin Eco 2D (FSE), ponderado en T2, con alta sensibilidad para detectar la patología; Balance Steady State Free Precession 3D (BSSFP), ponderada en T1/T2, para evaluación de edema.

Luego de la optimización de las secuencias de MRI fue posible detectar el crecimiento tumoral a partir de las 2 semanas pos inoculación, confirmando el proceso mediante histopatología.

Palabras clave: Glioblastoma multiforme, MRI, modelo murino

155

Microscopía no-lineal y por tiempo de vida en modelos experimentales de lesión pulmonar: evaluación de su utilidad diagnóstica a través de aprendizaje automático

García, María José^{1,2}; **Suarez, Ana Laura**^{1,2}; **Amarelle, Luciano**^{1,3}; **Escande Carlos**⁴; **Angulo, Martín**^{1,3}; **Gratton, Enrico**⁵; **Malacrida, Leonel**^{1,2}

¹Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Unidad de Bioimagenología Avanzada, Universidad de la República/Instituto Pasteur, Montevideo, Uruguay

³Departamento de Cuidados Intensivos, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Laboratorio de patologías del metabolismo y el envejecimiento, Instituto Pasteur, Montevideo, Uruguay

⁵Laboratory for Fluorescence Dynamics, Department of Biomedical Engineering, University of California, Irvine, USA

La Lesión Pulmonar Aguda (LPA) presenta una alta mortalidad, ocasionando un impacto importante en los sistemas de salud. La microscopía multifotónica (2P) y de tiempo de vida (FLIM) ha sido explotada para el desarrollo de mejores y más específicos métodos de diagnóstico. Permite evaluar cambios metabólicos celulares o en tejidos por la autofluorescencia proveniente del NADH. Esto ha sido muy útil para definir "huellas dactilares" por autofluorescencia en individuos normales o patológicos. En este proyecto se utiliza el modelo experimental C57BL/6 ApoE -/- en combinación con instilación de lipopolisacárido (LPS) para evaluar la utilidad del 2P-FLIM como herramienta de caracterización anatómo-patológica de tejido. Se ha visto que los ratones ApoE /desarrollan aterosclerosis prematura cuando se alimentan con una dieta rica en grasas (HFD), lo que permite representar pacientes con patologías de base como la obesidad o diabetes a los que se les suma la LPA por LPS. Utilizando un microscopio DIVER se colectará información de autofluorescencia por FLIM y fibrosis/lipidosis por generación de segundo y tercer armónico. Los animales ApoE -/- con HFD aumentaron 30% su peso y mostraron ser mucho más susceptibles al desarrollo de LPA por LPS en relación a ratones control. Luego de la instilación el peso de todos los animales disminuyó un 20%. La mecánica ventilatoria mostró diferencias entre animales control, HFD y HFD+LPS. A nivel histológico se observó un aumento del deterioro por colapso alveolar y del grosor de tabiques en los grupos con HFD+LPS. Estos grupos mostraron además un incremento de NADH libre.

Palabras clave: Microscopía Biofotónica, Fisiopatología pulmonar, Modelos experimentales

180

Aplicación de gráficos de fasores espectrales para el análisis de biosensores FRET por microscopia hiperespectral

Prieto, Daniel^{1,2}; **Abreu, Cecilia**³; **Comini, Marcelo**^{3,4}; **Pantano, Sergio**⁵; **Cantera, Rafael**¹; **Malacrida, Leonel**^{2,6}

¹Departamento de Biología del Neurodesarrollo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

²Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo y Universidad de la República (Udelar)

³Programa de Tecnología Molecular y Celular Animal (ProTeMCA), Institut Pasteur de Montevideo

⁴Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas, Institut Pasteur de Montevideo

⁵Laboratorio de Simulaciones Biomoleculares, Institut Pasteur de Montevideo

⁶Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Udelar

Los biosensores FRET (Förster resonance energy transfer) son una herramienta muy valiosa para estudiar procesos biológicos *in vivo*. Se componen de un par de fluoróforos (donador-aceptor), donde sus espectros de excitación y emisión se solapan. Para que exista FRET la distancia donador-aceptor debe ser <10 nm. Para medir la eficiencia de este proceso en microscopía epifluorescente es necesario excitar al donador y colectar las bandas de emisión del donador y acepto. El análisis de intensidades presenta inconvenientes prácticos asociados al sangrado y controles necesarios. La microscopía hiperespectral (HSI) permite colectar todo el espectro de emisión en cada píxel sin necesidad de separar la fluorescencia del donador y acepto. Los gráficos de fasores son una herramienta para el análisis de datos HSI que posee propiedades importantes y reglas sencillas. La fluorescencia de un biosensor FRET

debería representarse como una combinación lineal entre la fluorescencia del donador y aceptor. Para el correcto análisis y cuantificación de la eficiencia FRET en datos HSI nos propusimos desarrollar un nuevo método basado en gráficos de fasores utilizando las reglas de la combinación lineal. Utilizando un biosensor para AMPc y GMPc con el par de proteínas fluorescentes cian y amarilla (CFP y YFP), hemos desarrollado 6 versiones del biosensor que nos permitan calibrar nuestro sistema FRET. Utilizando un microscopio confocal espectral hemos caracterizado el sistema de proteínas y estamos desarrollamos un nuevo método de análisis basado en gráficos de fasores que simplifica el análisis y cuantificación de experimentos con biosensores FRET.

Palabras clave: microscopía hiperespectral, fasores espectrales, FRET, biosensores

232

Citoprotección de la oligodendroglia y la mielina estriatales en un modelo de enfermedad neurometabólica: un abordaje ultraestructural

Casanova, Gabriela^{1,2,3}; Rodao, Magela¹; Rosillo, Juan Carlos^{3,4}; Martínez, Gaby^{1,6}; Fernández, Anabel^{3,5}; Olivera, Silvia²

¹Unidad de Microscopía Electrónica de Transmisión, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Lab. de Neurobiología Celular y Molecular. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

³Lab. de Neurobiología Comparada, Dep. de Neurociencias Computacionales e Integrativas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

⁴Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁵Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁶Departamento de Neurofarmacología Experimental. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

Dado que los metabolitos acumulados en GA-I dañan a las células gliales repercutiendo negativamente en la viabilidad neuronal, propusimos que la preservación perinatal de los oligodendrocitos resulte neuroprotectora. El conocimiento de la ultraestructura celular normal y patológica es esencial para poder evaluar el efecto protector del compuesto. Empleando microscopía electrónica de transmisión, analizamos los efectos citoprotectores de la pre-administración de una chalcona (CH38), en ratas neonatas sometidas a un modelo farmacológico de GA-I. La ultraestructura de oligodendrocitos estriatales de animales de 12 días post-inyección (DPI) tratados con ácido glutárico (GA), exhibió dilatación de la envoltura nuclear y de las cisternas del retículo endoplasmico (RE). Los axones mostraron mayor vacuolización y frecuentemente perfiles irregulares, acompañados de disminución del diámetro interno y plegamiento incorrecto de la mielina. A los 45DPI, las diferencias estructurales entre controles y tratados fueron menores. Una única dosis de CH38 mejoró la sobrevida inmediatamente luego de la inyección perinatal de GA y preservó la estructura subcelular de oligodendrocitos, axones y mielina. Los datos morfométricos (diámetro axonal, índice g), la tinción con fluoromielina y el uso de anticuerpos específicos para proteínas integrales de mielina (PLP), confirmaron el efecto citoprotector de CH38. Sin embargo, a los 45DPI la señal de la glicoproteína asociada a mielina (MAG) continuó disminuida, probablemente porque su expresión fue posterior al tratamiento con CH38. Estos resultados abren una alternativa terapéutica promisoriosa para patologías mielínicas que debe ser optimizada y estudiada en profundidad, incluyendo aspectos funcionales y morfológicos, para alcanzar neuroprotección sostenida en el tiempo.

Palabras clave: acidemia glutárica tipo I; citoprotección; oligodendrocitos, mielina, ultraestructura

244

Pipeline de análisis de imágenes de microscopía fluorescente confocal

Silvera, Diego¹; Millán, María José¹; Merlo, Emiliano¹; Gómez, Álvaro¹; Lecumberry, Federico^{1,2}

¹Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

²Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo

Probablemente, el desarrollo y la amplia disponibilidad comercial del microscopio confocal sea uno de los avances más significativos de las aplicaciones de la microscopía a las ciencias de la vida. El motivo de su popularidad está dado por la posibilidad de estudiar especímenes de tejidos biológicos en tres dimensiones con la alta sensibilidad y nitidez que brinda la microscopía de fluorescencia. El modelado en tres dimensiones de distintos organelos es fundamental para extraer características morfológicas de interés médico, dado que muchas veces estas características están directamente ligadas con distintas patologías, enfermedades, anomalías y tratamientos.

Sus diferentes aplicaciones abarcan la posibilidad de realizar análisis desde un nivel tejido-estructural hasta el molecular. Este trabajo brinda una herramienta de análisis que permite la obtención de información relevante en imágenes de microscopía confocal mediante una sucesión de etapas de procesamiento: deconvolución, segmentación y extracción de parámetros morfológicos de las estructuras biológicas. Se estudiaron en profundidad variantes de cada una de estas etapas, incluyendo comparaciones con algunos algoritmos propietarios con métodos de código abierto. También se compararon métodos modernos de aprendizaje automático (Deep Learning) para la segmentación y generación de secuencias. Los parámetros extraídos se utilizaron para la clasificación de las estructuras presentes, mostrando el potencial de esta técnica. Las imágenes estudiadas en este trabajo fueron adquiridas en el Departamento de Histología y Embriología de la Facultad de Medicina por el grupo de investigación interdisciplinario IMAGINA.

Palabras clave: microscopía de fluorescencia, deconvolución, segmentación, características morfológicas

275

Comprensión de la dinámica del agua en diferentes entornos subcelulares mediante la combinación de imágenes hiperespectrales y resueltas en el tiempo con derivados fluorescentes de dimetilamino naftaleno

Belén Torrado¹, Alexander Vallmitjana¹, Leonel Malacrida^{2,3}

¹Laboratory for Fluorescence Dynamics (LFD), Department of Biomedical Engineering, University of California at Irvine, California-USA

²Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina-Universidad de la República-Uruguay

³Advanced Bioimaging Unit, Institut Pasteur de Montevideo y Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La dinámica del agua a nivel subcelular es crucial en diferentes procesos celulares, como función enzimática, dinámica de membranas y separación de fases líquidas. Las sondas fluorescentes sensibles al entorno derivadas del dimetilaminonaftaleno (DAN) se diseñaron para detectar la polaridad y la relajación dipolar en torno a su proximidad. En este trabajo utilizamos cuatro sondas DAN diferentes: LAURDAN, PRODAN, ADCAN y DANCA, con afinidad por diferentes localizaciones subcelulares. Estas sondas pueden usarse para abordar la dinámica del agua *in vivo*. Utilizando microscopía de 2-fotones resuelta en el tiempo (FLIM) y hiperespectral (HSI) en combinación con los gráficos de fasores se evaluó la señal de las sondas DAN para cuantificar la dinámica del agua subcelular.

Mientras que LAURDAN y PRODAN muestran tendencias similares en la dinámica del agua dada su afinidad por membranas celulares, PRODAN también experimenta entornos sin membranas. ACDAN y DANCA muestran diferentes ambientes en regiones citoplasmáticas y nucleares. Se comparó la diferencia de fase ($\Delta\phi$, delta) entre los canales FLIM azul y verde. LAURDAN mostró una $\Delta\phi$ más alta seguida por PRODAN, ACDAN y DANCA.

Este resultado indica agua más confinada en la interfase de la membrana vs resto de la célula. La combinación de FLIM (canal azul y verde) y HSI en 6 dimensiones y la segmentación subcelular nos permitió rastrear diferentes entornos DAN. El uso de sondas DAN combinadas con FLIM-HSI-fasores permiten estudiar la dinámica del agua celular con resolución espaciotemporal.

Palabras clave: Microscopia fluorescente, biofísica celular, gráficos de fasores

284

Agregados intracelulares durante el envejecimiento cerebral: análisis mediante microscopía hiperespectral y gráfico de fasores

Kamaid, Andrés¹; Torrado, Belén²; Evans, Frances^{3,4}; Sánchez-Molina, Paula⁴; Peluffo, Hugo^{3,4}; Malacrida, Leonel^{1,5}

¹Unidad Mixta de Bioimagenología Avanzada. Institut Pasteur de Montevideo, Universidad de la República

²Laboratory for Fluorescent Dynamics. University of California, Irvine

³Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica. Institut Pasteur de Montevideo

⁵Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La acumulación intracelular de agregados lipo-proteicos se ha identificado como un factor importante en el desarrollo de enfermedades del envejecimiento, particularmente en el cerebro. Un ejemplo es la Lipofuscina (LF), un material autofluorescente, que se define operativamente más que estructuralmente, y dada su acumulación casi lineal en el

SNC con la edad, ha servido como un biomarcador de envejecimiento en varias especies. LF muestra gran heterogeneidad en sus características espectrales de fluorescencia, lo que revela diferencias en su composición química, sugiriendo una maduración diferencial por rutas metabólicas específicas. Sin embargo, debido a que la fluorescencia de LF interfiere con técnicas clásicas de inmunofluorescencia, tradicionalmente en muestras de tejido envejecido se usan protocolos experimentales para bloquear su autofluorescencia. Esto impide el estudio de LF junto con marcadores de tipo celular y/o neurodegeneración, imposibilitando el análisis de la contribución de LF a la patología. En este trabajo, analizamos los agregados intracelulares de LF en cortes histológicos de cerebros de ratón, jóvenes y envejecidos, mediante microscopía hiperespectral y gráficos de fasores.

Así identificamos distintos componentes de LF, su distribución espacial, desarrollo temporal, y gracias a las propiedades de combinación lineal de los fasores, analizamos la composición de estos agregados en distintos tipos celulares del sistema nervioso, como neuronas y microglía. Esta aproximación nos permitirá comprender mejor el desarrollo y la composición de los gránulos de LF en distintos tipos celulares y estudiar su rol durante el envejecimiento y la patología cerebral.

287

Simulación de stacks de microscopía confocal mediante aprendizaje profundo

Silvera, Diego¹; Millán, María José¹; Merlo, Emiliano¹; Gómez, Álvaro¹; Lecumberry, Federico^{1,2}

¹*Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República*

²*Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo*

Para lograr la implementación de métodos de aprendizaje profundo o evaluar el desempeño de distintos algoritmos de procesamiento, es fundamental contar con una gran cantidad de datos y ground-truth de los mismos. En el presente trabajo se realiza un generador que simula la adquisición de imágenes de microscopía fluorescente confocal utilizando Python, donde se generan parejas de imágenes binarias (objeto-fondo) e imágenes simulando la degradación debido a la adquisición (PSF) y las distintas fuentes de ruido de la microscopía fluorescente confocal. Se generaron cinco tipos de estructuras con distintas características morfológicas: glóbulos, "lumps", túbulos cortos, túbulos largos y túbulos ramificados. Todas estas estructuras tienen parámetros tales como radios o largos que pueden ser seleccionados por el usuario. Luego, se utilizan distintas redes generativas adversarias (GAN por sus siglas en inglés) para simular la degradación en las imágenes. Las GAN son modelos de aprendizaje automático no supervisado que buscan descubrir y aprender los patrones y la estadística de cierta entrada para generar salidas que tengan una distribución estadística similar. Estas imágenes o stacks de imágenes fueron utilizados para el entrenamiento de un sistema de segmentación de stacks de imágenes, estos métodos de aprendizaje profundo fueron comparados con métodos tradicionales como umbralización automática o agrupamiento basados en intensidades (clustering). Para entrenar estas redes se utilizaron imágenes de monocitos extraídas por el grupo interdisciplinario IMAGINA.

Palabras clave: microscopía de fluorescencia, PSF, generador sintético

315

Markers of diabetes, aging and neurodegeneration in the degus retina

Mónica L. Acosta¹, Gabriela Casanova², Adrián G. Palacios³

¹*School of Optometry and Vision Science; New Zealand National Eye Centre; Centre for Brain Research; The University of Auckland, Auckland, New Zealand*

²*Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*

³*Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile*

Diabetes mellitus is a risk factor associated with dementia, including Alzheimer's disease. The most common complication of diabetes manifests itself in the eye as a condition that affects the retina, and causes its degeneration. Aging is also a critical risk factor that accelerates neurodegeneration, directly affecting the brain and making the retina more vulnerable to chronic metabolic stress due to diabetes. Assessment of visual deficit in diabetic retinopathy could be a valuable indicator of brain pathology. Using a natural animal model of aging and degeneration, *Octodon degus*, we have studied the codependence of genetics and environmental factors in the occurrence of eye and brain problems during aging. Retina and hippocampus samples were collected from young females (7 months)

and old females (7 years) and protein expression analyzed using a protein microarray for semi-quantification of 654 proteins. Retina and brain sections were immunolabeled with markers of amyloid peptides to confirm expression of Alzheimer's disease proteins. At least 50% of the proteins analyzed did not change in concentration between young and old samples. Amyloid A was significantly increased in the retina and hippocampus of adults. Glucose processing enzymes were elevated in the adult. Vascular endothelial growth factor (VEGF) was elevated in the adult hippocampus, but not in the retina. At least 30 other proteins signaling a neurodegenerative process were increased in brain and retina. The data generated has allowed us to map a sequence of protein expression events that could be used as indicators of the advancement of neuropathology in diabetic conditions.

Keywords: degus, retina, Alzheimer's disease

NEUROCIENCIAS

013

Dinámica de la potencia espectral del EEG durante la transición al sueño REM en la rata

Serantes, Diego¹; Cavelli, Matías^{1,2}; González, Joaquín¹; Mondino, Alejandra^{1,3}; Torterolo, Pablo¹; Benedetto, Luciana¹

¹Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Department of Psychiatry, University of Wisconsin, Madison, WI, USA

³Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, North Carolina State University, NC, USA

El sueño es un estado comportamental reversible donde la respuesta y la interacción con el ambiente se encuentran disminuidas. En este, clásicamente se distinguen el sueño no-REM (SNREM) y el sueño REM (SREM). A su vez, existe un estado denominado transicional (ET), que comparte características del electroencefalograma (EEG) con ambos estados. El ET ha sido poco estudiado, y aún no hay consenso sobre si este constituye un estado independiente de sueño. El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización espectral dinámica del EEG durante el ET en ratas. Se utilizaron ratas Wistar macho (n=18) implantadas para registros polisomnográficos. En cada animal se registró la actividad eléctrica de los músculos de la nuca y el EEG bilateral de cuatro cortezas: bulbo olfatorio, prefrontal, somatosensorial y visual secundaria. Posteriormente, se analizó la potencia espectral durante el ET, en comparación con las características espectrales de SNREM y SREM. Observamos que el ET tiene una duración aproximada de 30s que se visualiza inicialmente en la corteza del bulbo olfatorio. Se observa primero un descenso de la potencia en la banda delta con relación al SNREM (0,5-4 Hz), y simultáneamente, un aumento de la potencia sigma (11-15 Hz) en relación al SNREM y SREM. A continuación, la potencia theta (4-9 Hz) aumenta respecto al SNREM y disminuye en comparación al SREM. Los resultados sugieren que el ET podría constituir un estado independiente de sueño, ya que presenta características que lo diferencian del SNREM y SREM.

Palabras clave: Sueño, estado transicional, sueño NREM, sueño REM

024

Anatomía y neurogénesis en la médula espinal de *Austrolebias charrua*: análisis dimórfico

Silva, Stephanie¹; Herrera, María Laura^{1,2}; Rosillo, Juan Carlos^{1,3}; Fernández, Anabel^{1,4}

¹Laboratorio de Neurobiología Comparada, Departamento de Neurociencias Computacionales e Integrativas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

²Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Departamento de Histología y Embriología Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁴Laboratorio de Neurociencias Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La caracterización anatómica sexo-específica de la médula espinal ha sido muy poco estudiada. Los peces anuales presentan dimorfismo en tamaño, diseño corporal y cortejo. Estas diferencias se reflejan en la anatomía e histología de la médula espinal, seguramente asociada a características distintivas del comportamiento motor y el desarrollo diferencial de las aletas. Nuestro estudio se enfocó en el análisis de dimorfismos anatómicos, histológicos y proliferativos en la médula espinal de peces *Austrolebias charrua* adultos. Cinco especímenes de cada sexo fueron inyectados con una única dosis de BrdU de 100 mg/kg y mantenidos con vida durante 7 días. El revelado por inmunohistoquímica de BrdU combinado con marcadores de estirpe neuronal y glial (HuC/S-100) evidenció la

existencia de neurogénesis sostenida en todos los segmentos, asociada al epéndimo y a otras regiones de la sustancia gris y blanca en ambos sexos. A partir de los análisis anatómicos y morfométricos, realizados en machos y en hembras, se observó una regionalización en al menos cinco segmentos en el eje céfalo-caudal con diferencias en tamaño, diámetro y contorno. Las hembras mostraron un predominio de contornos ovalados en la mayoría de los segmentos, mientras que los machos exhibieron contornos circulares y triangulares. Cada segmento medular reveló características histológicas particulares como la proporción y distribución de la sustancia gris y blanca, la presencia de neuronas de tamaños variables, y grandes vasos asociados a los niveles analizados. Estos resultados permiten asociar fenotipos conductuales y corporales particulares de cada sexo con diferencias anatómicas y proliferativas de la médula espinal.

Palabras clave: Neurogénesis, médula espinal, dimorfismo, peces anuales

029

Anatomía, crecimiento y proliferación celular del cerebro en desarrollo de alevinos de *Austrolebias charrua* en relación al crecimiento corporal

Rosillo, Juan Carlos^{1,4}; **Herrera, María Laura**^{1,2}; **Silva, Stephanie**¹; **González, Florencia**^{1,3}; **Berrosteguieta, Inés**¹; **Rondan, Santiago**³ **Casanova, Gabriela**³; **Olivera-Bravo, Silvia**⁶; **Fernández, Anabel**^{1,5}

¹Laboratorio de Neurobiología Comparada, Departamento de Neurociencias Computacionales e Integrativas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

²Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Unidad de Microscopía Electrónica de Transmisión, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁵Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁶Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, Departamento de Neurociencias Computacionales e Integrativas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

Los peces anuales poseen un ciclo de vida adaptado a las condiciones extremas de su hábitat. Su rápido crecimiento y maduración sexual favorece la reproducción en su corto ciclo vital. En este trabajo se estudió: 1) el proceso de desarrollo y maduración del encéfalo durante los primeros tres meses de vida de *Austrolebias charrua* en relación al tamaño corporal y 2) las características anatómicas y proliferativas del encéfalo. Para el estudio anatómico, se realizaron cortes seriados de los encéfalos, que fueron fotografiados para obtener reconstrucciones tridimensionales por medio del BioVis3D. La proliferación celular se analizó mediante el análogo de timidina 5'bromo/cloro 2'-desoxiuridina (BrdU/CldU) disuelto en el agua de la pecera a una concentración de 10 mM. Se determinó la ubicación de las zonas proliferativas tempranas post-eclosión. El marcado con BrdU y/o CldU fue combinado con S-100 (marcador de glía progenitora). El encéfalo del alevino presenta una anatomía muy diferente al encéfalo adulto, donde es evidente la inmadurez de estructuras en las tres principales divisiones encefálicas. No se distingue aún el bulbo olfatorio, hay solo un esbozo de *tectum óptico* y de cerebelo. El encéfalo está compactado, donde están disminuidas las formaciones ventriculares. El marcado con DAPI/BrdU/S-100 mostró un patrón de crecimiento con filas celulares paralelas y oblicuas a los ventrículos marcadas con BrdU, con poca densidad celular donde las glías S-100+ y sus prolongaciones se localizan en las zonas desprovistas de células. El análisis mediante microscopía electrónica de transmisión ayudó a conocer las características celulares de las zonas en crecimiento.

Palabras clave: Neurodesarrollo, neuroanatomía, proliferación celular, glías

032

Caracterización transcriptómica de astrocitos neurotóxicos aislados del modelo murino ZxTg-AD sintomático

Carvalho, Diego¹; **Díaz-Amarilla, Pablo**²; **Dapueto, Rosina**²; **Santi, María Daniela**^{2,a};

Duarte, Pablo²; **Savio, Eduardo**²; **Engler, Henry**²; **Abin-Carriquiry, Juan A.**^{1,b}; **Arredondo, Florencia**^{1,2}

¹Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

²Área I+D Biomédica, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular

^a Afiliación actual: Bluestone Center for Clinical Research, College of Dentistry, New York University ^b Afiliación actual: Laboratorio de Biofármacos, Institut Pasteur de Montevideo

Evidencias recientes sugieren el posible papel patogénico de diferentes células gliales como los astrocitos en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer y otros trastornos neurodegenerativos. A través de un proceso denominado astrogliosis reactiva, los astrocitos sufren cambios morfológicos y funcionales en respuesta a señales de daño tisular y otros estímulos presentes en entornos patológicos. Los estudios de modelos murinos y humanos sugieren que estas respuestas son complejas y heterogéneas, pudiéndose manifestar como fenotipos de astrocitos específicos de la enfermedad. El estudio de este tipo de astrocitos resulta entonces de interés para la comprensión de los procesos neurodegenerativos, lo que también contribuiría al diseño de nuevas estrategias terapéuticas y diagnósticas. En este trabajo presentamos la caracterización transcriptómica de cultivos de astrocitos neurotóxicos aislados de animales sintomáticos del modelo de ratón triple transgénico de la enfermedad de Alzheimer 3xTg-AD. De acuerdo con el perfil observado, los astrocitos neurotóxicos 3xTg-AD muestran varias características de reactividad, incluida la alteración de la matriz extracelular y la liberación de factores proinflamatorios y proliferativos que podrían tener efectos nocivos para las neuronas. Además, estas alteraciones podrían ser consecuencia de respuestas de estrés en el retículo endoplásmico y las mitocondrias, así como de adaptaciones metabólicas concomitantes. Los resultados actuales respaldan la hipótesis de que los cambios adaptativos de la función astrocítica inducidos por un microambiente estresado podrían promover fenotipos de astrocitos nocivos y acelerar o inducir aún más los procesos neurodegenerativos.

