

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.

AR-SE23C. En contraste, la expresión de TcOYE, asociada anteriormente en otros estudios a la susceptibilidad de *T. cruzi* a BZ, estuvo 2.5 veces incrementada en el aislamiento ARSE-23C respecto del aislamiento BOL-FC10A. Conclusión Los resultados de este trabajo confirman que el patrón de expresión de proteínas antioxidantes de subpoblaciones de *T. cruzi* TcV se asocia al perfil de susceptibilidad al BZ in vitro. Financiado por PICT 2013-2828.

31 - EL SILENCIAMIENTO DE TBRRM1 PRODUCE FENOTIPOS ANORMALES Y MUERTE CELULAR EN EL ESTADIO SANGUÍNEO DE TRYPANOSOMA BRUCEI

Analía G Níttolo, Carolina P Bañuelos, Daniel O Sánchez, Gabriela V Levy

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-UNSAM). E-mail: analianittolo@gmail.com

Dado que la transcripción en tripanosomátidos es policistronica, la regulación de la expresión génica en estos organismos se da principalmente a nivel post-transcripcional mediante proteínas de unión a RNA. Nuestra proteína de estudio, TbRRM1 presenta tres dominios RRM de unión a RNA y forma parte del grupo de proteínas SR-relacionadas. Previamente hemos demostrado que TbRRM1 es esencial para la sobrevivencia de *T. brucei* en el estadio procíclico (PF) ya que su silenciamiento produce bloqueo del ciclo celular, alteraciones morfológicas con aparición del fenotipo nozzle y muerte de los parásitos por apoptosis. En este trabajo evaluamos los efectos de la depleción de la proteína TbRRM1 en el estadio sanguíneo del parásito (BSF) mediante la técnica de RNAi. Los resultados demostraron que al igual que en PF, TbRRM1 resulta esencial ya que su silenciamiento produce una disminución de la curva de crecimiento de los parásitos luego del agregado de tetraciclina. Los estudios de la configuración de núcleos (N) y kinetoplastos (K) en parásitos BSF permitieron determinar que la depleción de TbRRM1 produce un ligero aumento de la población que presenta 1N1K y una acumulación de parásitos con configuraciones aberrantes. Sorprendentemente, también observamos el desprendimiento y alargamiento del flagelo luego de la inducción del RNAi, lo que sugiere alteraciones en la zona de anclaje, crucial

para la determinación del largo y de la forma del parásito. Por otro lado, los niveles de los mRNA de TbNOP86, SUMO1/Ulp2 y la proteína 60S ribosomal L38 se encontraron levemente disminuidos, mientras que en PF los niveles de estos transcritos fueron los más afectados luego del silenciamiento de TbRRM1. Estos resultados indican que la proteína TbRRM1 cumpliría roles diferentes en ambos estadios de *T. brucei*, y contribuyen a entender mejor la complejidad de la biología de este tipo de parásitos.

32 - EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE WEE1 DE TRYPANOSOMA BRUCEI EN LEISHMANIA TARENTOLAE

Diana P Wehrendt⁽¹⁾, Mariana Bonilla⁽²⁾, Marcelo Comini⁽³⁾, M Teresa Téllez-Iñón⁽⁴⁾, Mariana Potenza⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾INGEBI. ⁽²⁾⁽³⁾Instituto Pasteur de Montevideo.

E-mail: dwehrendt@gmail.com

La proteína Wee1 es una quinasa de tirosina involucrada en la regulación de la transición G2/M del ciclo celular eucariota. En nuestro laboratorio se caracterizó la proteína quinasa Wee1 de *Trypanosoma brucei* (TbWee1) necesaria para la progresión del ciclo celular y el crecimiento de los parásitos (Boynak et al, 2013). El objetivo de nuestro trabajo es expresar la proteína TbWee1 recombinante en su forma activa para realizar estudios de función e identificar sus putativos sustratos. Dado que la expresión de TbWee1 en un sistema procariota produce una proteína insoluble e inactiva, se decidió utilizar el sistema de expresión de *Leishmania tarentolae*. Al igual que *T. brucei*, *L. tarentolae* pertenece a la familia de tripanosomátidos y posee la maquinaria de modificación post-traducciona eucariota. Por otra parte *L. tarentolae* no es patogénica para humanos, de fácil manipulación y de bajo costo de cultivo. El sistema de *L. tarentolae* también permite una expresión inducible por tetraciclina, que es especialmente útil cuando la sobreexpresión de la proteína de interés resulta tóxica. Otra ventaja es que el vector tiene acoplada la co-expresión de la proteína fluorescente m-cherry junto con la proteína de interés, que facilita la selección de clones positivos. Una mayor expresión de m-cherry

