



**SOCIEDAD
DE BIOLOGIA
DE CHILE**
desde 1928



LVIII Reunión Anual

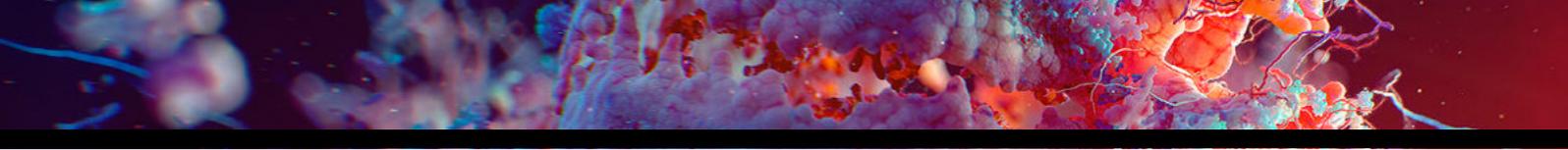
Sociedad de Biología de Chile

XIII Reunión Anual

Sociedad Chilena de Inmunología

23 al 25 DE NOVIEMBRE 2015
Hotel Patagónico-Puerto Varas

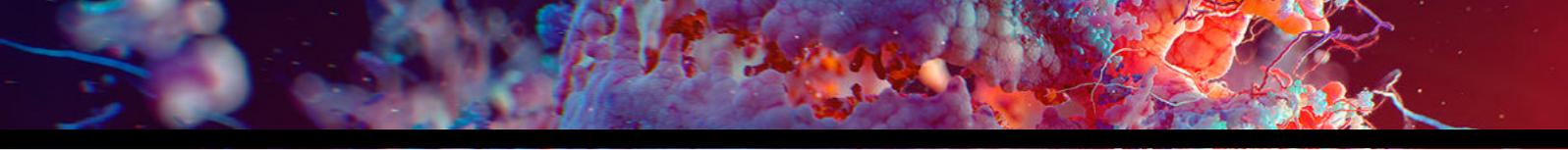
www.biologiachile.cl - www.sochin.cl



**LVIII REUNIÓN ANUAL
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE**

**XII REUNIÓN ANUAL
SOCIEDAD CHILENA DE INMUNOLOGÍA**

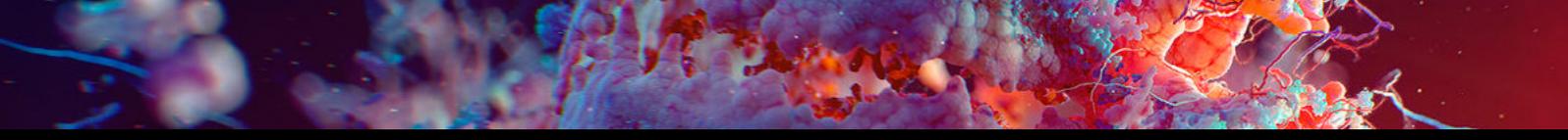
Hotel Patagónico. Puerto Varas
23 al 25 de Noviembre 2015



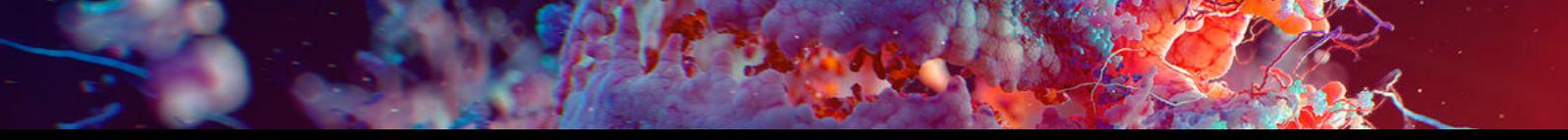
Auspiciadores

COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA Y BIOINGENIERIA-CEBIB, UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE
FUNDACIÓN CHILENA PARA LA BIOLOGIA CELULAR
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHILE

GENE X-PRESS
SAX SOLUCIONES ANALITICAS
BIOMED CENTRAL (BMC) SPRINGER OPEN



CONFERENCIAS



CONFERENCIA INAUGURAL

ROTAVIRUS INTERACTIONS WITH ITS HOST CELL: AN ARMS RACE.

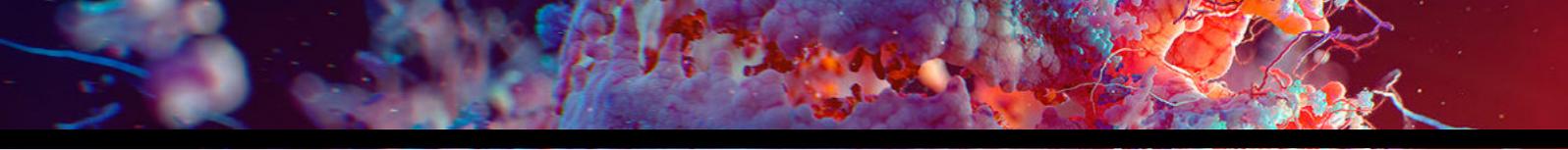
Lopez, S¹., ¹Instituto de Biotecnologia Universidad Nacional Autonoma de Mexico.

General stress responses and innate immune responses are intimately linked and interface at many levels. The outcomes of these responses serve to reprogram host expression patterns to prevent viral invasions. In turn, viruses counter attack these cell responses to ensure their replication. The mechanisms by which viruses attempt to control host cell responses are as varied as the number of different virus families.

Interestingly, the first step to control the antiviral response of the cell, and a very resorted solution used by several virus families is to hijack the translation machinery of the host, such that the translation of viral proteins is ensured, while the expression of the stress and antiviral responses of the cell are blocked at the translation level.

As in any other viral infection, rotaviruses the most important cause of acute gastroenteritis in childhood, trigger an antiviral response in their host cell. We are interested in learning how these viruses deal with the different branches of this response that are turned on upon infection. We have found that early on infection rotavirus induces a shut-off of the cell protein synthesis in which several cellular components of the translation machinery are compromised by the virus. Also, we have found that the OAS-RNase L system, which is one of the initial antiviral measures of the cell upon sensing dsRNA becomes disabled during rotavirus infection. In this seminar, I will present our recent advances in these topics.

This work was supported by grants IG200114 from DGAPA/UNAM and 153639 from CONACyT

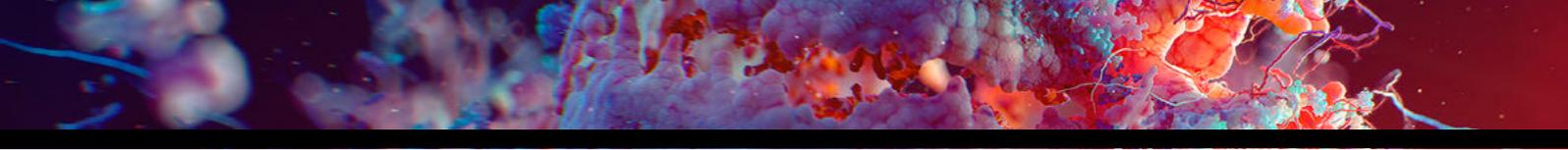


CONFERENCIA DR. HERMAN NIEMEYER

CÉLULAS DENDRÍTICAS, MEDIADORES DE SALUD Y ENFERMEDAD.

Bono, M¹., ¹Biología, Ciencias, Universidad de Chile.

Las células dendríticas son centrales en la respuesta inmune. Desde su descubrimiento los inmunólogos del mundo entero han dedicado gran cantidad de trabajo a la caracterización fenotípica y funcional de estas células. A pesar de la importancia que ellas tienen, en condiciones normales están escasamente representadas. Por ello se han generado diversas estrategias para estudiar esta importante subpoblación celular en estado basal, así como en diversas enfermedades. En esta conferencia discutiremos la función de las células dendríticas en el desarrollo de la respuesta inmune. En particular nos enfocaremos en la regulación de la respuesta inmune in vivo en modelos de enfermedades autoinmunes.



**CONFERENCIA
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE
PREMIO GRUPO BIOS**

SÍNTESIS MICROBIOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS FLUORESCENTES: MECANISMO MOLECULAR Y APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS.

Pérez-Donoso J.M. Laboratorio de BioNanotecnología y Microbiología, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB), Universidad Andres Bello.

Las Nanopartículas fluorescentes o Quantum Dots (QDs) son nanoestructuras semiconductoras utilizadas en diversas aplicaciones biotecnológicas e industriales (biomedicina, energías renovables y optoelectrónica). Están constituidas por CdS, CuS, CdTe, Ag₂S, o mezclas de ellos. Las propiedades únicas de los QDs se deben a su tamaño nanométrico, estructura y composición.

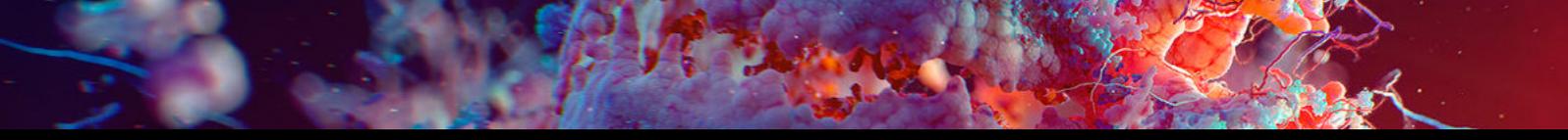
A la fecha se han descrito muchos protocolos de síntesis química de QDs, sin embargo los métodos biológicos han ganado importancia en los últimos años ya que son económicos, eco-amigables y generan QDs biocompatibles con propiedades únicas.

Las bases moleculares de la biosíntesis de QDs en microorganismos no han sido dilucidadas a la fecha. Sin embargo, nuestro grupo y otros han reportado la participación de proteínas y péptidos ricos en tioles, compuestos volátiles y del metabolismo del fosfato y del azufre en el proceso.

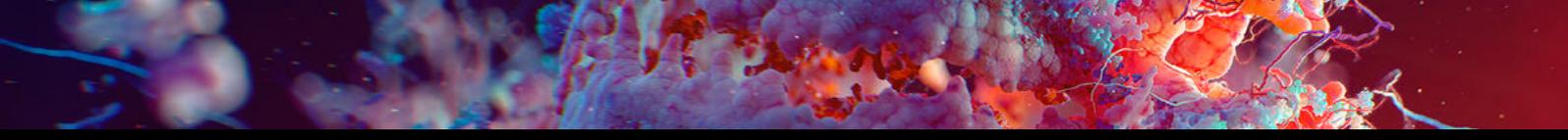
Nuestro laboratorio ha desarrollado varios métodos biológicos de síntesis de QDs utilizando bacterias de distintos ambientes extremos (desierto de Atacama, volcanes, salar de Uyuni y Antártica) y hemos determinado que estos microorganismos pueden sintetizar QDs con propiedades únicas asociadas a las características de su ambiente. De este modo hemos sintetizado por primera vez QDs a bajas temperaturas (bajo 15°C), tolerantes a pH o a altas concentraciones de sal, lo que aumenta las potenciales aplicaciones de estas nanoestructuras.

En relación a las aplicaciones, recientemente hemos demostrado el uso de QDs biológicos en celdas solares, la identificación de patógenos, inmunofluorescencia de células cancerígenas, seguimiento de metástasis, bioremediación de metales (Cu y Cd) y cuantificación de Cu⁺².

Agradecimientos: FONDECYT 1151255, INACH T-19_11 y ANILLO ACT 1107.



SIMPOSIOS



SIMPOSIO

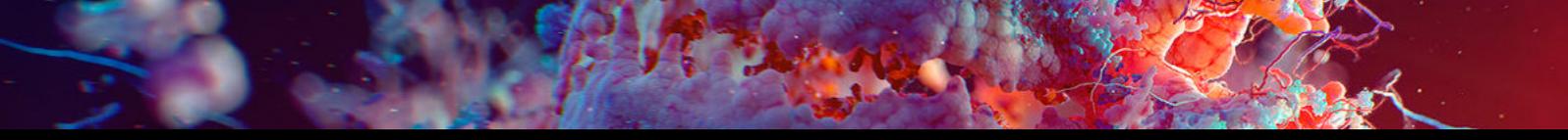
CENTRAL AND PERIPHERAL CHEMOREFLEXES AND ITS PIVOTAL ROLE IN PATHOPHYSIOLOGY: FINDING NEW AVENUES TO RESTORE CARDIORESPIRATORY FUNCTION

Coordinador: Rodrigo Del Rio

HIPERTENSION ARTERIAL: CUANDO ALGO OCURRE CON LA HOMEOSTASIS. (High blood pressure: – when homeostasis goes wrong)

Paton, J. F.R.¹, ¹School of Physiology, Pharmacology & Neuroscience University of Bristol. (Sponsored by Rodrigo Del Rio)

Most biological systems work best at optimal physiological conditions that are governed by feedback reflex mechanisms. Blood pressure, an essential physiological variable, is tightly controlled by both regulatory and defensive reflexes. Regulatory reflexes such as the baroreceptor reflex has active afferent firing at rest providing critical feedback to the brain to maintain blood pressure around a pre-determined “set-point”. In contrast, the peripheral chemoreceptor reflex is a defensive reflex whose afferents exhibit minimal activity at rest but are recruited into action when a potential threatening stimulus (e.g. hypoxia) occurs. Such afferent activation generates highly potent rises in blood pressure. I will describe evidence suggesting that a switch from the normal quiescent state to one of hyperactivity occurs within the carotid body chemoreceptors and undermines the aetiology of high blood pressure, and re-sets the baroreceptor reflex. By removing this afferent hyperactivity blood pressure is normalised in hypertensive animal models and humans. The hyperactivity is dependent on P2X3 receptor activation within the carotid body and their selective pharmacological blockade abolishes the pathological afferent hyperactivity but, importantly, preserves physiological function. Our work supports the carotid body and P2X3 receptors as novel targets for controlling human hypertension, which continues to be an escalating clinical problem.



CAROTID CHEMORECEPTOR DENERVATION IN INTERMITTENT HYPOXIA MIMICKING OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA.

Iturriaga, R.^{1.}, Andrade, D.^{1.}, Del Rio, R.^{2.},¹Neurobiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Laboratory of Cardiorespiratory Control, Center of Biomedical Research, Universidad Autónoma de Chile.

Oxidative stress, inflammation and sympathetic activation induced by chronic intermittent hypoxia (CIH), have been proposed as potential pathogenic mechanism in obstructive sleep apnea (OSA) induced hypertension. However, CIH enhances carotid body (CB) chemosensory discharges, which may play a crucial role in the generation of the hypertension and autonomic dysfunction. To study the causal CB contribution to the cardiorespiratory, autonomic alterations and the hypertension, we selectively eliminated the CBs once animals became hypertensive following CIH. Male Sprague-Dawley rats (200 g) were exposed to CIH (5% O₂, 12 times/h, 8 h/day). After 3 weeks, under isoflurane anesthesia, both CBs were cryogenically destroyed and rats were kept one more week in CIH. We measured arterial blood pressure (BP) by radiotelemetry, ventilatory hypoxic response (VHR) by plethysmography, cardiac baroreflex efficiency (BRS), heart rate variability (HRV), autonomic balance with atropine and propranolol, arrhythmia score, and systemic oxidative stress (TBARS). CIH increased BP (10 mm Hg) in 3-4 days, augmented VHR and arrhythmia score, reduced BRS, modified HRV and autonomic imbalance toward sympathetic predominance, and elicited systemic oxidative stress. CBs ablation normalized BP, VHR, BRS and arrhythmia score, reversed autonomic imbalance, but not systemic oxidative stress. Our results suggest that the CB plays a main role in the progression and maintenance of the CIH-induced hypertension and autonomic alterations, and suggest that CB denervation may be a new potential therapeutic tool against the hypertension induced by sleep apnea.

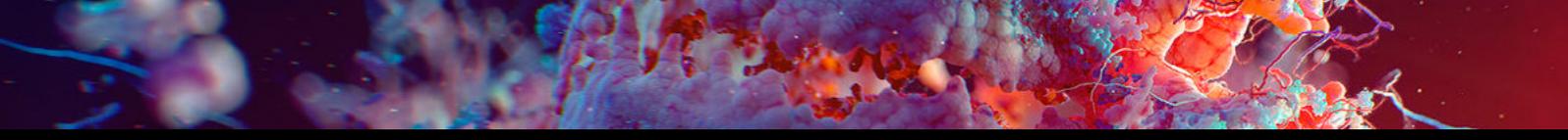
Fondecyt 1150040

RESPUESTAS VENTILATORIAS Y QUIMIOSENSORIALES CAROTIDEAS A LA HIPOXIA AGUDA SON REDUCIDAS POR EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON FENITOÍNA EN LA RATA. (Ventilatory and carotid chemosensory responses to acute hypoxia are reduced by chronic phenytoin treatment in the rat)

Alcayaga, J.^{1.}, Oyarce, M.P.^{2.}, Del Rio, R.^{3.}, Montero, P. G.^{1.}, Pino, G. N.^{1.}, Iturriaga, R.^{2.,1} Depto. Biología, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.² Depto. Ciencias Fisiológicas, Fac. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.³ Unidad de Control Cardiorrespiratorio, Centro de Investigación Biomédica, Universidad Autónoma de Chile.

En ratas, la ventilación es controlada por aferencias del cuerpo carotideo (CC), conducidas por neuronas sensoriales localizadas en el ganglio petroso. La conducción de potenciales de acción depende de las propiedades neuronales. Las neuronas petrosas presentan corriente de sodio persistente (I_{NaP}), cuyo bloqueo agudo reduce la descarga aferente y la ventilación basal, así como el aumento de ambas por estimulación hipóxica. Ya que fenitoína, un bloqueador de I_{NaP} , es un antiepiléptico de efectos crónicos ventilatorios desconocidos, estudiamos sus efectos sobre las respuestas ventilatorias y quimiosensoriales en la rata. En ratas Sprague-Dawley macho (192.2 ± 1.7 g), anestesiadas con isoflurano, se implantaron bombas osmóticas, conteniendo fenitoína o vehículo (suero fisiológico, 60%; DMSO, 40%); fenitoína diaria: 10 mg. Luego de 7-28 días de tratamiento crónico se midió ventilación basal y respuesta ventilatoria a 5 min de hipoxia (F_iO_2 7-15%) en un pletismógrafo corporal. En el mismo período, ratas anestesiadas (pentobarbital sódico, 60 mg/kg) se conectaron a un pneumotacógrafo para medir flujo aéreo y derivar volumen corriente (V_T); se canularon vena y arteria femoral para mantener anestesia y medir presión arterial (P_a), respectivamente. Se midió la frecuencia de descarga del nervio carotideo disponiéndolo sobre electrodos conectados a un amplificador y este a un contador. Al final del experimento los animales fueron eutanasiados con una sobredosis anestésica. Fenitoína produjo una reducción significativa de las respuestas quimiosensoriales y ventilatorias a la hipoxia aguda, por una reducción del aumento del V_T y la frecuencia respiratoria a la hipoxia, en animales anestesiados y despiertos, respectivamente. Nuestros resultados muestran que fenitoína crónica reduce las respuestas ventilatorias a la hipoxia y que a lo menos parte de este efecto radica en la reducción de la aferencia quimiosensorial.