Palabras clave: ratones 3xTg-AD, astrocitos, neurodegeneración, enfermedad de Alzheimer, transcriptoma

037

Evaluation of the neuroprotective potential of the gene pretaporter in a *Drosophila* Parkinson's Disease model

Silvera, Constanza¹; **Cantera, Rafael**¹; **Ferreiro, María José**¹

¹*Departamento de Biología del Neurodesarrollo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)*

Parkinson's Disease, the second most prevalent neurodegenerative disease, has still no cure or effective treatment, making essential to explore mechanisms of neuroprotection. Parkinson's models such as *Drosophila* mutants for the gene *parkin*, homologous to human's *PARK2*, exhibit a well-characterized neurodegeneration phenotype: motor defects, shortened lifespan, reduction of dopaminergic neurons and lower dopamine levels. Through the transcriptomic analysis of an exceptional case of reversible neurodegeneration in *Drosophila* our group identified *pretaporter* as a neuroprotective candidate gene. Here, we explore the hypothesis that the downregulation of *pretaporter*, homologous to human's *TXNDC5*, exerts neuroprotection in *parkin* Parkinson's mutants. This is an ongoing master's degree project which includes: determination of the expression of Pretaporter in dopaminergic neurons of adult *wild-type* flies by immunohistochemistry and confocal microscopy (IHC-CM), construction of *pretaporterparkin* double mutants following predesigned genetic crosses, quantification of lifespan, brain dopaminergic neurons and dopamine levels in mutants compared to controls by IHC-CM and HPLC, respectively, and evaluation of motor ability. We have already confirmed that Pretaporter is expressed in dopaminergic neurons of *wild-type* and *parkin* individuals and that *pretaporter* loss-of-function ameliorates the *parkin* mutants' phenotype, significantly reducing the loss of dopaminergic neurons and extending lifespan greatly. These preliminary results suggest a neuroprotective function of *pretaporter* in this Parkinson's model, that could be conserved in its human homologue. HPLC and motor ability results are in progress and will be complete by the time of the congress.

Keywords: Parkinson's, Neurodegeneration, Neuroprotection, Pretaporter, *Drosophila*

045

El inmunoreceptor CD200R1 en la neuroinflamación inducida por una lesión de médula espinal y en un contexto de inflamación sistémica

Pannunzio, Bruno^{1,2}; **Cawen, Andrés**²; **Evans, Frances**^{1,2}; **Peluffo, Hugo**^{1,2,3}; **Lago, Natalia**^{2,4}

¹*Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República*

²*Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo*

³*Unitat de Bioquímica i Biologia Molecular, Departament de Biomedicina, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona, España*

⁴*Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Institut de Neurociències, CIBERNED, Universitat Autònoma de Barcelona, España*

La interacción CD200 – CD200R1 ha sido identificada como un regulador crítico de la respuesta inmune en varias patologías asociadas al sistema nervioso. Recientemente, demostramos que CD200R1 tiene un rol importante en determinar la severidad después de una lesión de la médula espinal, así como también después de una lesión del nervio ciático. En este trabajo, analizamos el papel de CD200R1 en la inflamación local y sistémica luego de un desafío inflamatorio inducido por una lesión de médula espinal y por la administración de lipopolisacárido (LPS). Utilizando ratones knock-out (KO) para CD200R1, observamos que la ausencia del receptor no generó diferencias en la recuperación de funciones locomotoras. Sin embargo, en condiciones homeostáticas, los ratones CD200R1-KO mostraron un menor número de glóbulos blancos en sangre, en particular de neutrófilos y linfocitos, y una atrofia del bazo, sugiriendo la presencia de alteraciones sistémicas. Interesantemente, estas diferencias desaparecen luego de una lesión de médula espinal. A su vez, en ausencia de CD200R1, observamos una menor expresión de TNF α , IL-6 y CCL2 en el bazo de animales sin lesión. Luego utilizamos un segundo modelo de neuroinflamación aguda desencadenada por la administración de LPS, que induce un desafío inmunológico sistémico. Observamos una reducción en el peso del bazo de los ratones CD200R1-KO luego de la administración de LPS, así como también alteraciones en los niveles de citoquinas y en el número de neutrófilos en sangre.

Palabras clave: neuroinflamación, lesión de médula espinal, inmunoreceptor

046

La cilia primaria durante la diferenciación de los fotorreceptores de la retina del pez cebra

Rodao, Magela^{1,2,3}, **Zolessi, Flavio**^{1,3}

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Institut Pasteur de Montevideo

En la retina neural, las células neuroepiteliales darán lugar a todos los tipos celulares de la retina madura mediante un proceso relativamente estereotipado de neurogénesis. Las células del neuroepitelio son altamente polarizadas y presentan especializaciones apicales, como la cilia primaria, un organelo al que se le atribuye función como sensor de señales extracelulares en muchos procesos biológicos. Anteriormente, hemos caracterizado la presencia de este organelo en progenitores de fotorreceptores y realizamos un análisis de la dinámica ciliar en estas células. Teniendo en cuenta que la polaridad del neuroepitelio podría influir o incluso establecer la polaridad y destino de su progenie dentro del tejido, nos planteamos analizar la función de la cilia primaria durante la diferenciación temprana de los progenitores de fotorreceptores. Nuestra hipótesis es que la cilia primaria influye en el establecimiento de la polaridad y orientación de la capa de fotorreceptores maduros. En este trabajo analizamos la función de estos organelos en las etapas iniciales del desarrollo mediante la interrupción de genes necesarios para la ciliogénesis, utilizando oligómeros de morfolino. A pesar de que no observamos un efecto evidente sobre la orientación y polaridad de los fotorreceptores, sí provocó una disminución general en el número de progenitores neurales de la retina; además, los análisis de microscopía confocal in vivo mostraron una modificación en el comportamiento dinámico de los progenitores de fotorreceptores, caracterizado por una mayor longitud promedio y un retraso en la retracción de los procesos basales de estas células en embriones morfantes respecto a los salvajes.

Palabras clave: neurogénesis, polaridad celular, microscopía

047

CD300f immune receptor inhibition induce exacerbation of penetrating cortical injury

Alí-Ruiz D^{1,2}, **Vitureira N**³, **Peluffo, H**^{1,2}

¹Lab. of Neuroinflammation and Gene Therapy, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Dep. of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, UdeLaR, Uruguay

³Dep. of Physiology, Faculty of Medicine, UdeLaR, Montevideo, Uruguay

Immune receptors play a critical role in regulating immune and inflammatory processes in the central nervous system (CNS). CD300f is of particular interest given its capacity to transmit activating and inhibitory signals. We previously demonstrated that the ligands of CD300f are present in the normal CNS and that the overexpression of CD300f has a neuroprotective role after an acute excitotoxic brain injury. In order to study its biological function, we used rCD300f-Fc, a fusion protein that interrupts the endogenous interaction between CD300f receptor-ligands, and CD300f KO

animals, both in vitro as well as in vivo. In vitro, in co-cultures of hippocampal neurons and mixed glia, we observed that the fusion protein induced a dose-dependent neuronal death. This neuronal death was dependent on glia, because no cell death was detected in enriched hippocampal neuronal cultures treated with CD300f-Fc. Moreover, we observed that conditioned medium of co-cultures of hippocampal neurons and mixed glia treated with rCD300f-Fc induced neuronal death in enriched neuronal cultures, however conditioned medium by mixed glia treated with rCD300f-Fc did not. In accordance with the in vitro results, in vivo studies, performed by injecting rCD300f-Fc into rat or mouse neocortex, showed an increased lesioned area as observed by Nissl stain or an increased neuronal loss as observed by direct counting of YFP+ neurons in Thy1-YFP-H mice. Many of the ligands of CD300f, such as phosphatidylserine, sphingomyelin or lipoproteins, are shared with TREM2 immune receptor. To address the question of whether the effects of CD300f-Fc could be mediated by the inhibition of TREM2, CD300f KO mice were injected intracortically with rCD300f-Fc or control IgG. As expected, no effect was observed by CD300f-Fc injection in CD300f KO mice when compared to control IgG injection, suggesting that the fusion protein is acting by inhibiting the endogenous CD300f receptor. In conclusion, taken together, these data suggest that CD300f is involved in the maintenance of CNS homeostasis after an in vivo penetrating brain injury, and that microglial CD300f inhibition may alter microglial phenotype generating a neurotoxic microenvironment.

049

Posible rol secretor del proceso apical de las CSF-cNs en la médula espinal

M Vitar, M Rehermann, O Trujillo-Cenóz, RE Russo, FF Trigo

Departamento de Neurofisiología Celular y Molecular, IIBCE

Las CSF-cNs (por "cerebrospinal-fluid contacting neurons") se localizan en torno al canal central de la médula espinal (ME) y proyectan una dendrita que termina en un proceso apical (PAP) con forma de bulbo, en contacto con el líquido cefalorraquídeo (LCR). Aún hoy, la función de estas células se desconoce. Aunque se cree que el PAP participa en la detección de componentes del LCR, nuestros datos preliminares enfatizan un potencial rol secretor: a) evidencias ultraestructurales muestran en los PAPs la existencia de intrincados conjuntos de túbulos y vesículas; b) en PAP aislados hemos registrado corrientes de calcio de tipo T; c) frente a pulsos despolarizantes registramos a nivel de los PAP aumentos de la capacitancia de membrana. Puesto que las CSF-cNs son GABAérgicas, hipotetizamos que los PAP liberan GABA. Para explorar esta posibilidad realizamos un marcaje de VGAT (*Vesicular GABA Transporter*) mediante técnicas de inmunohistoquímica y obtuvimos imágenes de microscopía confocal que muestran VGAT localizado en los PAP. Dado que la liberación de GABA desde el PAP no sería desde una estructura sináptica típica, estamos poniendo a punto la técnica de detección de GABA mediante un "sniffer", i.e. una célula HEK modificada que presenta una alta densidad de receptores GABA en su membrana. Asimismo, hemos evidenciado la presencia de Receptores GABA en los PAP mediante desenjaqueado de GABA. Estos resultados en su conjunto, de verificarse la liberación de GABA por los PAP, podrían contribuir a la elaboración de un modelo novedoso de comunicación en el sistema nervioso central.

Palabras clave: Neuro transmisión, GABA, electrofisiología, médula

072

Modulación social y circadiana de la variabilidad en la conducta eléctrica

Gascue, Valentina^{1,2}; Migliaro, Adriana¹

¹*Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

²*Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable*

Los ritmos circadianos le permiten a los organismos anticipar cambios cíclicos en el ambiente y asignar energía de forma apropiada para adaptarse a dichos cambios. Estos ritmos están modulados y sincronizados por señales diarias tanto bióticas como abióticas, como lo son la luz, la temperatura y las interacciones sociales. Los ritmos conductuales de animales que habitan entornos naturales muestran fases de actividad y reposo que son influidas tanto por las variaciones diarias del ambiente como por la actividad de sus coespecíficos. Los peces eléctricos de descarga débil se caracterizan por emitir constantemente una descarga eléctrica de baja amplitud (DOE) que cumple funciones sensoriales y de comunicación. La frecuencia de emisión de estas descargas (FB-DOE) constituye un repertorio conductual con ritmicidad circadiana. La FB-DOE requiere de una cierta estabilidad que asegure la predictibilidad de su rol al tiempo que debe tener una cierta flexibilidad que le permita adaptarse a los cambios del entorno.

Analizar la variabilidad de los ritmos nos permite estudiar el desempeño de los sistemas circadianos que los generan, ya que la variabilidad de una secuencia temporal rítmica nos habla de la eficacia del oscilador que genera dicha secuencia. Esto es cierto incluso cuando no se conocen las bases moleculares de estos sistemas, lo cual convierte a éste análisis en una herramienta muy versátil. En este trabajo comparamos la modulación social y circadiana de la variabilidad de la conducta eléctrica en dos especies simpátridas de peces eléctricos autóctonos: *Brachyhyppopomus gauderio*, una especie gregaria; y *Gymnotus omarorum* una especie territorial.

Palabras clave: peces eléctricos, socialidad, sincronización de ritmos circadianos, variabilidad, conducta eléctrica

085

No hay (Slit)2 sin (Slit)3: cooperación en el cruce de los axones retinianos en la línea media en el pez cebra

Davison, Camila^{1,2}; **Bedó, Gabriela**³; **Zolessi, Flavio R**^{1,2}

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Institut Pasteur de Montevideo

³Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La señalización por medio de Slit-Robo regula el cruce de los axones a nivel de la línea media. En el pez cebra, los axones de todas las células ganglionares de la retina (CGRs) cruzan en el quiasma óptico para inervar el tectum contralateral. Los mutantes para el receptor Robo2 presentan defectos severos en el guiado axonal, los cuales no se reproducen completamente en los mutantes nulos para el ligando Slit2. Dado que, en el pez cebra, *slit3* también se expresa en esta región en el momento del cruce axonal, decidimos analizar la posible cooperación entre ambos factores. La disrupción de la expresión de *slit3* mediante el sistema CRISPR/Cas9 causó defectos similares a los observados en los mutantes *slit2*^{-/-}, aunque más leves. El mismo tratamiento en embriones *slit2*^{-/-}, sin embargo, ocasionó defectos mucho más severos, comparables con los observados en los mutantes para *robo2*. El seguimiento de los axones de las CGRs mediante time-lapse y posterior análisis de tracking indicó funciones distintas pero complementarias para Slit2 y Slit3 en la corrección de los errores de giro cerca del quiasma óptico. Curiosamente, el análisis por medio de qPCR mostró un leve aumento de la expresión de *slit2* en embriones deficientes para *slit3*, pero no a la inversa. Nuestras observaciones apoyan el modelo existente de "canalización repulsiva" para la acción de la vía Slit-Robo en el quiasma óptico. De esta forma, ambos Slits estarían actuando mediante Robo2, aunque de distinta manera, lo cual podría relacionarse con las diferencias en sus patrones de expresión.

Palabras clave: quiasma óptico; guía axonal; células ganglionares de la retina; nervio óptico; CRISPR-Cas9

086

Generación de la línea transgénica Tg(TP1:venusPEST) para el estudio de la vía de NOTCH en el desarrollo temprano de la retina de *Danio rerio*.

Licandro, Santiago¹; **Aparicio, Gonzalo**^{1,2}; **Zolessi, Flavio**^{1,2}.

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Institut Pasteur de Montevideo

Durante el desarrollo de la retina del pez cebra, los progenitores de fotorreceptores se enfrentan a un gran desafío: censar la información proveniente de su entorno, integrarla y, en función de la misma, obtener la identidad celular necesaria en el sitio adecuado posibilitando la correcta organización de la capa nuclear externa (ONL). La información puede provenir de una señal presente en el medio extracelular y/o del intercambio con células vecinas, por ejemplo, por contactos célula-célula. La vía de NOTCH-DELTA ha sido previamente descrita como moduladora de procesos vinculados a la regulación de la identidad progenitora en el sistema nervioso, afectando directamente la expresión génica. Para profundizar en el entendimiento del rol de esta vía en la formación de la ONL, se generará una línea transgénica Tg(TP1:venusPEST) reportera de su actividad, la cual consiste en la expresión de una proteína fluorescente de vida media corta, bajo la regulación de un promotor inducible por NOTCH. La construcción inserta en un vector Tol2 fue expresada en bacterias competentes, amplificada y finalmente purificada mediante extracción de ADN plasmídico. Posteriormente, se la microinyectará en embriones de la línea *roy*, carentes de iridóforos. También se realizará la selección y evaluación de la señal por microscopía de epifluorescencia y de barrido láser confocal respectivamente. La generación de esta línea transgénica en embriones *roy* será una herramienta muy

valiosa para la obtención de imágenes *in vivo*, constituyendo un buen modelo para conducir estudios del rol de la vía NOTCH en la formación de la ONL.

Palabras clave: Fotorreceptores, Biología del Desarrollo, Biología Molecular, Pez Cebra

087

Efecto beneficioso de Cannabigerol sobre los déficits cognitivos inducidos por MK-801. Relevancia en la esquizofrenia

Ximena López Hill¹; Sara Fabius¹; Analia Richeri¹; Cecilia Scorza¹

¹*Departamento de Neurofarmacología Experimental, IIBCE*

Cannabigerol (CBG) es un fitocannabinoide no psicotomimético con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y neuroprotectoras.

Hasta ahora, los estudios se han enfocado en su acción neuroprotectora y potencial terapéutico en enfermedades neurodegenerativas, sin embargo, su potencial terapéutico en trastornos neuropsiquiátricos, ha sido poco explorado. Los déficits cognitivos que se manifiestan en las enfermedades neurodegenerativas y trastornos neuropsiquiátricos, como la esquizofrenia, carecen de tratamientos eficaces. Dadas las propiedades de CBG, postulamos que este compuesto podría atenuar/mejorar las deficiencias cognitivas en un modelo preclínico de esquizofrenia. Este trabajo evaluó el efecto de CBG sobre las alteraciones cognitivas inducidas por la administración aguda de MK-801, modelo farmacológico de esquizofrenia ampliamente utilizado. Ratas macho adultas fueron inyectadas con CBG (10 mg/kg, i.p.) durante 4 días y luego tratados con MK-801 (0.1 mg/kg, i.p.). La memoria de corto y largo plazo fueron evaluadas en el modelo de reconocimiento de objeto novedoso. Para explorar un posible mecanismo asociado al efecto de CBG, los niveles de expresión de BDNF (neurotrofina vinculada a procesos cognitivos), fueron determinados en las regiones cerebrales del hipocampo y la corteza prefrontal medial, mediante el ensayo de inmunoabsorción ELISA. Los resultados mostraron que CBG previno el déficit cognitivo inducido por MK-801, únicamente en la memoria de largo plazo. Esta prevención ocurrió sin una restauración en los niveles de BDNF disminuidos en ambas regiones luego del tratamiento de MK-801. Los resultados apoyan el potencial terapéutico de CBG en los síntomas cognitivos de la esquizofrenia. Resta determinar los mecanismos moleculares implicados en el efecto beneficioso de CBG.

Palabras clave: Cannabinoides, Cannabigerol, Cognición, Esquizofrenia

093

Cofilin 1 is dynamically modulated during postnatal development and by visual input in the mouse visual cortex

Laguardia, Agustín¹; Daputo, Agustina¹; McCuiston, Hanna¹; Rossi, Francesco Mattia¹

¹*Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

Cofilin 1 (COF) is an actin depolymerizing protein playing a fundamental role in the turnover of actin filaments, specifically in dendritic spines, where it has been associated with plasticity processes (Rust, 2015).

We recently identified COF as a potential candidate controlling plasticity levels in the mouse visual cortex (VC) (Bornia et al., 2020).

Here, we used western blot (WB) and immunohistochemistry to analyze the expression of COF and of its phosphorylated inactive form (PCOF) in the VC comparing young mice at the peak of the critical period for plasticity (CP), with low plasticity adult mice. We also analyzed their modulation by monocular deprivation (MD) in both groups. WB experiments showed that COF expression in the VC is 120% higher in the CP than in adults, and that MD increases its expression by approximately 80% in the cortex contralateral to the deprived eye during the CP but not in adults.

Immunohistochemistry experiments showed that PCOF is homogeneously expressed along the different cortical layers of the VC, with a predominant nuclear localization. During postnatal (P) development PCOF expression increases approximately 130% from P7-P15 to P28 and approximately 60% from P28 to adult stage. MD increases PCOF expression in the contralateral VC only when performed during the CP but not in adults.

These observations suggest that cofilin 1 and its phosphorylated form are relevant players in the processes controlling experience-dependent plasticity in the visual cortex.

Bornia N. et al., *Neurosci Lett.* 731:135056, 2020. Rust MB. *Cell Mol Life Sci.* 72:3521-9, 2015

Financial Support: Agencia Nacional de Investigación e Innovación, Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, Uruguay.

Keywords: Visual cortex; Plasticity; Cofilin 1

098

El rol de la melatonina en la regulación del comportamiento eléctrico de *B. Gauderio*

Vázquez, Juan I¹; Gascue, Valentina^{2,3}; Quintana, Laura¹; Migliaro, Adriana²

¹Departamento de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable
Brachyhyppomus gauderio, un pez eléctrico de descarga débil, emite una descarga constante de su órgano eléctrico (DOE) utilizada en la electrolocación y en la comunicación con conoespecíficos. La DOE está comandada por la actividad espontánea del núcleo electromotor bulbar (NEB), con una relación de disparo 1:1.

Tanto la frecuencia de descarga de la DOE (FB-DOE) como la variabilidad de esta frecuencia (V-DOE) pueden ser consideradas como un comportamiento eléctrico, reflejando las prioridades sociales y perceptuales del animal en cada momento.

B. gauderio presenta un aumento nocturno en la FB-DOE, coincidiendo con un incremento en la demanda de información y en la emisión de señales sociales. Este aumento se ve acompañado por un aumento en la variabilidad de la FB-DOE y depende de melatonina, pero los mecanismos por los cuales esta hormona regula el comportamiento eléctrico no habían sido estudiados hasta el momento.

Estudiamos el efecto de inyecciones intraperitoneales diurnas de melatonina sobre la FB-DOE y V-DOE. Luego, para dilucidar los mecanismos neuronales a través de los cuales la melatonina regula este comportamiento, realizamos experimentos *in vitro* administrando melatonina por perfusión directamente sobre el NEB.

El tratamiento con melatonina llevó a una disminución en la FB-DOE pero a un aumento en la V-DOE, y tuvo un efecto similar sobre la actividad del NEB. Estos resultados son los primeros en mostrar un efecto directo de la melatonina sobre la conducta eléctrica y sobre su comando central, y la proponen como una hormona clave en la intersección del sistema sensorial y comunicativo.

Palabras clave: Peces eléctricos, Melatonina, Ritmos Circadianos

105

La administración aguda pero no crónica de la hormona concentradora de melanina induce un efecto anhedónico.

Influencia del estrés

Urbanavicius, Jessika¹; Fabius, Sara¹; Scorza, Cecilia¹

¹Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

Evidencias preclínicas involucran al neuropéptido hormona concentradora de melanina (MCH) en la neurobiología de la depresión, sin embargo, la relación entre MCH y el estrés (principal factor de riesgo en depresión) no ha sido completamente dilucidada. Previamente demostramos que la microinyección aguda y local de MCH en el *Locus Coeruleus*, núcleo vinculado a la neurobiología de la depresión y la respuesta de estrés, indujo un efecto pro-depresivo en el test de nado forzado, mientras que en el modelo de desesperanza aprendida, sólo afectó la respuesta conductual en animales estresados, potenciando el efecto del estrés.

Este trabajo evalúa si la acción pro-depresiva de MCH se mantiene luego de su administración repetida y sistémica (vía intranasal) y si ésta depende de la condición previa de estrés. Inicialmente, evaluamos el efecto de MCH (7.5 o 15µg i.n) aguda o repetida (8 o 15 días) en ratas *naive* en el test de preferencia de sacarosa y observamos que únicamente MCH (15µg) luego de su administración aguda, presentó una marcada tendencia a disminuir la preferencia (efecto anhedónico). Posteriormente, evaluamos su efecto en animales expuestos a una única sesión de nado inescapable (15 minutos).

El estrés agudo también indujo una tendencia a disminuir la preferencia por sacarosa, efecto que fue potenciado por la administración aguda de MCH (15), pero no por el tratamiento repetido. Estos resultados sugieren que MCH podría actuar como un factor de estrés *per se* además de potenciar la respuesta pro-depresiva en animales estresados. Resta determinar los mecanismos subyacentes a estas acciones.

110

Estudio del efecto neurotóxico de astrocitos aislados del modelo murino 3xtg-AD sintomático

Arredondo, Florencia^{1,2}; *Dapuetto, Rosina*¹; *Boix, Victoria*²; *Carvalho, Diego*²; *Santi, Maria Daniela*¹; *Vasilskis, Elena*¹; *Mesquita-Ribeiro, Raquel*³; *DajasBailador, Federico*³; *Abin-Carriquiry, Juan Andres*²; *Duarte, Pablo*¹; *Engler, Henry*¹; *Savio, Eduardo*¹; *Diaz-Amarilla, Pablo*¹

¹Área I+D Biomédica, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo - Uruguay

²Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo – Uruguay

³School of Life Sciences, Medical School Building, University of Nottingham, NG7 2UH, Nottingham - Reino Unido

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia afectando al 510% de los mayores de 65 años. Desafortunadamente las terapias actuales sólo cumplen efectos sintomáticos de la enfermedad. Por ende la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos y biomarcadores tempranos es clave para mejorar el tratamiento de la EA. Una característica histopatológica temprana de la EA es la fuerte reactividad astrogliar que precede a la disfunción axonal y sináptica, y sustenta el microambiente neuroinflamatorio durante el proceso neurodegenerativo. Recientemente aislamos astrocitos de corteza/hipocampo de ratones 3xTg-AD (modelo de EA) de 9-10 meses, que presentan una elevada tasa de proliferación y propiedades neurotóxicas *in vitro*. Planteamos como hipótesis que estos astrocitos son producto de los cambios celulares y moleculares que ocurren a nivel cerebral durante la progresión de la patología, y que participan en la instalación y sucesión de los procesos patológicos que llevan a la neurodegeneración en esta enfermedad.