correlaciona con una mayor expresión de la proteína de interés. La proteína TbWee1 se clonó en el vector de expresión de *L. tarentolae* con una etiqueta de Histidina para facilitar la detección con anticuerpos y la purificación. Los parásitos fueron transfectados exitosamente por electroporación e inducidos con tetraciclina por 24, 48 y 72 h para evaluar la expresión. Esto se realizó midiendo la fluorescencia de m-cherry en un espectrofotómetro. Resultados preliminares mostraron un aumento de fluorescencia en los parásitos inducidos respecto al control no inducido. Además se detectó una disminución de la expresión a las 72 h post-inducción. Por microscopía de fluorescencia se observó que dentro de la población transfectada se encuentran parásitos que expresan distintos niveles de m-cherry. Para enriquecer la población en parásitos de alta expresión se realizaron diluciones seriadas de los mismos. Empleando ensayos de western blot e inmunofluorescencia con el anticuerpo anti Histidina se tratará de corroborar la expresión de TbWee1 en estos parásitos. Experimentos posteriores se realizarán para determinar la actividad enzimática de TbWee1. Financiación: CONICET y ANPCyT.

33 - LA INVASIÓN POR *Trypanosoma cruzi*, EN CARDIOMIOCITOS HL-1, GENERA ESTRÉS OXIDATIVO Y ACTIVACIÓN DEL METABOLISMO DE POLÍMEROS DE ADP-RIBOSA

María L Kevorkian, Salomé C Vilchez Larrea, Silvia H Fernández Villamil

INGEBI - CONICET.: laurakevorkian@gmail.com

La Poli (ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP-1) es una enzima nuclear que puede activarse por rupturas en el ADN, vía ERK o aumentos en la concentración de Ca²⁺. Al activarse, sintetiza polímeros de ADP-ribosa (PAR) sobre diferentes proteínas blanco, los cuales son degradados por la Poli ADP-ribosa glicohidrolasa (PARG). PARP-1 está involucrada en la reparación del ADN frente al daño genotóxico, producido por agentes oxidativos, desafíos inmunológicos (LPS, IL-1) o la infección por patógenos. Ante una sobre-activación por daño excesivo, esta enzima puede conducir a la muerte celular o a la activación y persistencia de un proceso inflamatorio. El

metabolismo de PAR es un modulador de la vía de señalización de NFκB y, así, de la generación de citoquinas pro inflamatorias. Nuestro objetivo es estudiar el papel de PARP en el proceso inflamatorio que se establece como respuesta ante la invasión por *T. cruzi*, en cardiomiocitos HL-1 en cultivo. Se evaluó la generación de estrés oxidativo y la activación del metabolismo de PAR generado frente a la infección. Al estudiar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) nucleares y citoplasmáticas se detectaron sólo ROS nucleares a las 2 y 48 horas post infección. Paralelamente, se evidenció la activación del metabolismo de PAR nuclear, en HL-1, en el transcurso de la infección (1, 2, 4, 48 y 72 hs), observándose un aumento en la producción de PAR por inmunofluorescencia indirecta y Western Blot. Considerando que la perturbación del metabolismo de ADP-ribosa afecta a los niveles de infección y de PAR en células Vero, se evaluó el efecto de los inhibidores de PARP-1 (Olaparib) y PARG (DEA) sobre las células HL-1, infectadas por 72 hs. Con respecto al control, se evidenció un aumento en la producción de PAR nuclear y en los niveles de infección al tratarlas con DEA (1 μM), mientras que no se observaron cambios con Olaparib (50 nM). El nivel de infección se midió utilizando parásitos transgénicos que sobre expresan β galactosidasa. Mediante el uso del anticuerpo anti 8-oxo-dG, no se encontró daño genómico a los tiempos estudiados, por lo que se están evaluando otros métodos y condiciones, o considerando la posible activación de PARP por otras vías. Nuestros resultados son una primera aproximación a dilucidar el papel del metabolismo de PAR en la respuesta celular a la infección por *T. cruzi* en cardiomiocitos.

34 - EFECTO DE LA INFECCION EX VIVO DE T. CRUZI Y T. GONDII EN EXPLANTES DE PLACENTA PLACENTA HUMANA, CANINA Y OVINA

Ana Liempí⁽¹⁾, Christian Castillo⁽²⁾, Daniel Droguett⁽³⁾, Ileana Carrillo⁽⁴⁾, Javier Astudillo⁽⁵⁾, Rhonda Veas⁽⁶⁾, Lisvaneth Medina⁽⁷⁾, Norbel Galanti⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾ *Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.* ⁽⁶⁾ *Instituto Biología, Pontificia*