Proyecto FONDECYT 1130177



DESORDENES AUTONOMICOS Y RESPIRATORIOS DURANTE INSUFICIENCIA CARDIACA DIASTOLICA: ROL DE QUIMIORRECEPTORES CENTRALES Y PERIFERICOS. (Autonomic disorders and respiratory distress in diastolic heart failure: role of peripheral vs. central chemoreceptors)

Del Rio, R.¹, Andrade , D.¹, Toledo, C.¹, Lucero , C.¹,¹Unidad de Control Cardiorrespiratorio Universidad Autónoma de Chile. (Sponsored by Rodrigo Del Rio)

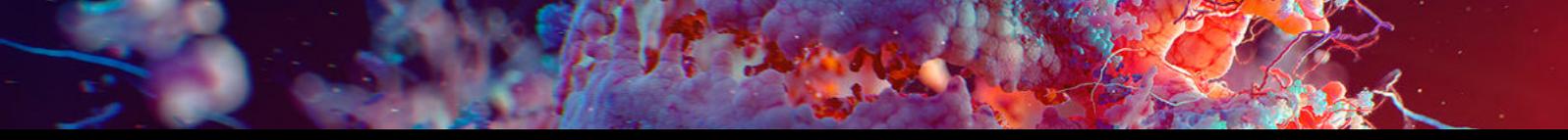
Systolic and/or diastolic dysfunctions are the two major forms of CHF in humans. In the recent years, diastolic CHF have received further attention due to an increased number of patients with this etiology. Indeed, it has been estimated that $\approx 50\%$ of human CHF patients suffers from diastolic cardiac failure. Recently, the key role played by activation of the chemoreflex pathways in systolic CHF has been unveiled. On the contrary, nothing is known about the contribution of the chemoreflex drive on cardiorespiratory disorders observed in diastolic CHF. The aim of this study was to study peripheral vs. central chemoreceptors function and whether these pathways were related to cardiorespiratory disorders in diastolic CHF.

Diastolic CHF was induced by volume overload in adult male Sprague-Dawley. After 8 weeks, resting breathing and chemoreflex function was study. Autonomic balance was assessed by heart rate changes in response to atropine/propranolol i.p. Arrhythmia incidence was also scored. Cardiac function was study using a pressure-volume conductance catheter.

CHF rats compared to shams displayed an increased cardiac output ($81,940 \pm 13,641$ vs. $24,727 \pm 6,636$ ul/min), end-diastolic pressure (19.0 ± 3.4 vs. 10.1 ± 1.3 mmHg) and end-diastolic pressure volume relationship (0.0042 ± 0.0006 vs. 0.0024 ± 0.0006 ul/mmHg). Hypoxic ventilatory responses remained comparable between CHF and sham rats. Contrarily, hypercapnic ventilatory responses were significantly enhanced in the CHF group. Resting breathing irregularities and autonomic imbalance were overt in CHF rats. Also, CHF rats displayed a marked increase in the number of cardiac arrhythmias compared to sham rats (0.10 ± 0.02 vs. 0.03 ± 0.01 events/100beats).

Together, our results show that cardiorespiratory disorders in diastolic CHF are associated with altered central and not peripheral chemoreceptors function.

Supported by Fondecyt #1140275.



SIMPOSIO
SISTEMA INMUNE EN PECES: AVANCES Y PERSPECTIVAS
Coordinador: Jaime Figueroa

EL PEZ CEBRA EN EL OCÉANO DE LA ACUICULTURA. (Zebrafish in the ocean of aquaculture)

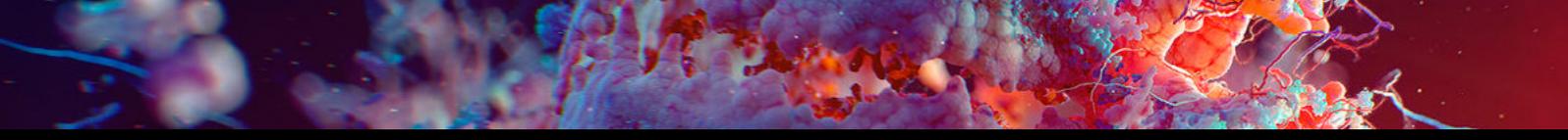
Feijoo, CG¹., ¹Laboratorio Inmunología en peces, Universidad Andrés Bello, INCAR.

Desde hace ya varios años la industria acuícola nacional ha mantenido un constante crecimiento. Uno de los factores que más impacta la competitividad del sector, es la nutrición de los peces ya que influye directamente en el crecimiento y salud de éstos. Actualmente, el reemplazo de la harina de pescado como principal fuente de proteína en la dieta es un requerimiento urgente. Esta situación ha forzado la inclusión de proteína de origen vegetal, principalmente harina de soya. Si bien la soya tiene importantes ventajas, se ha determinado que su ingesta desencadena un proceso inflamatorio a nivel intestinal, afectando la salud de los peces y el desempeño productivo.

Otro gran problema que afecta a la acuicultura nacional es al deterioro de la condición sanitaria de los peces. Las estrategias actualmente utilizadas no son suficientes para evitar y/o controlar los brotes de enfermedades que se presentan, por lo que es imperativo desarrollar nuevas formas de mejorar la respuesta de los peces frente a patógenos.

Como alternativa surge el pez cebra dada las importantes ventajas comparativas que este pez presente frente a otros peces de importancia comercial. Entre éstas podemos destacar el profundo conocimiento que existe de su biología, incluyendo la respuesta inmune, y la existencia de diferentes líneas transgénicas que permiten marcar tipos celulares específicos y monitorearlos in vivo.

Fondecyt 1140297; Fondap INCAR 15110027

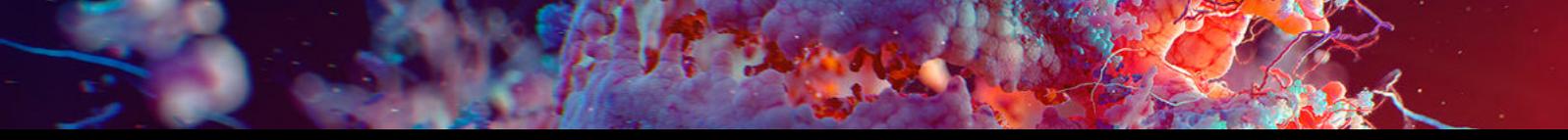


INMUNIDAD DE MUCOSAS: DESDE EL EFECTO DE INMUNOESTIMULANTES HASTA LA DETECCIÓN TEMPRANA DE PATÓGENOS. (Mucosal Immunity: The effect of immunostimulants and early pathogens detection)

Mercado, L.¹, ¹Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

El sistema inmune de peces posee rasgos ancestrales de la inmunidad de vertebrados, probablemente en su organización existen componentes celulares y moleculares únicos. Intentar comprender esta complejidad es una tarea que puede abordarse desde múltiples ángulos: los sistemas sensores, las respuestas pro-inflamatorias, la secreción de citoquinas reguladoras de diálogo intercelular o la expresión de efectores moleculares de inmunidad. Desde cualquiera de ellos se puede apreciar la versatilidad de la respuesta inmune, su modulación y la capacidad de generar respuestas sistémicas. Las evidencias experimentales que hemos obtenido nos permiten proponer que la branquia es un órgano donde los peces focalizan esfuerzos de defensa, mediante infiltración de macrófagos, robustecimiento debido a inmunoestimulantes liberados en dieta, captación de PAMPs mediante receptores citosólicos en tipos celulares endoteliales y expresión de efectores moleculares. Por otra parte el epitelio intestinal también es capaz de responder mediante la expresión de citoquinas y péptidos inmunomoduladores. Estas dos mucosas son clave en la relación que el pez establece con el medio y por lo tanto, su condición inmune puede informar acerca de robustez, susceptibilidad o estados tempranos de infección por patógenos. La caracterización de marcadores moleculares es una contribución al conocimiento de la inmunidad natural así como también en aspectos aplicados a la acuicultura de peces.

FONDECYT Nº 1140797

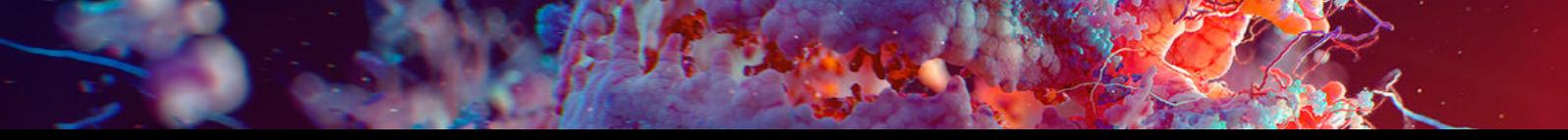


MECANISMO DE INFECCIÓN DEL VIRUS ISA A TRAVÉS DE LA MODULACIÓN DE COMPONENTES INMUNE INNATOS DE *S. SALAR*: PARTICIPACIÓN DEL COMPLEJO NADPH OXIDASA Y P38 MAPK

Olavarría, V¹., Recabarren , P.^{2,1}., Fredericksen, F.^{2,1}., Villalba , M.³., Yañez, A.^{2,1}., ¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ²Laboratorio de Virología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ³Laboratorio de Virología, Ciencia, Universidad Austral de Chile.

El impacto que el virus de la anemia infecciosa (ISAv) tiene sobre el sistema inmune de *Salmo salar*, desde la perspectiva de la activación e inactivación de procesos celulares, actualmente se desconoce. Sin embargo, una serie de observaciones ligadas a periodos de infección de cultivo primario de riñón cefálico de *S. salar* con distintos aislados de campo de ISAv, generaron un fuerte incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), prácticamente dependiente de la carga viral y el periodo de infección. Lo anterior resulta interesante dado que actualmente se desconoce el rol de ROS en los eventos iniciales de la entrada viral e inducción de las señales celulares implicadas en este fenómeno. En este contexto y mediante un conjunto de estrategias experimentales basada en análisis in silico, uso de inhibidores farmacológicos, evaluación de niveles de transcritos y proteínas, así como la evaluación de la viabilidad celular de las células infectadas, se logró caracterizar un circuito celular activado por el virus ISA que tiene como consecuencia un fuerte estrés oxidativo y muerte de la célula en un escenario de activación de la proteína p38 MAPK y el complejo NADPH oxidasa. Al bloquear la actividad de ambas proteínas, disminuye la producción de radicales de oxígeno y aumenta la viabilidad celular, sin embargo la carga viral disminuye drásticamente. La presencia de motivos de SUMOilación en proteínas del virus, activadas por enzimas celulares dependientes del estado oxidativo de la célula, podría explicar este fenómeno. En síntesis, aparentemente el virus ISA requiere de un escenario celular altamente oxidativo tanto para la biosíntesis de sus componentes moleculares como para la maduración de su progenie viral y para ello ha desarrollado una estrategia eficiente.

Fondecyt postdoctoral N° 3120027



POTENCIACIÓN DEL SISTEMA INMUNE INNATO EN S. SALAR, UNA ALTERNATIVA AL USO DE ANTIBIÓTICOS

(Enhancement of the innate immune system in s. Salar, an alternative to antibiotics)

Figuroa, J^{1.}, Soto, M. L.^{1.}, Lagos, F., Isla, A.^{1.}, Oliver, C.^{1.}, Hausmann, D. ^{1.}, Avendaño-Herrera, R. ^{2.}, Yañez, A. ^{1.}, ¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ²Departamento de Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Jaime Figuroa Valverde)

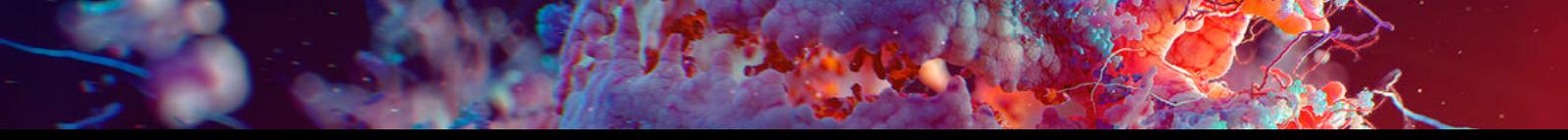
Chile es un país líder en exportación de salmón y trucha, por ello, un aspecto relevante es disminuir las pérdidas ocasionadas por enfermedades infecciosas por patógenos recurrentes. Entre estos, destacan ISA, IPNV, *P. salmonis*, *R. salmoninarum*, etc. Por ello, resulta crítico estudiar y conocer el Sistema inmune de peces, para reducir las pérdidas económicas. Los receptores tipo Toll o TLR son parte integral del sistema inmune innato, reconociendo patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS). Una vez unido el ligando específico, gatillan una respuesta generalmente pro inflamatoria.

El objetivo fue conocer el comportamiento de estos receptores en infección por diferentes cepas de *P. salmonis* y virus IPN.

Los resultados muestran que los niveles de expresión (mRNA) de estos receptores, un mediador de transducción de señal (Myd88) y la interleukina efectora (IL-1 β), son diferentes acorde al tipo de cepa del patógeno usado, así como la diferente forma de presentación de los antígenos. Paralelamente, la expresión de ellos, puede ser modulada por las moléculas inmunoestimulantes, tal como Prolactina de salmón en ensayos en línea celular (SHK-1) y cultivo primario de riñón anterior de trucha. Paralelamente, se han probado sistemas alternativos como el uso de anticuerpos de gallina IgY-anti-*P. salmonis*, tanto in vitro como in vivo, los cuales evidencian resultados positivos como terapia alternativa a vacunas o antibióticos.

Los cambios significativos de expresión diferencial generados con productos Biotecnológicos como inmunoestimulantes, hacen prever que es posible modular el sistema inmune innato en salmonidos, como alternativa al uso de antibióticos o vacunas.

FONDECYT-1130069, y FONDAP-INCAR-15110027



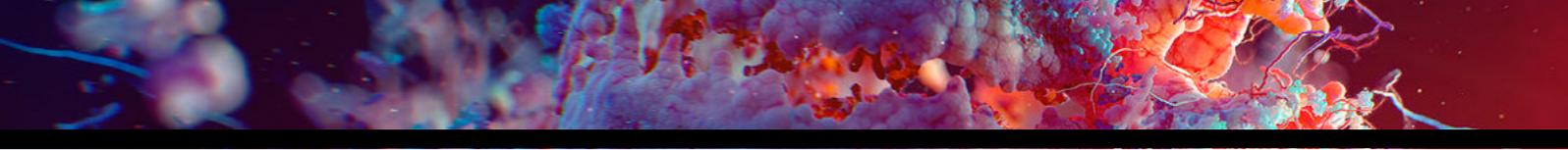
**SIMPOSIO
NEUROINMUNOLOGÍA**
Coordinadores: Angel Oñate-Rodrigo Naves

FUNCIONES OPUESTAS DE INTERFERÓN-GAMMA EN DIFERENTES FASES DE LA ENCEFALOMIELITIS AGUDA EXPERIMENTAL Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE. (Stage-specific role of interferon-gamma in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis)

Naves, R.¹, ¹Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La función que Interferón gamma (IFN- γ) desarrolla en Esclerosis Múltiple (EM) y su modelo de Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE) constituye una paradoja biológica extendida por más de 30 años. Varios estudios le han atribuido a esta citoquina una función prominentemente pro-inflamatoria y patogénica. Sin embargo, un conjunto de otras evidencias han demostrado que IFN- γ ejerce una actividad protectora en estas patologías. Resultados recientes de nuestro laboratorio han contribuido a esclarecer este enigma. Nuestros análisis de la progresión de la EAE en ratones deficientes en la expresión del receptor de IFN- γ han sugerido que IFN- γ ejerce funciones opuestas dependiendo de la fase de la enfermedad. Consistente con esos resultados, el tratamiento con IFN- γ de ratones wild-type inducidos con EAE resultó ser inflamatorio durante la fase inductiva pero protector en la fase efectora de la EAE. La actividad inmunosupresora de IFN- γ fue dependiente de STAT-1 y de la señalización de IFN- β . Además, IFN- γ aumentó la respuesta de linfocitos T reguladores y la producción de interleuquina (IL)-10. Estos resultados son fundamentales para comprender la función compleja que IFN- γ cumple en la patogénesis de estas enfermedades. También, podrían contribuir al desarrollo de terapias basadas en IFN- γ o sus vías de señalización para fases específicas de la EM o de un grupo definido de pacientes.

Proyecto FONDECYT 1140049

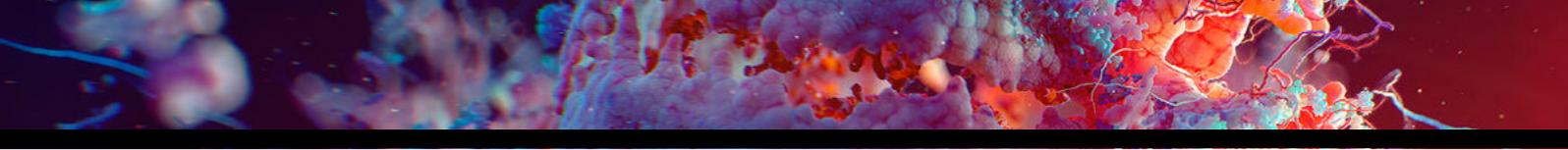


NUEVO MARCADOR DE PRONÓSTICO ASOCIADO A AUTOINMUNIDAD EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

Soza, A.^{1,2}, ¹Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Centro de Envejecimiento y Regeneración (CARE), Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria demielinizante del sistema nervioso central, heterogénea en sus manifestaciones clínicas y en sus respuestas al tratamiento, y una de las causas primarias de discapacidad en adultos jóvenes. El componente de autoinmunidad determinante de su patogenia todavía no se ha aclarado y hasta ahora no hay biomarcadores que predigan sensibilidad al tratamiento y pronóstico en etapas tempranas. Galectina-8 (Gal-8) interactúa con glicoproteínas y glicolípidos de la superficie celular y puede contribuir a la homeostasis de las células T induciendo su proliferación o apoptosis en sus estados T-virgen o T-activado, respectivamente. Aquí mostramos que los pacientes con EM producen autoanticuerpos bloqueantes anti-Gal-8 y que su detección en el momento del diagnóstico se asocia a peor evolución en los primeros dos años de la enfermedad. Además, ratones carentes de Gal-8 desarrollaron una Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE) más severa, mientras que el tratamiento con Gal-8 redujo la intensidad de la enfermedad en ratones nativos. Estos resultados sugieren que una disminución en la función de Gal-8, ya sea por autoanticuerpos bloqueantes o por disminución de la proteína, constituye un factor de gravedad en EM. Gal-8 sería el primer autoantígeno con valor pronóstico en EM recién diagnosticada.