En este trabajo presentamos su potencial patogénico utilizando diferentes enfoques celulares.

Los astrocitos 3xTg-AD resultaron neurotóxicos tanto en co-cultivo como al añadir su medio condicionado (ACM) sobre cultivos neuronales. El ACM provocó la activación de GSK3 β neuronal y un aumento de la actividad de la caspasa 3. La exposición de neuronas cultivadas en cámaras de microfluído, a ACM, provocó diferentes respuestas según el dominio subcelular (somatodendrítico o axonal) al que fuera aplicado. Esperamos poder contribuir a una mejor comprensión mecanística de la enfermedad y arrojar luz sobre nuevas oportunidades terapéuticas y diagnósticas.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer; ratones 3xTg-AD; astrocitos; neurotoxicidad

118

Cambios estacionales en el ciclo sueño vigilia durante una estadía prolongada en Antártida

Castillo, Julieta^{1,2}; *Silva, Ana*^{2,3}; *Tassino, Bettina*^{1,2}.

¹Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica

²Grupo Cronobiología, CSIC, Universidad de la Republica

³Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica

En los seres vivos un reloj interno marca el ritmo diario de diversas funciones fisiológicas y comportamentales, y se sincroniza con el ciclo luz-oscuridad ambiental. Las residencias prolongadas en Antártida con los cambios estacionales de fotoperíodo constituyen un "laboratorio natural" para estudios cronobiológicos.

El cambio estacional del ciclo sueño/vigilia de integrantes de la dotación de la Base Científica Antártica Artigas se evaluó mediante medidas subjetivas (cuestionarios y diarios de sueño) y objetivas (actimetría de actividad y de luz, perfil de melatonina en saliva). En verano el cronotipo se adelanta (04:11 \pm 01:13 vs. 03:17 \pm 00:47; $p = 0,023$), al igual que el final del sueño (08:20 \pm 01:22 vs. 07:09 \pm 00:34, $p = 0,0034$) mientras que la duración de sueño disminuye (6,93 \pm 0,77 h vs. 5,88 \pm 1,09 h, $p = 0,0068$). La actimetría reveló que en verano el periodo de 5 horas de menor actividad (L5c) se ubica 1:30 h más temprano (06:30 \pm 00:28 vs. 04:02 \pm 00:33, $p = 0,0014$), y que el periodo de 10 horas de mayor actividad (M10c) sufre un adelanto marginal (16:35 \pm 02:43 vs. 14:10 \pm 02:49, $p = 0,057$).

La melatonina inicia su aumento nocturno al menos 3h antes en verano, lo que muestra un adelanto de la fase circadiana.

El aumento drástico de exposición a la luz en verano (MB10: 43,16 \pm 36,29 vs. 1090,91 \pm 986,28, $p = 0.0016$) es responsable de estos cambios estacionales en cronotipo, patrones de sueño, ritmo de actividad/reposo y fase circadiana.

Palabras clave: cronobiología, actimetría, fotoperíodo, cronotipo

130

Evaluación morfológica en corteza, hipocampo e hipotálamo del sistema neuropeptidérgico de la hormona concentradora de melanina (MCH) a lo largo del desarrollo de la rata.

Alcalde, Lucía; Gonçalves, Guadalupe; Mechelk, Lucía; Lagos, Patricia
Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Introducción: La hormona concentradora de melanina (MCH) es un neuropéptido que funciona como neurotransmisor/neuromodulador en el sistema nervioso de los mamíferos.

Desde el hipotálamo, las neuronas MCHérgicas distribuyen sus fibras difusamente a estructuras claves para la ingesta, aprendizaje, memoria y sueño-vigilia. Sus receptores MCHR-1 están presentes en las cilias primarias de neuronas de dichas estructuras.

Hipótesis: El sistema MCHérgico (neuronas, fibras y receptores MCHR-1) sufriría una maduración neuroanatómica a lo largo del desarrollo de la rata y podría ser diferente entre hembras y machos.

Materiales y métodos: Ratas hembra y macho Sprague-Dawley en distintos estadios (E18, P1, P15 y P30) fueron fijadas para posteriormente cortar los cerebros y determinar por inmunohistoquímica e inmunofluorescencia la presencia de fibras y neuronas MCHérgicas y del MCHR-1 en hipocampo, corteza e hipotálamo.

Resultados: En P15 y P30, observamos mayor cantidad de fibras MCHérgicas, más extensas, de mayor grosor y con más varicosidades en comparación con las fibras observadas en las tres estructuras en E18 y P1. Determinamos la presencia del MCHR-1 en neuronas del hipotálamo en hembras P30, restando determinarla en corteza e hipocampo. Restan los demás estadios y la cuantificación de su densidad para comparar con la densidad de fibras MCHérgicas en ambos sexos.

Conclusiones: Estos resultados indican que las fibras MCHérgicas sufren una maduración morfológica a lo largo del desarrollo, restando determinar si esta maduración también ocurre a nivel de las neuronas MCHérgicas y en la densidad y distribución del MCHR-1 presente en neuronas cercanas a las fibras MCHérgicas.

Palabras clave: hormona concentradora de melanina, receptor MCHR-1, hipotálamo, hipocampo, corteza

132

Sincronía bio-comportamental madre-hijo/a y su asociación con la empatía en niños/as de un año de edad

Arrieta-Laurent, Antonella¹; Miraballes, Juan; Gómez-Sena, Leonel¹, Ferreira, Annabel²

¹Laboratorio de Neurociencia, Facultad de Ciencias, Udelar, Uruguay

²Sección de Fisiología y Nutrición. Facultad de Ciencias, Udelar, Uruguay

La sincronía bio-comportamental madre-hijo/a (SBC) involucra la coordinación de comportamientos y ritmos biológicos entre ambos, y ha sido relacionada con el desarrollo de la empatía. Sin embargo, esta asociación no se ha establecido en edades tempranas. El presente estudio determinó: 1. La SBC de acuerdo a la edad de los niños/a y 2. Su asociación con la empatía de los niños. Las diadas se dividieron en dos grupos: a: 11 a 12 meses (n=10), y b: 14 a 15 meses (n=10). La SBC incluyó los comportamientos y frecuencia cardíaca de la diada durante una interacción de juego libre. La empatía de los niños se midió ante una simulación de dolor de su madre. Encontramos que los niños grandes pasan más tiempo en atención conjunta (AC) y juego (J); que las vocalizaciones de la madre precedieron a AC y J, y la mirada mutua solo en niños grandes. La frecuencia cardíaca de la diada co-varió en el último minuto de la interacción. La AC correlacionó positivamente con el componente cognitivo de la empatía; mientras que el diálogo sólo con el componente motivacional en los niños mayores. En conclusión, la SBC difirió según la edad de los niños únicamente para los comportamientos, no para la co-variación de la frecuencia cardíaca. Estos resultados destacan el establecimiento temprano de los mecanismos de sincronización de ritmos biológicos. Por otra parte, la SBC correlacionó con los componentes de la empatía, destacando su papel en la organización del comportamiento social desde edades tempranas.

Palabras clave: sincronía bio-comportamental, empatía, desarrollo

134

Tratamiento con extracto de *Cannabis sativa* alto en CBDA revierte diferencialmente en machos y hembras el fenotipo de tipo autista en dos modelos murinos de autismo

Pose, Sabrina¹; Giorgi, Victoria²; Vila, Agustina²; Fernandez, Santiago³; García, Carlos³; Carrera, Inés⁴; Lago, Natalia

¹Laboratorio Neuroinflamación y Terapia Génica, Institut Pasteur de Montevideo

²Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

³Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

⁴Laboratorio de Experimentación Animal, Área Farmacología, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Universidad de la República

Los trastornos del espectro autista (TEA) son trastornos del neurodesarrollo caracterizados por déficits de interacción social y comunicacionales, y comportamientos repetitivos, sin existir un tratamiento farmacológico efectivo. Resultados anecdóticos de administración de aceites preparados con extractos de *Cannabis sativa* muestran mejoras comportamentales y comunicacionales en pacientes con TEA. El objetivo del presente trabajo ha sido caracterizar comportamentalmente dos modelos murinos de TEA, tanto en machos como en hembras, y evaluar si el tratamiento con un extracto de cannabis alto en CBDA (eCBDA) es eficaz para revertir el fenotipo de tipo autista. Tanto en el modelo genético de TEA (*Shank3B^{-/-}*), como en el modelo ambiental por inyección de ácido valproico (VPA) en hembras gestantes, se observó el fenotipo de tipo autista en ambos sexos.

Luego, se administró eCBDA crónicamente, observándose efectos de reversión de algunos comportamientos de forma diferencial entre sexos y en ambos modelos. Mientras que en el modelo genético la reversión se observó principalmente sobre el acicalamiento excesivo en hembras, en el modelo ambiental esta reversión se observó en machos.

Además, en el modelo ambiental, el tratamiento con eCBDA mejoró comportamientos de interacción social en ambos sexos, mostrando que el extracto tiene diferentes efectos tanto en los dos modelos como por sexo. Se estudió, además, la microglía en ratones *Shank3B^{-/-}* naïve y luego del tratamiento con eCBDA. Los resultados obtenidos muestran la necesidad de evaluar ambos sexos en los estudios sobre autismo y de estudiar la microglía como posible diana terapéutica en patologías del neurodesarrollo.

Palabras clave: autismo, extractos de cannabis, microglía

152

Caracterización cronobiológica de la infancia en Uruguay: una aproximación experimental

Curbelo, Dimara¹; Estevan, Ignacio^{1,2}; Silva, Ana^{1,3}; Tassino, Bettina^{1,4}

¹Grupo Cronobiología, CSIC, Universidad de la República

²Instituto de Fundamentos y Métodos, Facultad de Psicología, Universidad de la República

³Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁴Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En Uruguay se ha identificado extrema nocturnidad en adolescentes y jóvenes pero no se cuenta con estudios de los patrones de sueño en niños y niñas. Se evaluó una muestra de 39 niños/as de $7,5 \pm 0,5$ años de edad con medidas subjetivas (cuestionarios cronobiológicos) y objetivas (actimetría durante 10 días). El cronotipo promedio (04:06 \pm 0:54) y las preferencias circadianas ($33,2 \pm 5,7$) refieren a población relativamente tardía. Al comparar entre turnos de asistencia escolar, quienes asisten de mañana reportan mayor jetlag social ($1,34 \pm 0,74$ h vs. $0,43 \pm 0,45$ h, $p \leq 0,001$) y menor duración de sueño semanal ($9,13 \pm 0,84$ h vs. $10,11 \pm 0,65$ h, $p \leq 0,005$) que quienes asisten en la tarde. Aunque las medidas objetivas de actividad por actimetría revelaron adelanto de acrofase (15:06 \pm 00:48 vs. 16:15 \pm 00:43, $p \leq 0,001$) y del momento de mayor actividad (M10c 14:42 \pm 0:51 vs. 15:51 \pm 01:11, $p \leq 0,005$) en quienes asisten al turno matutino, no se observaron diferencias para el momento de menor actividad (L5c 03:18 \pm 01:29 vs. 04:00 \pm 01:16 $p=0,11$).

Estos resultados, que constituyen la primera aproximación cronobiológica experimental en niños y niñas, muestran la influencia del turno escolar sobre los patrones de sueño y el ritmo actividad-reposo, un factor hasta ahora inexplorado en la investigación cronobiológica en la infancia.

Palabras clave: cronotipo, actimetría, turnos escolares, ritmos circadianos

156

El inmunoreceptor CD300f participa en la fagocitosis y degradación de lípidos en lesiones desmielinizantes del sistema nervioso

¹**Cawen, Fabio Andrés;** ^{1,2}Evans, Frances; ^{1,2}Pannunzio, Bruno; ³Pórfido, Jorge Luis; ³Schlapp, Geraldine; ³Meikle, María Noel; ³Crispo, Martina; ⁴López-Vales, Rubén; ^{1,2,4}Peluffo, Hugo; ^{1,5}Lago, Natalia

¹Neuroinflammation and Gene Therapy Laboratory, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, UDELAR, Uruguay

³Unidad de Biotecnología en Animales de Laboratorio, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

⁴Unidad de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Barcelona, Spain

⁵Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, and Institute of Neuroscience, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain

El inmunoreceptor CD300f modula diversos procesos inflamatorios sistémicos y participa en la fagocitosis de células apoptóticas. Dado que sus ligandos son de naturaleza lipídica (fosfolípidos como fosfatidilserina, esfingomielina, lipoproteínas, etc.) se ha postulado que podría actuar como un sensor de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs por sus siglas en inglés). El sistema nervioso posee una gran cantidad de lípidos, en particular asociados a las vainas de mielina. La microglía contribuye al reciclado normal de la mielina fagocitando los restos producidos durante procesos. Nuestra hipótesis es que CD300f es importante en procesos de desmielinización que generan una sobrecarga de restos lipídicos que hay que fagocitar y degradar. En cultivos de macrófagos derivados de médula ósea (BMDM) incubados con extractos de mielina, observamos una reducción en la fagocitosis de mielina en los CD300f^{-/-}. A más largo plazo, sin embargo, se tiñeron más fuertemente con OilRedO (tinción para lípidos neutros), sugiriendo una mayor acumulación de lípidos intracelulares. In vivo, una lesión traumática de la médula espinal, que induce una extensa desmielinización, también mostró una mayor acumulación de lípidos en los animales CD300f^{-/-}, asociado a una peor recuperación funcional de estos animales. Con el objetivo de diferenciar si el efecto se debe a la función de CD300f en macrófagos reclutados a la lesión o a la microglía, generamos ratones CX3CR1-Cre^{ERT2}/CD300f^{loxP/loxP} que permitieron eliminar CD300f únicamente en microglía. Observamos que los animales mostraban una peor recuperación funcional luego de la lesión, sugiriendo que el CD300f microglial es importante durante el proceso inflamatorio y reparatorio.

162

Estudio de la performance locomotora y cognitiva *in vivo* del modelo murino de enfermedad de Alzheimer 3xTg-AD
Isaurralde, Fabiana¹; Dapuzo, Rosina¹; Reyes, Laura¹; Paolino, Andrea¹; Duarte, Pablo¹; Scorza, Cecilia²; Savio, Eduardo¹; López-Hill, Ximena²; Arredondo, Florencia^{1,2}

¹Área I+D Biomédica, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo - Uruguay

²Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo - Uruguay

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por demencia progresiva que afecta al 5-10% de los individuos mayores de 65 años. Las terapias actuales han mostrado efectos paliativos y sintomáticos, cuya eficacia depende del grado de avance de la enfermedad. En este sentido resulta de interés la utilización de modelos preclínicos que reproduzcan las principales características patológicas de la enfermedad, con el fin de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas y diagnósticas tempranas. El modelo murino transgénico 3xTg-AD desarrolla un tipo de Alzheimer familiar que recrea la patología completa de la enfermedad (beta amiloide y taupatía) y permite estudiar todo el curso de la misma en aproximadamente 15 a 18 meses.

En este trabajo nos propusimos evaluar la evolución de la performance locomotora y cognitiva *in vivo* de este modelo a lo largo del tiempo. Para ello realizamos ensayos de Open Field y Novel Object Recognition (NOR) en los animales transgénicos y sus respectivos controles (B6129SF2/J) a los 3, 6, 9 y 12 meses de edad.

Nuestros resultados preliminares muestran un deterioro cognitivo en los animales 3xTgAD en comparación a sus controles. Esto indica que la patología se está expresando en nuestro modelo murino y que la metodología utilizada es adecuada para caracterizar la progresión de la enfermedad desde el punto de vista comportamental.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer, Novel Object Recognition, 3xTg-AD

163

Impacto del cambio de turno de entrenamiento en los ritmos biológicos de estudiantes de danza

Marchesano, Mariana¹; **Coirolo, Natalia**¹; **Tassino, Bettina**^{1,2}; **Silva, Ana**^{1,3}

¹Grupo Cronobiología, Comisión Sectorial de Investigación Científica, Universidad de la República

²Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias Universidad de la República

Las Escuelas de Danza del SODRE constituyen una situación experimental extraordinaria para investigar la interacción entre las presiones sociales, los patrones de sueño, los ritmos circadianos y el ejercicio. Los cuestionarios de autorreporte son instrumentos robustos y fiables para la caracterización cronobiológica. El Morning-Eveningness Questionnaire (MEQ) consigna las preferencias circadianas individuales en un puntaje. El Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ) estima el cronotipo como el punto medio de sueño en los días libres y permite evaluar la disrupción circadiana (jetlag social). Este estudio longitudinal analizó los cambios cronobiológicos de una muestra de estudiantes de danza (n=17) que pasó de asistir al turno nocturno en 2019 (20:00 a 00:00) al turno matutino en 2021 (08:30 a 12:30). Aunque la preferencia circadiana no varió, al cambiar de turno el cronotipo se volvió más temprano (07:19 ± 02:16 2019, 05:24 ± 00:40 2021, p=0.021) y aumentó el jetlag social (1,71 ± 1,05 h 2019, 2,45 ± 0,79 h 2021, p=0.031). Asistir a clase en la mañana también modificó el patrón de sueño al aumentar la duración en los días libres respecto a los días de clase (libres: 8,95 ± 1,53 h, de clase: 7,33 ± 0,88 h, p=0.002). El cambio en los patrones de sueño y actividad abona la discusión sobre la plasticidad del cronotipo y evidencia el impacto de las presiones sociales y el ejercicio sobre los ritmos circadianos.

Palabras clave: cronotipo, preferencia circadiana, cambio de turno, danza

182

Compromiso de los pericitos en un modelo experimental de esclerosis lateral amiotrófica

Isasi, Eugenia¹; **Stancov, Matias**²; **Lagos, Valentina**¹; **Martinez-Palma, Laura**¹; **OliveraBravo, Silvia**²; **Abudara Verónica**³; **Cassina, Patricia**¹

¹Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

³Laboratorio de Comunicación Celular, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva y terminal que se caracteriza por la afectación de motoneuronas que lleva a la parálisis muscular y muerte de los pacientes 3-5 años luego del diagnóstico. En ELA, se ha reportado compromiso de la barrera hemato-encefálica y hemato-medular, reducción del flujo sanguíneo, disminución de la densidad capilar, alteración de pies terminales astrocitarios y disminución de pericitos, tanto en pacientes como en modelos animales. Además, las alteraciones neurovasculares ocurrirían tempranamente y podrían anteceder al daño neuronal en el modelo transgénico SOD1G93A. El presente trabajo propone estudiar a los pericitos aislados e *in situ* en la médula espinal de ratas portadoras de la mutación SOD1G93A para evaluar diferencias celulares y funcionales que puedan explicar el desarrollo de las anomalías neurovasculares. Nuestros resultados preliminares muestran que los pericitos cultivados de animales SOD1G93A de 3-4 semanas versus no-transgénicas, presentan aumento moderado de la proliferación sin cambios significativos en el metabolismo mitocondrial, incremento de la expresión del receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas y de la permeabilidad de membrana pericitaria a través de hemicanales. En rodajas agudas de medula espinal de ratas SOD1G93A los pericitos mostraron un aumento de su permeabilidad de membrana mediada por canales de gran poro y se observó mayor número de células posiblemente de origen glial rodeando a las motoneuronas en degeneración con canales de gran poro permeables, en el estadio sintomático terminal. En suma, nuestros resultados sugieren cambios fenotípicos en los pericitos SOD1G93A y un aumento de la permeabilidad de membrana mediada por canales de gran poro lo que podría tener implicancias en la comunicación celular con otros componentes de la unidad neurovascular.

Palabras clave: pericitos, esclerosis lateral amiotrófica, neurodegeneración

185

Fenotipo específico de microglía senescente en un modelo murino de Esclerosis Lateral Amiotrófica

Alamón, Catalina¹; Ibarburu, S¹; Kovacs, Mariángeles¹; Maciel, Cecilia¹; Tarrago, Lucas¹; Varela, Valentina¹; Barbeito, Luis¹; Trías, Emiliano¹

¹ Neurodegeneración, Instituto Pasteur de Montevideo

Introducción: La senescencia celular se define como un estado de arresto proliferativo estable e irreversible que se caracteriza por el aumento de p16, pérdida de Lamina B1 y de HMGB1 nuclear, además de un fenotipo secretor. Nuestro grupo ha reportado la emergencia de microglía senescente en un modelo murino de ELA (SOD1^{G93A}) durante la fase sintomática de la enfermedad. Sin embargo, aún se desconoce en profundidad el fenotipo que adopta la microglía senescente en este contexto de neurodegeneración.

Objetivo: En este trabajo buscamos profundizar en la caracterización de la microglía senescente durante la fase sintomática en la ELA y su rol patogénico en la constitución del microambiente celular degenerativo.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio comparativo entre animales SOD1^{G93A} en fase sintomática con ratones no transgénicos de la misma edad y envejecidos (18 a 30 meses). El estudio se llevó a cabo utilizando técnicas de histoquímica, así como técnicas de biología celular y molecular.

Resultados: Se observó un aumento significativo de la expresión nuclear de p16 en la microglía de la médula espinal de ratones SOD1^{G93A} sintomáticos con respecto a los controles no transgénicos jóvenes y envejecidos (2 y 1.5 veces mayor expresión respectivamente). En la microglía SOD1^{G93A} que expresa mayores niveles de p16, se observó un daño de la estructura de los núcleos significativa, que no se observa en animales control. Este daño de la estructura de los núcleos se correlaciona con la pérdida en la expresión de HMGB1 en comparación con el grupo control de la misma edad (4 veces menos) así como también con la pérdida de la expresión de Lamina B1. Finalmente, se identificó la expresión de un marcador nuclear aberrante, la triptasa, correlacionada con el daño observado en las estructuras del núcleo.

Conclusiones: La microglía presente en la médula espinal de ratones SOD1^{G93A} presenta un fenotipo senescente específico, caracterizado por la expresión de marcadores de senescencia clásicos así como novedosos. Este fenotipo glial podría estar contribuyendo a la constitución del microambiente celular neurodegenerativo característico de la ELA, además de constituir un potencial blanco para nuevas terapias senolíticas.

Palabras clave: microglía, senescencia, ELA, daño nuclear

193

Avances en el estudio clínico-básico de las implicancias del consumo de cocaína en la inervación del cordón umbilical

Fagetti, Jimena¹; Viettro, Lorena²; Mednik, Matías³; Stanley, Sofía¹; Martínez, Gaby¹; Blasina, Fernanda²; Scorza, Cecilia¹; Richeri, Analía¹

¹Departamento de Neurofarmacología Experimental. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Avenida Italia 3318. Montevideo, Uruguay

²Departamento de Neonatología. Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela" (HC). Montevideo, Uruguay

³Grupo de Investigación en Dinámica Económica (GIDE). Facultad de Ciencias Económicas, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

El consumo de drogas de abuso durante el embarazo aumenta el riesgo de aparición de afecciones en la salud materno-fetal, impactando en el desarrollo del niño. Previamente demostramos que la inervación simpática del cordón umbilical (CU) estaba aumentada en una subpoblación de neonatos, hijos de madres consumidoras de cocaína. Hipotetizamos que estos cambios generan vasoconstricción en el CU comprometiendo el flujo sanguíneo materno-fetal, explicando en parte las alteraciones del desarrollo.

En este trabajo, correlacionamos la inervación simpática perivascular del CU con datos clínicos del recién nacido (RN). La edad gestacional, las variables maternas y el policonsumo también fueron analizados. Los datos clínicos sobre las gestantes y sus RN fueron tomados del Sistema Informático Perinatal (SIP). La inervación simpática fue analizada mediante inmunofluorescencia (anti-Tirosina Hidroxilasa, TH) en cortes de CU.

Encontramos una correlación inversa entre el área inmunorreactiva de fibras nerviosas periarteriales del CU y los percentiles de peso, talla y perímetro cefálico de los RN. No se encontraron diferencias entre edad, peso y talla de

las madres entre los distintos grupos. Además, evidenciamos que los vasos umbilicales expresan Sema3A, una glicoproteína neuro-repulsiva que explicaría, en parte, las alteraciones en la inervación inducidas por cocaína. Los resultados obtenidos sugieren que el aumento en la inervación de los vasos umbilicales, tras el consumo de cocaína en el embarazo, compromete el flujo feto-placentario y repercute en el desarrollo de los RN. La co-marcación y cuantificación de Sema3A-TH podrá acercarnos a un posible mecanismo molecular que explicaría la alteración de la inervación encontrada.

Palabras clave: inervación del cordón umbilical, exposición prenatal a cocaína, manifestaciones clínicas de recién nacidos de madres consumidoras, semaforina 3^a

198

Efecto del bloqueo selectivo de los receptores D2 en el núcleo accumbens shell sobre la expresión de la motivación sexual de ratas hembra

Turnes, Ainara^{1,2}; **Uriarte, Natalia**¹; **Agrati, Daniella**²

¹Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Sección de Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

En ratas hembra, el comportamiento sexual presenta un fuerte componente motivacional, estando involucrado en su regulación el sistema dopaminérgico mesolímbico. La acción de la dopamina sobre sus receptores D2 (RD2) ha sido implicada en la motivación general, y la administración sistémica de antagonistas de RD2 disminuye el comportamiento sexual de la hembra. Sobre esta base hipotetizamos que el bloqueo de RD2 en el shell del núcleo accumbens (NAcc) de ratas hembras sexualmente activas reduce la expresión de la motivación sexual frente a un macho. Para probar esta hipótesis se implantaron cánulas bilaterales dorsales a la porción dorsomedial del shell del NAcc de hembras adultas, vírgenes y ciclantes. A los seis días, en la fase de proestro tardío del ciclo estral, se les administró solución salina o el antagonista selectivo de los RD2 raclopride (2,5ug/0,5ul/lado) e inmediatamente se les realizó una prueba de preferencia sexual -macho vs hembra- seguida de una prueba de comportamiento sexual en una arena de dos niveles. El bloqueo selectivo de los RD2 no disminuyó la preferencia por el macho de las hembras ni los intentos por acceder a éste, si bien tendió a reducir su actividad motora en la prueba. Tampoco se detectó una afectación de la receptividad ni de la proceptividad sexual de las hembras durante la interacción sexual. Si bien para completar este trabajo es necesario administrar dosis mayores del fármaco, estos resultados relativizarían el papel de los RD2 en NAcc shell sobre la motivación sexual de las hembras.

