

Libro de resúmenes

Sociedad Argentina de Protozoología

Autoridades

Presidente: Dr. Alejandro G. Schijman

Vicepresidente: Dra. Silvina Wilkowsky

Secretaria: Dra. Gabriela A. García

Prosecretaria: Dra. Karina A. Gómez

Tesorero: Dr. Guillermo Daniel Alonso

Protesorero: Dra. Silvia Fernández Villamil

Vocales Titulares: Dra. Silvia Longhi y Dr. Claudio Pereira

Vocal suplente: Dr. Juan Mucci y Dra. Alejandra Schoijet



UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL LITORAL
SANTA FE ARGENTINA



XXVIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología y Enfermedades Parasitarias

SIMPOSIO Internacional de Biología Celular y Molecular de la Enfermedad de Chagas

Noviembre 26, 27 y 28 de 2016 - Hotel UNL-ATE – Ciudad de Santa Fe

Comité Científico:

Pte. Dr. Sergio Guerrero

Colaboradores: Dr. Oscar Botasso, Dra. Ana Rosa Perez, Dr. Iván Marcipar, Dr. Diego Arias, Dr. Ivan Bontempi, Dra. Luz Rodeles, Dr Miguel Vicco

Comité Organizador:

Pte. Dr. Ivan Marcipar

Colaboradores: Dr. Iván Bontempi, Dr. Sergio González, Dr. Sergio Guerrero, Dr. Gabriel Cabrera, Dra. Diana Fabbro, Dr. Diego Mendicino.

cepas TcIV fueron equidistantes del resto. Se logró identificar SNPs característicos de cada agrupamiento a partir de los cuales se podrá clasificar las secuencias satélite como tipo TcI/III, TcII, TcIV, o híbridos (TcV/VI). Los resultados de este trabajo permitirán tipificar muestras de pacientes crónicos con bajas cargas parasitarias y mejorar los métodos de diagnóstico molecular de *T. cruzi* basados en ADN satélite. A su vez, las relaciones filogenéticas encontradas aportan evidencias que contribuirán al estudio de la historia evolutiva de las diferentes UDTs.

36 - EVIDENCIAS DE LA EXPRESIÓN DE LA ENZIMA DIHIDROXIACETONA QUINASA (DAK) EN *Trypanosoma cruzi*

Patricia Andrea Garavaglia⁽¹⁾, Laura M. Tasso⁽²⁾, Guillermo Eastman⁽³⁾, José R. Sotelo-Silveira⁽⁴⁾, Gabriela A. García⁽⁵⁾, Joaquín J.B. Cannata⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾INP. ⁽³⁾ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ⁽⁴⁾ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ⁽⁶⁾ IIB-UNSAM.

E-mail: pato_garavaglia@hotmail.com

Las dihidroxiacetonas quinazas (DAKs) son enzimas que catalizan la fosforilación de la dihidroxiacetona (DHA). Si bien la DHA puede ser utilizada como fuente de carbono por distintos organismos, al alcanzar ciertos niveles presenta toxicidad. *Trypanosoma brucei* carece del gen que codifica para la DAK y por lo tanto, la DHA es tóxica para este parásito. Por el contrario, en la base de datos de *Trypanosoma cruzi* hay dos secuencias que codifican para probables TcDAKs, TcCLB.507011.200 y TcCLB.503983.20. Estudios de RNASeq y "ribosome profiling" indican que ambos genes se transcriben y traducen en los estadios epimastigote (E) y tripomastigote metacíclico TM, encontrándose una disminución, tanto en la transcripción como en la traducción, al pasar de E a TM. Ambos genes reducen su eficiencia traduccional en un 50% en el cambio de estadio. Se evaluó la actividad de TcDAK en la fracción soluble de epimastigotes de *T. cruzi* con DHA y ATP como sustratos y midiendo la oxidación de NADH en una reacción acoplada con glicerol 3-fosfato dehidrogenasa. La actividad

específica de TcDAK fue de 38.3 nmoles NADH/min/mg. A fin de evaluar el efecto de la DHA en el crecimiento de *T. cruzi* se cultivaron epimastigotes en presencia de DHA durante 72 hs. Con DHA 1 y 2 mM no se observaron cambios en las tasas de crecimiento, mientras que con DHA 4 mM se produjo una disminución del 20 % del crecimiento con respecto al control. Contrariamente, se observó una inhibición del 100 % del crecimiento de promastigotes de *T. brucei* luego de 48 hs de cultivo con DHA 1 mM. Dado que la expresión de ciertas DAKs se incrementa en situaciones de estrés celular, se evaluó la actividad de TcDAK luego de someter a los epimastigotes a situaciones de estrés oxidativo (H₂O₂ 100 µM) o hiperosmótico (CINa 0,1 y 1 M). El tratamiento de los parásitos con H₂O₂ durante 1h indujo un incremento de 2.4 veces de la actividad de TcDAK. Por otro lado, el tratamiento con CINa provocó un descenso de la actividad de TcDAK a los 30 minutos seguido de un aumento significativo a los 60 minutos. La DHA provendría del medio externo o a partir del glicerol metabolizado por la TcAKR. Los resultados obtenidos indican que *T. cruzi* tiene una DAK activa que le permite metabolizar la DHA. Su mayor expresión en el estadio epimastigote y en condiciones de stress podría relacionarse con las condiciones en el intestino del insecto vector en relación a la fuente de carbono disponible, la osmolaridad y la disponibilidad de oxígeno.