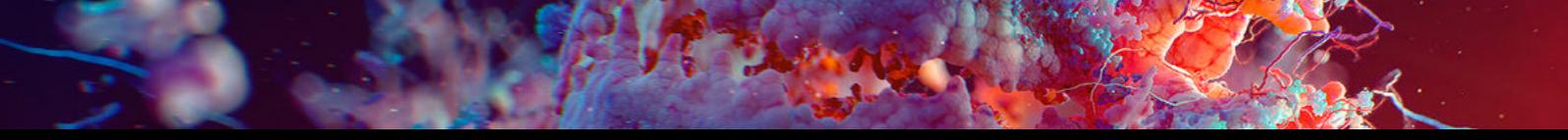
Financiado por FONDECYT REGULAR 1131122, Programa de Financiamiento Basal CONICYT PFB12/2007).



DETERIORO COGNITIVO POR ANTICUERPOS EN LUPUS.

González, A.^{1,2}, ¹Inmunología Clínica y Reumatología, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Biología Celular. Centro de Envejecimiento y Regeneración (CARE). , Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El deterioro en las funciones cognitivas es frecuente en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), prototipo de enfermedad autoinmune. Aquí presentamos evidencias que revelan un rol patogénico de los anticuerpos anti-proteínas P ribosomales (anti-P) descritos hace más de dos décadas y para los cuales hemos descubierto un nuevo blanco antigénico en la superficie de neuronas, que llamamos NSPA (Neuronal-Surface-P-Antigen). Nuestros resultados más recientes muestran que los anti-P se asocian al déficit cognitivo en pacientes con LES, dañan la memoria espacial dependiente del hipocampo en condiciones de ruptura de la barrera hematoencefálica en ratones y tienen la capacidad de inducir muerte neuronal por entrada de calcio o alterar la transmisión glutamatérgica de los receptores AMPAR y NMDAR, en secciones de hipocampo. Estas observaciones revelan un posible mecanismo patogénico que potencialmente podría llevar a diversas alteraciones neuropsiquiátricas dependiendo de las regiones cerebrales donde accedan los anti-P y donde se co-expresen los AMPAR y NMDAR junto con la NSPA (Programa de financiamiento basal CONICYT # PFB12/2007).

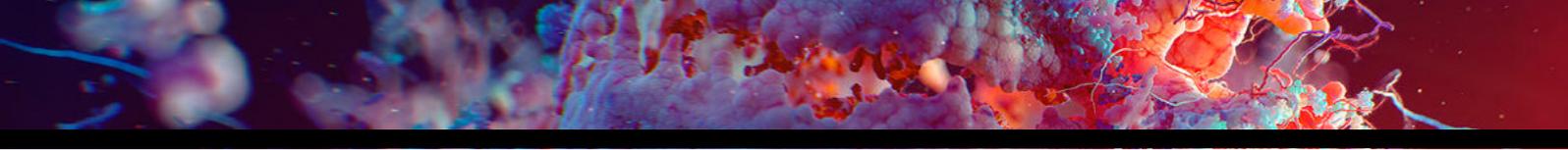


INTERACCIÓN CEREBRO-SISTEMA INMUNE Y ENFERMEDADES PSIQUIÁTRICAS. (Brain-immune system interaction and psychiatric diseases)

Fuenzalida, M¹, ¹Centro Neurobiología y Plasticidad Cerebral , CNPC Núcleo Milenio en Biología de Enfermedades Neuropsiquiátricas, NuMIND, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

Estudios epidemiológicos han demostrado un importante papel del sistema inmune en la etiología de varios trastornos psiquiátricos. Evidencia experimental y clínica sugieren que hay una vía común entre la esquizofrenia (EZ) y anomalías inmunológicas, involucrando probablemente a las citoquinas proinflamatorias. La EZ es una enfermedad mental crónica e incapacitante caracterizada por síntomas positivos, negativos y cognitivos. Evidencias a nivel clínico y de estudios post-mortem sugieren que la EZ está relacionada con una alteración en el desarrollo y función de las interneuronas GABAérgicas, deterioro en la sincronización de la actividad gamma en corteza prefrontal y déficit cognitivo. La administración crónica de ketamina (ket) ha sido ampliamente utilizado como modelo animal de SZ, induciendo cambios conductuales y neuronales. La administración de ket, altera la conducta social de los animales; aumenta la ansiedad y produce un deterioro de la memoria de trabajo. Ket reduce la expresión de la proteína de unión a calcio parvalbúmina y de la enzima sintetizadora de GABA GAD67 y GAD65. Registros electrofisiológicos muestran que ket deteriora la transmisión GABAérgica en corteza prefrontal, desinhibiendo la actividad excitatoria y modificando el balance excitación/inhibición cerebral. Dado que en EZ se han observado valores alterados de varias citocinas proinflamatorias (Interleucina 1, Interleucina 6) y estas pueden modificar la transmisión sináptica, estamos estudiando el papel de diferentes citoquinas inflamatorias sobre la eficacia GABAérgica en animales esquizofrénicos.

Fondecyt nº: 1130614 y Núcleo Milenio en Biología de enfermedades Neuropsiquiátricas NuMIND NC-130011

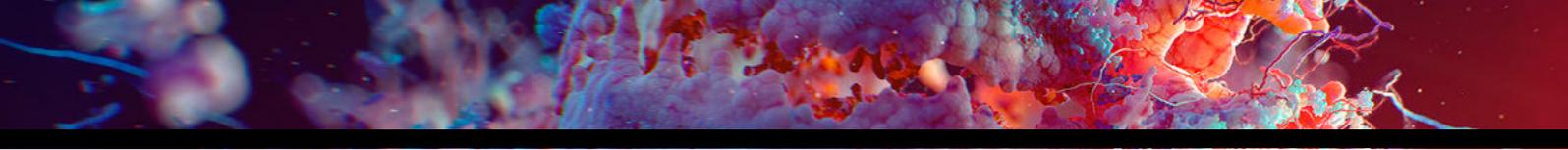


UN MODELO DE ESTUDIO PARA LA INTERRELACIÓN DEL SISTEMA INMUNE Y LA ESQUIZOFRENIA. (A study model for the interaction of the immune system and schizophrenia).

Oñate, A¹, ¹Concepcion, Ciencias Biológicas , Universidad de Concepción.

La esquizofrenia es un trastorno cerebral crónico, severo e incapacitante. La causal de la enfermedad aun es desconocida, sin embargo se ha asociado a factores genéticos y medio ambientales. Estudios epidemiológicos y genéticos indican fuertemente un rol de la inflamación e inmunidad en la patogénesis de los síntomas de la esquizofrenia. Existiendo evidencias que sugieren un importante rol de la vías de comunicación sistema inmune periférico-cerebro en la esquizofrenia. Se ha planteado un modelo farmacológico de esquizofrenia, utilizando un modelo animal *in vivo* con la utilización de ketamina. Aunque este modelo farmacológico permite observar varias de las características asociadas a un conducta tipo esquizofrénica, el desbalance inmune en este ratón y su relación con la enfermedad, o bien, la posible aplicación de este modelo para estudiar factores inmunológicos no han sido muy abordadas. Se sabe que al menos la citoquina IL-6 puede estar desregulada en ratones tratados con ketamina, pero que además sería fundamental para el desarrollo del fenotipo GABAérgico alterado de la enfermedad. De aquí que nuestro interés inicial es evaluar otras citoquinas con función pro inflamatorias a nivel sérico y cerebral en el modelo farmacológico de ketamina en ratones.

Proyecto FONDECYT 1130093



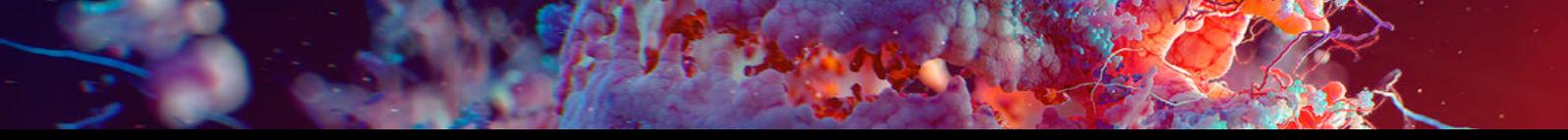
SIMPOSIO
VIRUS, INMUNIDAD E INFLAMACIÓN EN ENFERMEDADES HUMANAS DE ALTO IMPACTO.
Coordinador: Alexis Kalergis

INMUNIDAD CONTRA VIRUS HERPES SIMPLE: GIROS INESPERADOS (Immunity to herpes simplex virus: unexpected turns)

Gonzalez, P¹., ¹Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Millennium Institute On Immunology And Immunotherapy)

Los virus herpes simplex (HSV) son prevalentes en la población, causando ceguera infecciosa, encefalitis neonatal, encefalitis adulta y lesiones ulcerativas, entre otros. Dadas las consecuencias clínicas de estos virus, una vacuna contra HSV tendría un importante impacto para la salud pública. Una estrategia de vacuna, evaluada por más de 20 años consiste en preparaciones que contienen la proteína viral recombinante gD de HSV combinada con adyuvantes. Sin embargo, estudios clínicos recientes han demostrado que estas formulaciones son poco eficaces contra el virus, apremiando la necesidad de desarrollar nuevas estrategias para prevenir la infección con estos virus. Dado que algunos estudios sugieren que gD podría modular negativamente la respuesta inmune, desarrollamos un virus HSV-2 mutante carente de esta glicoproteína de superficie (HSV-2 dlgD). Este virus, complementado fenotípicamente, demostró ser seguro, inmunogénico e inducir una respuesta inmune protectora contra HSV en el modelo animal, tanto contra HSV-1 como HSV-2. Ensayos en células inmunes sugieren que este virus mutante es atenuado, lo que permitiría activar eficazmente células T y con ello desarrollar una respuesta inmune protectora contra la infección natural.

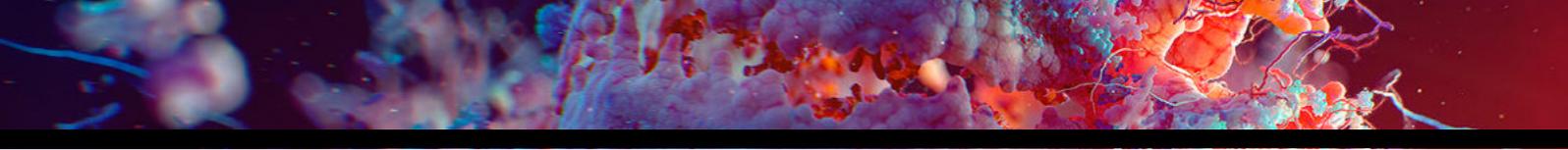
Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Fondecyt 1140011, CRP-ICGEB 2762-011



DETERMINANTES VIRALES Y DEL HOSPEDERO EN LA INFECCIÓN GRAVE POR VIRUS DE INFLUENZA. (Viral and host determinants of severe influenza virus infection)

Medina, RA^{1,2,3}, ¹Laboratorio de Virología Molecular, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy Pontificia Universidad Católica de Chile. ³Department of Microbiology and Global Health and Emerging Pathogens Institute Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA.

Influenza virus infection (IV) can produce a significant respiratory disease, affecting yearly an important number of individuals worldwide. Of those affected, approximately 2-10% of individuals develop a severe respiratory illness that might even result in death. Numerous factors can affect disease severity due to IV in humans, including complex interactions between the genotype of the pathogen, host immune responses, preexisting conditions and host susceptibility (or predisposition); and recently, the role of the microbiome of the upper respiratory track (URT) has also been postulated to play a role during infection. To date no in-depth studies have been conducted to understand the molecular bases of disease severity and clinical outcome in the Chilean population. During 2011 – 2015 we obtained samples from >130 influenza infected individuals and studied disease severity, risk-factors, immune responses; and characterized the genome, virulence and antigenic properties of the virus. We found increased diversity of the viral genome in severe individuals during the acute infection, which correlated with increased virulence in in vivo assays. Analyses of innate immune responses suggest that early aberrant responses (e.g. increased IL-6, IL-10, GMC-SF and IFN α 2 and decreased IL-13) might correlate with severe clinical disease. Among severe individuals, 6 had an unexpected decrease in seroconversion titers (day 21+ after infection) against the homologous virus. Overall, a large proportion of severe individuals had at least one pre-existing comorbidity (such as obesity, diabetes, immunosuppression, etc.), or they belonged to high-risk age groups (individuals < 2 or >65 years). However, ~11.5% of the severe individuals did not have evident risk factors. This suggests that yet uncharacterized genetic predisposition factors might exist in the Chilean population. Studies also demonstrated that the microbiome structure of the human URT is highly modulated during acute IV infection. There was an increased abundance of the taxa *Pseudomonas* on days 3 and 7 post infection, providing evidence that the UTR commensal microbiome is affected during infection, a phenomenon that might contribute to secondary bacterial infections and increased disease. Our results to date demonstrate that immune deregulation, IV virulence and the UTR microbiome are important pathogenesis determinants that, when analyzed together, might allow the identification of novel early biomarkers of disease severity.

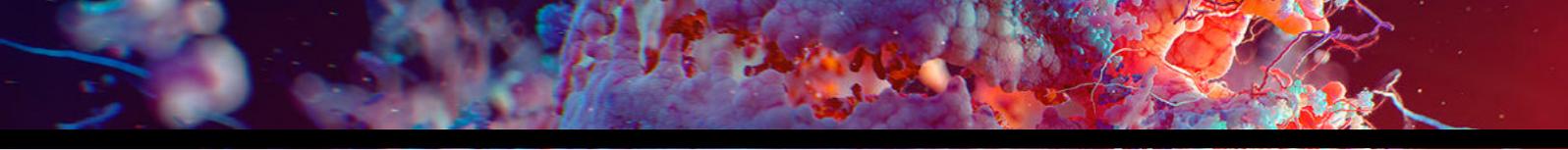


ESTRATEGIAS ANTIVIRALES CONTRA HANTAVIRUS ANDES (Antiviral strategies against Andes hantavirus)

Tischler, N¹, ¹Molecular Virology Laboratory Fundacion Ciencia & Vida.

The genus *Hantavirus* comprises many viruses that are highly pathogenic to humans. Due to the high mortality that they can produce in humans and the absence of FDA-approved preventive or therapeutic measures, hantaviruses have been classified as category A pathogen. As other members of the *Bunyaviridae* family, hantaviruses have a tri-segmented single stranded RNA genome and expose two glycoproteins on their membrane envelope: Gn and Gc. To infect human cells, hantaviruses bind to receptors, are taken up by endocytosis and escape from the endocytic pathway by fusion of its envelope with the endosomal membrane. In patients, the humoral immune response comprises the generation of neutralizing antibodies against the viral Gn and Gc glycoproteins that bind to the virus and thereby block viral cell entry. The passive transfer of such antibodies obtained from surviving patients to patients that course the acute phase of disease has been found to improve their clinical outcome. In our laboratory, we are focused on the development of molecules that bind to the viral envelope glycoproteins of Andes hantavirus and prevent the infection of cells. Towards this direction, we have characterized B cell epitopes of patients and defined antigenic regions in the viral glycoproteins. Based on linear peptides and recombinant proteins, we have further developed monoclonal antibodies against the identified immunodominant regions and tested their neutralizing activity. On the other hand, we have identified and characterized the Gc fusion protein of hantavirus and developed strategies used against other viral fusion proteins, to block its' fusion activity. These strategies are based on peptides derived from the viral fusion protein that mimic regions of intramolecular interactions in its post-fusion conformation. When such peptides derived from the Gc protein of Andes hantavirus were incubated with the virus, they blocked infection up to 95% when present in the fusion compartment. These peptides acted directly on the fusion mechanism blocking a late stage preceding the hemifusion of membranes. As a whole, we hope that the novel information on the hantavirus envelope glycoproteins and their inhibition will be helpful in the future development of therapeutic strategies against hantaviruses.

Fondecyt 1140050, Fondef CA12i10367, Basal PFB-16



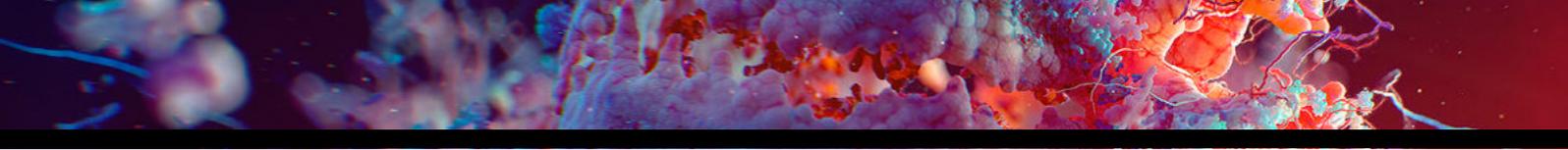
POST-TRANSCRIPTIONAL CONTROL OF THE HIV-1 UNSPLICED MRNA

Soto-Rifo, R.¹, ¹ICBM, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Post-transcriptional control of Human Immunodeficiency Virus type-1 (HIV-1) gene expression is a highly regulated process that commences in the nucleus of the host infected cell and finished by the expression of viral proteins in the cytoplasm. Viral gene expression involves the synthesis of a complex transcriptome including a subset of completely and incompletely spliced transcripts as well as one unspliced mRNA. Similar to cellular mRNAs, completely spliced transcripts follow the classical gene expression pathway in which intron removal during splicing strongly stimulates the rates of nuclear export and translation through the recruitment of different adaptor proteins such as SR proteins and the exon junction complex (EJC). Although unspliced mRNAs are normally retained and degraded in the nucleus of eukaryotic cells, expression of the HIV-1 unspliced mRNA is particularly controlled at the level of nuclear export and translation. During this travel from the nucleus to the ribosome, the viral protein Rev assisted by different host factors, seems to substitute the effects of splicing leading to the building of a viral ribonucleoprotein complex (RNP) that is efficiently exported from the nucleus and translated in the cytosolic compartment. The role of Rev and different host factors in the post-transcriptional control of the HIV-1 unspliced mRNA will be discussed. www.sotorifolab.cl

Funding: DRI USA2013-0005

DRI USA2013-0005



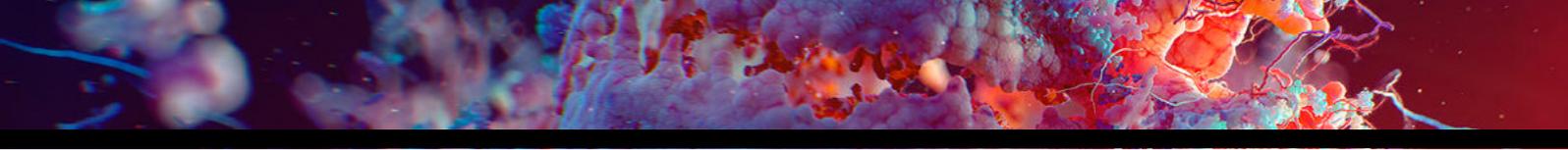
SIMPOSIO
INMUNIDAD ADAPTATIVA Y ESTRÉS EN PECES
Coordinadora: Mónica Imarai

CD4+ T CELLS IN SALMONIDS.