Palabras clave: motivación sexual; dopamina; receptor D2; núcleo accumbens; rata hembra

203

Análisis de la expresión génica en astrocitos con inhibición mitocondrial. Implicancias en la muerte neuronal mediada por la glía

Acosta Rodríguez, Joaquín¹; **Miquel, Ernesto**¹; **Martínez-Palma, Laura**¹; **Cassina, Patricia**¹; **Marton García, Soledad**¹

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Los astrocitos son las células gliales más abundantes en el sistema nervioso central y cumplen funciones imprescindibles para la supervivencia y actividad neural.

Frente a la injuria experimentan un proceso que se conoce como reactividad glial que se asocia a disminución de la función respiratoria mitocondrial. Los astrocitos expuestos a Antimicina A (AA; inhibidor de la cadena respiratoria mitocondrial) inducen muerte de motoneuronas en co-cultivo.

Con el fin de contribuir a dilucidar los mecanismos que operan en esta interacción, nos proponemos evaluar la expresión génica en cultivos de astrocitos de rata inhibidos con AA en comparación con astrocitos control y evaluar su interacción con motoneuronas.

A partir del estudio del perfil de expresión de ARNm mediante secuenciación masiva, pudimos identificar genes que se encontraban diferencialmente sobreexpresados en astrocitos con la mitocondria inhibida y control. Entre ellos, seleccionamos algunos para corroborar mediante RT-qPCR, debido a que nos resultaron de interés por su participación en vías de señalización que impactan en la supervivencia neuronal o el fenotipo astrocitario reactivo. Del grupo control elegimos aquellos cuyos productos son Lnx1, Fgf22, Caspasa-6 y Cracr2b, y del grupo tratado con AA aquellos cuyos productos son Bestrofina 1, HnrpAB, Caspasa-4 y Lactato deshidrogenasa D. Este estudio de

expresión génica en astrocitos aportará blancos potenciales para modular la muerte neuronal inducida por astrocitos reactivos.

Palabras clave: astrocitos, mitocondria, astrocitos reactivos, neurotoxicidad

211

Modulación metabólica mitocondrial en un modelo murino de neuropatía asociada al uso de vincristina

Escobar-Pintos, Ricardo¹; Cassina, Adriana²; Lago, Natalia³; Cassina, Patricia¹

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, CEINBIO. Universidad de la Republica

³Laboratorio de Neuroinflamación y Terapia Genética., Instituto Pasteur Montevideo, Uruguay

El tratamiento oncológico con vincristina para diversas neoplasias que afectan a niños y adultos presenta como principal efecto adverso la aparición de neuropatía periférica, lo cual obliga a disminuir la dosis en los tratamientos, impactando negativamente en la mortalidad de los pacientes.

Se ha encontrado en modelos murinos la presencia de hiperreactividad glial y alteraciones en la morfología y dinámica mitocondrial en la médula espinal luego de la administración de vincristina, postulándose que esos mecanismos generan plasticidad sináptica y cambios en el procesamiento de la información sensitiva produciendo alodinia mecánica e hiperalgesia térmica en las extremidades de los animales.

Los cambios en la reactividad glial de los astrocitos y microglía se asocian habitualmente a modificaciones en su metabolismo energético mitocondrial.

En el presente trabajo evaluamos el efecto de la administración sistémica de dicloroacetato, un modulador de la actividad mitocondrial sobre el consumo de oxígeno mitocondrial, reactividad glial y marcadores inflamatorios en médula espinal y parámetros comportamentales, en un modelo de neuropatía periférica inducida por vincristina.

La administración de vincristina en ratones hembra disminuyó el consumo de oxígeno mitocondrial en médula espinal, generó reactividad glial espinal y aumento de marcadores de inflamación que se tradujo en alodinia mecánica. Los animales que recibieron DCA mantuvieron estos parámetros en los niveles de los animales control.

Al igual que hemos mostrado para el dolor crónico, la modulación metabólica ofrece una estrategia terapéutica novedosa para el tratamiento de la alodinia asociada a vincristina. Además aportamos evidencia en hembras, el género más afectado por esta patología.

Palabras clave: neuroinflamación, mitocondria, vincristina, glia, respiración mitocondrial

222

En busca de alternativas terapéuticas para la Esclerosis Lateral Amiotrófica

Rodríguez, Paola¹; Bolatto, Carmen^{1,2}; Boragno, Daniela¹; Otero, Gabriel^{1*}; Stancov, Matías¹; Cuitinho, María Noel¹; Cerri, Sofía^{1,2}; Torres, Florencia¹; Isasi, Eugenia^{1,2}; Olivera-Bravo, Silvia²

¹Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular (NBCM), Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Ministerio de Educación y Cultura

²Laboratorio de Biología del Desarrollo, Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

*Dirección actual: Institut Pasteur Montevideo

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa incurable que afecta a personas en actividad plena y se caracteriza por la muerte de las neuronas motoras espinales, bulbares o corticales y la atrofia progresiva de los músculos que inervan. Aunque el conocimiento acerca de la cantidad de genes asociados con el riesgo y la patogénesis de ELA ha avanzado, su etiología sigue sin explicarse, siendo muy limitadas las opciones de tratamiento disponibles debido en parte al desconocimiento de la comunicación entre motoneuronas y células gliales al inicio y durante la enfermedad. En este trabajo evaluamos si compuestos dirigidos contra algunos de los mecanismos afectados en ELA podrían alterar la viabilidad de astrocitos aberrantes altamente neurotóxicos que fueron aislados del modelo SOD1G93A en ratas. Nuestros resultados muestran que este fenotipo astrocitario no fue modulable metabólicamente (6-aminonicotinamida, 1-300 nM) y que su viabilidad fue altamente resistente a compuestos dirigidos a aumentar el estrés oxidativo (ZnCl₂, 50-200 μM), estrés de retículo endoplasmático (Tunicamicina, 1-3 μM) o la inflamación (LPS, 1-10 mg/ml). Los astrocitos aberrantes tampoco alteraron su viabilidad

o morfología luego de ser expuestos a inhibidores de fosfodiesterasas sintéticos (iPDE7, 25-250 nM) o inductores de diferenciación celular (Forskolina, 2-10 μ M). Sin embargo, estos astrocitos aberrantes fueron altamente sensibles a inhibidores de proliferación celular (Violaceína, 100-1 μ M) que además ofreció protección parcial actuando sobre el modelo animal. Estos resultados sugieren que el desequilibrio entre proliferación y diferenciación en los fenotipos anómalos emergentes podría ser un blanco potencial para terapias dirigidas contra ELA.

Palabras clave: esclerosis lateral amiotrófica, neuroprotección, alternativas terapéuticas

229

Exploración de las metaloproteinasas de matriz extracelular 2 y 9 como biomarcadores en esclerosis lateral amiotrófica
Boragno, Daniela¹; **Rodríguez, Paola**¹; **Torres, Florencia**¹; **Cuitinho, María Noel**¹; **Stancov, Matías**¹; **Cerri, Sofía**^{1,2}; **Isasi, Eugenia**^{1,2}; **Bolatto, Carmen**^{1,2}; **Olivera-Bravo, Silvia**²

¹Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular (NBCM), Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Ministerio de Educación y Cultura

²Laboratorio de Biología del Desarrollo, Depto de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La pérdida selectiva de motoneuronas, la atrofia muscular que resulta en parálisis y la reactividad glial son sellos distintivos de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), una enfermedad incurable de inicio temprano y progresión rápida que carece de terapias efectivas y de biomarcadores validados. Como la metaloproteinasa de matriz extracelular 9 (MMP-9) parece expresarse preferencialmente y aumentar en las motoneuronas que degenerarán en ELA, analizamos si las gelatinasas (MMP-2 y MMP-9) podrían ser biomarcadores de la enfermedad. El análisis de actividad por zimografía en gel de muestras obtenidas del modelo SOD1G93A en ratas indicó: i-ausencia de cambios significativos en la actividad sérica de ambas gelatinasas; ii-que los niveles de actividad de MMP-2 son mayores a los de MMP-9 en homogenatos de músculo respecto de los de médula espinal y que ambas aumentan moderadamente su actividad con la progresión de síntomas. El análisis por inmunomarcado en secciones de músculo sóleo y de médula espinal lumbar mostró consistencia con los datos obtenidos por zimografía en gel, localizándose ambas enzimas cercanas al sarcolema, a los cuerpos de las motoneuronas y en el parénquima extracelular espinal, lo que será contrastado con zimografía *in situ* para localizar los sitios de mayor actividad. Los aumentos de actividad y niveles de gelatinasas fueron inhibidos por la violaceína, un compuesto que preservó la masa muscular, sugiriendo un posible papel de estas enzimas en la atrofia muscular en ELA. Estos resultados son promisorios a pesar de que los valores de actividad determinados son menores a los reportados en la literatura.

Palabras clave: esclerosis lateral amiotrófica, metaloproteinasas de matriz, biomarcadores

236

Role of pannexin-1 channels in homeostatic synaptic plasticity

Tizzoni, Marina¹; **Vitureira, Nathalia**¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

A homeostatic form of synaptic plasticity is the one that acts to stabilize the activity of a neuronal circuit in the face of perturbations, such as change in synapse number or strength that can alter excitability. This is achieved by adjusting synaptic strength in a direction compensatory to changes in network activity. Pannexin1 (Panx1) is a protein that forms transmembrane channels allowing the release of big metabolites like ATP and glutamate, modulating neuronal excitability; however, the role of these channels in homeostatic synaptic plasticity (HSP) has only begun to be studied recently by our group. Here we analyzed the differential role of glial and neuronal Panx1 channels in modulating presynaptic homeostatic plasticity. Dissociated hippocampal neuroglial cultures were prepared from P0-P1 Wistar rats or Panx-1 deficient mice in 4 configurations: wild type (WT); Panx1KO glia / WT neurons; WT glia / Panx1KO neurons; Panx1KO. We estimated changes in synaptic strength using immunohistochemistry against vesicular glutamate transporter 1 (vGlut1). We analyzed changes in synaptic vesicle recycling using synaptotagmin1 antibody (live) to monitor synaptic vesicle pools in cultures treated with Panx1 blocker probenecid and in control cultures, and cell membrane permeability using the ethidium bromide influx assay.

We found that both Panx1 channels are necessary for the homeostatic adjustment of synaptic density, but only neuronal Panx1 channels are essential in the compensatory adjustment of synaptic strength. Moreover, blocking

Panx1 channels prevented the synaptic homeostatic adjustment of vesicular dynamics. Interestingly, our results also showed that the opening of membrane channels is regulated during HSP.

Keywords: synaptic homeostatic plasticity, pannexin-1 channels, synaptic strength, presynaptic function

245

La violaceína previno la atrofia muscular y el desmantelamiento de la unión neuromuscular en un modelo preclínico de ELA

Cerri, Sofía^{1,2}; **Hernández Mir, Karina**¹; **Rodríguez, Paola**²; **Boragno, Daniela**²; **Stancov, Matías**²; **Cuitinho, María Noel**²; **Alem, Diego**²; **Canclini, Lucía**³; **Davyt, Danilo**³; **Bolatto, Carmen**^{1,2}; **Olivera-Bravo, Silvia**²

¹Laboratorio de Biología del Desarrollo. Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular (NBCM), Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Ministerio de Educación y Cultura

³Departamento de Genética, IIBCE

⁴Laboratorio de Farmacología Química, Facultad de Química, Universidad de la República

La unión neuromuscular (UNM), la sinapsis periférica que comunica al axón de una motoneurona con el músculo esquelético que inerva, exhibe gran plasticidad morfológica y funcional. También ha demostrado ser una estructura altamente vulnerable siendo afectada tempranamente en enfermedades como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Dada la relevancia clínica de mantener la funcionalidad/estructura de la UNM intacta, analizamos los efectos del tratamiento de ratas del modelo preclínico de ELA SOD1G93A y sus respectivos controles con violaceína desde los estadios presintomáticos hasta los terminales de la enfermedad. El análisis histológico de cortes de músculo sóleo de animales transgénicos tratados con este pigmento bacteriano con propiedades citoprotectoras, antioxidantes y antiinflamatorias, mostró preservación significativa de la masa muscular, menor atrofia de las fibras musculares aisladas, descenso del aumento de colágeno, mantenimiento del orden de sus fibras y ausencia de mastocitos degranulantes. En tanto, el estudio del marcado de las UNM en fibras aisladas de músculo soleo indicó una notable preservación de la morfología de los componentes pre- y post- sinápticos reconocidos con anticuerpo antineurofilamento y con α -bungaratoxina que se une irreversiblemente a receptores nicotínicos musculares. Estos resultados se asocian a una disminución de los niveles de citoquinas inflamatorias y de metaloproteinasas de matriz a nivel muscular sugiriendo que los efectos protectores observados luego del tratamiento con violaceína podrían deberse a sus propiedades antiinflamatorias y abren una nueva alternativa terapéutica para la ELA, una enfermedad incurable con muy escasas posibilidades de tratamiento.

Palabras clave: esclerosis lateral amiotrófica, unión neuromuscular, violaceína

246

The relationship between major depressive disorder and the circadian system: a Mendelian randomisation study in the UK Biobank

Paz, Valentina^{1,2}; **Williams, Dylan**¹; **Richards, Marcus**¹; **Tassino, Bettina**³; **Silva, Ana**⁴ & **Garfield, Victoria**¹

¹MRC Unit for Lifelong Health and Ageing, Institute of Cardiovascular Science, University College London, London, UK

²Instituto de Psicología Clínica, Facultad de Psicología, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

⁴Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

The circadian system controls the endogenous rhythms of different physiological and behavioural functions. The sleep-wake cycle is the most conspicuous human circadian rhythm, and it is characterised by multiple dimensions such as sleep duration, quality, and timing or chronotype. Inadequate duration, poor quality, and eveningness have been associated with various conditions in observational studies, including major depressive disorder. However, despite advances in this area, it is still uncertain whether these associations are causal or not. To respond to these questions, Mendelian randomisation (MR) can be used, which is based on the analysis of genetic markers, to examine the possible causal associations between exposures and outcomes.

We will present results from bidirectional MR analyses of the relationship between major depressive disorder and multiple sleep dimensions: sleep duration (and short/long durations), insomnia (frequent and any symptoms), and

chronotype (morning/evening person). Data have been obtained from the UK Biobank, and Inverse-variance weighted MR has been implemented with sensitivity analyses, including MR-Egger and the Weighted Median Estimator for horizontal pleiotropy. Our findings will provide insights into the association between major depressive disorder and the circadian system, allowing a better understanding of some of the etiopathogenic processes that characterise this disorder and contribute to developing more effective prevention, diagnosis, and treatment strategies.

Keywords: Circadian system; Sleep; Depression; Mendelian randomization

258

La fase del ciclo estral de la rata modula la búsqueda y comunicación por ultravocalizaciones con pares de ambos sexos

Hernández, Paula^{1,2}; Prieto, José Pedro²; Agrati, Daniella¹

¹Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias

²Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias

Las ratas hembras cambian su respuesta ante un macho de acuerdo a la fase del ciclo estral en la que se encuentran, sin embargo se sabe poco acerca de su respuesta ante otros estímulos sociales. Recientemente observamos que las hembras en proestro, sexualmente activas, emiten más ultravocalizaciones (USVs) luego de interactuar con un macho -estímulo sexual- que con una hembra-estímulo social-, mientras que durante el metaestro (sin actividad sexual) este patrón se invierte.

En base a este resultado hipotetizamos que el valor de incentivo de un estímulo social relativo a uno sexual, así como la interacción con éstos, varía según la fase del ciclo estral. Para probar esta hipótesis comparamos: 1. El valor de incentivo de una hembra relativo a un macho para ratas ciclantes en proestro (hembra-PRO) y metaestro (hembra-META) en una prueba de preferencia, y 2. La emisión de USVs durante la interacción con una hembra y con un macho de ratas en ambas fases. A diferencia de la clara preferencia por el macho de las hembras-PRO, las hembras-META no presentaron preferencia entre ambos estímulos, sugiriendo que éstos tienen valor de incentivo similar para ellas. De igual forma, la interacción de hembras-PRO con machos difirió en número, tipo y características sonográficas de USVs respecto a la interacción con hembra, mientras que no encontramos diferencias en la interacción de hembras-META con ambos estímulos.

Estos resultados muestran la complejidad de las interacciones sociales de las ratas durante su ciclo estral y reafirman la necesidad de continuar su estudio.

Palabras clave: rata, social, comunicación, preferencia

259

Traducción local axonal: aproximación desde microscopía óptica de alta y súper resolución

Garat, Joaquín¹; Di Paolo, Andrés^{2,3}; Smircich, Pablo^{1,4}; Sotelo-Silveira, José^{1,5}

¹Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

²Plataforma de Microscopía Confocal y Epifluorescencia, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

³Unidad de Bioimagenología Avanzada (UBA), Hospital de Clínicas UdelaR – Institut Pasteur Montevideo

⁴Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

⁵Departamento de Biología Celular y Molecular, Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

A pesar de que hoy en día es aceptada la existencia de síntesis local de proteínas en axones, aún no está completamente caracterizado este proceso y la mayor parte de la evidencia proviene de cultivos celulares. Nos propusimos aportar conocimiento respecto al proceso de síntesis local mediante el estudio de la distribución de componentes moleculares fundamentales (ARNm, ribosomas y péptidos nacientes) utilizando técnicas novedosas de microscopía. Se emplearon cultivos de neuronas hipocampales, axoplasma obtenido por microdissección de raíces nerviosas y crío-cortes de nervio ciático de ratas adultas y neonatas. Para el estudio de los ARNm, se utilizó FISH de molécula única analizando la distribución de los ARNm globales, y específicamente de ARNm codificantes para proteínas ribosomales, confirmando su presencia en axones in vitro e in vivo. Además, se confirmó la neosíntesis de proteínas ribosomales en el axón mediante puomicilación seguida de un ensayo de ligación por proximidad conocido como "Puro-PLA". En línea con lo anterior, detectamos también la co-localización de ARNm con proteínas

ribosomales en axoplasmas, sugiriendo la asociación de ribosomas a los ARNs axonales. Finalmente, pudimos detectar proteínas ribosomales con niveles de resolución superiores a los 40 nm en axones mielínicos mediante protocolos de DNA-PAINT y dSTORM observados a partir de un microscopio de super resolución estocástico montado e instalado en IIBCE.

Los resultados permiten visualizar a los componentes principales de la traducción en axones, y reportan el uso de diversas técnicas de microscopía en axón que podrán ser ampliamente utilizadas en el futuro.

Palabras clave: Axón, Ribosoma, Traducción local, FISH, Super Resolución

264

Diferencias regionales de las redes perineuronales y variaciones asociadas al ciclo reproductivo

Espino, Marcela¹; Uriarte, Natalia²; Nogueira, Javier¹.

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República ²Facultad de Ciencias, Universidad de la República

La matriz extracelular (ME) es un factor fundamental en la organización estructural y funcional de los circuitos neuronales. En el sistema nervioso central, la ME se encuentra representada por un componente difuso y estructuras especializadas conocidas como redes perineuronales (RPNs). Dichas redes están compuestas por proteoglicanos (incluyendo Agrecano), y glucosaminoglicanos (GAG). Recientemente demostramos la formación y remodelación de las RPNs en el área preóptica media (APOm) durante la gestación, sugiriendo la participación de estas estructuras en los procesos de neuroplasticidad observados durante dicho período. Con el fin de profundizar en la caracterización de los cambios en la matriz extracelular asociados a la gestación, se realizó inmunofluorescencia para la detección de Agrecano (anti-Agrecano) y GAG (mediante la lectina *Wisteria floribunda*, WFA). Se analizaron la corteza prefrontal, el APOm y la corteza somatosensorial de ratas en diestro y día gestacional 18 (DG18), (2 animales por grupo). Las imágenes fueron obtenidas mediante microscopio confocal Zeiss 880 (UBA-IPMON). El análisis preliminar muestra diferencias cualitativas en los patrones de marcación de las regiones estudiadas. Las regiones corticales se caracterizan por la presencia de abundante ME difusa y RPNs con niveles variables de marcación para WFA y Agrecano, tanto en diestro como en DG18. Por su parte, el APOm presenta bajo nivel de marcación para ME difusa en diestro y DG18, mientras que en DG18 se observan RPNs con alto nivel de marcación para WFA y bajo para Agrecano.

Se cuantificará si existen diferencias en las RPNs en la neocorteza en diestro y DG18.

Palabras clave: Redes perineuronales, Neuroplasticidad, Comportamiento maternal

268

Mechanisms and functions of respiration-driven gamma oscillations in the piriform cortex

González, Joaquín¹; Torterolo, Pablo¹; Tort, Adriano²

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, 11200, Uruguay

²Brain Institute, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, RN 59056, Brazil

Gamma oscillations are believed to underlie cognitive processes by shaping the formation of transient neuronal partnerships on a millisecond scale. These oscillations are coupled to the phase of breathing cycles in several brain areas, possibly reflecting local computations driven by sensory inputs sampled at each breath. Here, we investigated the mechanisms and functions of gamma oscillations in the piriform (olfactory) cortex of awake mice to understand their dependence on breathing and how they relate to local spiking activity. Mechanistically, we find that respiration drives gamma oscillations in the piriform cortex, which are inhibitory and result from recurrent connections between local excitatory and inhibitory neuronal populations. Moreover, respiration-driven inhibitory gamma oscillations are triggered by the activation of mitral/tufted cells in the olfactory bulb and are abolished during anesthesia. Functionally, we demonstrate that they locally segregate neuronal assemblies through a winner-take-all computation leading to sparse odor coding during each breathing cycle.

Our results shed new light on the mechanisms of gamma oscillations, bridging computation, cognition and physiology.

Keywords: neural oscillations, breathing, neuronal assemblies, sparse coding, optogenetics

269

Efecto de la noribogaína sobre la vigilia y el sueño

Castro-Nin, Juan Pedro¹; Serantes, Diego¹; Rodriguez, Paola²; Carrera, Ignacio²; Gonzalez, Joaquin¹; Torterolo, Pablo¹

¹Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La Ibogaina es un psicodélico atípico que promueve una vigilia con características electrográficas similares al sueño REM. Sin embargo, debido a su rápida metabolización hacia Noribogaína, se desconoce cuáles efectos electrográficos ocurren por su acción directa y cuales dependen de dicho metabolito. Por ende, el objetivo de este trabajo fue caracterizar los efectos de la Noribogaína sobre la vigilia y el sueño. Para evaluar estos efectos, en siete ratas previamente preparadas, se realizaron registros polisomnográficos de seis horas durante la fase de luz. Al inicio de cada sesión experimental, cada rata recibió una dosis de Noribogaína (40 mg/kg) o vehículo i.p, en diferentes días. Nuestros resultados muestran que Noribogaína genera un aumento significativo de vigilia (Veh: 25.1 % ± 1.8. Nor: 51.1 % ± 3.7. $t(6) = 6.70$, $p < 0.001$). Concomitantemente, Noribogaína promueve una disminución del sueño NREM (Veh: 57.4 % ± 1.4. Nor: 29.0 % ± 4.5. $t(6) = -5.60$, $p = 0.001$) y del sueño REM (Veh: 6.4 % ± 0.9. Nor: 1.0 % ± 0.5. $t(6) = -9.62$, $p < 0.0001$). Por último se observó un aumento significativo de la latencia a sueño REM (Veh: 77.4 min ± 14.0. Nor: 324.2 min ± 18.2. $t(6) = 12.62$, $p < 0.0001$). Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que los efectos de la ibogaina sobre el sueño son mediados, por lo menos en parte, por su metabolito.