37 - CARACTERIZACION MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE *Trypanosoma cruzi* DE PACIENTES EN ENSAYOS CLINICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Mary C Torrico⁽²⁾, Priscilla A da Costa⁽³⁾, Soraia de O Silva⁽⁴⁾, Alejandro F Benatar⁽⁵⁾, Anabelle de la Barra⁽⁶⁾, Rudy Parrado⁽⁷⁾, Lineth García⁽⁸⁾, Faustino Torrico⁽⁹⁾, Andrea M Macedo⁽¹⁰⁾, Isabela Ribeiro⁽¹¹⁾, Alejandro G Schijman⁽¹²⁾

⁽¹⁾⁽⁵⁾⁽¹²⁾(INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia. ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽¹⁰⁾Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. ⁽⁹⁾Fundación CEADES, Cochabamba, Bolivia. ⁽¹¹⁾Drug for Neglected

Diseases initiative (DNDi), Ginebra, Suiza.
juankrg@yahoo.es

Las poblaciones naturales de *Trypanosoma cruzi* han sido clasificadas en seis Unidades Discretas de Tipificación (UDTs, TcI-TcVI), asociadas con diferente distribución geográfica y ciclos de transmisión. Se ha observado que esta diversidad genética de *T. cruzi* podría estar implicada en su respuesta diferencial a drogas tripanocidas. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar el polimorfismo genético de aislamientos de *T. cruzi* de pacientes crónicos enrolados en ensayos clínicos de la enfermedad de Chagas. Se obtuvieron 46 hemocultivos de igual número de pacientes con la enfermedad de Chagas crónica residentes en Bolivia: 21 de muestras del ensayo clínico E1224 colectadas 10 meses post-tratamiento (6 del grupo placebo y 15 de pacientes tratados con diferentes dosis de ravuconazol), 7 de muestras colectadas durante el tamizaje del ensayo clínico Fexinidazol recién finalizado, y 18 pertenecientes a pacientes del estudio EpiNet que no recibieron tratamiento. Luego de obtenido, el ADN genómico de cada aislamiento fue analizado mediante: 1) amplificación y secuenciación de ADN satélite; 2) determinación del perfil de PCR-RFLP de la región hipervariable del ADN de minicírculo; 3) identificación de UDTs por PCR Multiplex en Tiempo Real con sondas Taqman; y 4) determinación de haplotipos por análisis de loci microsatélites. Los experimentos de secuenciación de ADN satélite y PCR-RFLP de ADN de kinetoplasto aún se encuentran en estudio pero los resultados de la tipificación por PCR Multiplex indican la presencia de TcV en 45 de los 46 aislamientos, mientras que el hemocultivo restante fue identificado como TcII y corresponde a un paciente del grupo placebo del estudio E1224. Por su parte, el análisis de seis loci microsatélites sugiere la presencia de un único clon de *T. cruzi* en cada uno de los aislamientos y la misma cepa en todos los hemocultivos TcV. Estos hallazgos revelan la elevada prevalencia de esta cepa TcV en la región en donde fueron realizados estos estudios y su persistencia en pacientes refractarios al tratamiento con ravuconazol. Queda pendiente conocer la respuesta de los pacientes tratados con fexinidazol cuando se abran los códigos de este estudio. Si bien no contamos con hemocultivos de antes y después del tratamiento

para un mismo paciente, el hecho que se trate de la misma cepa TcV nos permite hipotetizar que el tratamiento con ravuconazol no indujo selección de poblaciones parasitarias.

38 - IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL PRIMER TRANSPORTADOR DE PANTOTENATO (TcPPT1) EN *Trypanosoma cruzi*

Laura Fraccaroli, M Daniela Ruiz, Darío E Balcazar, Luciana Larocca, Fabiana Stolowicz, Pablo S Torres, Carolina Carrillo

ICT Milstein - CONICET. E-mail: lalyfra@gmail.com

La enfermedad de Chagas es una parasitosis endémica en América Latina causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Las terapias actuales son altamente tóxicas y de limitada eficacia por lo que existe una necesidad de identificar blancos para el desarrollo de nuevas terapias tripanocidas. Las vitaminas son micronutrientes esenciales para todas las células vivas; muchos organismos las sintetizan de novo mientras que otros las obtienen del medio a través de transportadores específicos. Evidencias del transporte de riboflavina (vitamina B2) y sus efectos en la biología de *T. cruzi* fueron reportados previamente por nuestro grupo de trabajo. El pantotenato (vitamina B5) es precursor de la coenzima A, involucrada en numerosas reacciones celulares esenciales. Análisis bioinformáticos sugieren que *T. cruzi* no sintetiza pantotenato de novo. Dada su relevancia en distintos tipos celulares, el objetivo del trabajo fue determinar el rol del pantotenato en *T. cruzi* e identificar sus potenciales transportadores. La tasa de proliferación de epimastigotes de *T. cruzi* de la cepa Y, evaluada por curvas de crecimiento y MTT, fue significativamente disminuida en medios de cultivo en ausencia o con baja concentración de pantotenato. Este efecto antiproliferativo fue revertido con el agregado de pantotenato en forma dependiente de la concentración. En contrapartida, el efecto proliferativo de pantotenato no fue observado en otros tripanosomátidos como *T. brucei*, *L. mexicana* y *C. fasciculata*. A través de análisis in silico, identificamos un potencial transportador de pantotenato (TcPPT1) que presenta