Imarai, M.¹, Montero, R.¹, Maisey, K.¹, ¹Departamento de Biología, Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

CD4+ T helper (Th) lymphocytes in mammals are key regulatory cells of the adaptive immunity. These cells are characterized by the presence of a T cell antigenic receptor that recognizes an antigen in the presence of major histocompatibility complex molecules (MHC). Recognition of the antigen triggers T cell proliferation and differentiation, including the secretion of different cytokines that activate immune responses to different pathogens. We and others have characterized CD4+ lymphoid cells in fish. Using anti CD4 antibodies, CD4+ cells with lymphoid morphology have been identified in carp. In fugu and zebrafish, CD4+ cells express T-cell marker genes and respond to antigen stimulation increasing the expression of cytokines and master transcription factors relevant to Th1 and Th2-type responses. In rainbow trout, we have isolated and functionally characterized CD4+CD3+ T cells. By using CD4 and CD3 specific antibodies, the double positive lymphoid cells were identified in spleen and head kidney. Sorted CD4+CD3+ cells expressed *TCR α* , *TCR β* , *CD152*, *CD154*, *T-bet*, *GATA-3* and *STAT-1* all markers of T cells. Interestingly, when ovalbumin is used as model antigen, *IFN- γ* , *IL-4/13A*, *IL-10*, *IL-17D*, *TGF β 1*, and *IL-15* gene expression were up regulated, indicating that T helper type differentiation has occurred. In addition, these cells showed one of the most distinctive functional attributes of T lymphocytes, they undergo antigen-specific proliferation. In Atlantic salmon, CD4+CD3+ T cells have also been found in spleen and head kidney using the same antibodies, which is in agreement with the presence of the CD3 ϵ and CD4-1 transcripts in these organs. CD4+ T cells are also present in gills and in intestine suggesting also a role of these cells in mucosal immunity. Altogether, the identification of CD4+CD3+ T cells in salmonids, their ability to proliferate after antigen stimulation and up-regulation of a key patterns of cytokines suggests a conservation of the helper functions in fish.

Fondecyt 1130882, Corfo13CTI-21527

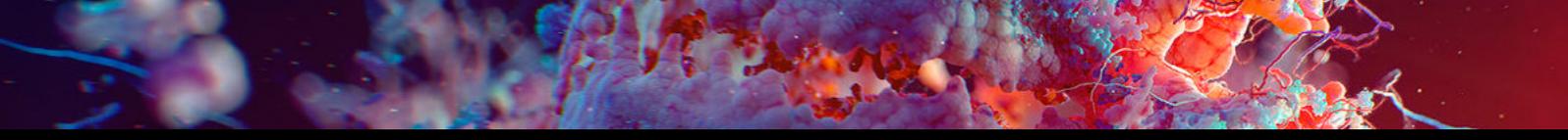


REGULATION OF ANTIGEN PRESENTATION IN TELEOSTS DIFFERS FROM MAMMALIAN PARADIGMS.

Dixon, B¹., Katzenback, B.¹.,Sever, L.¹.,Vo, N.¹.,¹Biologia, Ciencia, Universidad de Waterloo.

Major Histocompatibility Complex (MHC) receptors are central to the initiation of immune responses through binding of peptide fragments of pathogens and present them to T cells. The discovery and characterization of Major Histocompatibility Complex genes, and the genes encoding their accessory molecules, in teleost fish has revealed some startling differences in the regulation of the immune response between fish and mammals, as well as between the different orders of fish. Tapasin appears to be the sole accessory molecule that is co-regulated with the receptor genes and may be the key regulator of the antigen presentation process. In addition low temperature dysregulates antigen presentation in several species of fish, making them vulnerable to infection. This work will assist in specifically understanding fish health and in developing effective vaccines and management strategies.

This work was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and the Canada Research Chairs program.

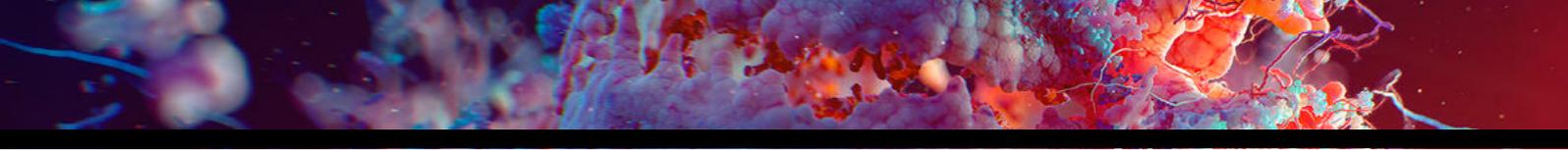


EVALUATING THE IMMUNE RESPONSE OF ATLANTIC SALMON (*SALMO SALAR*) AGAINST INFECTIOUS PANCREATIC NECROSIS VIRUS (IPNV) FROM THE FUNCTIONAL GENOMICS PERSPECTIVE.

Reyes-López, F. E.¹, ¹Departamento de Biología Celular, Fisiología, e Inmunología, Facultad de Biociencias, Universidad Autónoma de Barcelona.

The host immune response to IPNV has not been extensively explored. However, knowledge about fish immune system has been derived from the functional genomics perspective. The transcriptomic analysis conducted from head kidney samples showed a greater number of down-regulated genes at zero, 1, 5, and 13 days post-infection (dpi) in IPNV bath challenged salmon fry. Transcripts involved in oxidative stress (GSTO-1), antigen presentation (HSP-70, HSP-90, MHC-I), and leukocyte activation and migration (CRCyc, CCL-19, CD18) increased on day 1 and then dropped to basal values, suggesting a quick immune response activation. A similar expression pattern was also observed in susceptible full-sibling salmon families exposed to IPNV by immersion in transcripts involved in innate response (IFN- α), antigen presentation (HSP-70, HSP-90, MHC-I), T_H1 response (IL-12, CRFB6), immunosuppression (IL-10, TGF- β 1), and leukocyte activation and migration (CCL-19, CD18). However, in IPN-resistant salmon families the expression levels remained high, suggesting that a limited immune response is associated with IPN-resistance. Finally, to unveil the individual phenotypic variability of these genes a single nucleotide polymorphism (SNP) *in silico* search was performed. Synonymous SNPs (CCL19, CD18, HSP70, MHC-I) and non-synonymous SNPs (GSTO-1) with high-predicted risk factor affecting the 3D protein structure were found. Taken together, this research reveals new evidence about immune response and gene variations associated with IPN-resistance in Atlantic salmon.

This work was financially supported by Innova-Chile 07CN13PBT-90/05CT6PPT-10/09MCSS- 6691/09MCSS-6698 and Fondecyt 1130882; grants from VRID- USACH, CONICYT PBCT-TPI-07 PhD fellowship, and CONICYT-BCH 4311/2013 Postdoctoral fellowship.

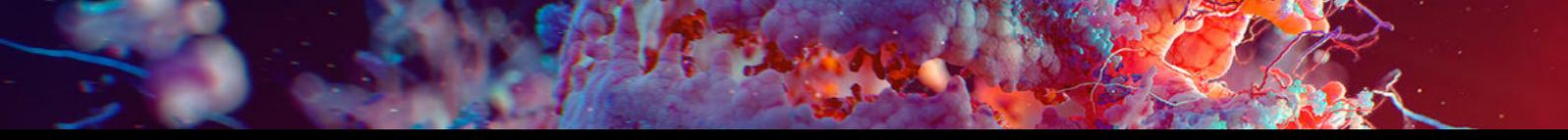


INTERACTION BETWEEN PHYSIOLOGICAL SYSTEMS IN FISH UNDER STRESS SITUATIONS.

Tort, L¹., ¹Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Biociencias, Universitat Aeronoma de Barcelona.

Under stressful situations fast and efficient responses need to be organized to process stressful stimuli. In fish, as in the other vertebrate groups, the regulatory systems work together to meet this purpose and, particularly the neuro-immune-endocrine interactions are of primary importance during stressful events. In fish, other than the brain-pituitary network, the head kidney plays a central role in organizing the stress response. This is demonstrated by the close communication between the three regulatory systems in the same organ which indicates the relevance of the basic stress response mechanisms in animals. Stress hormones released during stress episodes help to prepare the immune system for potential challenges (e.g. infection, wound repair, tissue alteration), for which stress perception by the brain may serve as an early warning signal. Hence, molecules involved in the stress reaction (CRH, ACTH, glucocorticoids, biogenic amines, cytokines) are structurally similar and well preserved throughout evolution. Since the allostatic load and the energetic costs of the stress situation are highly demanding, it is clear that other hormone axes, such as somatotropic and growth hormone, which are mostly devoted to metabolic support, will have an influence on the immune function resulting in altered metabolism and therefore decreased resources for growth. All these interactive mechanisms will not only serve for a particular stress episode in fish but also for adapting and preparing the response for future challenges.

Thanks are given to Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2013-48835-C2-2-R) Spain, and Targetfish (KBBE-2012-1-2-10 contract 311993) European Union.

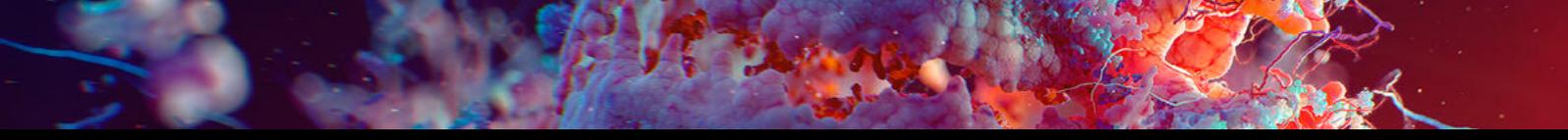


SIMPOSIO
NUEVOS AVANCES EN INMUNOLOGÍA
Coordinadora: Mercedes López

REGULATION OF POLARIZED LYSOSOME SECRETION AT IMMUNE SYNAPSE BY THE EXOCYST COMPLEX CONTROLS ANTIGEN EXTRACTION AND PRESENTATION IN B CELLS

Sáez, J.J.^{1,2}, Bozo, J.P.², Bono, M.R.¹, and **Yuseff, M.I.**². ¹Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ²Departamento de Biología Celular y Molecular. Pontificia Universidad Católica de Chile. FONDECYT#1141182

B cells are an essential part of the adaptive immune response. To achieve complete activation and become specialized antibody-secreting cells they must capture antigens via their B cell receptor (BCR) and present them as peptide fragments loaded onto MHC class II molecules to CD4+ T cells. Interaction of B cells with surface-tethered antigens leads to the formation of an immune synapse, which coordinates the uptake and processing of immobilized antigens. This relies on a rapid polarization of the microtubule-organizing center/centrosome to the immune synapse, which promotes the recruitment and fusion of lysosomes that locally release hydrolases required for efficient antigen extraction. Proteomic analysis of components associated to the centrosome of B cells revealed the presence of several exocyst subunits. Given that the exocyst complex is known to regulate the fusion of vesicles at specific domains of the plasma membrane, we sought to evaluate its role in antigen extraction and presentation by B cells. In agreement with our proteomic data, EXOC7 localized closely with the centrosome and together with EXOC1 was recruited at the immune synapse of activated B cells. Additionally, silencing of exocyst subunits impaired stable lysosome recruitment at the synapse and reduced the capacity of B cells to extract and present immobilized antigen. Thus, our results highlight a critical role for the exocyst in controlling polarized secretion at the immune synapse of B cells used to promote their antigen presenting function. Elucidating how polarized membrane trafficking is regulated at this level will allow a better understanding on how B cells are activated and provide insights on therapeutic targets for immunomodulation.



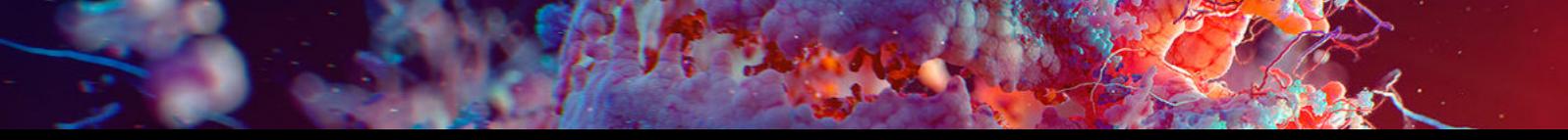
THE UNFOLDED-PROTEIN-RESPONSE SENSOR IRE-1 α REGULATES THE FUNCTION OF DENDRITIC CELLS AGAINST TUMOR-ASSOCIATED ANTIGENS

Costoya, C^{1,2}., Medel, B^{1,2}., **Osorio, F^{1,2}**. ¹Laboratory of Antitumoral Immunology, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universidad de Chile, 8380453 Santiago. ²Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Universidad de Chile, 8380453 Santiago, Chile

Contact: fabiolaosorio@med.uchile.cl

The role of the unfolded protein response (UPR) and endoplasmic reticulum (ER) stress has been linked to the initiation of several inflammatory diseases whereas their contribution in homeostasis of the immune system remains incompletely understood. Here, we show that dendritic cells (DCs) constitutively activate the UPR sensor Inositol-requiring enzyme 1- α (IRE-1 α) and its target transcription factor X-box-binding protein 1 (XBP-1) in the absence of a canonical ER stress response. Selective ablation of XBP-1 in CD11c⁺ cells led to defects in phenotype, ER homeostasis and antigen presentation by conventional CD8 α ⁺ DCs, yet closely related CD11b⁺ DCs were unaffected. Whereas the dysregulated ER resulted from loss of XBP-1 transcriptional activity, the phenotypic and functional defects resulted from regulated IRE-1 α dependent degradation (RIDD) of mRNAs for CD18 integrins and MHC class I machinery. Thus, a precisely regulated feedback circuit involving IRE-1 α and XBP-1 controls the homeostasis of CD8 α ⁺ cDCs. Furthermore, we identified tumor lysates as potent inducers of XBP-1 in DCs, which may be relevant for the development of novel immunotherapies against cancer.

Funding: CONICYT, PAI, No 82130031.

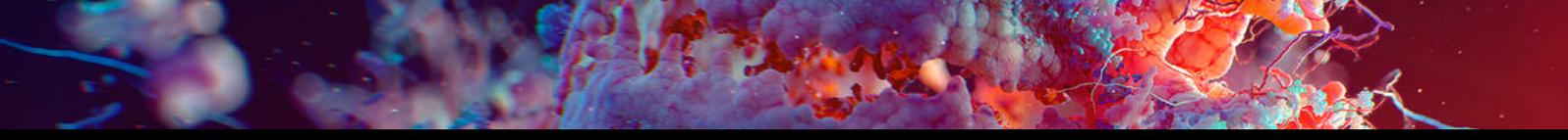


CD73-MEDIATED ADENOSINE PRODUCTION PROMOTES STEM CELL-LIKE PROPERTIES IN TC17 CELLS

Flores-Santibáñez, F¹., Fernández, D¹., Meza, D¹., Tejón, G¹., Vargas, L¹., Varela-Nallar, L²., Arredondo, S²., Guixé, V¹., Roseblatt, M^{1,3,4}., Bono, M.R¹., **Sauma, D¹**. ¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ²Centro de Investigaciones Biomedicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, Universidad Andres Bello. ³Facultad de Ciencias Biologicas, Universidad Andres Bello. ⁴Fundacion Ciencia & Vida, Santiago, Chile

The CD73 ectonucleotidase catalyzes the hydrolysis of AMP to adenosine, an immunosuppressive molecule. Recent evidence has demonstrated that this ectonucleotidase is upregulated in Th17 cells when generated in the presence of TGF- β , and thus CD73 expression is related to the acquisition of immunosuppressive potential by these cells. TGF- β is also able to induce CD73 expression in CD8+ T cells but the function of this ectonucleotidase in CD8+ T cells is still unknown. Here, we show that in vitro-generated Tc17 cells present high levels of the CD73 ectonucleotidase and produce adenosine; however, they do not suppress the proliferation of CD4+ T cells. Interestingly, we report that adenosine signaling through A2A receptor favors IL-17 production and the expression of stem cell-associated transcription factors such as *tcf-7* and *lef-1* but restrains the acquisition of Tc1-related effector molecules such as IFN- γ and Granzyme B by Tc17 cells. Within the tumor microenvironment, CD73 is highly expressed in CD62L+CD127+ CD8+ T cells (memory T cells) and is downregulated in GZMB+KLRG1+ CD8+T cells (terminally differentiated T cells), demonstrating that CD73 is expressed in memory/naive cells and is downregulated during differentiation. These data reveal a novel function of CD73 ectonucleotidase in arresting CD8+ T cell differentiation and put forward the idea that CD73-driven adenosine production by Tc17 cells may promote stem cell-like properties in Tc17 cells.

FONDECYT 11121478, 1140431, PFB-16

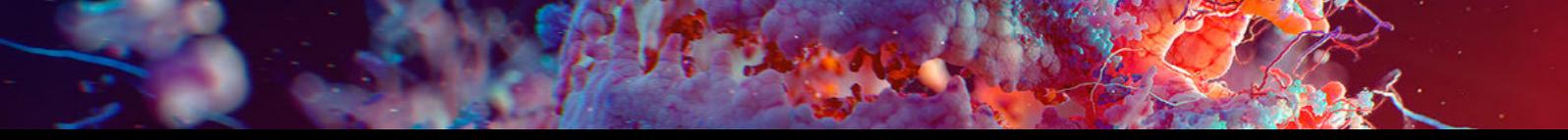


NEUROFILINA-1 E IL-33: DOS *TARGETS* DE ESTUDIO PARA COMPRENDER LA BIOLOGÍA DE LINFOCITOS TREGS EN TOLERANCIA A TRASPLANTE

Pino-Lagos, K. Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.