Palabras clave: Sueño, Ibogaina, sueño REM, Psicodélicos

272

Sensibilización locomotora y neuroinflamación inducida por cocaína y cafeína en ratones. Potencial terapéutico del cannabidiol y el papel del transportador de adenosina ENT-1

Flores, Diego¹; López, Ximena¹; Richeri, Analía¹; Fabius, Sara¹; Martínez, Gaby⁻¹; Urbanavicius, Jessika¹; McGregor, Ronald²; Scorza, Cecilia¹

¹Departamento de Neurofarmacología Experimental del IIBCE

²Center for Sleep Research, Department of Psychiatry, School of Medicine, University of California

La adicción a psicoestimulantes (AP) constituye una problemática de salud mundial por su alta incidencia y falta de tratamientos eficaces. Previamente demostramos que el pretratamiento con Cannabidiol (CBD), un cannabinoide no psicotomicomimético, bloqueó la expresión de la sensibilización locomotora inducida por la combinación de cocaína y cafeína (coc+caf, como símil del contenido químico de muestras de pasta base de cocaína) en ratas, sugiriendo un potencial terapéutico de CBD para la AP. Sin embargo, el mecanismo subyacente aún es desconocido. Está reportado que el tratamiento repetido con cocaína induce activación microglial, contribuyendo a la neuroinflamación, que se potencia con cafeína. Dado que CBD posee propiedad anti-inflamatoria, vía el bloqueo del transportador de adenosina ENT1, hipotetizamos que CBD utiliza este mecanismo para atenuar la sensibilización locomotora. En este trabajo comenzamos a investigar dicha hipótesis. En ratones macho adultos tratados con coc+caf (5 y 2.5 mg/kg, i.p., respectivamente) durante 5 días, evaluamos: 1) la sensibilización locomotora (distancia recorrida), en un campo abierto asociado al software de videoseguimiento Ethovision XT 12.0; 2) la reactividad microglial por inmunofluorescencia (anti-Iba1) en el núcleo accumbens (NAcc). Observamos sensibilización locomotora en animales tratados respecto al grupo control y, los datos preliminares indican un aumento en la reactividad microglial en el NAcc de animales tratados. Resta ensayar el pretratamiento con CBD. En otro grupo de animales, comenzamos a estudiar si Nitrobenciltioinosina (NBTI), un inhibidor selectivo de ENT1, atenuaba el efecto motor agudo de coc+caf. Ninguna de las dosis utilizadas de NBTI (0.1 y 0.5 mg/kg) bloqueó el efecto coc+caf.

Palabras clave: Cannabidiol, Cocaína, inflamación, ENT1

274

Efecto de la hormona concentradora de Melanina sobre las neuronas del Colículo Inferior

Alejo Rodríguez Cattáneo¹, Pablo Torterolo¹

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

Las neuronas que utilizan el neuropéptido hormona concentradora de melanina (MCH) como neuromodulador, se localizan principalmente en el hipotálamo lateral y el área incerto-hipotálamica, y tienen proyecciones generalizadas en todo el cerebro. Mientras que las funciones biológicas de este neuropéptido se ejercen en humanos a través de dos receptores metabólicos, el MCHR1 y el MCHR2, sólo el MCHR1 está presente en roedores. Diversas evidencias experimentales han demostrado que el sistema MCHérgico está involucrado en variadas funciones, destacándose el control del ciclo sueño-vigilia, especialmente del sueño REM. El colículo inferior (CI) es un núcleo auditivo mesencefálico involucrado en varias funciones, incluyendo el análisis de la frecuencia e intensidad de los sonidos, así como la localización espacial de los mismos. En el CI hacen sinapsis la totalidad de fibras auditivas aferentes y eferentes hacia y desde la corteza auditiva. Estudios previos han mostrado que tanto la actividad espontánea como la evocada de las neuronas del CI dependen del estado comportamental del animal, observándose durante el sueño REM una marcada reducción de la relación señal/ruido. En este trabajo mostramos, mediante registros extracelulares del CI, que la aplicación paracelular de MCH ejerce un efecto inhibitorio sobre las neuronas del mismo, aunque algunas neuronas presentan el efecto opuesto, aumentando su respuesta a los estímulos auditivos, aunque éstas también tienen una mayor descarga espontánea, enmascarando la respuesta al sonido. Por lo tanto, el efecto de la MCH sería el de filtrar sonidos que no son relevantes para la sobrevivencia del animal, permitiendo períodos de sueño más prolongados.

277

Desarrollo de una tarea interactiva basada en la competencia para el estudio de las bases neurales del conflicto de acercamiento y evitación

Morales, Sebastián^{1,2}; **Acuña, Alejo Ignacio**^{1,2}; **Bonino, Francisco**^{1,2}; **Pérez, Alfonso**¹; **Cabana, Álvaro**^{1,2}; **Cuña, Enrique**³; **García-Fontes, Margarita**³; **Gradin, Victoria Beatriz**^{1,2}

¹Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

²Instituto de Fundamentos y Métodos en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

³Área de Resonancia Magnética, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular

La teoría de acercamiento-evitación se ha propuesto como crucial para entender los trastornos de salud mental. Las conductas de aproximación permiten ir hacia las recompensas y las conductas de evitación implican la defensa del individuo y suelen activarse ante estímulos aversivos. El conflicto de acercamiento-evitación refiere a situaciones que involucran tanto recompensa como estímulos aversivos. La depresión se caracteriza por un sistema de acercamiento disminuido y un sistema de evitación sobreactivado, llevando a los individuos a evadir estímulos que perciben como aversivos. Se ha destacado la necesidad de desarrollar tareas experimentales para estudiar las preferencias de acercamiento-evitación en contextos sociales. Desarrollamos una tarea de conflicto de acercamiento-evitación social en combinación con fMRI para estudiar la bases neurales de este constructo. En cada ronda los participantes eligen entre una opción social y otra individual. La opción social otorga una recompensa (mayor o igual a 1), pero implica competir con un rival en responder una pregunta de cultura general. La opción individual otorga solamente un punto, pero permite evadir la competencia. Un grupo de participantes (N=37) realizó esta tarea con fMRI. Observamos que la opción individual era menos elegida y los participantes tardaban más en elegirla que la opción social. Cuando elegían la opción individual los participantes activaban regiones cerebrales implicadas en la detección de conflictos (ACC), la integración de información enteroceptiva (AI) y la toma de decisiones (dIPFC). Interpretamos que la activación observada subyace al conflicto entre la motivación por evitar la competencia y la aversión a perder la recompensa

Palabras clave: resonancia magnética funcional, conflicto de aproximación - evitación, tarea social interactiva, depresión

279

Aprendizaje de la lectura y propiedades de las palabras

Assis Soledad^{1,3}; **Zugarramurdi Camila**^{1,2,3}; **Valle Lisboa Juan**^{1,3,4}

¹Centro Interdisciplinario en Cognición para la Enseñanza y el Aprendizaje, Udelar

²Instituto de Fundamentos y Métodos, Facultad de Psicología, Udelar

³Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Udelar

⁴Sección Biofísica y Biología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Udelar

Presentamos los resultados de la aplicación del juego Kalulu para apoyar el aprendizaje de la lectura y la escritura, adaptándolo del francés al español rioplatense, creando los estímulos necesarios. Realizamos un estudio piloto de su

aplicación, con evaluación pre-post con 97 niños y niñas (43, tratamiento; 5, control). Los niños jugaron 10 lecciones en cada una de las cuales se enseñaba y practicaba el sonido de un grafema en varios juegos (grupo de tratamiento) y una serie de actividades vinculadas a la matemática (grupo control). No encontramos diferencias entre grupos tratamiento y control en el conocimiento de letras, lectura y escritura (t-test, todas las $p > 0.05$), ni diferencias pre-post por grupo. Analizamos qué propiedades de las palabras que utilizamos en la evaluación son predictivas del desempeño en las pruebas. Encontramos que tanto el largo de la palabra, su (menor) frecuencia de corpus y la complejidad del mapeo grafema-fonema contribuyen a la mayor dificultad en la lectura, al igual que la interacción entre estos factores (R^2 ajustado=0.743, todos los $p < 0.01$). La complejidad fonema-grafema, la complejidad ortográfica y en menor medida el número de fonemas, explican la dificultad en la escritura. Los niños que participaron en nuestro estudio estaban en un estadio intermedio en la fase de aprendizaje de la decodificación y las correspondencias que enseñamos con el juego eran las que los niños ya conocían. Esto nos permite planificar una intervención ajustando el nivel de juego de cada niño a su conocimiento.

Palabras clave: juegos educativos, alfabetización inicial, análisis de palabras

281

Desarrollo de una tarea interactiva basada en la evaluación social para el estudio de las bases neurales del conflicto de acercamiento y evitación

Guillén, Michelle¹; **Mendaro, Laura**¹; **Fernandez, Catalina**¹; **Morales, Sebastian**^{1,2}; **Brandini, Antonella**^{1,2}; **Araujo, Lucia**¹; **Ayme, Chinchilla**¹; **De León, Whendie**¹; **Forto, May**¹; **Pérez, Alfonso**¹; **Cuña, Enrique**³; **Cabana, Álvaro**^{1,2}; **García-Fontes, Margarita**³; **Acuña, Alejo**^{1,2}; **Gradin, Victoria Beatriz**^{1,2}

¹Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

²Instituto de Fundamentos y Métodos en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

³Área de Resonancia Magnética, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular

El conflicto de acercamiento-evitación implica elementos recompensantes y aversivos simultáneamente. La depresión y ansiedad, jerarquizan la evitación por sobre el acercamiento, resultando en pérdidas importantes. Dada la relevancia de los conflictos sociales para los humanos, se buscó diseñar una tarea de conflicto de acercamiento- evitación social. En la tarea los participantes eligen personas de diferentes categorías de exigencia para que los evalúen en una presentación oral online. Inicialmente, aparece una pantalla con la categoría de un posible evaluador y una barra indicando una recompensa. Si eligen al evaluador, se llevan la recompensa y aumenta la representación de evaluadores de esa categoría en el panel final de evaluadores. En caso contrario, se llevan un solo punto y no aumenta la representación de esa categoría. Contamos con (N=24) participantes que realizaron la tarea mientras se registraba su activación cerebral con fMRI. Los evaluadores menos elegidos fueron los más exigentes. Además, cuanto más exigente era el evaluador más emociones negativas (vergüenza, nerviosismo, etc.) reportaron los participantes. Se observó más activación en la corteza cingulada anterior cuando se elegía a los evaluadores para la presentación final vs. cuando se evitaba elegirlos. Dado que esta región se ha asociado al procesamiento de conflicto, se interpreta que la activación observada se vincula al conflicto entre la motivación por recibir la recompensa y la aversión frente a tener que seleccionar evaluadores exigentes. Este estudio puede ayudar a desarrollar una investigación de conflicto de acercamiento- evitación social en personas con depresión o ansiedad.

Palabras clave: Ansiedad, depresión, resonancia magnética funcional, evaluación social, acercamiento- evitación

282

Desarrollo de una tarea interactiva para el estudio de las bases neurales de la evaluación social

Mendaro, Laura¹; **Guillén, Michelle**¹; **Fernández, Catalina**¹; **Morales, Sebastián**^{1,2}; **Brandini, Antonella**^{1,2}; **Araujo, Lucia**¹; **Ayme, Chinchilla**¹; **De León, Whendie**¹; **Forto, May**¹; **Pérez, Alfonso**¹; **Cuña, Enrique**³; **Cabana, Álvaro**^{1,2}; **García-Fontes, Margarita**³; **Acuña, Alejo**^{1,2}; **Gradin, Victoria Beatriz**^{1,2}

¹Centro de Investigación Básica en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

²Instituto de Fundamentos y Métodos en Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de la República

³Área de Resonancia Magnética, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular

Una de las motivaciones fundamentales de los seres humanos es la búsqueda de la aceptación social. En psicopatologías como la depresión o la ansiedad se ve un aumento de la evitación social generada por el miedo al

rechazo o a la evaluación negativa. En este estudio, nos planteamos generar una tarea interactiva social con el fin de estudiar la activación cerebral ante evaluaciones sociales positivas y negativas. En esta tarea los voluntarios graban una presentación oral, que se les dice será evaluada por colaboradores del estudio. Durante la tarea se enfrentan a las calificaciones otorgadas por estos/as evaluadores, Se invitó a un grupo de (N=24) participantes a realizar esta tarea mientras se registraba su activación cerebral con fMRI. Los registros de fMRI se realizaron en el escáner de 3T del CUDIM. Al finalizar, los participantes respondieron preguntas referentes a las respuestas emocionales que les generaban las calificaciones. Se reportaron más emociones negativas (vergüenza, enojo, etc.) y menos positivas (felicidad, alivio, etc) al obtener calificaciones bajas en comparación a altas. A nivel imagenológico se observó mayor activaciones en la corteza orbitofrontal frente a las calificaciones altas vs. las bajas. Recibir una calificación alta se corresponde a una interacción social positiva, esto concuerda con estudios que muestran la activación de ésta región al recibir recompensas de índole social. Se espera que el desarrollo de esta tarea interactiva contribuya al estudio de las respuestas neurales a la evaluación negativa y positiva por parte de otro en problemáticas de la salud mental.

Palabras clave: Resonancia magnética funcional, tarea social interactiva, evaluación social, depresión, ansiedad

290

Rol de la matriz extracelular en la plasticidad neuronal inducida por psicodélicos

Prieto, José¹; **Carrera, Ignacio**²; **Rodríguez, Paola**²; **Fagúndez, Catherine**²; **Nogueira, Javier**³

¹Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

³Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Actualmente existe un auge en la investigación del potencial terapéutico de sustancias psicodélicas. Se ha propuesto que la base de estas acciones radica en la habilidad de los psicodélicos para promover procesos de plasticidad estructural en el sistema nervioso luego de una única administración. Los mecanismos específicos que subyacen a estos efectos se encuentran en plena exploración. Las redes perineuronales (PNNs), formadas por matriz extracelular especializada que rodea a las neuronas, tienen un rol crítico en el neurodesarrollo y la plasticidad neural, pero aún se desconoce si se ven afectadas por sustancias psicodélicas. Este estudio constituye una primera evaluación de la participación de las PNNs en la plasticidad neural inducida por psicodélicos con diferente mecanismo de acción, durante la adolescencia y la etapa adulta. Ratas macho adultas (90 días) y adolescentes (40 días) se trataron de forma aguda con *N,N*-dimetiltriptamina (DMT, 10 mg/kg), ibogaína (40 mg/kg) o solución salina, y se registraron sus conductas durante 30 min. 24 hs después se disecaron los cerebros para la detección inmunohistoquímica de PNNs en corteza prefrontal, hipocampo, y corteza somatosensorial. Los animales adultos exhibieron componentes del síndrome serotoninérgico de forma diferencial entre ambas sustancias, debido a su diferente mecanismo de acción. Sin embargo, no se observaron diferencias en la expresión de PNNs luego del tratamiento. El efecto en adolescentes, cuando las PNNs aún se están estableciendo, se encuentra actualmente en proceso de análisis. Este trabajo implica una caracterización necesaria sobre los mecanismos que subyacen a la plasticidad inducida por psicodélicos con potencial terapéutico.

Palabras clave: psicodélicos, redes perineuronales, plasticidad

293

Relación entre el comportamiento en el tests de ansiedad del laberinto elevado en cruz y el test coordinación física del Rotarod en ratones Trembler-J y wild type

De León, Lucila¹; **Avellanal, Guadalupe**¹; **Martínez, Mariana**²; **Damián, Juan Pablo**¹; **Kun, Alejandra**^{2,3}

¹Departamento de Biociencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

²Laboratorio de Biología Celular del Sistema Nervioso Periférico, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

³Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los ratones Trembler-J (TrJ/+) son un modelo animal de Charcot-Marie-Tooth (CMT) tipo-1E, con la misma mutación espontánea de pmp22 de humanos. Nosotros reportamos diferencias en el perfil comportamental en tests de ansiedad entre ratones TrJ/+ y wild type (Wt), y además los ratones TrJ/+ presentan peor performance en Rotarod que los Wt. Sin embargo, no es conocido si el perfil comportamental en test de ansiedad se asocia con la performance en Rotarod. El objetivo de este estudio fue relacionar el perfil comportamental entre el test del laberinto elevado en cruz (LEC) y el

Rotarod en ratones TrJ/+ y Wt. Se utilizaron 13 Wt y 14 TrJ/+, los cuales fueron evaluados en LEC (5 min) y en Rotarod (5 series de 5 velocidades cada una, presentando el tiempo total de permanencia en segundos) a los 3 meses de edad. Dentro de cada grupo, se evaluó la correlación entre los comportamientos del LEC con el tiempo de permanencia total en el Rotarod mediante el Test de Spearman (Rs). En Wt no hubo correlación significativa entre los comportamientos del LEC y el Rotarod. En los TrJ/+ hubo una significativa y negativa correlación entre el tiempo en brazos abiertos (TBA: $R_s = -0.45$, $p = 0.045$) y la frecuencia de brazos abiertos sobre el total entradas a ambos brazos (FEBA/TE: $R_s = -0.65$, $p = 0.01$) con el tiempo de permanencia en el Rotarod. En conclusión, a diferencia de los ratones Wt, en ratones TrJ/+ las variables TBA y FEBA/SE se asociaron negativamente con una menor performance en el Rotarod.

Palabras clave: Charcot-Marie-Tooth, pmp22, perfil comportamental

297

Desarrollo postnatal del cerebro en *Brachyhyppopomus gauderio*: distribución espacial de zonas proliferativas

Ramundey, Sofía¹; Castelló, María E¹

¹Desarrollo y Evolución Neural, Depto. Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC

Los peces eléctricos poseen la capacidad de generar campos eléctricos y de detectar las corrientes transcutáneas y sus modificaciones por la presencia de objetos circundantes. La información electrosensorial es utilizada para seleccionar y comandar respuestas comportamentales adecuadas a las circunstancias. Esta especialización funcional se relaciona a una particular organización anatómica cerebral.

Aquí mostramos resultados preliminares de la ontogenia de las regiones cerebrales vinculadas al procesamiento de la información electrosensorial en el pez gimnótido autóctono *Brachyhyppopomus gauderio* reproducido en cautiverio en el bioterio de poiquiloterms del IIBCE. Cinco machos y 9 hembras se ubicaron en un acuario conteniendo plantas acuáticas naturales y tubos Falcon de 15 ml perforados y se controlaron la conductividad (150–300 μ S) y temperatura (25–28°C) del agua, y el ciclo luz oscuridad (11/13h). Para evidenciar la distribución espacial de zonas proliferativas, se trataron 15 larvas tardías (10 días post-eclosión) por inmersión (2 horas) en 5'-bromo 2-deoxiuridina (BrdU) 10 mM. Seis fueron fijadas inmediatamente, 6 a los 5 días y 3 a los 8 días, por inmersión en paraformaldehído (10% en BF), luego de anestesarlas profundamente en MS-222 (500 mg/L). Cortes seriados frontales fueron procesados para demostración inmunohistoquímica de núcleos BrdU+ y observación mediante microscopía confocal. Se identificaron varias zonas proliferativas ventriculares y extra ventriculares desde donde posibles neuroblastos aparentemente migraron hacia distintas regiones cerebrales. Este patrón espaciotemporal de distribución del células proliferantes y derivadas es similar al *Gymnotus omarorum* (Iribarne & Castelló, 2014) y I (Radmilovich et al., 2016), indicando el carácter conservado de esta característica.

Palabras clave: electrosensorial, neurodesarrollo, BrdU, teleosteos, neurogénesis

298

Efecto del eclipse parcial de sol sobre la frecuencia de la descarga del órgano eléctrico en *Gymnotus omarorum*

Perrone, Rossana^{1,2}; Quintana, Laura¹; Migliaro, Adriana^{1,3}

¹Departamento de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

²Instituto de Fundamentos y Métodos, Facultad de Psicología, Universidad de la República

³Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Gymnotus omarorum es un pez eléctrico autóctono de descarga débil y hábitos nocturnos, que vive bajo plantas acuáticas en cursos de agua dulce. Trabajos previos de nuestro grupo han identificado que la frecuencia basal de descarga del órgano eléctrico (FB-DOE) sigue un ciclo diario cuyo máximo coincide con el atardecer y con una diferencia de fase de aproximadamente una hora respecto al comienzo del descenso en la temperatura del agua. La intensidad de luz subacuática es cercana a 0 lux, excepto en verano cuando en el entorno del mediodía se registran aumentos transitorios de la luminosidad. El 14 de diciembre de 2020 se produjo un eclipse parcial de sol, que cubrió el 73.8% de la esfera solar y duró desde las 12:12 hasta las 15:05. En el marco del estudio de las claves ambientales y sociales que modulan la FB-DOE, analizamos el efecto de esta variación circunstancial de las claves ambientales. Registramos la FB-DOE de 8 peces aislados, colocados en jaulas de malla en la laguna del Cisne, Maldonado, desde las 11:00 hasta las 16 horas. Registramos los valores de luminosidad y temperatura del agua y del aire, y la progresión del eclipse. La luz se

mantuvo constantemente en 0 bajo la superficie del agua y la temperatura comenzó a disminuir al iniciar el eclipse. Esta variación atípica en las principales claves ambientales moduladoras de la FB-DOE provocó un adelantamiento de fase en ciclo diario de la conducta eléctrica, causando el aumento en la FB-DOE que suele producirse al atardecer.

Palabras clave: ritmos biológicos, claves ambientales, sincronizadores, conducta eléctrica, pez eléctrico autóctono

300

Expresión del ARNm del receptor de estrógeno alfa en áreas del circuito motivacional sexual en ratas hembra a lo largo de la adolescencia

Artagaveytia, Naiara^{1,2}; **Bedó, Gabriela**¹; **Agrati, Daniella**²

¹Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Las ratas hembras comienzan a expresar comportamiento sexual durante la adolescencia, sin embargo, su motivación es baja, aumentando hacia la etapa adulta. La expresión de la motivación sexual es modulada por la acción de los estrógenos sobre sus receptores intracelulares ERalfa en áreas del circuito sexual, como el área preóptica media (mPOA) y el núcleo ventromedial hipotalámico (VMH). En base a estas evidencias, hipotetizamos que el aumento de la motivación sexual a lo largo de la adolescencia se asocia a un incremento en los niveles de expresión de ERalfa en mPOA y VMH. Tomando en cuenta que este receptor es regulado transcripcionalmente, para probar esta hipótesis cuantificamos la expresión del ARNm de ERalfa mediante PCR en tiempo real, en micropunches de mPOA y VMH de ratas en proestro tardío - sexualmente activas- en adolescencia media (DPN 39-43), adolescencia tardía (DPN 49-53) y etapa adulta (DPN 90-115). No detectamos diferencias etarias significativas en los niveles del ARNm de ERalfa que puedan asociarse a los cambios en la motivación sexual, en ambas regiones.

Estos resultados sugieren que el aumento de la motivación sexual a lo largo de la adolescencia no es mediado por variaciones en la expresión de este receptor en el circuito sexual. Cambios en la expresión de otros receptores de estrógenos, así como en los eventos que siguen a la unión hormona-receptor, podrían mediar las diferencias conductuales observadas. En este sentido, a futuro evaluaremos cómo es la expresión de los receptores de progesterona a lo largo de la adolescencia.

Palabras clave: motivación sexual, rata hembra, ERalfa, RT-PCR, mPOA-VMH

301

Comportamiento maternal de ratas hembras jóvenes

Gabriella Marin^{1,2} y **Daniella Agrati**¹

¹Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Udelar

²Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Udelar

El comportamiento maternal de la rata es complejo e involucra procesos emocionales, motivacionales y cognitivos. Por ejemplo, la respuesta adecuada a las crías implica muchas veces regulación atencional, planificación y flexibilidad comportamental, funciones dependientes de la corteza prefrontal medial. De forma interesante, las ratas pueden parir (si copulan durante la adolescencia) en la adultez temprana o emergente, período en el cual esta región cortical y sus conexiones aún están madurando. Sobre esta base, hipotetizamos que la respuesta maternal en presencia de un distractor de hembras adultas jóvenes es menos eficiente que la de adultas de mayor edad. Para probar esta hipótesis comparamos el comportamiento maternal en la primera semana pos-parto de hembras jóvenes (60-70 DDN) y adultas (100-120 DDN) en presencia de un objeto novedoso en la caja nido. Asimismo, comparamos las características de las camadas al nacer y en la primera semana pos-parto. Ambos grupos de madres difirieron en peso, sin embargo no observamos diferencias etarias en el número de crías, peso y relación de sexo de sus camadas al nacer.

La eficiencia del comportamiento maternal en presencia de un objeto novedoso no difirió entre madres jóvenes y adultas. Sin embargo, las crías de madres jóvenes tuvieron una menor ganancia de peso durante la primera semana de vida. Sería interesante analizar el comportamiento maternal de estas madres en contextos desafiantes, así como profundizar en posibles diferencias etarias en la lactancia.

Palabras clave: Conducta maternal, jóvenes adultas, flexibilidad comportamental

302

Organización de la matriz extracelular en el área preóptica media y comportamiento maternal de la rata

Pomi, Julieta¹; **Nogueira, Javier**²; **Uriarte, Natalia**¹

¹Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El comportamiento maternal (CM) es esencial para la supervivencia de las crías de mamíferos. Durante la gestación y la lactancia, numerosos cambios estructurales en el área preóptica media (APOm) median la expresión y plasticidad de la conducta maternal. Previamente mostramos que las redes perineuronales (RPNs) de la matriz extracelular se ensamblan en el APOm durante la gestación y se desensamblan durante la lactancia. Nos preguntamos entonces si las RPNs del APOm están involucradas en la expresión del comportamiento maternal. Como objetivos nos planteamos determinar el efecto de la digestión de las RPNs del APOm sobre el CM de la rata, y evaluar el tiempo de su re-ensamblaje. Para evaluarlo, pusimos a punto una técnica de disolución de las RPNs del APOm a través de la inyección cerebral de la enzima Condroitinasa-ABC (Ch-ABC) durante la gestación. Para evaluar la expresión de las RPNs, procesamos los encéfalos y determinamos su reactividad a la lectina de *Wisteria floribunda aglutinina*. Para evaluar el comportamiento realizamos una prueba de CM el primer día luego del parto. La técnica fue puesta a punto exitosamente, y observamos que las RPNs comienzan a re-ensamblarse a partir de las 72hs luego de su digestión con Ch-ABC. A pesar de este re-ensamblaje, una única inyección de Ch-ABC durante la gestación provoca una disminución significativa de algunos componentes del CM. Estos resultados evidencian el rol que cumplen las RPNs del APOm durante la gestación de la rata en la expresión de la conducta maternal.

Palabras clave: Redes perineuronales, Área preóptica media, Comportamiento maternal

307

Rol del neuropéptido AVT en la sincronización social de la conducta eléctrica

Cristina Peña, Ana Silva, Adriana Migliaro

Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Gymnotus omarorum es un pez eléctrico de descarga débil autóctono de Uruguay. Habita cursos de agua dulce prefiriendo zonas someras y con vegetación flotante densa. Se caracteriza por la emisión constante de una señal eléctrica de pulso provocada por la activación de un órgano especializado. Esta descarga del órgano eléctrico (DOE) es un despliegue conductual con rol perceptual y de comunicación. La frecuencia de emisión o frecuencia basal de la DOE (FB-DOE) resulta de la activación de un núcleo del sistema nervioso central (núcleo electromotor bulbar, NEB) con actividad espontánea, que recibe información moduladora de otras áreas del cerebro, en particular de la red del cerebro social. Trabajos previos de nuestro grupo han identificado la presencia de un ritmo circadiano de aumento nocturno de la FB-DOE que se expresa en el hábitat natural y en el laboratorio y que es modulado por el contexto social. Registros realizados en una población natural muestran un alto grado de sincronización del ritmo diario de sus individuos respecto a los ritmos registrados en individuos aislados. Con el objetivo de analizar el rol de la neuromodulación social se registraron los ritmos diarios de FB-DOE en individuos de una población natural tratados farmacológicamente con un bloqueante de AVT, neuropéptido modulador de la conducta social, implicado en la modulación de la FB-DOE y de la actividad del NEB. Observamos que el bloqueo del sistema AVTérgico provoca una atenuación en la amplitud del ritmo diario de la FB-DOE expresado en el hábitat natural y que no se observa en condiciones controladas de laboratorio.

312

El pez anual *Austrolebias reicherti* aumenta la motivación sexual y agresiva a medida que transcurre la temporada reproductiva ¿Diferentes respuestas al estrés a lo largo de la vida?

Reyes, Federico¹; **Quintana, Laura**²; **Tassino, Bettina**²

¹Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

²Unidad Bases Neurales de la Conducta, Departamento de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Ministerio de Educación y Cultura

Los glucocorticoides (GC) son hormonas clave en el ajuste de la conducta social y reproductiva al ambiente biótico y abiótico. Sin embargo, estas interacciones han sido abordadas principalmente en especies con una relación

tradicional entre estrés y reproducción. Los peces anuales del género *Austrolebias* habitan charcos temporales que se secan durante el verano. Los adultos se reproducen de manera continua durante una única temporada en la cual las condiciones ambientales empeoran consistentemente. Los machos se involucran en peleas intensas y cortejan activamente a las hembras. En los machos, los niveles circulantes de GC aumentan a medida que transcurre la temporada al tiempo que los GC promueven la performance reproductiva. Aquí evaluamos el rol de los GC en la conducta sexual y agresiva a dos momentos de la temporada: inicial (TI) y tardío (TT). $N_{TI}=19$ y $N_{TT}=21$ machos fueron colectados en su hábitat natural y trasladados al laboratorio donde fueron sometidos a un tratamiento con GC o vehículo por 10 días. Al día 7 de tratamiento se evaluó secuencialmente la conducta sexual y agresiva en pruebas de 20 min. Los machos redujeron la latencia tanto a iniciar el cortejo como a dar el primer ataque hacia el final de la temporada, mientras que no se constató efecto del tratamiento con GC. Este estudio muestra el aumento de la inversión reproductiva en términos de competencia y esfuerzo de cortejo a medida que transcurre el ciclo de vida, sugiriendo respuestas al estrés diferenciales en cada etapa de la temporada.

Palabras clave: Peces anuales, agresión, glucocorticoides, inversión terminal

319

Rol de la hormona concentradora de melanina (MCH) en la macrovasculatura de un modelo experimental de diabetes

*Moliné, Florencia*¹; *Lagos, Patricia*²; **Blanco, Fabiana**¹

¹Laboratorio de Biología Vasculard, Departamento de Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Laboratorio de Neurotransmisión Peptídica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

Introducción: La diabetes mellitus genera complicaciones macro- y micro-vasculares, acompañadas de una remodelación de la pared vascular. La hormona concentradora de melanina (MCH) es un neuropéptido neuromodulador sintetizado en neuronas del hipotálamo que regula varias funciones fisiológicas, teniendo un rol crucial en la homeostasis energética, afectando el metabolismo de la glucosa.

Hipótesis: El sistema MCHérgico periférico estaría modificado en la vasculatura periférica de ratones diabéticos, en base a la relación con el metabolismo glucídico.

Metodología: En ratones machos adultos (C57BL/6) se indujo diabetes con inyecciones i.p de estreptozotocina (STZ; 60mg/Kg; n=13) durante 5 días consecutivos y el grupo control fue tratado con buffer citrato (n=10). Se midieron parámetros metabólicos (peso y glicemia) semanalmente durante 4 semanas. Al finalizar el experimento, se extrajo plasma de los animales para cuantificar los niveles de MCH por ELISA, además de distintos órganos para su análisis.

Resultados: Se observó un incremento significativo de glucosa en sangre en los ratones tratados con STZ a partir de la semana 1, sin cambios en el peso corporal, respecto a los controles. Los niveles plasmáticos de MCH mostraron una tendencia a incrementar en los ratones diabéticos respecto del control (896 vs 684 pg/mL, respectivamente). Se comenzó a caracterizar la presencia y distribución del MCHR-1 por inmunohistoquímica en las paredes de aorta torácica para correlacionar con las modificaciones metabólicas.

Conclusiones: Se evidencia que el modelo experimental de diabetes funcionó y de que el sistema MCHérgico podría estar involucrado en los cambios vasculares que pueden haber ocurrido a nivel periférico.

Palabras clave: Diabetes, Sistema vascular arterial, MCH

QUÍMICA MEDICINAL

123

Descubrimiento de fármacos capaces de bloquear la interacción Spike-ACE2

*Lorenzelli, Franca*¹; *Perelmuter, Karen*¹; *Abreu, Cecilia*¹; *Fagundez, Catherine*²; *Posadas, Laura*²; *Serra, Gloria*²; *Alvarez, Guzmán*²; *Villamil, Valentina*²; *Saiz, Cecilia*²; *Mahler, Graciela*²; *Couto, Marcos*²; *Cerecetto, Hugo*²; *Porcal, William*²; *Bollati Mariela*¹; *Park, Soonju*³; *Lee, Nakyung*³; *Shum, David*³; *Comini, Marcelo*¹; *López, Virginia*¹.

¹Institut Pasteur de Montevideo

²Universidad de la República

³Institut Pasteur Korea

El SARS-CoV-2 reconoce el dominio extracelular peptidasa de la proteína ACE2 expresada en la célula humana a través de su glicoproteína de superficie *Spike*, esta interacción de alta afinidad desencadena la fusión e ingreso de la partícula viral a la célula huésped.

El objetivo de este trabajo fue la identificación de compuestos químicos capaces de interferir con la interacción *Spike*/ACE2 así como la caracterización de su citotoxicidad y actividad antiviral.

A partir de moléculas reportadas en la bibliografía como ligandos de *Spike*/ACE2, se detectaron moléculas estructuralmente análogas en la quimioteca local. Para este primer conjunto de candidatos se estudió su potencial inhibitorio de la interacción *Spike*/ACE2 mediante técnica de ELISA. En esta primera ronda de cribado se identificaron *hits* pertenecientes a diferentes familias químicas. Los estudios de cribado se extendieron a los análogos de cada serie de *hits*. Mediante ensayos celulares con células que expresan ACE2 humana se pudo confirmar el efecto on-target para algunos de estos *hits*. La gran mayoría de los compuestos presentó una baja citotoxicidad contra células de epitelio pulmonar humano ($CC_{50} > 100 \mu\text{M}$). Por último, se testeó la actividad antiviral de algunos de los *hits* que presentaron mayor actividad inhibitoria contra *Spike*/ACE2. Unos pocos *hits* que también resultaron ser inhibidores de la principal proteasa viral (MPro), mostraron inhibir la infección de células Vero por SARS-CoV-2 (cepa Wuhan).

Palabras clave: *Spike*, ACE2, ELISA, antiviral

138

Agentes senoterapéuticos en la senescencia inducida por el oncogén H-RAS (G12V)

Chacón, Eliana¹; Martínez, Jennyfer¹; Ingold, Mariana^{2,3}; Porcal, Williams^{2,3}; López, Virginia^{2,3}; Escande, Carlos⁴; Quijano, Celia¹

¹Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

³Laboratorio de Biología Vascul y Desarrollo de Fármacos, Institut Pasteur de Montevideo

⁴Laboratorio de Patologías del Metabolismo y el Envejecimiento, Institut Pasteur de Montevideo

Las células senescentes se encuentran en múltiples patologías humanas, incluyendo el cáncer, donde actúan muchas veces en forma perjudicial. Estas células presentan un fenotipo secretor distintivo (SASP), regulado por los factores de transcripción NF- κ B y C/EBP, que consiste de citoquinas, metaloproteasas y otros factores. Los agentes senoterapéuticos son compuestos capaces de eliminar selectivamente las células senescentes (senolíticos) o de reducir la expresión del SASP (senomórficos). Este proyecto explora el uso de compuestos como senoterapéuticos en un modelo de senescencia inducida por el oncogén H-RAS (G12V) en fibroblastos de pulmón humano. En este modelo se evaluó el impacto de tres compuestos (IP1-3) en la viabilidad celular y la secreción de IL-6. Nuestros resultados muestran que IP1 actúa como senomórfico inhibiendo la secreción de IL-6 (48%) sin afectar la viabilidad celular. Los otros dos compuestos (IP2 y IP3) también actúan como senomórficos inhibiendo la secreción de IL-6 (29% y 30% respectivamente). Además, tienen efectos senolíticos disminuyendo la viabilidad de las células senescentes a concentraciones que no afectan a las células control. En particular, IP3 presentó un IC50 menor al de las células control ($IC_{50_{RAS}}=51\mu\text{M}$, $IC_{50_{CI}}=136\mu\text{M}$) y un índice de selectividad (IS) de 2.1 ± 0.7 . La incubación de las células con un derivado diastereomérico de IP3 resultó en una mayor muerte de las células control que las células senescentes. Estos resultados son alentadores, sin embargo, más estudios son necesarios para determinar los mecanismos de citotoxicidad diferencial e inhibición del fenotipo secretor de los compuestos en estudio.

Palabras clave: senescencia, NF- κ B, senoterapéuticos

139

Complejos heterolépticos de iones de la primera serie de transición con potencial actividad antiparasitaria

Fernández, Mercedes¹; Marco, Micaela¹; Rostán, Santiago^{1,2}; Aguilera, Elena³; Otero Lucía¹

¹Área Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

²Programa de Posgrado en Química, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

³Grupo de Química Orgánica Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), constituye un problema sanitario a nivel mundial y particularmente en poblaciones vulnerables de América Latina, presentando elevados índices de mortalidad y morbilidad. En este contexto, nuestro grupo ha desarrollado una serie de compuestos híbridos 3-acetil-4-hidroxicumarina- tio o semicarbazonas que combinan en una misma molécula dos estructuras capaces de inhibir el crecimiento de *T. cruzi*. Además, se han sintetizado y caracterizado una serie de complejos con iones metálicos de la primera serie de transición en estado de oxidación +2 (Mn, Co, Ni, Cu y Zn) con estos ligandos con el fin de obtener especies con un perfil farmacológico mejorado.

En este trabajo, se describe el desarrollo de una nueva serie de complejos metálicos de Cu(II) y Zn(II) con los ligandos híbridos cumarina-tiosemicarbazona descritos y fenantrolina (fen) como co-ligando. La inclusión del co-ligando fenantrolina tiene como objetivo incluir al ADN como un mecanismo de acción adicional para estos complejos. Los complejos heterolépticos de fórmula [ML(fen)] (Fig. 1) fueron sintetizados y caracterizados en estado sólido y en solución. Se estudió su actividad *in vitro* frente a la forma epimastigota de *T. cruzi* (cepa Tulahuen 2) y su citotoxicidad inespecífica. Los resultados obtenidos muestran que la inclusión del co-ligando fenantrolina produce una mejora en la actividad antiparasitaria. Se encuentran en curso los estudios de interacción de estos compuestos con ADN.

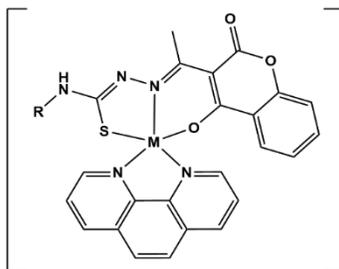


Figura 1. Estructura general de los complejos obtenidos. M = Cu(II), Zn(II), R= H, metil, etil, fenil.

Palabras clave: complejos metálicos, *T. cruzi*, fenantrolina

158

Moléculas que interfieren con el ensamblaje de la cápside del VIH como potenciales fármacos antirretrovirales

Artía, Zoraima¹; **Acuña, Agustina**¹; **Fagúndez, Facundo**¹; **Peculio, Enzo**¹; **Álvarez, Guzmán**¹; **Corvo, Ileana**¹; **Randall, Lía**¹

¹Laboratorio de I+D de Moléculas Bioactivas, Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República

La cápside del VIH está formada por el ensamblaje de una única proteína viral (CA), que desempeña un papel esencial en pasos tempranos y tardíos de la infección. El ensamblaje correcto de la cápside es necesario para la infectividad del VIH. La alta conservación de la secuencia de aminoácidos de CA y su alta sensibilidad a las mutaciones evidencia su papel en el éxito del ciclo viral y apoya la investigación de moléculas capaces de interferir con la multimerización de CA como posibles fármacos antirretrovirales. En este trabajo se realiza una búsqueda mediante un cribado virtual masivo de moléculas capaces de interactuar con la proteína CA, en particular con una región conservada de la superficie localizada en la interfase entre monómeros de CA. Esta región sensible a mutagénesis es fundamental para su correcta multimerización y su desestabilización podría alterar el ensamblaje de la cápside viral. A partir de los resultados obtenidos se seleccionaron 84 compuestos para analizar su capacidad de interferir con el ensamblaje *in vitro* de CA recombinante. Se realizó un ensayo a dosis fija de 50 μM que identificó 30 moléculas con efecto mayor al 50% en la multimerización, inhibiendo o acelerando dicho proceso. Además, utilizando un modelo de infección por VIH *in cellulo*, se identificaron 4 compuestos que interfieren con la infección viral con valores de IC₅₀ entre 3 y 13 μM. Estos resultados son la base para continuar el estudio y desarrollo de estas moléculas como posibles fármacos para el tratamiento de la infección por VIH.

Palabras clave: HIV, multimerización proteica, desarrollo de fármacos

178

Evaluación de un flavonoide natural marcado con [¹¹C]C para diagnóstico de Alzheimer

ZeniMaia^{1,4}; **Santi Ma. Daniela**¹; **Arredondo Florencia**¹; **Carvalho Diego**⁵; **Peralta Mariana**^{2,3}; **Cabrera José Luis**³; **Ortega Ma. Gabriela**^{2,3}; **Abin-Carriquiry Juan A**⁵; **Rey Ana**⁴; **Giglio Javier**¹

¹Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Farmacognosia, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

³Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV – CONICET), Argentina

⁴Área de Radioquímica, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

⁵Departamento de Neuroquímica, Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable" (IIBCE), Montevideo, Uruguay

Introducción: El desarrollo de inhibidores de la enzima GSK3 β radiomarcados es una aproximación sensible y directa para el monitoreo clínico de diversas patologías del Sistema Nervioso Central, incluyendo la Enfermedad de Alzheimer. En ese sentido, recientemente se marcó con [¹¹C] C la flavanona (2S)-5,7-dihidroxi-8-(3-metilbut-2-enil)-2-fenil-2,3-dihidrocroman-4-ona (Glabranina) inhibidora de GSK3 β (IC₅₀=16 μ M) ([¹¹C]FLA).

Objetivo: Evaluar la capacidad de internalización celular de [¹¹C]FLA in vitro en cultivos primarios astrocitarios y neuronales.

Materiales y métodos: Se realizaron cultivos primarios de neuronas y astrocitos de hipocampo y corteza (proveniente de fetos de 16-18 días y de neonatos de 1-2 días, respectivamente, ambos de ratones C57BL/6J).

Las células se incubaron con [¹¹C]FLA a 37°C a diferentes tiempos, y posteriormente se midió la actividad del medio de cultivo y la actividad unida a las células en un contador de centelleo sólido. El porcentaje de unión celular se expresa como el porcentaje de la actividad unida a las células en relación a la actividad total.

Resultados principales y discusión: El porcentaje de unión a neuronas fue mayor que a astrocitos. Se observó un 0,8% a los 5 minutos de incubación; 1,0% a los 10 minutos y 7,0% a los 20 minutos para astrocitos, mientras que para neuronas fue de 4,2% a los 5 minutos de incubación; 8,4% a los 10 minutos y 14% a los 20 minutos; comportamiento esperado, debido a que GSK3 β se expresa mayormente en neuronas.

Conclusiones: El [¹¹C]FLA presenta propiedades promisorias como potencial radiotrazador de GSK3 β para imágenes en EA.

Agradecimientos: PEDECIBA_Química, ANII (POS_NAC_2018_1_151615) (POS_NAC_D_2020_1_164001)

Palabras clave: GSK3 β , Alzheimer

188

Estudio de un compuesto liberador de óxido nítrico con potencial aplicación antitumoral

López, Miriam¹; Ingold, Mariana²; Lavaggi, María Laura³; López, Gloria V.^{2,4}; Hernández, Paola¹

¹Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC, Uruguay

²Laboratorio de Desarrollo de Fármacos y Biología Vascular, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay

³Laboratorio de Química Biológica Ambiental. Sede Rivera, Centro Universitario Regional Noreste, Universidad de la República, Rivera, Uruguay

⁴Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

El cáncer de vejiga es una enfermedad genitourinaria predominante y uno de los tipos de cáncer más común. Entre los compuestos más prometedores para el tratamiento de este tipo de cáncer, se encuentran los agentes liberadores de óxido nítrico. En este contexto, nuestro grupo de investigación ha identificado el compuesto liberador de óxido nítrico MV14 como un potencial agente para el tratamiento de esta patología. Continuando con la caracterización del posible mecanismo de acción que este compuesto ejerce sobre las células de cáncer de vejiga, en el presente trabajo evaluamos la viabilidad celular y el efecto quimiosensibilizador a distintos tiempos de MV14 y el quimioterápico cisplatino. Mediante ensayos de inmunofluorescencia empleando el anticuerpo anti- γ -H2AX determinamos la capacidad de MV14 de generar fracturas de doble hebra en el ADN. Asimismo, evaluamos la inhibición de la migración celular mediante la técnica de herida. Finalmente, realizamos estudios fisicoquímicos del compuesto. Los resultados indican que el compuesto MV14 tiene un efecto citotóxico sobre las células cancerígenas y un efecto sensibilizador al cisplatino. En cuanto a los estudios de genotoxicidad, observamos que el óxido nítrico liberado por MV14 sería el responsable de generar fracturas en el ADN de las células cancerígenas. El ensayo de herida mostró que la migración de células derivadas de cáncer de vejiga se ve afectada en presencia del compuesto liberador de óxido nítrico.

En conclusión, los estudios realizados indican que el compuesto MV14 podría ser un potencial agente para el tratamiento del cáncer de vejiga. Estudios preclínicos adicionales serán desarrollados próximamente.

Palabras clave: cáncer de vejiga, liberador de óxido nítrico, antitumoral

191

Estudio de nuevos derivados de benzoisotiazolonas como agentes contra *T. cruzi*

Quiroga, Cristina ¹; Incerti, Marcelo ²; Benítez, Diego ¹; Manta, Eduardo ², Comini, Marcelo ^{1,3}; **Medeiros, Andrea** ^{1,3}†

¹Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomátidos, Insitut Pasteur de Montevideo

²Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República

³Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

†Co-responsables

Trypanosoma cruzi (*T. cruzi*) es el agente causante de enfermedad de Chagas que afecta a más de 6 millones de personas en el mundo. No existen vacunas para esta enfermedad y el tratamiento depende de nifurtimox (NFX) y benznidazol (BZN), fármacos con notorios efectos secundarios. En este trabajo describimos la evaluación biológica, selectividad y mecanismo de acción como agentes anti -*T. cruzi* de benzoisotiazolonas, análogas del Ebselen. Realizamos la puesta a punto de un ensayo de viabilidad para la forma intracelular amastigota del parásito en placa de 96 pocillos. El ensayo se basa en la medida de la señal bioluminiscente por parte de una línea celular reportera de *T. cruzi* (cepa DM28c) que expresa la luciferasa con la que se infectan las células epiteliales Vero. De 28 benzoisotiazolonas estudiadas, 8 presentaron una inhibición de la infección > 50

% a 10 µM (*hit*) y 7 adicionales que a la misma concentración inhibieron entre un 40-50 % la proliferación intracelular de *T. cruzi*. Todos los compuestos *hits* mostraron CC₅₀ para células Vero > 50 µM. Dado que varios de estos compuestos alteran la homeostasis redox de trypanosomas, la cual depende del ditiol de bajo peso molecular tripanotión, evaluamos a la tripanotión reductasa (TR) como potencial blanco molecular. Dos de los *hits* lograron inhibir a la TR a concentraciones del mismo orden de magnitud del de sus actividades biológicas contra la forma amastigota del parásito.

Palabras clave: *T. cruzi*, benzoisotiazolonas, descubrimiento de fármacos

192

Reposicionamiento de fármacos para el tratamiento de la Leishmaniasis visceral

Ramos, Rachel^{1,2}; Aguilera, Elena²; Álvarez Guzmán¹

¹ Laboratorio de Moléculas Bioactivas, Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de La República, Paysandú, Uruguay

²Grupo de Química Orgánica Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de La República, Montevideo, Uruguay

La Leishmaniasis Visceral es una de las manifestaciones clínicas causadas por algunas especies del protozoario parásito *Leishmania*, que si no es tratada puede ocasionar la muerte. En Uruguay se detectaron los primeros casos de Leishmaniasis Visceral en humanos en 2018, generando una alerta epidemiológica para los investigadores e instituciones de Uruguay. El método en el que nos enfocamos en este trabajo es el reposicionamiento de medicamentos y el criterio de selección son los medicamentos de uso frecuente en clínica en Uruguay utilizados para otras patologías.

Hipótesis: La utilización del método de reposicionamiento permite encontrar nuevos fármacos con acción leishmanicida.

Objetivos: Reutilización de fármacos de uso frecuente y disponibles en países subdesarrollados para el tratamiento de la Leishmaniasis Visceral.

Materiales y métodos: Para las pruebas in vitro, se incubó la forma promastigote de *Leishmania infantum* (cepa WT) con los fármacos a diferentes concentraciones: 100µM, 50µM, 25µM, 12,5µM, 6,25µM, 3µM y 1,5µM. Las células de adenocarcinoma colorrectal ileocecal humano (HRT-18) se utilizan para ensayos de citotoxicidad in vitro.

Resultados: Se analizaron 100 medicamentos utilizados para otras patologías en Uruguay. Resultando con acción leishmanicida: Dipyron[®], Ketoconazole[®], Climodin[®], Benzonidazole[®], Simvastatin[®], Sertraline[®], Nitrofurantoin[®], Pinaverium Bromide[®] y Naftaxone[®]. El rango de inhibición del 50% del crecimiento de los parásitos de estos fármacos fue entre 2µM y 60µM.

Conclusiones: Mediante el método de Reposicionamiento se encontraron 9 fármacos con actividad leishmanicida in vitro y selectivos.

Palabras clave: *Leishmania infantum*, Reposicionamiento, in vitro

197

Modulación del transporte por albúmina sérica humana (HSA) de pro-fármacos de Pt^{IV} con ligandos axiales bioactivos
Salazar, Fabiana; Coitiño, E. Laura*

Laboratorio de Química Teórica y Computacional (LQTC), Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias y Centro de Investigaciones Biomédicas (CeInBio), Universidad de la República

Los compuestos de Pt^{IV} son considerados buenos candidatos como profármacos antitumorales. La incorporación de ligandos axiales bioactivos L/L' en su estructura, permite lograr a la par compuestos multi-acción y modular sus propiedades fisicoquímicas relevantes hacia su acción farmacológica. La naturaleza de L/L' es clave para alcanzar el necesario balance de su reactividad fuera/dentro las células blanco (baja/alta, respectivamente) y favorecer su especificidad hacia proteínas transportadoras del plasma sanguíneo como la HSA. Aunque escasa, la evidencia experimental señala que estos profármacos se unen a HSA formando complejos 1:1 estables, donde la naturaleza de L/L' permite optimizar su transporte, desconociéndose aún los aspectos detallados que regulan su unión. Aquí exponemos resultados obtenidos combinando *docking* ligando-proteína, simulaciones de dinámica molecular y cálculos cuánticos DFT/PCM para caracterizar la formación de los complejos [Pt^{IV}(NH₃)₂Cl₂LL']:HSA de una selección de 6 compuestos representativos (extraídos por cribaje *in silico* previo de un universo con L/L' inhibidores de funciones esenciales en células cancerígenas) y un séptimo compuesto (con potencial antitumoral) que incorpora L/L' similares de ácidos grasos (optimizado para transporte por HSA en el grupo de Lippard, MIT, tomado como referencia). El estudio permitió identificar sitios y formas de unión (seis de ellos unen al *sitio de Sudlow I* o desplazados en su cercanía dentro de la estructura de HSA) y cuantificar la estabilidad relativa de los complejos, analizando dinámicamente el efecto del cambio de L/L' y de su disposición *syn/anti* respecto al plano ecuatorial de estos compuestos octaédricos, propiedad que también permite obtener perfiles farmacológicos.