La tolerancia inmune es mantenida por la actividad de células T reguladoras (Tregs), una subpoblación de linfocitos T CD4+ generados en el timo y en órganos periféricos, con la capacidad de controlar células efectoras durante la respuesta inmune, y también con la propiedad de facilitar la generación de células supresoras. Durante los últimos 5 años, un par de moléculas han llamado nuestra atención: Neuropilina-1 (Nrp-1) e IL-33. La Nrp-1, es una molécula descrita inicialmente en el sistema nervioso, es altamente expresada en células Tregs, y es considerada además como un posible marcador de esta población celular. IL 33, un miembro de la familia de la IL-1, es capaz de expandir y generar Tregs in vivo, resultando una atractiva molécula para propósitos terapéuticos. En nuestro laboratorio, estudiamos la respuesta del sistema inmune frente a trasplante de piel en un modelo murino. Específicamente, estamos interesados en comprender los mecanismos de rechazo y tolerancia para poder diseñar estrategias que permitan evitar el rechazo de un trasplante y/o controlar una patología autoinmune. Por una parte, nos hemos centrado en la Nrp-1, describiendo que su expresión está asociada con células Tregs que permiten la aceptación del trasplante de piel, además de proponerla como una molécula involucrada en la generación de células potencialmente supresoras. Por otra parte, también estudiamos el rol de IL-33 en la función de células supresoras. En esta línea, hemos descrito que la administración de IL-33 promueve la aceptación de trasplante de piel al cambiar el microambiente inflamatorio por uno antiinflamatorio, caracterizado por el aumento de la secreción de IL-10, además de permitir el incremento del número de células con fenotipo mieloidesupresor, y un aumento en el número de células Tregs en la periferia. En resumen, consideramos que el desarrollo de nuestra investigación está generando nueva información en los mecanismos celulares y moleculares de las células Tregs, contribuyendo con el conocimiento en el área de la inmunología a trasplante.

Financiamiento: FONDECYT 11121309, CONICYT 791100001 y PMI-UAN1

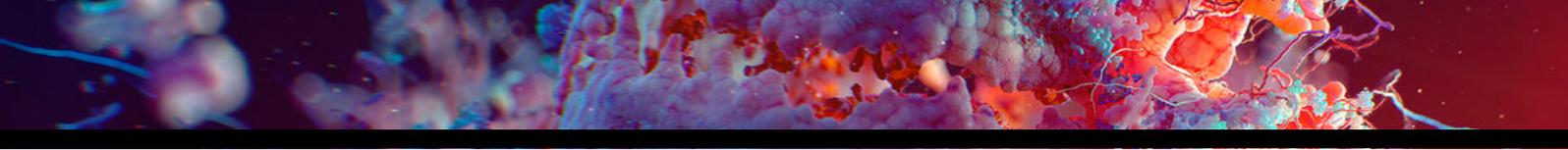


SIMPOSIO
CÁNCER IMMUNOLOGY AND IMMUNOTHERAPY
Coordinadores: Fermin González-Alvaro Lladser

PROTEOMICS OF MONOCYTES, AS VIEWED FROM STOCKHOLM.

Zubarev, R¹., ¹Department of Medical Biochemistry and Biophysics Karolinska Institute.

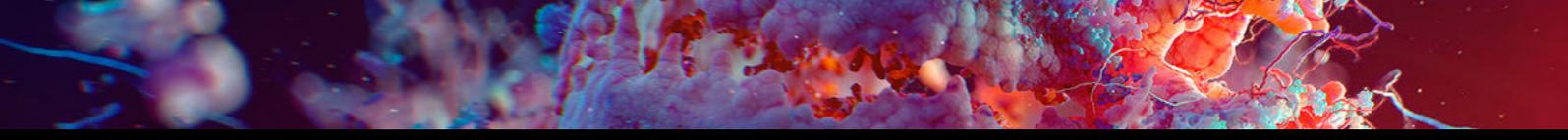
We have started an ambitious program aimed at solving some of the mysteries of cancer and immunology by mass-spectrometry-based proteomics. One issue is the variety of cancer cell death modes. To address it, 50 small-molecule anticancer drugs are being applied to three cancer cell lines until half of the cells are dead. Proteomics analysis of both live and dead cells will create the first global 3D “death map”, which will facilitate novel drug development. Drug target identification and mechanism of action establishment is the second goal, for which two complementary methods are developed. Depletion of amino acids, a promising “drug-free” method of therapy, is also being investigated. The merging data seems to point towards the mechanism of cancer cell self-renewal. De novo sequencing of antibodies in patient blood may reveal the highest dangers in and true causes of diseases. Upregulated specific Ab sequences may be used as biomarkers. Furthermore, a monocyte assay is developed to test the immunogenicity of molecules and protein modifications.



DENDRITIC CELL VACCINES: IN VIVO INTERACTIONS BETWEEN THE IMMUNE SYSTEM AND TUMORS.

Salazar, F¹, ¹Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

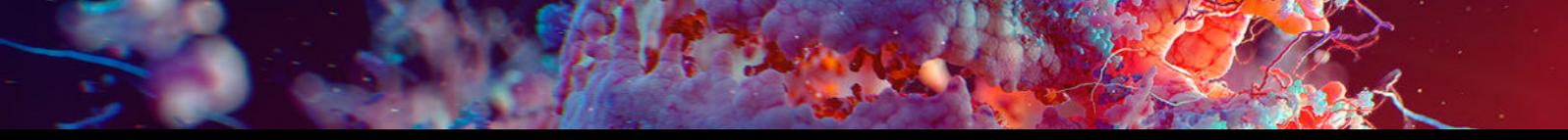
We developed an original method for production of therapeutic dendritic-like cells named Tumor Antigen Presenting Cells (TAPCells[®]) using an allogeneic melanoma-derived cell lysate (TRIMEL) as activation factor and antigen provider. TAPCells-based immunotherapy induced T cell-mediated immune responses and improved long-term survival of stage IV patients in studies involving more than 100 individuals (López *et al.* 2009, *J Clin Oncol*; Aguilera *et al.* 2011, *Clin Cancer Res*). Importantly, 61% of tested patients (58 out of 94) showed a Delayed Type Hypersensitivity (DTH) reaction against TRIMEL indicating the development of anti-tumor immunological memory that correlates with prolonged patient survival. The *in vitro* analysis of TRIMEL showed that it contains damage associated molecular patterns such as HMBG-1 protein, induced by heat shock, capable to improve, through TLR4, the DC maturation and antigen cross-presentation. In fact, a TLR4 polymorphism correlates with patient clinical outcome. DTH response against TRIMEL was associated with prolonged survival of the stage IV responder melanoma patients (DTH +; 35 months) compared to the non-responders (DTH -; 11 months). Furthermore, we observed that DC-vaccination resulted in a three-fold augment of Th1 cell population releasing IFN- γ and a two-fold increase of Th17 lymphocyte population capable to produce IL-17 in the PBL of DTH+ patients respect to DTH- ones. Antibodies against melanoma antigens can be detected in the sera from several vaccinated patients, although no correlation with clinical responses could be established. Taken together, our results indicate that TAPCells immunization resulted in two different pattern of response associated to the immunological and clinical outcome. Our study may contribute to the better understanding of clinical immunological responses produced by DC-vaccines and to the development of improved DC-based vaccines. Supported by Fondecyt 1090238 and 1090243.



REGULATION OF NATURAL KILLER CELL RESPONSES IN THE TUMOR MICROENVIRONMENT.

Lundqvist, A¹., ¹Department of Oncology-Pathology Karolinska Institutet.

Analysis of progressing tumor lesions in patients that fail to respond to T cell therapy often reveal reduced expression of MHC class-I. Such tumor cells are no longer susceptible to T cell-mediated lysis, but are instead sensitive to killing by NK cells. To harness the full potential of adoptive infusion of NK cells in patients with solid tumors, infused cells must exhibit optimal migratory capacity and high tumor killing potential. We found that human anaplastic thyroid cancer (ATC) cells are infiltrated by primarily CXCR3-positive NK cells and are sensitive to killing by activated NKG2D-positive NK cells. Despite displaying these features, ATC xenografts were not targeted by the infused NK cells because ATC cells produced high levels of prostaglandin-E2 (PGE2) and suppressed the activity of infused NK cells. Interleukin (IL)-2 and -15 are two essential cytokines regulating the development and function of human NK cells. Here, we compared the role of IL-2 and IL-15 to render resistance of human NK cells to tumor-induced suppression. We found that tumors strongly inhibited functions of IL-2 activated NK cells through production of PGE2. Under the same condition, IL-15 activated NK cells could significantly retain the ability to proliferate ($p < 0.05$) and lyse target cells ($p < 0.05$). Furthermore, cancer patient-derived NK cells stimulated by IL-15 had significantly improved production of IFN γ ($p < 0.05$) and cytotoxicity against tumor targets ($p < 0.01$) compared with IL-2 activation. Furthermore, we found that IL-15 enhanced surface anti-oxidant, retention of membrane-bound IL-15 and stronger anti-apoptotic signaling through Bcl-2 in primary human NK cells. In addition, IL-15 elicited superior basal ($p < 0.05$) and maximal ($p < 0.05$) mitochondrial as well as glycolytic potential ($p < 0.05$) through mTOR-governed machineries. Although IL-15 did not generate higher numbers of NK cells after expansion (14 days), we observed up-regulated surface expression of CD25 (IL2R α) and enhanced in vitro durability, in comparison to IL-2-expanded cells. Altogether, our study uncovers distinct properties between IL-2 and IL-15 on primary human NK cells under tumor-induced suppression. Our results provide evidence that IL-15 may greatly improve the clinical efficacy of adoptive NK cell therapy for the treatment of human cancers.



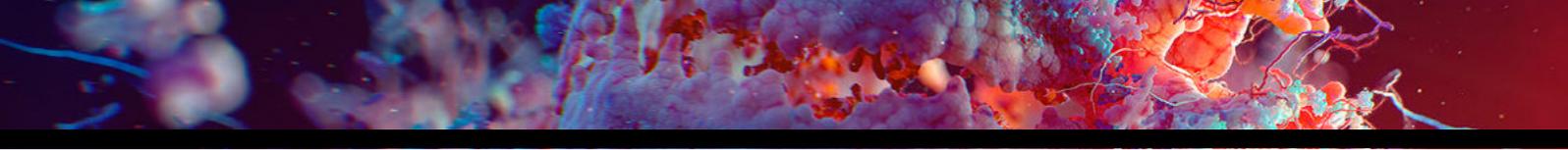
SIMPOSIO
BIOLOGY OF DIETARY POTASSIUM:
EFFECTS ON RENAL, CARDIOVASCULAR, ENDOTHELIAL, AND COGNITIVE FUNCTION
Coordinador: Carlos Vio

EL POTASIO DE LA DIETA REGULA HORMONAS VASOACTIVAS RENALES. (Dietary potassium regulates renal vasoactive systems.)

Vio, C P¹, ¹Departamento Fisiología, Centro CARE UC, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Dentro de los factores que contribuyen a la hipertensión arterial aparece el alto consumo de sodio junto con el bajo consumo de potasio. Nuestros alimentos naturales -células animales o vegetales- tienen intracelular 140 mEq potasio y 10 mEq sodio, 14 veces más potasio que sodio, sin embargo nuestra dieta con alimentos procesados tiene entre 3 a 4 veces más sodio que potasio. Aunque se sabe que una dieta adecuada de potasio es benéfica para la salud en el control de la presión arterial, enfermedades cardiovasculares y del riñón, no se conocen las bases biomédicas de este efecto. Con la hipótesis que el potasio controla hormonas renales que regulan el sodio y la presión arterial, hemos estudiado los mecanismos involucrados en los efectos renales y cardiovasculares del potasio de la dieta. La dieta pobre en potasio induce daño renal e hipertensión sensible al sodio, asociado con disminución de calcitreina, aumento de enzima convertidora de angiotensina, y disminución de prostaglandinas y nitritos/nitratos. Un aumento de potasio en la dieta aumenta calcitreina y disminuye ciclooxigenasa-2, consistente con su efecto natriurético e hipotensor. La visión integrada de los efectos de potasio y sodio sobre hormonas renales permitirán conocer su mecanismo de acción sobre la presión arterial y función renal.

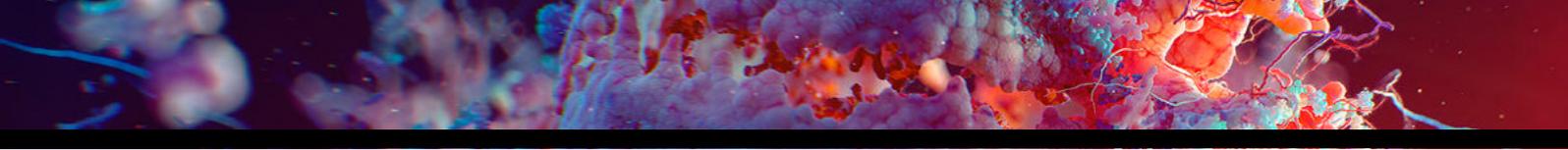
Proyectos Fondecyt 1130741, PFB 12/2007, SQM



POTASSIUM AND THE VESSEL WALL: POTASSIUM LOVES YOU UNTIL YOU ARE DEAD IS POTASSIUM A HERO OR A VILLAIN?

Raij, L¹, ¹ University of Miami Miller School of Medicine.

The plasma potassium level is normally maintained within narrow limits by multiple mechanisms that maintain potassium homeostasis. Such strict regulation is essential for vital physiologic processes, including the resting cellular membrane potential and the propagation of action potentials in neuronal, muscular, and cardiac tissue, hormone secretion and action, vascular tone, systemic blood-pressure control, insulin metabolism, inflammation, mineralocorticoid action, renal concentrating ability, and fluid and electrolyte balance. The importance of potassium homeostasis is underscored by the well-recognized finding that patients with hypokalemia or hyperkalemia have an increased rate of death. Moreover derangements of potassium homeostasis have been associated with pathophysiologic processes, including progression of cardiac and kidney disease. In this context the increased prevalence of hypertension and cardiovascular disease in industrialized societies undoubtedly is associated with the modern high-sodium/low-potassium diet. Extensive experimental and clinical data strongly link potassium intake to cardiovascular outcome. Most studies suggest that the sodium- to-potassium intake ratio is a better predictor of cardiovascular outcome than either nutrient individually. A high-sodium/low-potassium environment results in significant abnormalities in central hemodynamics, leading to potential target organ damage. Altered renal sodium handling, impaired endothelium-dependent vasodilatation, and increased oxidative stress are important mediators of this effect.

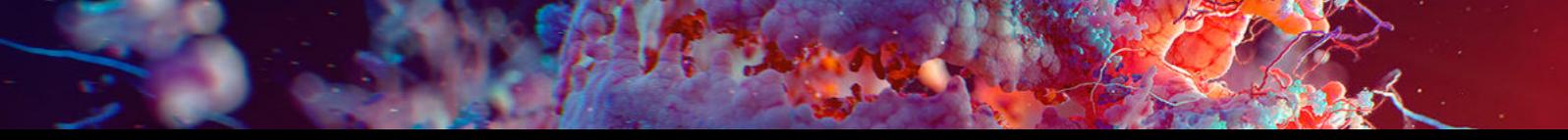


DIETA RICA EN POTASIO AUMENTA VASODILADORES ENDOTELIALES. (Potassium rich diet increases endothelial vasodilators)

García-Huidobro Toro, J. P. ¹, Donoso, M. V. ¹, ¹Departamento de Biología , Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Dietas ricas en potasio (K), que incluye la ingesta abundante de frutas y verduras frescas, reducen la presión arterial y disminuyen incidencia de enfermedades cardiovasculares. Investigamos los posibles mecanismos involucrados, evaluando la secreción de ATP extracelular, inducido por estimulación mecánica de células endoteliales del mesenterio de rata, como índice de síntesis de NO endotelial. Comparamos ratas con dieta control (1% K) vs dieta con K aumentado (4%K) por 4 semanas. Se procesan y cultivan células endoteliales en medio control (5.3 mM K) o con 10.6 mM K, tanto agudo como en células de ratas que consumieron dieta 4% K. La secreción basal de ATP extracelular no varió en las células de ambas poblaciones. No obstante, la estimulación mecánica mostró que las células de animales 4%K liberan el doble de ATP extracelular vs los respectivos controles; el nucleótido alcanzó un valor máximo al min del estímulo recuperando a los 15 min valores basales. La razón ATP extracelular/basal aumento desde 5.8 ± 0.98 (n=16) en células control a 10.2 ± 1.89 (n=16, p < 0.05) en ratas 4%K mantenidas en 10.6 mM K. Valores paralelos se observan con ADP extracelular. En resumen, la dieta alta en K aumentó consistentemente los niveles de ATP extracelular, y posiblemente NO endotelial, secretados por estímulo mecánico, consistente con los efectos beneficiosos descritos para dietas ricas en K.

Financiamiento: FONDECYT 1141132, PFB 0807, CEDENNA y SQM

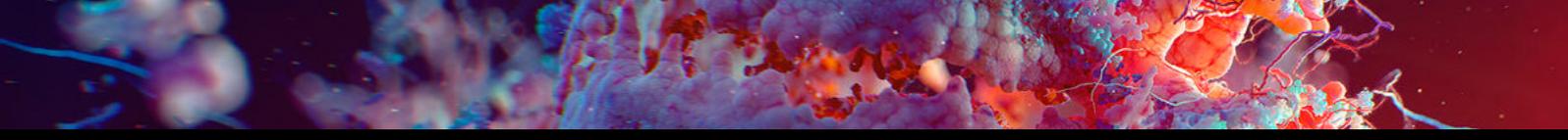


EL INCREMENTO DE LA INGESTA DE POTASIO, PROMUEVE LA RECUPERACIÓN DE LAS FUNCIONES COGNITIVAS Y PLASTICIDAD SINÁPTICA EN UN MODELO TRANSGÉNICO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. (Increasing potassium intake, it promotes recovery of cognitive function and synaptic plasticity in a transgenic model of Alzheimer's disease.)