Palabras clave: anticancerígenos, profármacos de Pt^{IV}, transporte por albúmina sérica (HSA), simulación y modelado computacional

199

Efecto tipo-antidepresivo y mejora en el perfil de toxicidad de un análogo de Ibogaína: ibogaína deuterada (D₃) en comparación con ibogaína

Paola Rodríguez^{1,2}; **Jessika Urbanavicius**²; **José Pedro Prieto**^{2,3}; **Bruno González**¹; **Dalibor Sames**⁴; **Cecilia Scorza**²; **Ignacio Carrera**¹

¹*Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*

²*Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay*

³*Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

⁴*Department of Chemistry, Columbia University, New York- United States*

Ibogaína (Ibo) es un alcaloide psicodélico atípico, con una propiedad antiadictiva ya descrita. Recientemente hemos reportado el efecto tipo-antidepresivo inducido por Ibo y su metabolito noribogaína (Nor) evaluado en el Test de Nado Forzado (TNF) en ratas, luego de 3 y 0.5 horas de su administración intraperitoneal (i.p.), respectivamente. Propusimos que dicho efecto podría estar asociado a su propiedad antiadictiva. Si bien Ibo produce un efecto del tipo-antidepresivo, a diferencia de Nor induce estereotipias que podrían considerarse como efectos tóxicos no deseados. De esta manera sería deseable contar con un análogo de Ibo menos tóxico que mantuviera el perfil tipoantidepresivo. Como parte de estudios sobre el metabolismo de Ibo, propusimos sintetizar un análogo deuterado de ibogaína: Ibo d₃. Los estudios farmacocinéticos *in vivo* realizados para Ibo d₃ en comparación con Ibo, demostraron que la deuteración generó un efecto isotópico inverso. Se caracterizó la actividad locomotora y exploratoria en un Campo Abierto (CA), encontrando que Ibo d₃ indujo un efecto tóxico de menor intensidad en comparación a su congénere Ibo. Este hallazgo sugiere una mejoría en la respuesta conductual, el cual se correlaciona con el perfil farmacocinético encontrado. El ensayo del TNF demostró un efecto tipo-antidepresivo de Ibo d₃, luego de 3 horas de su administración *i.p.*, de una dosis de 40 mg/kg. Nuestros datos indican que la modificación en la farmacocinética inducida por la deuteración de Ibo fue capaz de reducir su perfil tóxico, manteniendo su efecto comportamental tipo-antidepresivo deseado.

Palabras clave: ibogaína, efecto isotópico de deuterio, depresión

206

Complejos Cu(II)-diiminas con actividad citotóxica: elucidación de las diferentes especies presentes en medios biológicos tendientes a la identificación del farmacóforo

Alvarez, Natalia¹; **Y. Fernández, Carlos**¹; **Leite, Celisnolia M.**²; **Rocha, Analu**²; **Costa-Filho, Antonio J.**³; **Ellena, Javier**⁴; **Batista, Alzir A.**²; **Facchin, Gianella**^{1*}.

¹Área de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República

²Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Brasil

³Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil

⁴Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, Brasil

La Química Medicinal Inorgánica puede aportar nuevos fármacos para el tratamiento del cáncer, como el Cisplatino y Oxalilplatino actualmente en uso clínico. Existen numerosos antecedentes de compuestos de coordinación de cobre con potente acción citotóxica e incluso antitumoral in vivo que muestran su potencial farmacológico. Los compuestos de cobre pueden intercambiar sus ligandos rápidamente, originando en el medio de cultivo especies químicas diferentes a las suministradas originalmente. Aunque se cuenta con información sobre aspectos biológicos del mecanismo de acción de los compuestos de cobre, aún no se conoce la relación entre su especiación en medio biológico y la actividad citotóxica.

Nuestro grupo trabaja en el desarrollo de diferentes series de compuestos de coordinación con actividad citotóxica, buscando nuevos candidatos para el desarrollo de fármacos antitumorales. Se presenta la comparación de la actividad biológica de diferentes series de compuestos [Cu(L-dipéptido)(diimina)] (diimina: fenantrolina, neocuproina, tetrametil-fenantrolina y batofenantrolina) y su relación con parámetros químicos, biológicos y con su especiación en medio de cultivo. Se determinó la actividad citotóxica de los compuestos en diferentes líneas celulares tumorales, donde los compuestos más activos fueron los de la serie [Cu(Ldipéptido)(tetrametilfenantrolina)]. Se estudió la especiación en condiciones de medio de cultivo mediante espectrometría UV-vis. Se encontró que los complejos rápidamente forman una especie en la que se unen a la albúmina sin perder sus ligandos originales. Los resultados obtenidos a la fecha, sumados a los de la bibliografía, apuntan a que el farmacóforo es el núcleo Cu-diimina, y el ligando aniónico auxiliar modula la actividad.

Palabras clave: complejos de cobre, citotoxicidad, especiación en medio biológico

208

Complejos de Cu(II)-tripéptidos, potenciales especies para terapia antimelanoma

Aguilar, Lorena¹; **Justet, Cristian**²; **Alvarez, Natalia**¹; **Torre, María H.**¹

¹Química Inorgánica (DEC), Facultad de Química y

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

El grupo de investigación donde se enmarca este trabajo de tesis desarrolla series de compuestos Cu(II)-tripéptidos, en la búsqueda de nuevas especies antimelanoma. Se utilizaron distintas técnicas de síntesis de complejos para explorar la versatilidad de coordinación de los tripéptidos y se caracterizaron analítica y espectroscópicamente. Los complejos y el Cu(II) fueron evaluados en cultivos de melanoma humano SK-MEL mediante fluorimetría por ensayo de resazurina.

Los complejos obtenidos fueron: $\text{Na}_2[\text{Cu}_2(\text{Gly-Gly-Gly}_{-3\text{H}})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Cu-L1), $[\text{Cu}(\text{GlyGly-Ile})_{4-2\text{H}}] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Cu-L2), $[\text{Cu}(\text{Ala-Ala-Ala}_{-3\text{H}})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Cu-L3), $[\text{Cu}(\text{Phe-Gly-Gly})_{4-2\text{H}}] \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Cu-L4), $[\text{Cu}(\text{Val-Tyr-Val}_{-2\text{H}})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Cu-L5), $[\text{Cu}(\text{Gly-Gly-His}_{-2\text{H}})] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Cu-L6). Los análisis elementales estuvieron de acuerdo con las estequiometrías planteadas y las TGA con las aguas de cristalización. El espectro electrónico de la mayoría de los complejos presentó λ_{max} entre 644-654 nm, acorde al entorno ecuatorial $\text{N}_{\text{amina}}\text{N}_{\text{amida}}(\text{Ow})_2$, según la ecuación de Prentiss, mientras que para Cu-L6 ($\lambda_{\text{max}} = 527$ nm) mostró la posible coordinación por el grupo imidazol. Los IR de los complejos mostraron las bandas características de la coordinación y los EPR diferentes niveles de acoplamiento entre los Cu(II).

La viabilidad celular mostró que el Cu-L3 ($\text{IC}_{50}=265 \mu\text{M}$) y Cu-L4 ($\text{IC}_{50}=363 \mu\text{M}$) fueron más activos que el cobre libre, no así los demás complejos.

Esta serie de complejos es promisorio desde el punto de vista inorgánico-estructural, así como bioinorgánico.

Palabras clave: complejos de Cu, espectroscopía, melanoma, viabilidad celular

209

Análisis computacional de la interacción de estilbenos de la *Stevia rebaudiana* Bertoni con la enzima lipasa pancreática Aceval Arriola, Nathalia D¹; Cantero Piñanez, Jorge^{2,3}; Paulino, Margot²; Chater, Peter Ian⁴; Wilcox, Matthew⁴; Lucini, Luigi⁵; Rocchetti, Gabriele⁵; Pearson, Jeffrey P.⁴; Dias de Mello Castanho Amboni, Renata⁶

¹Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional del Este, Km 17 ½, Minga Guazú, Paraguay

²Bioinformatics Area, DETEMA Department, Faculty of Chemistry, UdelaR, General Flores 2124, Montevideo 11600, Uruguay

³Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Este, Minga Guazú 7420, Paraguay

⁴Biosciences Institute, Medical School, Newcastle University, Catherine Cookson Building, Framlington Place, Newcastle upon Tyne NE2 4HH, UK

⁵Department for Sustainable Food Process, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza, Italy

⁶Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga 1346, 88034-001 Florianópolis, SC, Brazil

La obesidad y las comorbilidades relacionadas están asociadas con la ingesta de alimentos ricos en lípidos. En humanos, la absorción intestinal de lípidos es un proceso altamente eficiente gracias a la acción de enzimas digestivas como la lipasa pancreática (LP). Una estrategia emergente para combatir la obesidad es la reducción de la absorción de grasas a través de inhibidores naturales de la LP, como los componentes fenólicos presentes en extractos de plantas. La *Stevia rebaudiana* Bertoni es empleada a nivel mundial como sustituto natural del azúcar, posee efectos benéficos para la salud asociados a sus componentes bioactivos como los compuestos fenólicos. El objetivo del trabajo fue realizar un análisis computacional de la interacción de estilbenos liberados durante la fase pancreática de la simulación de la digestión *in vitro* a partir de 4 formulaciones de cápsulas de alginato conteniendo el extracto acuoso de hojas de Stevia con LP. El análisis de acoplamiento molecular se empleó para revelar las interacciones moleculares entre LP con Orlistat® y los compuestos de estilbenos (resveratrol 3-O-glucósido, palidol, piceatannol 3-O-glucósido, piceatannol, pinosilvina, pterostilbeno). El complejo lipasa-Orlistat mostró el mejor valor de puntuación de interacción $-7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$, seguido de piceatannol 3-O-glucósido ($-7,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$). La interacción del Orlistat se identificó como un donante de enlaces de hidrógeno con el residuo Leu214 de LP. El piceatannol 3-O-glucósido resultó en la interacción con el grupo OH del residuo catalítico de serina Ser153 en el sitio activo. El análisis *in silico* reveló interacciones potenciales de estilbenos de la Stevia con la LP.

Palabras clave: *Stevia rebaudiana* Bertoni, lipasa pancreática, estilbenos, *in silico*

214

Complejos metálicos con potencial acción contra SARS-CoV-2: un abordaje racional

Marco, Micaela¹; Rostán, Santiago^{1,2}; Ruatta, Santiago³; Fló, Martín⁴; Comini, Marcelo³; Mahler, Graciela⁵; Otero, Lucía¹

¹Área de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

²Programa de Posgrado en Química, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

³Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

⁴Unidad de Inmunovirología, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

⁵Laboratorio de Química Farmacéutica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La pandemia causada por SARS-CoV-2 no solo impulsó el desarrollo de estrategias inmunoproliféricas sino también el diseño y reposicionamiento de fármacos para el tratamiento del síndrome respiratorio severo causado por este virus. La proteasa principal (MPro) de SARS-CoV-2 es una proteasa de cisteína que se ha convertido en uno de los principales blancos moleculares para el diseño racional de nuevos fármacos por su esencialidad para la replicación viral [1]. Por otro lado, nuestro grupo había desarrollado una serie de compuestos orgánicos derivados de tiosemicarbazonas y sus compuestos de coordinación como posibles fármacos antiparasitarios, centrándose en la inhibición de la principal cisteín-proteasa del parásito *Trypanosoma cruzi*, la cruzipaina. Muchos de estos compuestos fueron ensayados exitosamente como inhibidores de MPro. En base a estos resultados se realizaron varios ciclos de

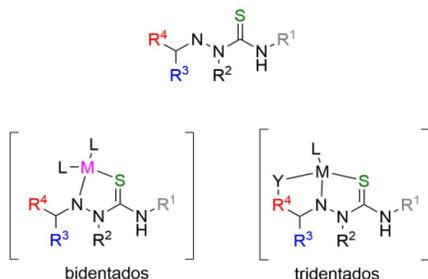


Figura 1. Representación esquemática de los compuestos en

rediseño estructural obteniéndose compuestos con valores de IC₅₀ en el rango bajo o submicromolar. Adicionalmente, se han realizado estudios de toxicidad para los compuestos que se perfilaron como candidatos. Los compuestos que han presentado un mejor perfil fueron estudiados por su capacidad de inhibir la replicación viral en un modelo de infección celular (ensayos realizados en colaboración con el Institut Pasteur de Corea). De estos, el compuesto más promisorio presentó una muy buena actividad antiviral (IC₅₀ de 10,9 μM) y un índice de selectividad de 4,5. Los resultados obtenidos han retroalimentado el ciclo de diseño y han dado lugar al diseño de nuevos compuestos que están siendo evaluados contra la MPro.

Palabras clave: SARS-CoV-2, complejos metálicos, inhibición enzimática [1] L. Hong *et al.*, *Science*. **368** (2020) 1331.

Agradecimientos: los autores agradecen a la ANII por el apoyo financiero (FCE_3_2020_1_162617), SR agradece a la ANII por la beca de doctorado (POS_NAC_D_2020_1_164085), MC agradece al URGENCE nouveau coronavirus fundraising campaign of the Institut Pasteur.

216

Estudios preclínicos avanzados en la enfermedad de chagas

Aguilera, Elena¹; Florencia Mosquillo²; Leticia Pérez-Díaz²; Elva Serna³; Susana Torres³; Alicia Schini³; Luis Sanabria³; Ninfa I. Vera de Bilbao³; Gloria Yaluff³; Hugo Cerecetto¹; Guzmán Alvarez⁴

¹Grupo de Química Orgánica Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Interacciones Moleculares, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³Departamento de Medicina Tropical, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, 2511 Asunción, Paraguay

⁴Laboratorio de Moléculas Bioactivas, Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de La República, Paysandú, Uruguay

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y continúa siendo la mayor enfermedad parasitaria en América Latina que afecta a más de 10 millones de personas. Se han identificado compuestos de diferentes fuentes, como moléculas sintéticas o naturales con acción tripanosomicida pero han sido deficientes en varias etapas de desarrollo de fármacos (toxicidad, escalamiento y farmacocinética).

Hipótesis: Compuestos con diferentes mecanismos de acción antiparasitario pueden mostrar acción sinérgica cuando son combinados.

Objetivos: Combinar compuestos con acción tripanosomicida y diferente mecanismo de acción en busca de sinergismo *in vitro* e *in vivo*.

Materiales y métodos: Para los ensayos *in vitro* se utiliza la forma epimastigote de *T. cruzi* (cepa Tulahuen 2) y se incubó 1 × 10⁶ parásitos/mL con las combinaciones, de diferentes diarilidenonas líderes, durante 5 días midiendo la Absorbancia a 600nm. El mecanismo de muerte se estudia mediante citometría de flujo con Annexina V y yoduro de propidio. Se utiliza un modelo murino agudo de la enfermedad de Chagas, inoculando 5 × 10⁴ tripomastigotes en sangre (CL Brener) a ratones machos BALB/c administrando las combinaciones durante 20 días post-inoculación.

Resultados: De las combinaciones ensayadas *in vitro* se obtuvieron excelentes resultados para las combinaciones 2+16; 2+11; 2+LIDERII; 16+LIDERII. La combinación 2+16 condujo a excelentes resultados *in vivo* y provocó un cambio en la muerte del parásito por apoptosis.

Conclusiones: Se obtuvo sinergismo en 4 combinaciones ensayadas *in vitro*, obteniendo excelentes resultados tanto sea *in vitro* como *in vivo* para la combinación 2+16.

Palabras claves: *Trypanosoma cruzi*, sinergismo, *in vivo*

219

Síntesis de flavonas con potenciales actividades antivirales, antihipertensivas y protectores solares

Sagrea, Gabriel¹, Dalila Martinez¹

¹Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Introducción: Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal y su gama de actividades biológicas es muy grande. De acuerdo a su estructura, los flavonoides se clasifican en chalconas, flavanonas, flavonas y otros. Se ha reportado que las flavonas poseen una gran variedad de actividades biológicas, dependiendo de los sustituyentes presentes en cada uno de sus anillos.

Objetivos: En el marco de nuestras investigaciones relacionadas con la síntesis de flavonoides, hemos decidido realizar la síntesis de una serie de flavonas para su posterior evaluación como hipotensores, antivirales y protectores solares.

Materiales y métodos: Los compuestos se obtuvieron en dos pasos: 1) Síntesis de 2-hidroxicalconas por condensación aldólica de 2'-hidroxiacetofenonas y benzaldehídos 2) Ciclación oxidativa de las correspondientes chalconas. En el caso de que los compuestos posean grupos hidroxilos libres, se requirieron etapas adicionales de protección y desprotección. Los compuestos fueron purificados por recristalización o cromatografía en columna y caracterizados por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

Resultados: En este trabajo se describe la síntesis de una pequeña biblioteca de flavonas.

Conclusión: Se obtuvieron 30 compuestos, algunos de ellos no descritos aún en la literatura, con buenos rendimientos y pureza adecuada. Su actividad biológica será posteriormente evaluada por grupos especializados en el tema. Se establecerán contactos para este fin.

220

Desarrollo de nuevos compuestos de coordinación de Ga(III)-dipéptido con actividad antitumoral

Fernández, Carlos¹; Facchin, Gianella¹

¹Área de Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República

El tratamiento del cáncer ha mejorado en los últimos años, pero aún no se dispone de tratamientos efectivos para todas sus clases. El Ga(III) es uno de los iones metálicos usados para el desarrollo de nuevos metalofármacos con actividad antitumoral, incluso sus sales simples son activas. La coordinación de Ga con ligandos orgánicos formando compuestos de coordinación, es una estrategia prometedora para el desarrollo de nuevos agentes con mayor biodisponibilidad y mejor penetración en la membrana celular que las sales simples. En este trabajo se lograron sintetizar y caracterizar tres nuevos compuestos $[(Ga)(L\text{-dipéptido})(NO_3)]$, con los dipéptidos: Gly-Val (**C1**), Gly-Phe (**C2**) y Ala-Phe (**C3**). Se seleccionaron los dipéptidos como ligandos para los complejos debido a la afinidad que posee el Ga(III) por los átomos de oxígeno y porque el grupo de investigación posee una amplia experiencia en la síntesis de complejos usando dipéptidos como ligandos. Para estudiar la lipofiliidad de los complejos se determinó el coeficiente de reparto octanol-agua (P), obteniéndose valores de: 2.4 (**C1**), 0.8 (**C2**) y 0.4 (**C3**). Estos valores se encuentran en el mismo orden que se ha obtenido en el grupo para complejos de Cu(II) con los mismos dipéptidos. También se determinó la constante de unión con ADN (K_b) por UV obteniéndose valores de $3.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ (**C1**), $4.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ (**C2**) y $4.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ (**C3**) al igual que para el coeficiente de reparto P, los valores de K_b para los complejos se encuentran en el mismo orden que los obtenidos para compuestos de Cu(II).

Palabras clave: galio, dipéptidos, lipofilia

REPRODUCCIÓN

018

Cambios morfológicos mitocondriales en espermatozoides durante la capacitación

Pietroroia, Santiago¹; Skowronek, Fernanda¹; Ford, Mariana¹; Cassina, Adriana^{2,4}; Arboleya Lucia³; Silvera, Diego³; Lecumberry, Federico³; Sapiro, Rossana^{1,4}

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

³Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

⁴*Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República*

Los espermatozoides de mamíferos sufren cambios bioquímicos y funcionales durante su pasaje por el tracto genital femenino en un proceso denominado capacitación. Estos cambios modifican el patrón de motilidad y promueven la reacción acrosómica inducida (RA), ambos eventos necesarios para alcanzar y fecundar el ovocito. El papel de las mitocondrias en la capacitación es debatido. En otros tipos celulares los cambios funcionales mitocondriales se asocian con cambios morfológicos. Sin embargo, en el espermatozoide las mitocondrias forman una vaina mitocondrial circunscrita a la pieza intermedia (PI) del flagelo y estabilizada por puentes di-sulfuro que restringiría la dinámica mitocondrial. Nosotros hipotetizamos que el análisis morfo-funcional de las mitocondrias espermáticas permite comprender su función durante la capacitación. Para probar nuestra hipótesis, se incubaron espermatozoides de 5 ratones con MitoTracker™RedCMXRos en condiciones capacitantes y no capacitantes. Se realizaron extendidos de los espermatozoides, se fijaron con PAF 4% y se incubaron con Lectina PNA (marcador acrosomal). Se obtuvieron imágenes de epifluorescencia que fueron procesadas automáticamente mediante scripts desarrollados en Python y Fiji. Se segmentaron las regiones de interés y se cuantificaron área, largo, ancho e intensidad de fluorescencia de la PI. Se observó disminución del área ocupada por las mitocondrias en espermatozoides luego de la capacitación, específicamente en los espermatozoides que sufrieron la RA. Esto sugiere que existe una remodelación de la estructura flagelar durante la RA que involucra la PI flagelar. Las mismas podrían indicar asociaciones entre las mitocondrias y otros componentes del espermatozoide (ej: citoesqueleto) con posibles implicancias funcionales durante la fecundación.

Palabras clave: capacitación, reacción acrosómica, procesamiento de imagen

020

Vitrificación de corteza ovárica como estrategia para preservación de la fertilidad

Bonjour, Lorena¹; Kimelman, Dana²; Anesetti, Gabriel¹; Barrera, Natalibeth²; Chávez-Genaro, Rebeca¹

¹*Grupo de Biología de la Reproducción, Departamento de Histología y Embriología, Universidad de la República*

²*Centro de Esterilidad Montevideo*

La infertilidad es una posible consecuencia de los tratamientos oncológicos de niñas, adolescentes y adultas jóvenes. La oncofertilidad ofrece estrategias de preservación de fertilidad previo al inicio de tratamientos potencialmente gonadotóxicos, siendo la criopreservación de tejido ovárico una de estas estrategias. Su aplicación ha reportado más de 200 nacimientos luego de trasplante autólogo de tejido ovárico. A pesar de no ser considerada experimental aún no hay consenso en cuanto al procesamiento del tejido, técnica de criopreservación (congelación lenta vs. Vitrificación) y estrategia quirúrgica de reimplante.

Nuestro grupo de investigación busca estandarizar la técnica de vitrificación de tejido ovárico, utilizando un modelo animal (ovinos). Los ovarios se obtienen de frigorífico, y son transportados al laboratorio para obtener fragmentos de corteza ovárica. En el tejido se realizan técnicas de vitrificación y cultivo tisular, se fija y procesa para estudio y evaluación histológica en diferentes etapas del experimento. Por inmunohistoquímica se estudió la expresión de Caspasa 3 activada, PCNA y FOXO3a, para evaluar la viabilidad del tejido.

La temperatura a la cual se transporta el tejido y el método de disección de la corteza ovárica no modifican las características estructurales de los folículos primordiales. Al cultivar la corteza ovárica se observó mayor activación de los folículos primordiales acompañado de un incremento de apoptosis y proliferación celular en los tejidos cultivados durante 20 hs. En la siguiente etapa validaremos la técnica al compararla con un kit comercial y de ser posible realizar un trasplante del tejido que compruebe eficacia de la técnica.

Palabras clave: vitrificación, corteza ovárica, preservación de la fertilidad

026

Oxilipidómica en espermatozoides y plasma seminal de donantes de semen

Rosa-Villagrán, Lucía¹; Barrera Natalibeth²; Mastrogiovanni, Mauricio^{3,4}; Barbeito, Joaquín^{3,4}; Trostchansky Andrés^{3,4}; Sapiro Rossana^{1,4}

¹*Departamento de Histología y Embriología - Facultad de Medicina, Universidad de la República*

²*Reprovita, Lab & Biobank*

³*Departamento de Bioquímica - Facultad de Medicina, Universidad de la República*

⁴*Centro de Investigaciones Biomédicas - Facultad de Medicina, Universidad de la República*

El factor masculino representa 30-40% de los casos de infertilidad conyugal. Es frecuente que este padecimiento no encuentre causa clara, debiendo considerar múltiples factores para establecer su etiología. La dieta, estrés o exposición a toxinas afectarían la fertilidad masculina, exponiendo a la línea germinal a excesivas cantidades de especies reactivas del oxígeno, las cuales estimulan la peroxidación lipídica en los espermatozoides generando daño directo, pero también otras sustancias bioactivas que podrían tener efecto sobre la fertilidad. El objetivo del trabajo fue generar un perfil oxilipídico en semen de donantes normozoospermicos para eventualmente compararlos con pacientes infértiles. Se analizaron muestras de 5 donantes mediante cromatografía líquida/espectrometría de masa comparando estos datos con su historia clínica. Las muestras fueron almacenadas a -20 o -80°C con o sin medio de criopreservación. Esto permitió analizar las modificaciones lipídicas cuando son sometidos a distintas temperaturas de almacenamiento y estandarizar un método de conservación óptimo de las muestras. El almacenamiento a temperaturas mayores a -80 afectó la composición lipídica del semen. El perfil oxilipídico mostró modificaciones en los productos de las 3 principales vías enzimáticas (Lipoxygenase, ciclooxigenasa y CitochromeP450). Específicamente se observó un aumento de los oxilípidos proinflamatorios con una disminución de la concentración de sustratos (ejemplo: ácido araquidónico) durante la criopreservación. Concluimos que el método permite construir perfiles de oxilipídicos del semen. Estos son sensibles a la temperatura por lo que debe ser tenido en cuenta en futuros análisis. El perfil oxilipídico podría constituir un marcador de la calidad espermática en el diagnóstico de fertilidad/infertilidad.