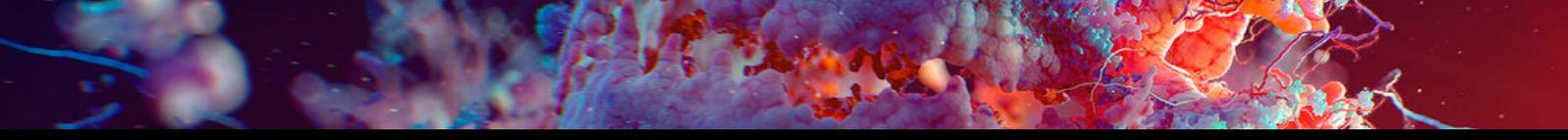
Inestrosa, N¹., Vio, C. P¹., Cisternas, P. ¹., ¹Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La enfermedad de Alzheimer (EA), ha sido asociada con diferentes patologías incluyendo diabetes, obesidad e hipertensión. La hipertensión es caracterizada por un aumento crónico en la presión sanguínea. Interesantemente, esta enfermedad se relaciona con la conducta alimentaria del paciente, ya que una alta ingesta de sodio representa el principal factor de riesgo para el desarrollo de esta patología. La disminución del consumo de sodio junto con un aumento en el consumo de potasio son capaces de prevenir el desarrollo y progreso de la hipertensión. En nuestro laboratorio hemos demostrado en un modelo transgénico de la EA, que el incremento en el consumo de potasio 2% es capaz de retardar la neurodegeneración. Específicamente, observamos una recuperación parcial de las capacidades cognitivas asociadas con procesos de memoria y aprendizaje, esto además se correlaciona con una mejora en la plasticidad neuronal (LTP). Además, observamos que el aumento en la ingesta de potasio logra disminuir la expresión de marcadores histopatológicos asociados a inflamación, activación glial y estrés oxidativo. Nuestros datos apoyan la idea de que cambios en la ingesta de sodio/potasio podría prevenir o retrasar el desarrollo/progresión de la EA.

Agradecimientos: CONICYT-PFB 12/2007; FONDECYT (1120156) a N.C.I, FONDECYT (1130747) a C.P.V y Beca Postdoctoral FONDECYT (3150475) a P.C. Se agradece también a la Sociedad Química y Minera de Chile.



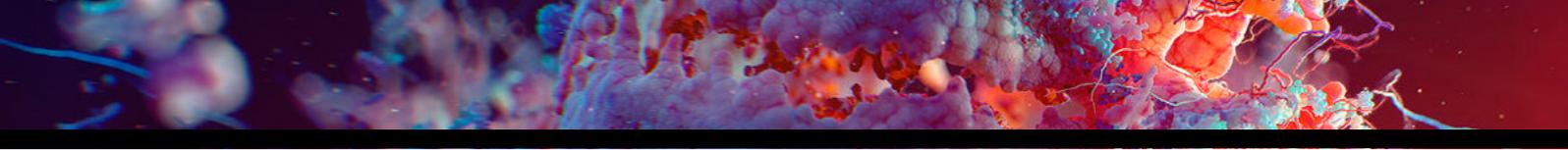
TALLERES



TALLER: MUJERES Y CIENCIA: DIFÍCIL PERO NO IMPOSIBLE
Coordina: Cecilia Hidalgo

Participan: Carvallo, P. (P. U. Católica), Altbir, D. (USACH), Parada, P. (BioSigma).

A lo largo de la historia las mujeres siempre han hecho aportes a la ciencia, pero salvo por contadas excepciones, estos aportes han permanecido mayoritariamente ignorados. Desde la infancia crecemos con la idea que la ciencia es un terreno de hombres, según estudios que indican que tanto niños como niñas consideran que las mujeres están ausentes del quehacer científico. Esta percepción es preocupante, pues indica que las niñas no ven la carrera científica como posible opción futura. Más aun, la ausencia significativa de mujeres científicas en la percepción de los niños revela que nos encontramos frente a un problema cultural profundo de nuestra sociedad, que se evidencia desde la infancia. En este taller analizaremos como la participación de las mujeres en el quehacer científico ha evolucionado favorablemente en el tiempo, aunque persisten importantes brechas de género, no solo en Chile sino que en todo el mundo, pues la ciencia sigue siendo substancialmente sexista. Tal es así que las científicas forman parte minoritaria de instancias de toma de decisión, están muy poco representadas como profesoras titulares y en las academias nacionales de ciencia del mundo, sus sueldos son menores y los trabajos de autoras principales mujeres son menos citados que los de sus colegas hombres. Analizaremos, además, como formar o no una familia impacta el trabajo de las científicas, y como aun hoy existen múltiples factores que limitan su acceso a redes informales de comunicación, que son importantes para seguir una carrera basada en los modelos de éxito actualmente existentes.



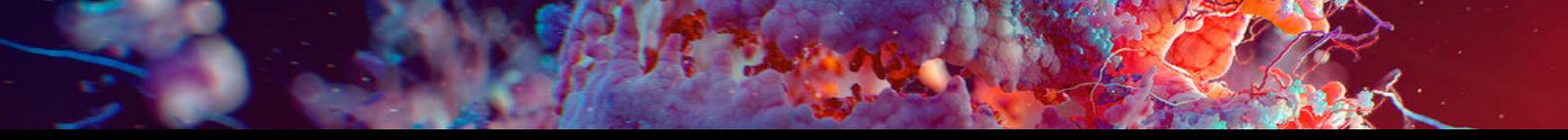
TALLER DE BIOÉTICA
Coordinador: Manuel Santos

CONTROVERSIAS BIOÉTICAS SOBRE LA MODIFICACIÓN GENÉTICA DE LA LÍNEA GERMINAL Y DE EMBRIONES HUMANOS. (Bioethical controversies over human germ line and embryo genetic modification).

Carlos Y. Valenzuela^{1,6}, Ana Preller^{2,6}, José L. Arias^{3,6}, Hugo Cárdenas^{4,6}, Manuel J. Santos^{5,6}. ¹Facultad de Medicina, ²Facultad de Ciencias, ³Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile, ⁴Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago ⁵Facultad de Ciencias Biológicas y Centro de Bioética, Pontificia Universidad Católica de Chile, ⁶Comité de Ética y Bioética, Sociedad de Biología de Chile

La modificación genética a través de la metodología CRISPR-Cas9, que permite cambiar específicamente genes particulares, aplicada a la línea germinal o a embriones humanos ha generado un profundo revuelo a nivel científico y bioético. Esta tecnología permitiría corregir fallas genéticas y así curar a los embriones afectados por enfermedades genéticas y, aplicada a la línea germinal de sujetos enfermos podría, además de curarlos, eliminar la afección de la población. También esta metodología podría lograr el diseño genético de los hijos que se deseen. Todo esto ha motivado una reflexión a nivel internacional, traducándose en algunos casos en moratoria a la aplicación de esta tecnología en seres humanos, tal como ha ocurrido con un conjunto de ganadores de Premio Nóbel, publicado en Science (19 marzo 2015).

En este taller, se debatirá sobre los aspectos bioéticos de la aplicación de esta tecnología en seres humanos mostrando diversas posiciones que encontramos en el seno de nuestra Sociedad de Biología de Chile. MJS agradece al proyecto N°4467/DPCC2015 de la P.Universidad Católica de Chile

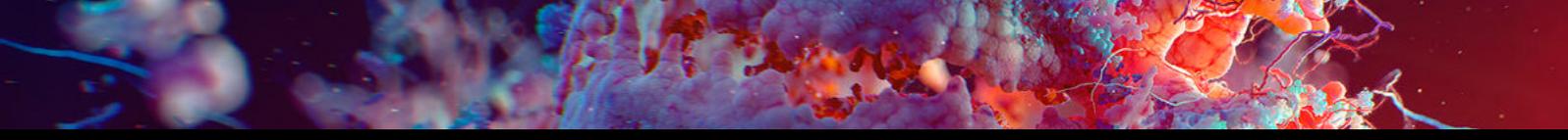


TALLER: SAX SOLUCIONES ANALITICAS

METABOLOMICA – NUEVAS HERRAMIENTAS EN ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA ESTUDIOS METABOLÓMICOS.

Rodriguez, C¹, ¹ Bruker Daltonics.

La determinación e identificación de metabolitos ha sido llevada a cabo por décadas debido a la importancia fundamental de los metabolitos en todos los procesos bioquímicos. El flujo de trabajo en metabolómica exige mucho a los sistemas analíticos en términos de robustez, rango dinámico, sensibilidad y resolución que contribuyen a mejorar las capacidades de identificación y estos desarrollos deben ser complementados con poderosas herramientas software de análisis de datos. Para estudios complejos en metabolómica, por mucho las principales técnicas estadísticas utilizadas son el análisis multivariante. Software como ProfileAnalysis permite el análisis sencillo de una enorme cantidad de datos para la búsqueda e identificación de marcadores utilizando métodos de análisis no supervisados (PCA y Clustering) o supervisados (PLS y T-Test). Una vez obtenidos los biomarcadores el siguiente paso es su identificación. Los sistemas Q-TOF Bruker tienen entre sus características principales, la alta resolución, masa exacta y el correcto patrón isotópico que son parámetros fundamentales para el proceso de identificación de compuestos. Recientemente Bruker ha desarrollado un nuevo software para estudios en metabolómica dirigida, PathwayScreener, teniendo un compuesto de inicio PathwayScreener interroga una base de datos de vías metabólicas para generar una lista de compuestos bioquímicamente relevantes que pueden ser buscados en los conjuntos de datos MS complejos previamente analizados en ProfileAnalysis.



INCORPORACIONES

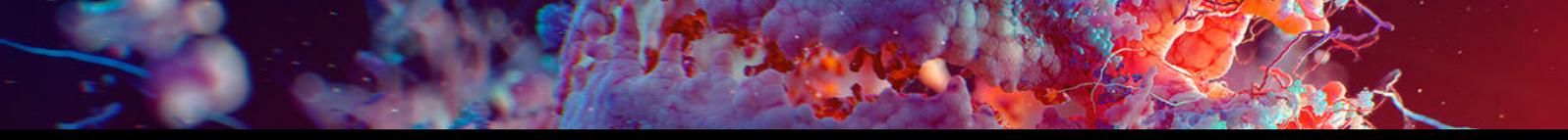
INCORPORACIONES I

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y FUNCIONAL DE LINFOCITOS T CD4⁺ DE TRUCHA ARCOÍRIS. (Phenotypic and functional characterization of rainbow trout T CD4⁺ lymphocytes).

Maisey, K.^{1,2}, Montero, R.², Flores, C.², Poblete, G.¹, Imarai, M.¹,¹Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.²ICTIO Biotechnologies Universidad de Santiago de Chile.

La respuesta inmune en peces no está bien caracterizada, existiendo un conocimiento limitado acerca de su función y regulación. La identificación de genes marcadores de linfocitos T como CD3, CD4, CD8 y diversas citoquinas sugieren que subpoblaciones de células T están presentes en los peces, aunque esto no se ha demostrado, en parte debido a la carencia de anticuerpos específicos para determinar las distintas subpoblaciones celulares. Mediante citometría de flujo se demostró que en bazo y riñón anterior, la trucha posee una población linfocitaria, que expresa los marcadores CD3ε y CD4, que definimos como linfocitos CD3ε⁺CD4⁺. Mediante cell sorting y RT-PCR analizamos estas poblaciones celulares, los resultados muestran que las células linfoides CD4⁺ aisladas son linfocitos T, ya que expresan los marcadores fenotípicos de las células T descritas en mamíferos. Se analizó funcionalmente la subpoblación de linfocitos T CD4⁺, particularmente la proliferación celular mediada por activadores policlonales y la proliferación antígeno-específica de peces vacunados contra *Yersinia ruckeri*. Los resultados muestran que los linfocitos CD4⁺ no proliferan por efecto de los activadores policlonales clásicos. Un resultado similar se obtuvo al realizar estudios de proliferación antígeno-específica. Mediante citometría de flujo y microscopia confocal se observó que linfocitos T CD4⁺ son capaces de incorporar perlas fluorescentes, bacterias vivas y fijadas, un proceso dependiente del reordenamiento del citoesqueleto de actina y tubulina. Adicionalmente, se observó que citoquinas como IL-2, IL-15 e IFN-γ potencian la capacidad fagocítica de los linfocitos T CD4⁺. Los resultados muestran que la trucha arcoíris existe una subpoblación CD3ε⁺CD4⁺ que definimos como linfocito T CD4⁺, estas células no proliferan frente al estímulo de los activadores policlonales conocidos y tampoco proliferan frente a un proceso de estimulación antígeno-específico. Esta población tiene capacidad fagocítica, tanto de partículas inertes como de bacterias y este proceso es modulado por citoquinas como IL-2, IL-15 e IFN-γ.

Fondecyt 1130882; G.O. N°21110476 Conicyt, CORFO 13CTI-21527

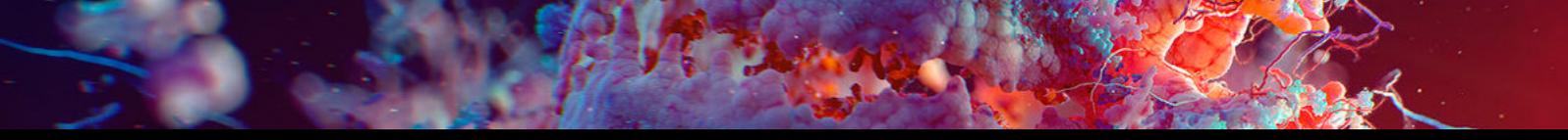


EFFECTO INMUNOMODULADOR DEL DERIVADO AROMÁTICO GERANILADO FILIFOLINONA, SOBRE LA INDUCCIÓN EN LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS. (Immunomodulatory effects of the aromatic geranyl derivative filifolinone tested by the induction of cytokine expression).

Valenzuela, B.¹, Imarai, M.¹, Torres, R.², Modak, B.², ¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. ²Departamento de Química, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los cultivos de peces se encuentran constantemente expuestos a enfermedades infecciosas en los sistemas de producción intensiva, dando lugar a importantes pérdidas económicas. El uso masivo de antibióticos para controlar bacterias ha llevado a la acumulación de residuos y al desarrollo de resistencia a estos medicamentos. Frente a esta problemática, es necesario nuevos tratamientos para estimular la respuesta inmune protectora en los salmónidos. En este trabajo, se evaluó la actividad inmunoestimulante del derivado terpénico 3 H-espiro [1-benzofuran-2,1-ciclohexano 0]. Este compuesto también llamado Filifolinona es aislado de especies del género *Heliotropium*. Resultados previos demostraron que varios derivados terpénicos poseen actividad antiviral en el salmón, lo que sugiere que un mecanismo de acción de los compuestos podría ser la estimulación de la respuesta inmune. Los efectos inmunomoduladores de Filifolinona, se estudiaron in vitro usando la línea celular SHK-1 derivada de leucocitos de riñón cefálico de salmón e in vivo en salmón del Atlántico. Para la evaluación, se estudió el efecto de este compuesto sobre la expresión de diversas citoquinas mediante qRT-PCR. Los resultados mostraron que Filifolinone aumenta los niveles de expresión de citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias. Estos resultados indican que la Filifolinona es un potencial inmunomodulador y puede ser utilizado como terapia para controlar enfermedades infecciosas en los peces.

FONDECYT 1130882 - 1110295



DESCIFRANDO LA ACCIÓN E INTERACCIÓN DE LAS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULAR, HIPPO Y NOTCH, DURANTE EL DESARROLLO OVÁRICO EN INSECTOS. (Deciphering the action and interaction of cellular signaling pathways, Hippo and Notch during ovarian development in insects)

Irles, P¹., Piulachs, M.D.²,¹Fruticultura y Enología, Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Insect Reproduction Lab, Functional Genomics and Evolution, Instituto de Biología Evolutiva (CSIC-Universitat Pompeu Fabra). (Sponsored by Rodrigo Iturriaga A.)

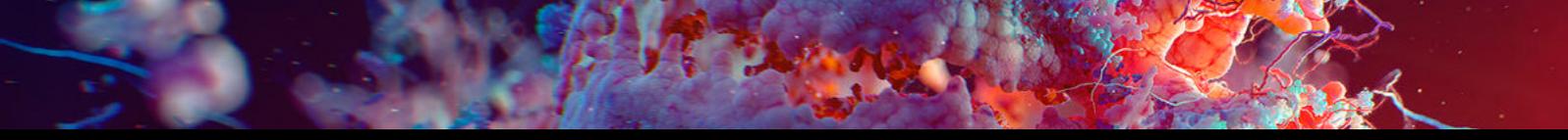
El éxito reproductivo de una especie depende, en gran parte, de los eventos asociados al proceso de maduración ovárica que involucra desde la definición de las células germinales primordiales hasta el establecimiento de la polaridad del embrión.

Nuestro interés se ha centrado en entender cuáles son los mecanismos moleculares involucrados en la oogénesis de insectos basales. Dentro de los objetivos se encuentra el estudio de las vías de señalización celular de Hippo y Notch, las cuales determinan el correcto balance entre procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular. Así, hemos determinado los patrones de expresión y localización de los principales componentes de estas vías. Además, usando el RNA de interferencia (RNAi) para el silenciamiento génico, hemos descrito funcionalmente las proteínas de Hippo, Yorkie y Notch en el ovario primitivo de la cucaracha *Blattella germanica*. Los resultados demuestran que la función supresora de tumores de la vía Hippo se encuentra conservada a lo largo de la escala evolutiva. Sin embargo, la interacción entre las dos vías es diferente: en oposición a la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, Hippo reprime Notch y gatilla la transición desde el estado mitótico de las células foliculares al endociclo, donde Yorkie tiene un papel fundamental. Los resultados sugieren que este rol de Hippo correspondería al más ancestral.

En la actualidad hemos introducido un nuevo insecto en nuestros estudios, la tijereta *Euborellia annulipes*, que posee un ovario que representaría la transición estructural y funcional entre los dos tipos de ovarios encontrados en insectos. Los resultados obtenidos permitirán consensuar los mecanismos de acción y de interacción entre las principales vías de señalización celular en el ovario que podrían ser extensibles al resto de artrópodos. Finalmente, se podrán identificar los elementos claves que operan en el correcto balance entre eventos celulares proliferativos y apoptóticos.

El trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, España (BFU2011-22404).

Beca postdoctoral BECAS CHILE, CONICYT y Programa Apoyo al Retorno de Doctores desde el Extranjero (821320046), Convocatoria 2013, PAI, CONICYT.



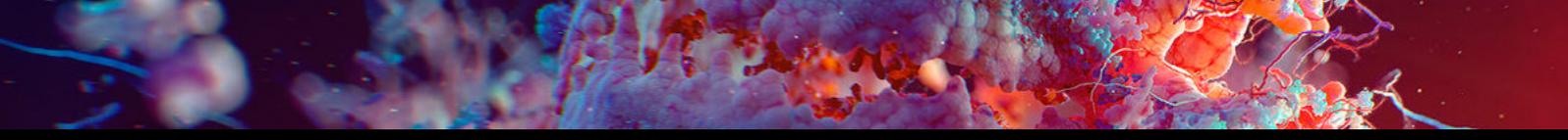
INCORPORACIONES II

MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS MEDIANTE EL USO DE DIETAS SUPLEMENTADAS EN SALMONES VACUNADOS Y SOMETIDOS A HIPOXIA AGUDA. (Modulation of cytokine expression in response to supplemented diets in vaccinated salmon pre exposed to acute hypoxia)

Rodríguez, F.¹, Valenzuela, B.¹, Farias, A.², Imarai, M.¹, ¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. ²Instituto de Acuicultura Universidad Austral de Chile.

Introducción: La administración de dietas suplementadas en la acuicultura busca en muchos casos potenciar la respuesta inmune o disminuir el estrés para aminorar los efectos adversos de las condiciones de cultivo a gran escala. Nosotros examinamos el efecto de 2 dietas suplementadas sobre el perfil de expresión de citoquinas en salmón del Atlántico y evaluamos cómo la vacunación, regularmente usada durante la producción, y la hipoxia, a la que se exponen normalmente los peces, pueden influir sobre la respuesta a las dietas. Materiales y métodos: Se usaron salmones (7-8 peces por grupo) los que fueron alimentados con una dieta rica en betaglucano (Bg) o betaglucano+astaxantina (Bax). Las dietas fueron administradas a peces vacunados y sin vacunar. La abundancia relativa IL-12, IFN- γ , IFN- α , TGF- β , IL-10, Mx y CD4 fue evaluada en riñón mediante q-RT-PCR. Como grupo control se usaron peces alimentados con dieta sin suplementos, sin vacunar y mantenidos en normoxia. La hipoxia aguda fue usada para inducir estrés en peces mantenidos en paralelo con los mismos tratamientos. Resultados: La dieta Bg no tuvo un efecto inmunoestimulante en los salmones, mientras que la dieta Bax indujo la expresión de IFN- α , IFN- γ , IL-12 y CD4 en peces sin vacunar y evitó la disminución de IFN- α e IFN- γ observada en hipoxia. En peces vacunados y mantenidos en normoxia, la dieta Bg tampoco tuvo un efecto inmunoestimulante, sin embargo, la administración de la dieta Bax aumentó de forma importante la expresión de IL-12, IFN- γ , IFN- α , TGF- β , IL-10, Mx y CD4. En estos peces, la hipoxia no tuvo efecto en los niveles de transcritos de citoquinas y marcadores inmunes comparado con el grupo control. Conclusión: La administración de la dieta Bax junto a la vacuna potencia la producción de citoquinas en salmón del Atlántico.

Fondecyt 1130882



EFFECTO ANTIVIRAL DEL FLAVONOIDE HH3 CONTRA EL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA Y EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN. (Antiviral effect of HH3 flavonoid against Infectious Pancreatic Necrosis Virus and Infectious Salmon Anemia Virus)

Soto-Aguilera, S.^{1,2,3}, Valenzuela, B.^{1,2,3}, Sandino, A. M.^{4,2,3}, Modak, B.^{5,3}, Imarai, M.^{1,2,3},¹Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.²Universidad de Santiago de Chile ICTIO Biotechnologies.³Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile Centro de Biotecnología Acuícola (CBA).⁴Laboratorio de Virología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.⁵Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

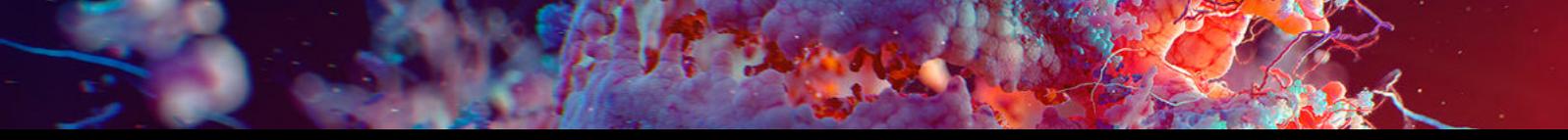
Introducción: Estudios en salmón del Atlántico y en la línea celular SHK-1, demostraron que el flavonoide HH3, derivado de *Heliotropium huascoense*, induce la expresión de interferón. Ya que IFN- α constituye una importante línea de defensa contra infecciones virales en vertebrados, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antiviral del flavonoide HH3 contra el virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV) y el virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV).

Métodos: Para evaluar el efecto antiviral de HH3 se usaron dos líneas celulares de salmón, SHK-1 y ASK. Las células se incubaron con HH3 por diferentes periodos de tiempo y se evaluó el efecto sobre la vía de activación de interferón y de genes inducidos por interferón (ISGs) mediante qRT-PCR. Se estudió además el efecto del medio condicionado proveniente de SHK-1 estimuladas con HH3 (MCH) sobre la vía de activación de interferón e ISGs y el efecto antiviral infectando las células con ISAV o IPNV.

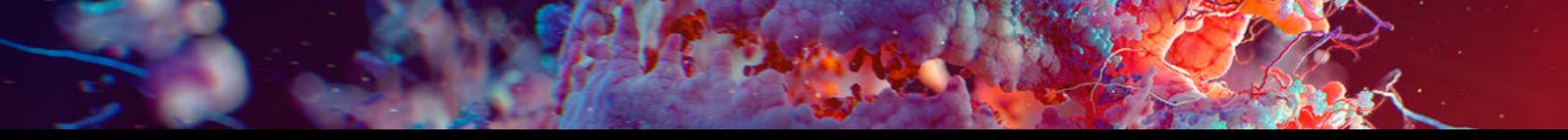
Resultados: HH3 produce incremento de la expresión de IFN- α 1 en células SHK-1 e induce la expresión de Mx, PKR, γ IP. El MCH también induce en ASK un incremento de IFN- α 1, Mx y PKR, al día 4 post-tratamiento, lo que sugiere que IFN- α podría mediar el efecto de HH3. En forma concomitante, se observó en ASK una disminución de la replicación de IPNV e ISAV, luego de 2 y 4 días post-infección, respectivamente. Jak Inhibitor I indujo la disminución de la expresión de transcritos de IFN- α 1, Mx y PKR y a su vez un aumento en el título viral de ISAV e IPNV.

Conclusión: Estos resultados indican que HH3 induce la vía de señalización de interferón en células de salmón. Además, un producto secretado, produce la activación de la vía de interferón y actividad antiviral contra IPNV e ISAV, sugiriendo que este producto es IFN- α .

Agradecimientos : CONICYT, CORFO 13CTI-21527, FONDECYT 1130882.



COMUNICACIONES ORALES



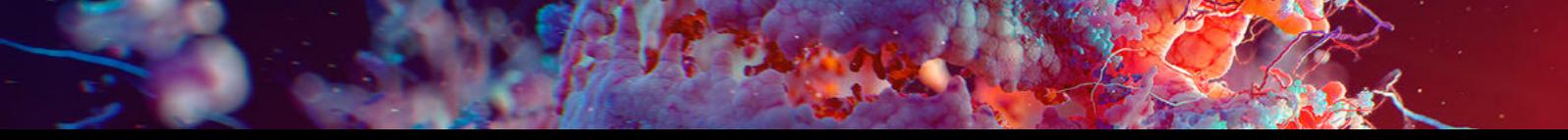
COMUNICACIONES ORALES I

ÓXIDO NÍTRICO ACTIVA ICAM-1 EN EL ENDOTELIO AL COMIENZO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA.

Aguilar, A.^{1.}, Guequén, A.^{1.}, Boric, M.^{2.}, Sarmiento, J.^{3.}, Ehrenfeld, I.^{4.}, Sanchez, F.¹ Instituto de Inmunología, Medicina, UACH.² Instituto de Fisiología, Ciencias, PUC.³ Instituto de Fisiología, Medicina, UACH.⁴ Patología, Medicina, UACH. (Sponsored by Dr. Hugo Folch)

El endotelio vascular juega un rol vital en la respuesta inflamatoria a través de la expresión de moléculas de adhesión, luego de la estimulación con citocinas proinflamatorias. Por otro lado, se ha descrito que el óxido nítrico (NO) inhibe la expresión de estas moléculas. Sin embargo, el hecho que los mismos agonistas que inducen producción de NO inducen adhesión de leucocitos a tiempos cortos nos llevó a probar la hipótesis de si el NO activa la adhesión de leucocitos al comienzo de la respuesta inflamatoria regulando positivamente a ICAM. Como modelo usamos células EAhy926 y como agonista TNF- α . La activación de eNOS y los niveles de ICAM-1 fueron evaluados por Western-blot, inmunofluorescencia y biotinylation. La adhesión leucocitaria se determinó midiendo la actividad de mieloperoxidasa y mediante microscopia intravital en cremaster de ratón [m1]. Nuestros resultados demuestran que TNF- α aumentó la adhesión de leucocitos a los 5 y 15 minutos, proceso que fue inhibido en presencia de LNMA (inhibidor de eNOS). El incremento en la adhesión se correlacionó con la fosforilación de eNOS y PKC ζ , esta última induce fosforilación de ICAM aumentando su agrupación en la superficie lo cual facilita el reclutamiento de polimorfonucleares. Los resultados de adhesión fueron corroborados in vivo en el modelo microcirculación de ratón.

Proyecto Fondecyt 1130769 y 1150789

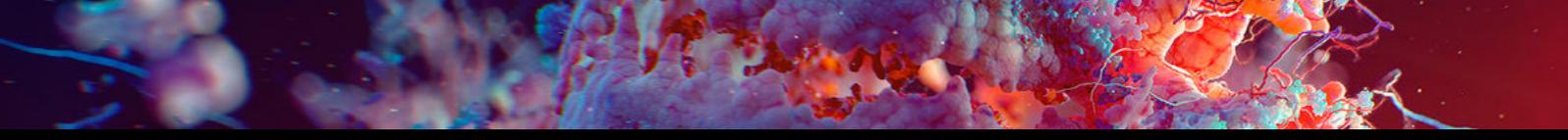


LA HIPOTIROXINEMIA GESTACIONAL AFECTA LA DISTRIBUCIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE GLUN1 Y CD3Z ADEMÁS DE CAMKII Y LA PLASTICIDAD A TRAVÉS DE UN MECANISMO-ASTROCITO DEPENDIENTE.

Cisternas, P.^{1.}, Loveau, A. E.^{2.}, Bueno, S.^{3.}, Kalergis, A.^{4.}, Boudin, H.^{5.}, Riedel, C.^{6.},¹Ciencias Biológicas, Biología, Universidad Andrés Bello.²INSERM Unité Mixte de Recherche 1064, Institut Transplantation Urologie Nephrologie, Centre Hospitalier Universitaire Nantes.³Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴Ciencias Biológicas, Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁵INSERM Unité de Recherche 913, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Université de Nantes.⁶Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Claudia Riedel Soria)

La hipotiroxinemia gestacional es una condición que se caracteriza por bajos niveles de tiroxina materna (T_4) durante la gestación. Esta condición está estrechamente asociada con el deterioro cognitivo en la descendencia. Estudios en modelos animales han demostrado alteraciones en el aprendizaje, memoria y modificaciones en las sinapsis glutamatérgicas de las neuronas en el hipocampo. Dado que los astrocitos contribuyen críticamente al desarrollo y el funcionamiento de las sinapsis, se estudiaron los efectos de la hipotiroxinemia gestacional sobre la capacidad de los astrocitos para modular el establecimiento de la sinapsis glutamatérgica en la progenie. Utilizando un modelo de co-cultivo *in vitro* de astrocitos y neuronas hipocámpales provenientes de la progenie gestada en hipotiroxinemia o en eutiroidismo se determinó la localización de marcadores sinápticos como GLUN1, CD3z, PSD95 y sinapsina-1 mediante inmunofluorescencia. Además, se evaluó la actividad sináptica mediante LTP químico. Se encontró que la hipotiroxinemia gestacional alteró la localización sináptica de GluN1 y CD3z través de un mecanismo dependiente de astrocito. Estos efectos se asociaron con una menor capacidad de reclutar CamKII a la espina dendrítica, proceso clave en la plasticidad sináptica. Estos resultados destacan la importancia del astrocito en la sinapsis y el efecto nocivo de hipotiroxinemia gestacional apoyando la importancia del diagnóstico de las hormonas tiroideas maternas durante el embarazo.

FONDECYT #1130996 Millennium Institute P-09-016F ECOS-CONICYT # C11S03

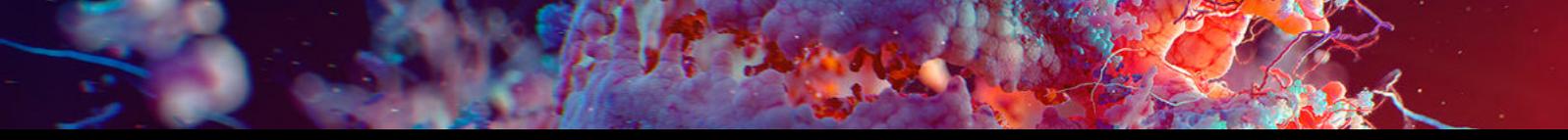


ABLACIÓN DE LOS CUERPOS CAROTIDEOS: NUEVA HERRAMIENTA CONTRA LA HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA.

Andrade, D. C.^{1,2,3}, Arias, P., Del Rio, R.⁵, Iturriaga, R.⁶,¹Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ³Laboratory of Cardiorespiratory Control, Center of Biomedical Research, Universidad Autónoma de Chile. (Sponsored by Rodrigo Iturriaga Agüera)

Chronic intermittent hypoxia (CIH), the main feature of obstructive sleep apnea, elicits carotid body (CB) potentiation and trigger sympathetic hyperactivity, leading to hypertension. To reveal the causal relationship between CB potentiation and hypertension induced by CIH, we study the effects of CB ablation in CIH-hypertensive rats. Male Sprague-Dawley rats (200 g) were exposed to CIH (5% O₂, 12 times/h, 8 h/day/28days). Arterial blood pressure (BP) was measured by radiotelemetry in conscious rats. The ventilatory response to hypoxia was measured at F_iO₂ of 21, 15 and 10%. Cardiac baroreflex efficiency was measured by the sequence method (BRs) and intravenous infusion of phenylephrine (25 µg/kg) and sodium nitroprusside (50 µg/kg). Autonomic balance was measured by heart rate variability (HRV) and intravenous infusion of atropine (1 mg/kg) and propranolol (1 mg/kg). Additionally, we measured cardiac remodeling, arrhythmia score and systemic oxidative stress. After 3 weeks of CIH, under isoflurane anesthesia both CBs were destroyed with an ice cold needle, and rats were kept 1 more week in CIH. Rats exposed to CIH developed hypertension (99.9 ± 1.8 to 109.8 ± 2.3 mmHg), potentiation of the CB chemoreflex (F_iO₂ 10%, 0.63 ± 0.03 to 0.76 ± 0.05 ml/kg), decrease BRs (2.28 ± 0.05 to 1.76 ± 0.10 ms/mmHg), HRV imbalance, higher oxidative stress, cardiac remodeling and increased arrhythmia score (101 ± 25 to 184 ± 22 events/hr). The ablation of the CBs decreased the elevated BP (to 101.8 ± 1.6 mmHg), reduced ventilatory response to hypoxia (F_iO₂ 10% 0.58 ± 0.04 ml/kg) normalized BRs (2.52 ± 0.13 ms/mmHg), and reversed the HRV imbalance, cardiac remodeling and arrhythmia score (to 104 ± 23 events/hr). Interestingly, CB ablation did not reverse the systemic oxidative stress. These results suggest that the ablation of the CBs may be a potential clinical therapeutic tool against to hypertension induced by CIH

FONDECYT 1150040



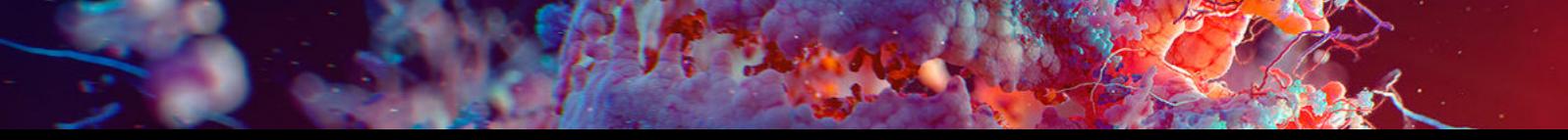
CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO NEUROPROTECTOR DE UNA ISOFORMA DE ERITROPOYETINA RECOMBINANTE HUMANA DE BAJA GLICOSILACIÓN EN ESTRÉS MEDIADO POR PEPTIDO B AMILOIDE.

Castillo, C^{1,2}, Salvatierra, P.¹, Hidalgo, A.¹, Fuentealba, J.², Toledo, J. R.¹, ¹Laboratorio Biotecnología y Biofármacos, Dpto. Fisiopatología Universidad de Concepción. ²Laboratorio Screening de Compuestos Neuroactivos, Dpto. Fisiología Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Eritropoyetina (Epo) es una hormona glicoprotéica de 34kDa, cuya función principal es regular la hematopoyesis, sin embargo debido al descubrimiento de su receptor (EpoR) en tejidos no eritroides, se ha asociado esta hormona a otras funciones. En el sistema nervioso central (SNC), se observó que Epo tiene efecto neuroprotector relacionado con la activación de vías de señalización antiapoptóticas asociadas a su receptor. El objetivo de este trabajo es evaluar y caracterizar la actividad neuroprotectora de una isoforma de Epo recombinante humana con baja glicosilación y reducida actividad hematopoyética (EpoL), en condiciones de estrés mediado por péptido beta amiloide ($A\beta$), principal proteína asociada a Alzheimer. Para desarrollar este objetivo se utilizaron neuronas corticales de rata que fueron pretratadas con EpoL durante 1 hr y posteriormente incubadas con $A\beta$ durante 1 hr y 24 hr. Las células pretratadas durante 1 hr con EpoL presentaron un aumento de viabilidad del 32%. Además pretratamientos con EpoL previenen el aumento de transitorias de calcio en neuronas incubadas con $A\beta$, durante 1 hr y previenen la disminución de las mismas en tratamientos crónicos con $A\beta$. Estos resultados concuerdan con diferencias observadas en la expresión de la proteína sináptica SV2 en procesos primarios neuronales, también de EpoR en neuronas, y con la activación de vías de señalización antiapoptóticas. Los resultados de este trabajo sugieren que EpoL tiene actividad neuroprotectora en estrés mediado por $A\beta$, activando vías de señalización antiapoptóticas por medio de su receptor EpoR, reforzando su potencial uso farmacológico en enfermedades relacionadas con el SNC como enfermedades neurodegenerativas.