Palabras clave: infertilidad masculina; especies reactivas del oxígeno; oxilipídica; criopreservación

034

Obtención de índices de función mitocondrial en el semen para la evaluación diagnóstica de la infertilidad masculina

Pintos-Polasky, Paula¹; Irigoyen, Pilar¹; Rosa-Villagrán, Lucía¹; Cassina, Adriana^{2,3}; Sapiro, Rossana^{1,3}

¹*Departamento de Histología y Embriología - Facultad de Medicina, Universidad de la República*

²*Departamento de Bioquímica - Facultad de Medicina, Universidad de la República*

³*Centro de Investigaciones Biomédicas - Facultad de Medicina, Universidad de la República*

El factor masculino es responsable o coadyuvante en al menos el 40-50% de los casos de infertilidad conyugal. El diagnóstico de la infertilidad masculina se basa esencialmente en el historial médico y el espermograma. Sin embargo, un 30% son casos idiopáticos. La falta de herramientas precisas para diagnosticar y tratar esta enfermedad enfatiza la necesidad de buscar nuevos blancos de diagnóstico. La función mitocondrial se ha asociado con la función y disfunción de los espermatozoides, principalmente a través de la producción de especies reactivas del oxígeno. En esta línea, planteamos hallar nuevos índices funcionales relacionados a la actividad mitocondrial que muestren la capacidad fecundante de los espermatozoides. Estudiamos la función mitocondrial utilizando un respirómetro de alta resolución obteniendo índices que muestran el estado funcional de las mitocondrias como el RCR (índice de control respiratorio) y medimos la formación de peróxido de hidrógeno ([H₂O₂]) mediante la sonda AmplexRed en muestras de semen normozoospermicas o alteradas. Observamos que tanto la motilidad progresiva como la morfología normal correlacionan positivamente con el RCR y negativamente con la producción de [H₂O₂]. Utilizamos curvas ROC para estudiar la habilidad diagnóstica de ambos índices, pudiendo establecer un punto de corte para RCR y [H₂O₂] con una buena sensibilidad y especificidad. Por último, evaluamos estos índices en muestras normozoospermicas pre/post criopreservación, ya que es un procedimiento de rutina que está asociado a un incremento en el daño celular. Concluimos que ambos índices podrían completar el espermograma aportando datos que mejoran el diagnóstico para casos particulares de infertilidad.

Palabras clave: especies reactivas del oxígeno, infertilidad masculina, criopreservación, actividad mitocondrial

082

Morfometría mitocondrial espermática: una herramienta útil en el estudio de la patogenia de la infertilidad masculina

Skowronek, María Fernanda¹; Pietroroia, Santiago¹; Casanova, Gabriela²; De Cola, Gabriel³; Ramos, Mauricio³; Lecumberry, Federico^{3,4}; Cassina, Adriana^{5,6}; Sapiro, Rossana¹

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Unidad de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

³Instituto de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

⁴Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo

⁵Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República

⁶Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

La morfología espermática es el parámetro que mejor se correlaciona con la capacidad fecundante del espermatozoide. En el espermatozoide humano maduro, cantidad, forma y disposición de las mitocondrias como determinantes de dicha capacidad fecundante ha sido poco explorada. Las mitocondrias forman en la pieza intermedia espermática (PIE) una vaina ordenada y compacta alrededor del axonema. Fallas en este ordenamiento o en la ultraestructura mitocondrial podrían conducir a alteraciones de la motilidad y a la formación de espermatozoides defectuosos implicados en la patogenia de la infertilidad. Hipotetizamos que el análisis morfométrico de las mitocondrias espermáticas contribuye a la comprensión de la patogenia de la infertilidad. Para probar dicha hipótesis se estudiaron las PIE de individuos con y sin alteraciones del espermograma, así como de hombres fértiles e infértiles. Las PIE marcadas con MitoTracker™RedCMXRos fueron analizadas mediante microscopía de fluorescencia y mediante microscopía electrónica (ME). Con programas de procesamiento de imágenes (Fiji), se obtuvieron parámetros morfométricos. Se implementó un plugin capaz de detectar y segmentar en forma automatizada zonas de interés, devolviendo parámetros descriptores de forma y tamaño. Se observaron en aquellos individuos con peor morfología espermática PIE más cortas y anchas que en los individuos con morfología espermática normal sugiriendo una probable reestructuración de la PIE frente a condiciones patológicas. Bajo ME se observaron diferencias significativas en la organización, tamaño y circularidad de las mitocondrias en pacientes infértiles, conjuntamente con alteraciones de las membranas y matriz mitocondrial. Estos hallazgos apoyan un probable rol morfo-funcional de la mitocondria en la infertilidad masculina.

Palabras clave: morfometría, pieza intermedia, mitocondrias, ultraestructura, infertilidad

091

Vitrificación de corteza ovárica y sus efectos sobre el estroma

Fernández María Clara¹, Kimelman Dana², Anesetti Gabriel¹, Bonjour Lorena¹, Barrera Nathalibeth², Chávez Rebeca

¹Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República

²Centro de Esterilidad Montevideo

Los avances en la efectividad de los tratamientos oncológicos han permitido aumentar la sobrevida global de los pacientes que las padecen e incentivado la búsqueda de herramientas que mejoren la calidad de vida de los sobrevivientes. Uno de los efectos adversos de los tratamientos oncológicos es la potencial pérdida de la capacidad reproductiva; la criopreservación de tejido ovárico es la única estrategia de preservación de fertilidad disponible para pacientes prepúberes.¹

El objetivo de este trabajo buscó evaluar si el tipo de corte por el que se obtuvo la corteza ovárica modifica las características del estroma ovárico vitrificado ya que este brinda soporte estructural y metabólico al mismo² y la salud del mismo permitirá la correcta reimplantación, el crecimiento folicular y la supervivencia del tejido.³

Se obtuvo corteza ovárica en tiras o secciones y los diferentes cortes se sometieron a procesos de vitrificación, descongelación y/o cultivo tisular de 20 h y posterior fijación. Se evaluó el área de matriz extracelular en microfotografías procesadas con el programa FIJI, utilizando el plugin Trainable Weka Segmentation.

No se identificaron diferencias significativas en el área de matriz extracelular inducidas por el tipo de corte (tiras vs. secciones) independientemente de las variaciones en el procesamiento (vitrificación y descongelación vs. vitrificación, descongelación y cultivo); sin embargo, el área de matriz extracelular de las muestras cultivadas 20 h es mayor con respecto a la del grupo control. Es necesario analizar estos parámetros en etapas de trasplante.

Palabras clave: oncofertilidad, criopreservación, estroma

¹DOI: 10.1007/s10815-017-0899-1

²DOI: 10.1530/REP-19-0501

³DOI: 10.1007/s43032-021-00716-x

240

Maternal high fat diet increases inhibin alpha but doesn't affect GLUT 9 in the testis of adult offspring in rats

Viotti, María Helen¹; Cavestany, Daniel²; Martin, Graeme³; Vickers, Mark⁴; Sloboda, Deborah^{5,6}; Pedrana, Graciela¹

¹Departamento de Biociencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

²Programa de Posgrado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

³School of Agriculture and Environment, Faculty of Science, and UWA Institute of Agriculture, University of Western Australia

⁴Liggins Institute, University of Auckland, Auckland

⁵Department of Biochemistry and Biomedical Sciences, Obstetrics and Gynecology and Pediatrics

⁶Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University

Maternal overnutrition with high fat diets increases the risks of obesity concomitant with glucose metabolism modifications as decreasing of glucose transporters (GLUT) and reproduction. However, the intrinsic mechanism nutritional high fat programming in the testis is not yet elucidated. Hence, hypothesized that glucose transporters GLUT 9 and inhibin hormone alterations will explain the reproductive consequences of high fat diets in the testis adult progeny. We fed pregnant Wistar rats (5 per group) *ad libitum* with a standard diet (Control; 17% kcal fat) or with high fat diet (HFat; 45% kcal fat) throughout both pregnancy and lactation. After weaning, male offspring (n=10 per group) were fed a standard diet until postnatal Day 160 when testes were dissected and processed for immunohistochemistry. The immunostaining area of inhibin alpha and GLUT 9 were measured. All data were reported as means \pm standard error of mean (SEM) with differences between groups analyzed by One-way ANOVA with the level of significance at $P < 0.05$. Inhibin was higher in the HFat group compared to control group ($6,4 \pm 0.3$ % versus $5,1 \pm 0.3$ %, $P < 0.01$). GLUT 9 immunostaining was detected in Sertoli, and germ cells at the seminiferous tubules but no differences were found in the total area of seminiferous tubules. In conclusion, maternal high fat diets affect inhibin production that decrease reproductive capacity in the adult's offspring, but glucose transport in the testis is not affected in this rat animal model.

Keywords: programming; reproduction; testis; inhibin, glucose

243

Efecto de la subnutrición durante la gestación y la lactación sobre la densidad radiológica, osteonal y de colágeno en el fémur en ratas macho de un año de edad

Duque, Martín¹; Cazzuli, Guillermo²; Herrera, Emiliano¹; Bielli, Alejandro¹; Genovese, Patricia¹

¹Unidad Académica de Histología y Embriología, Departamento de Biociencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

²Unidad Académica de Imagenología, Laboratorio de Análisis Clínicos y Endocrinología Metabolismo Animal, Departamento de Clínicas y Hospital Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de la subnutrición durante la gestación y la lactación sobre el desarrollo del fémur en ratas macho adultas. Ratas Wistar hembras primíparas fueron asignadas al azar a dos grupos: tratado (GT, n=11) y control (GC, n=9). El GC se alimentó *ad libitum* durante todo el experimento.

Durante la lactación cada madre mantuvo camadas de 8 crías. El GT se alimentó a 50% del consumo *ad libitum* durante la gestación. Luego del parto las madres GT no tuvieron restricciones alimentarias, pero mantuvieron camadas de 14 crías en lactación. A los 25 días de vida todas las crías machos fueron destetadas y mantenidas sin restricciones de alimento o agua. A los 365 días de vida, pesamos las crías machos y las sacrificamos. Los fémures izquierdos fueron pesados. Se analizó las muestras radiológica e histológicamente (van Gieson). Resultados (GC vs GT): peso materno final (g) $273,74 \pm 6,13$ vs $231,36 \pm 5,18^{***}$, peso crías a la eutanasia (g) $592,72 \pm 11,46$ vs $531,68 \pm 9,68^{***}$, peso fémur (g) $1,95 \pm 0,06$ vs $1,68 \pm 0,05^{***}$, densidad radiológica de hueso compacto $189,81 \pm 3,2$ vs $158,58 \pm 2,71^{***}$, densidad de osteonas en tejido compacto anterior (por imagen corregida) $32,0 \pm 1,23$ vs $28,42 \pm 1,04^*$ y posterior $27,80 \pm 0,98$ vs $24,28 \pm 0,83^*$, volumen porcentual (%) ocupado por colágeno anterior $96,68 \pm 0,41$ vs $96,90 \pm 0,34$ (n.s.) y posterior $97,11 \pm 0,69$ vs $96,22 \pm 0,58$ (n.s.). En suma, bajo nuestras condiciones experimentales, la subnutrición en etapas tempranas afecta la densidad radiológica y osteonal del tejido óseo compacto en ratas de un año de edad, pero no afecta la densidad (volumen porcentual) del colágeno en el tejido óseo compacto femoral.

Palabras clave: Subnutrición, Fémur, Densidad, Colágeno, Osteona



253

La concentración de IGF1 sérico y la expresión de su receptor en células testiculares son menos abundantes en ratas de 40 días de edad que fueran subnutridas en la segunda mitad de la gestación que aquellas subnutridas durante la primera mitad

Herrera, Emiliano¹; Fernández, Andrea²; Duque, Martín¹; Bielli, Alejandro¹; Genovese, Patricia¹

¹Unidad Académica de Histología y Embriología, Departamento de Biociencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

²Unidad Académica de Imagenología y Laboratorio de Análisis Clínicos y Endocrinología y Metabolismo Animal, Departamento de Clínicas y Hospital Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de la subnutrición (45% del consumo *ad libitum*) durante la gestación sobre la concentración sérica de IGF1 y su receptor a nivel testicular. Asignamos al azar ratas Wistar primíparas a cuatro grupos: control (CCC, n=3), subnutrido en 1era mitad de gestación (TCC, n=5), subnutrido en 2a mitad (CTC, n=5) y subnutrido durante toda la gestación (TTC, n=5). Luego del parto, crías y madres consumieron *ad libitum*. A los 40 días de vida eutanasiamos y muestreamos las crías macho, registramos peso corporal y testicular, y concentración de IGF1 sérico.

Calculamos el índice de positividad (IP) en células de Leydig, mioides y de Sertoli (inmunohistoquímica anti-IGF1R en cortes histológicos de testículo), el diámetro de los túbulos seminíferos (DTS), su volumen absoluto (VATS) y el número de células de Sertoli/testículo (NST). Resultados (CCC; TCC; CTC; vs TTC): peso crías a la eutanasia (g) 207,2±6,8a; 182,3±8,8b 164,7±5,3c vs 152,3±9,6c, peso testicular (g) 0,66±0,04a; 0,60±0,05ab; 0,53±0,02b vs 0,42±0,09c, IGF1 sérico 604,9±100,2ab; 627,4±112,9a; 430,2±109,8bc vs 404,4±73,8c, IPLeydig 2,24±0,05a; 1,82±0,12b; 1,97±0,86ab vs 1,83±0,08b, IPmioides 0,86±0,06a; 0,80±0,03a; 0,86±0,12a vs 1,08±0,09b, IPSertoli 1,02±0,05; 1,09±0,41; 1,18±0,21 vs 0,83±0,51(n.s.) DTS 418,8±19,7a; 389,2±15,2ab; 413,1±16,2a vs 368,2±29,0b VATS 866,9±13,6a; 710,2±54,2b; 680,4±33,8b vs 560,9±53,8c y NST 12,6±0,7a; 13,9±0,7a; 10,1±0,9b vs 10,1±1,1b. En suma, bajo nuestras condiciones experimentales, la subnutrición de segunda mitad de gestación afecta la concentración sérica de IGF1, la expresión de su receptor en células de Leydig y mioides así como el diámetro y volumen de los túbulos seminíferos y el número de células de Sertoli.

Palabras clave: Programación fetal, Subnutrición, IGF-1, Testículo

255

La concentración de IGF1 sérico y la expresión de su receptor IGF1R en células de Leydig y mioides (pero no de Sertoli) se correlaciona con el peso corporal y testicular, y número de células de Sertoli en ratas de 40 días de edad que fueran subnutridas en distintas etapas de la gestación

Herrera, Emiliano¹; Duque, Martín¹; Fernández, Andrea²; Bielli, Alejandro¹; Genovese, Patricia¹

¹Unidad Académica de Histología y Embriología, Departamento de Biociencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

²Unidad Académica de Imagenología y Laboratorio de Análisis Clínicos y Endocrinología y Metabolismo Animal, Departamento de Clínicas y Hospital Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República

Nuestro objetivo fue estudiar las posibles correlaciones del IGF1 sérico ([IGF1]) y su receptor IGF1R a nivel testicular en ratas sometidas a subnutrición en distintas etapas de su vida intrauterina (ver Herrera y col. en este mismo congreso). Asignamos al azar ratas Wistar primíparas a cuatro grupos subnutridos (45 % del consumo *ad libitum*): control (CCC, n=3), subnutrido en 1era mitad de gestación (TCC, n=5), subnutrido en 2a mitad (CTC, n=5) o durante toda la gestación (TTC, n=5). Luego del parto, crías y madres consumieron *ad libitum*. Eutanasiamos y muestreamos las crías macho (40 días de vida), registramos peso corporal y testicular, y determinamos [IGF1]. Calculamos el índice de positividad (IP) en células de Leydig, mioides y de Sertoli (inmunohistoquímica antiIGF1R), el diámetro de los túbulos seminíferos (DTS), su volumen absoluto (VATS) y el número de células de Sertoli/testículo (NST). La [IGF1] se correlacionó (r; p) con peso corporal (0,74***), peso testicular (0,69**), IPLeydig (0,40; p=0,12), IPmioides (-0,40; p=0,13), IPSertoli (-0,22; p=0,4n.s.), VATS (0,58*), NST (0,73***). El IPLeydig se correlacionó con peso corporal (0,65**), peso testicular (0,51*), DTS (0,64**), VATS (0,75***), pero no con NST (-0,51n.s.), el IPmioides se correlacionó con peso corporal (-0,47 p=0,06) y testicular (-0,62*), VATS (-0,47 p=0,07) y NST (-0,53*). El IPSertoli no se correlacionó con ninguna variable estudiada. En suma, la [IGF1] y la expresión de su receptor en células de Leydig

y mioides se correlaciona en forma compleja (que pensamos investigar a futuro) con el tamaño corporal y con la estructura histológica testicular.

Palabras clave: Programación fetal, Subnutrición, IGF-1, Testículo

310

Caracterización molecular de la diferenciación ovárica en el esturión siberiano

Lasalle, André¹; Benech-Correa, Germán¹; Vizziano-Cantonnet Denise¹

¹Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los factores que controlan la diferenciación sexual de esturiones no son bien conocidos. La posibilidad de sexar peces a nivel de ADN permite estudiar las bases moleculares del programa ovárico durante el período de diferenciación molecular del sexo (3,5 meses; 5 meses; 6 meses). Seleccionamos 16 genes candidatos para realizar estudios de qPCR: 1.- relacionados con la esteroidogénesis (*star*, *cyp11a*, *hsd3b1*, *cyp17a1*, *hsd17b3*, *cyp19a1*, *hsd17b1*); 2.- factores de transcripción (*foxl2*, *foxl3*, *irx3*, *irx5*, *lhx2*); 3.- el gen *fst*; 4.- la vía *rspo1-wnt4-ctnnb1*. Se estudió el efecto in vivo del estradiol tras 12h de tratamiento sobre 6 genes relevantes. Entre los genes estudiados sólo los relacionados con la regulación y producción de estrógenos resultaron sexo dimórficos, con niveles significativamente mayores en futuros ovarios a los 3,5 meses de edad (*cyp19a1*; *foxl2*, *hsd17b1*). A los 5 y 6 meses de edad, *cyp19a1* pierde su expresión dimórfica, *foxl2* y *hsd17b1* mantienen niveles superiores en futuros ovarios. Los demás genes no presentaron dimorfismo sexual, excepto *irx3* (5 meses). *hsd17b1* no se expresa o tiene una expresión muy baja en las futuros testículos entre los 3,5 y 6 meses, sugiriendo un papel clave en la regulación de los niveles de estradiol-17beta en la diferenciación ovárica. Los tratamientos con estradiol-17beta mostraron estimulación sólo para el gen *foxl2*. En conclusión, los esturiones comparten sólo tres genes implicados en la diferenciación ovárica con los peces teleosteos, y *hsd17b1* parece ser un gen clave que controla los niveles de producción de estrógenos en etapas iniciales de la diferenciación gonadal.

Palabras clave: Diferenciación del sexo, esturión Siberiano, qPCR

311

GSDF es el único gen masculino sobreexpresado durante el período de diferenciación molecular del esturión siberiano

Benech-Correa Germán¹; Lasalle André¹; Vizziano-Cantonnet Denise¹

¹Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Los factores que controlan la diferenciación sexual masculina en esturiones no han sido identificados. A partir del transcriptoma gonadal generado por el laboratorio, fueron estudiados diez peces comprendidos dentro del período de diferenciación molecular del esturión siberiano (de los 3 a los 6 meses). Seis de esos peces tenían 5 y 6 meses de edad. De ellos, dos animales fueron identificados como hembras al presentar sobreexpresión de tres genes femeninos (*cyp19a1*, *foxl2*, and *hsd17b1*), mientras que en los otros cuatro peces estos genes estaban reprimidos. Estos animales mostraron la activación de un contig específico que luego fue validado como homólogo a *gsdf* de otros peces. Sin embargo, la falta de un marcador del sexo dificultó la obtención de conclusiones al realizar estudios de qPCR para *gsdf*, *cyp19a1*, *foxl2* y *hsd17b1* utilizando individuos de 3, 4, 5, y 6 meses (n=30 por edad). Recientemente, la posibilidad de sexar ejemplares indiferenciados permitió estudiar los genes implicados en la diferenciación testicular de individuos sexados de 3,5, 5 y 6 meses (n=18, n=19, and n=13 respectivamente). Los genes seleccionados fueron: *gsdf*, *amh*, *dmrt1*, *sox9*, *dhh*, *tbx1*, *tbx2* y *cyp11c*. Únicamente *gsdf* mostró expresión sexodimórfica, activado (p<0,01) en gónadas de futuros machos a los 5 meses. Los resultados coinciden con los obtenidos utilizando el transcriptoma gonadal. En resumen, *gsdf* es el único gen que muestra activación durante la diferenciación testicular en esturión siberiano. Se necesitan más estudios para explorar la función y la localización celular de *gsdf* durante la diferenciación testicular en esturión siberiano.



BIOCIENCIAS

II Jornadas Binacionales Argentina Uruguay
III Congreso Nacional 2022
"Ciencia para el desarrollo sustentable"

INDICE

AUSPICIOS INSTITUCIONALES Y ACADÉMICOS	página 2
PROGRAMA	página 4
AUTORIDADES	página 10
MENSAJE DE BIENVENIDA	página 11
CONFERENCIAS	página 12
MESAS	página 19
1#. MESA ALIMENTOS VIVOS Y BEBIDAS FERMENTADAS • ORGANIZA SUM	página 20
2#. MESA ASOCIACIÓN DE TERAPIA GÉNICA Y CELULAR DEL URUGUAY	página 23
3#. MESA SOCIEDAD DE NEUROCIENCIAS DEL URUGUAY	página 24
MESA I • INVESTIGACIÓN EN NEUROCIENCIA COGNITIVA EN BASE A HERRAMIENTAS NEUROIMAGENOLÓGICAS Y ELECTROFISIOLÓGICAS	página 24
MESA II • BASE NEURAL DE LA EMISIÓN DE SEÑALES COMUNICATIVAS SOCIALES: DE LA NATURALEZA AL LABORATORIO	página 26
MESA II • MESA DE DOCTORADOS	página 27
MESA IV • VUELTA A CASA IBRO	página 30
MESA V • NEUROPLASTICIDAD: DE LAS MOLÉCULAS AL COMPORTAMIENTO	página 33
MESA VI: PRESENTACIONES ORALES SELECCIONADAS DE ESTUDIANTES	página 35
4#. MESA QUIMICA MEDICINAL	página 39
5#. MESA LOS RADIOTRAZADORES COMO HERRAMIENTA EN LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE POTENCIALES AGENTES TERAPÉUTICOS	página 43
6#. MESA METABOLISMO Y BIOQUIMICA CELULAR • ORGANIZA SBBM	página 45
7#. MESA BIOINFORMÁTICA: UN ÁREA TRANSVERSAL A VARIAS DISCIPLINAS • ORGANIZA SBBM	página 47
8#. MESA APLICACIONES DE LA PROTEÓMICA • ORGANIZA SBBM	página 50
9#. MESA BIOLOGIA DEL CANCER • ORGANIZA SBBM-SUG	página 52
10#. MESA EDICION GENOMICA DE LOS CULTIVOS • ORGANIZA SBBM	página 53
11#. MESA RECEPTORES DE MEMBRANA • ORGANIZAN SBF – SBBM – SNU	página 55
12#. MESA USINA CODIGOS DE BARRA DE LA VIDA • ORGANIZA SUG SIMPOSIO: USINA DE CÓDIGOS DE BARRA DE LA VIDA- URUGUAY	página 58
13#. MESA SUG SOCIEDAD URUGUAYA DE GENETICA CONFERENCIA	página 62
14#. MESA ESTUDIANTES SNU	página 65
15#. MESA CITOESQUELETO Y POLARIDAD CELULAR LISTO • ORGANIZA SUMI	página 68
16#. MESA PUSHING ULTRASOUND IMAGING TO THE LIMITS OF SPATIO-TEMPORAL RESOLUTION: ULTRASOUND LOCALIZATION MICROSCOPY • ORGANIZA SUMI	página 70
17#. MESA UNA MIRADA AL FUTURO DE LA MICROSCOPIA OPTICA • ORGANIZA SUMI	página 72
18#. MESA AVANCES EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN	página 75
19#. MESA INGENIERIA BIOMEDICA SIMPOSIO: INGENIERÍA BIOMÉDICA E INFORMÁTICA MÉDICA YA NO SE DISTINGUEN EN EL INTERNET DE LAS COSAS APLICADA A LA MEDICINA	página 76
20#. MESA CIENCIAS DEL MAR II SIMPOSIO CIENCIAS DEL MAR	página 78
21#. MESA AREA BIOTECNOLOGIA • ORGANIZA SUM	página 86
22#. MESA AREA SALUD • ORGANIZA SUM	página 88
23#. MESA AREA BASICA • ORGANIZA SUM	página 90
24#. MESA AREA AMBIENTAL • ORGANIZA SUM	página 92
25#. MESA LIMNOUY	página 94
26#. MESA LA INVESTIGACIÓN ANTÁRTICA EN EL URUGUAY	página 94
AREAS TEMATICAS	página 97
BIOFISICA	página 98
BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR	página 100
CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA	página 144
ECOLOGÍA	página 147
GENÉTICA	página 149
INGENIERÍA BIOMÉDICA	página 159
INMUNOLOGÍA	página 161
MICROBIOLOGÍA	página 167
MICROSCOPIA E IMAGENOLOGÍA	página 203
NEUROCIENCIAS	página 209
QUÍMICA MEDICINAL	página 236
REPRODUCCIÓN	página 245