Proyecto Innova (13IDL218688)

Beca Doctorado Nacional CONICYT (21130368)



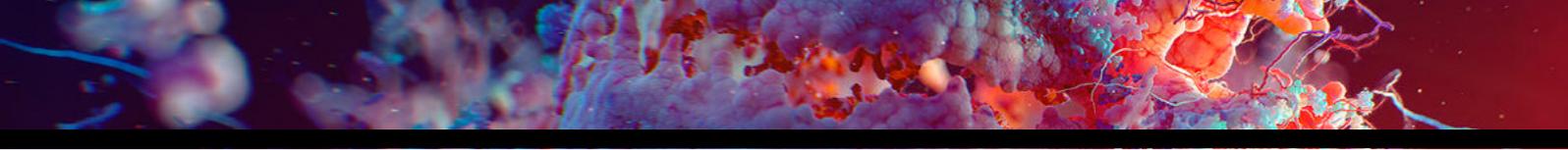
GABAERGIC ACTIVATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS INCREASES THEIR IMMUNOSUPPRESSIVE PROPERTIES VIA INCREASED NITRIC OXIDE AND GABA.

Fuentealba, R.¹, Vásquez, M.¹, Fernández, S.¹, Vega-Letter, A. M. ¹, Kurte, M.¹, Moya, I.¹, Gauthier-Abeliuk, M.¹, Carrión, F.¹, Figueroa, F.¹, ¹Laboratorio de Inmunología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. (Sponsored by Carlos Ernesto Irrazábal Muñoz)

Mesenchymal Stem Cells (MSC) are multipotent cells that show strong immunosuppressive properties after inflammatory environment sensing. This sensing capacity could be related to the action of neurotransmitters. γ -aminobutyric acid (GABA) is a potent anti-inflammatory molecule that inhibits: (1) T-cell proliferation in vitro, (2) the secretion of pro-inflammatory cytokines by activated macrophages, and (3) antigen presenting cells function. GABA is synthesized from glutamic acid by glutamic acid decarboxylase (GAD).

We have previously shown that pro-inflammatory cytokines increase GAD expression and enhance MSC-mediated immunosuppression in vitro. Moreover, expression of GAD increases immunosuppressive properties of murine MSC in the absence of pro-inflammatory stimulus (CD4⁺ T-cell co-culture). Here, we evaluated the effect of GAD expression on splenic T-cell proliferation, and analyzed levels of the soluble immunosuppressors GABA and nitric oxide, both in pure MSC cultures and in MSC/splenocytes co-cultures. Expression of GAD also increased the immunosuppressive properties of MSC to splenocytes stimulated with Anti-CD3/Anti-CD28. Levels of GABA, but not nitric oxide, were increased in pure MSC transfected with GAD. Surprisingly, increased nitric oxide levels were detected in co-culture supernatants of GAD-expressing MSC, and these levels were comparable to those obtained using licensed MSC. These results may indicate interplay between GABAergic and nitric oxide signaling in the setting of MSC-mediated immunosuppression.

FONDECYT#1130482.

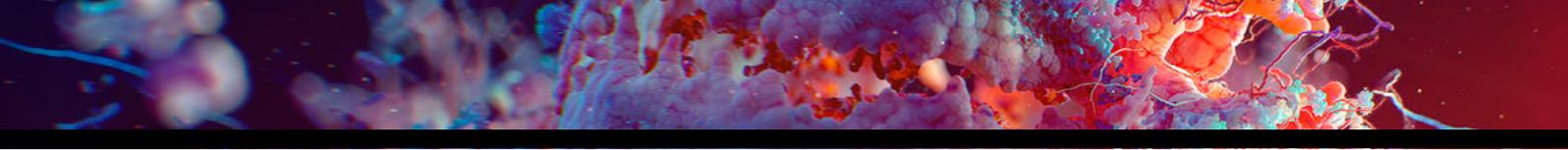


MAYOR CONSUMO DE POTASIO DISMINUYE LOS DAÑOS BIOQUÍMICOS Y CONDUCTUALES EN UN MODELO DE ALZHEIMER.

Lindsay, C. B.^{1.}, Cisternas, P.^{1.}, Salazar, P., Vio, C. P.^{1.}, Inestrosa, N. C.^{1.}, ¹CARE, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo caracterizado por la acumulación de placas seniles y ovillos neurofibrilares y disfunción sináptica, lo que genera un daño cognitivo. La EA ha sido asociada a patologías como la hipertensión, la que podría evitarse con un aumento del potasio en la dieta. En este trabajo se estudió si el consumo de potasio es capaz de afectar ciertos marcadores neuropatológicos en ratones APP^{swe}/PS1^{dE9} modelos de EA. Utilizando grupos control y tratados (2% potasio) determinamos que el tratamiento induce cambios en los factores de la EA; incluyendo mejoría en las capacidades cognitivas, una disminución tanto en la agregación como en los niveles de oligómeros del péptido A β utilizando tinción de tioflavina y ensayos de ELISA, además de niveles disminuidos de la proteína tau fosforilada y de los marcadores de inflamación y estrés oxidativo mediante inmunoblot e inmunofluorescencias. El posible mecanismo de acción se examinó mediante neuronas en cultivo. Concluimos que un aumento en el consumo de potasio es un factor relevante en la prevención de la EA.

Agradecimientos: CONICYT-PFB 12/2007; FONDECYT (1120156) a N.C.I, FONDECYT (1130747) a C.P.V y Beca Postdoctoral FONDECYT (3150475) a P.C. Se agradece también a la Sociedad Química y Minera de Chile.

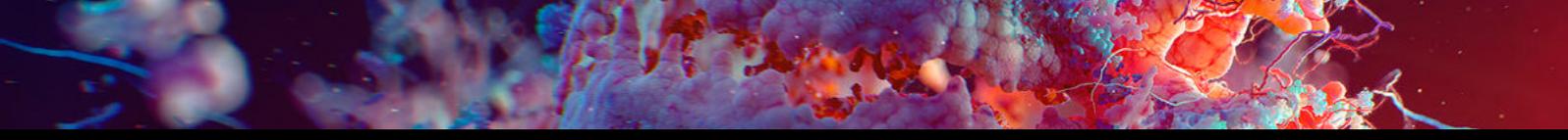


COPPER-INDUCED MEMBRANE DEPOLARIZATION EVENTS INVOLVE THE ACTIVATION OF MOSAIC TRP CHANNELS AND NEUROTRANSMITTER RECEPTORS IN THE MARINE ALGA ULVA COMPRESSA.

Gómez, M., Moenne, A¹, ¹Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

The marine alga *Ulva compressa* is the dominant specie in copper-impacted sites of northern Chile which indicates that the alga display efficient mechanism of copper tolerance. In order to analyze initial depolarization events induced by copper excess, the alga was cultivated with 250 μ M copper for 12 h. Depolarization events were registered at 4, 9 and 12 min as well as at 1.3-1.4, 5 and 9 h. In order to analyse the nature of the channels and receptors activated in response to copper, the alga was incubated with antagonists of specific human TRP channels and neurotransmitter receptors, and further with copper. Depolarizations at 4 and 9 min were inhibited by specific antagonist of TRPA1, V1, M8 and C channels, depolarization at 12 min was inhibited by antagonists of TRP A1, M8 and C, depolarizations at 1.3-1.4 h min were inhibited by antagonists of TRPA1 and M8 and depolarizations at 5 and 9 h were inhibited by antagonists of TRPA1 and C. In addition, all these depolarizations were inhibited by DNQX, an antagonist of glutamate receptor of NMDA type and depolarizations at 4, 9 and 12 min and 1.3-1.4 h were inhibited by propranolol, an antagonist of β -adrenergic receptors, and by ketanserine, an inhibitor of serotonergic receptors. In addition, supernatants of the alga cultivated with copper for 0 to 5 min showed an increased level of aminoacids such as glutamate, glycine and serine as well as an increase in adrenalin and serotonin contents. Thus, copper induces the activation of mosaic TRP channels which requires the previous activation of neurotransmitter receptors which is in accordance with the release of aminoacids, adrenalin and serotonin from the alga cultivated with copper excess.

Financed by Fondecyt 1130118.

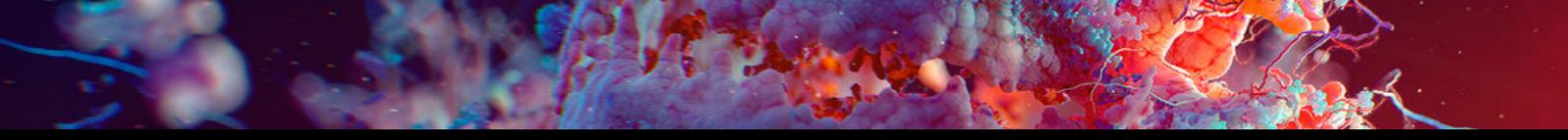


COMUNICACIONES ORALES II

EVALUACIÓN DE LA ACTIVACION DE FOSFOLIPASAS MEDIADAS POR EL RECEPTOR P2X7 EN LA FUSION CELULAR.

Fuentes, P.^{1.}, **Acuña, C.**^{1.},¹Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La fusión celular está ampliamente descrita en condiciones fisiológicas asociada a remodelación ósea. En este proceso se sabe que el receptor P2x7 esta implicado. Este receptor pertenece a familia de receptores ionotrópicos activados por ATP. Por otro lado se ha descrito que la fusión celular está directamente asociada a distribución específica de fosfolípidos y participación de fosfolipasas y esfingomielinasas . Dado que el receptor p2x7 activa estas enzimas, nuestra hipótesis es estas enzimas están involucradas en fusión celular. Para esto nuestro laboratorio se ha desarrollado un modelo de células MDCK transfectadas con receptor P2X7 (MDCK P2X7), evaluándose su participación en fusión celular mediante inducción con agonistas y antagonistas del receptor en estas células adherentes en cultivo, tiñendo diferencialmente núcleo y citoplasma, visualizado microscópicamente células fusionadas y efectuando su recuento Hemos obtenido que concentraciones óptimas de inducción de fusión son 100 uM de ATP, 10 uM de BzATP logrando máxima fusión y saturación del receptor, así como concentraciones de antagonistas los farmacológicos PPADs 10 uM; BBG 25 uM y o-ATP 600 uM que logran mínima fusión celular. Evaluamos competencia por P2X7 entre agonistas y antagonistas y efecto de inhibidores de fosfolipasa sobre fusión celular ya que la comprensión de la farmacodinamia del receptor aportará en el conocimiento de su funcionamiento y participación en la fusión celular

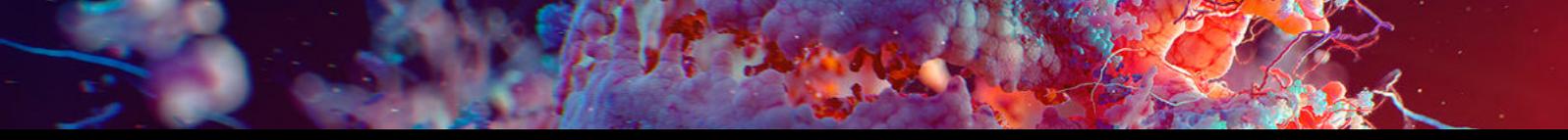


RESPUESTA DEL SISTEMA NEUROENDOCRINO PULMONAR A LA INFECCIÓN PRIMARIA POR EL MICROHONGO *PNEUMOCYSTIS* EN RATAS INMUNOCOMPETENTES.

Méndez, A.¹, Iturra, P.¹, Rojas, D.¹, Ponce, C. A.¹, Bustamante, R.¹, Pérez, F.¹, Rodríguez, H.², Vargas, S. L.¹, ¹Laboratorio de Infecciones Respiratorias, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La infección primaria por *Pneumocystis* (IPP) es la infección respiratoria más frecuente del lactante e induce cambios patológicos que podrían favorecer el desarrollo de enfermedades respiratorias crónicas. El sistema neuroendocrino pulmonar comprende células epiteliales innervadas (PNEC/NEBs), consideradas quimiorreceptores de hipoxia, que secretan neuropéptidos (CGRP y GRP) que mediarían inflamación, hiperreactividad y remodelación epitelial. La relación entre *Pneumocystis* y sistema neuroendocrino pulmonar no ha sido estudiada, en este sentido, caracterizamos la morfología de PNEC/NEBs y niveles de CGRP y GRP durante la IPP. Se utilizaron pulmones de rata inmunocompetente infectadas con *Pneumocystis* y controles, sacrificadas a los 45, 60, y 75 días de edad. Se midió densidad y altura de PNEC/NEBs mediante inmunohistoquímica anti-CGRP, concentración de GRP mediante ELISA, y expresión génica de CGRP y GRP mediante qRT-PCR. La densidad de NEBs en la vía aérea pequeña y total aumentó en el día 75 de infección ($0,7 \pm 0,9$ y $0,9 \pm 4,5$ NEBs/mm de membrana basal (mmMB)) versus controles ($0,2 \pm 0,2$ y $0,4 \pm 1,0$ NEBs/mmMB) ($p=0,036$ y $p=0,039$), respectivamente. La altura de NEBs en ratas infectadas fue mayor el día 60 ($12,9 \mu\text{m}$) versus controles ($9,0 \mu\text{m}$) ($p=0,0316$). No hubo diferencias en niveles de GRP. La expresión de mRNA de CGRP en infectadas aumentó 2,8 veces el día 75 ($p=0,0029$), y el porcentaje de expresión de mRNA de GRP aumentó los días 60 (50% vs 33%) y 75 (67% vs 0%). Por lo tanto, IPP se asocia a hiperplasia e hipertrofia de células neuroendocrinas y a aumento de CGRP en ratas, sugiriendo que *Pneumocystis* se asocia a estímulo del sistema neuroendocrino y que éste podría contribuir a la patogenia de la infección.

FONDECYT Regular 1140412



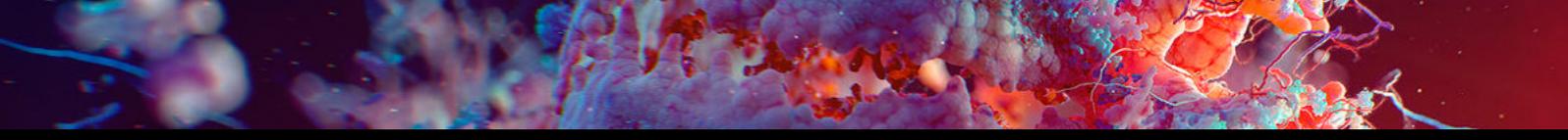
PRODUCCIÓN DE UNA PROTEÍNA TIPO PEROXIRREDOXINA EN EL ERIZO ANTÁRTICO (*STERECHINUS NEUMAYERI*) EN RESPUESTA A PATRONES MOLECULARES ASOCIADOS A PATÓGENOS.

Morales-Lange, B.^{1.}, Gonzalez-Aravena, M.^{2.}, Font, A.^{2.}, Mercado, L.^{1.}, ¹Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular. Grupo de Marcadores Inmunológicos en Organismos Acuáticos, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. ²Departamento Científico, Laboratorio de Biorrecursos Antárticos Instituto Antártico Chileno. (Sponsored by Luis Alberto Mercado Vianco)

Sterechinus neumayeri es un equinodermo endémico del continente Antártico, que en la actualidad enfrenta el aumento de la temperatura marina producto del cambio climático. Esto produciría efectos nocivos sobre el sistema inmune del animal, provocando susceptibilidad a potenciales patógenos. Adicionalmente las condiciones ambientales incrementan el estrés oxidativo en el erizo. Entonces, el sistema inmune debe expresar moléculas con propiedades antioxidantes, no obstante se desconoce la capacidad de esta especie para atenuar el estrés oxidativo. En vertebrados, estas funciones pueden ser asumidas por Peroxirredoxinas (Prx) con propiedades antioxidantes e inmunoreguladoras, capaces de activar respuestas citotóxicas celulares. Esto convierte a Prx en un candidato como indicador de capacidad antioxidante en el desarrollo de una respuesta inmune. Existen antecedentes genéticos que predicen la existencia de esta molécula en el erizo púrpura, la cual a nivel de estructura primaria posee homología con la proteína de vertebrados. Con el fin de establecer la capacidad de respuesta inmune, mediante Prx en el erizo antártico, se desafió con patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's). Paralelamente, se generaron moléculas epítopes sintéticas de Prx para la producción de anticuerpos. Luego, por medio de Westernblot, ELISA indirecto e Inmunofluorescencia, se evidenció la producción de Prx en celomocitos, glándula digestiva y esófago de *S. neumayeri* desafiados. Lo anterior podría indicar la participación de Prx en la respuesta inmune y antioxidante del erizo antártico. Las evidencias presentadas en este trabajo, podrán ser utilizadas para el establecimiento de una línea base respecto a la capacidad de respuesta de *S. neumayeri* y con Prx como marcador molecular, evaluar su producción en especies expuestas a cambio climático en la Antártica.

FONDECYT Regular 1131001, Coping with warming of Southern Ocean: Invertebrates response to thermal stress conditions.

CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2015-21151176.

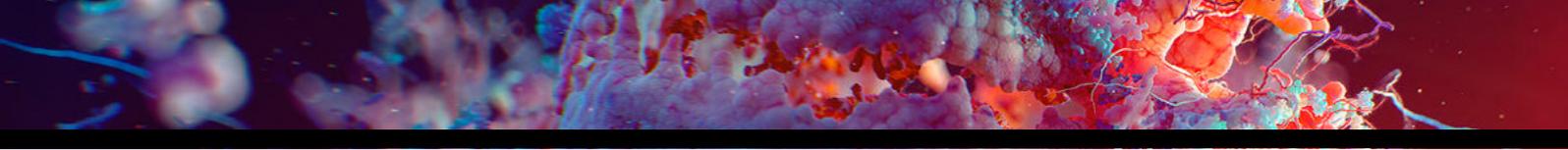


VIRUS HERPES SIMPLEX 2 CARENTE DE LA GLICOPROTEÍNA D ES ATENUANDO EN CÉLULAS DENDRÍTICAS, PROMUEVE LA MADURACIÓN Y LA ACTIVACIÓN DE CÉLULAS T.

Retamal-Diaz, A.^{1.}, Tognarelli, E.^{1,2.}, Suazo, P. A^{1.}, Kalergis, A. M^{3.}, Gonzalez, P. A^{1.},¹Laboratorio Virus e Inflamación, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Laboratorio Virus e Inflamación, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.³Genética Molecular y Microbiología, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El virus herpes simplex 2 (VHS-2) es la principal causa de encefalitis neonatal y de úlceras genitales a nivel mundial. VHS-2 modula negativamente la función de células dendríticas (DCs), bloqueando su adecuada maduración, estimulando la secreción de citoquinas pro-inflamatorias y últimamente induciendo muerte celular. Estos efectos impactan directamente sobre la capacidad de estas células de activar células T. En este trabajo evaluamos el efecto de un virus VHS-2 mutante para la glicoproteína D (gD) sobre la viabilidad de DCs, su maduración, así como su capacidad de activar células T naïve virus-específicas o bien específicas para antígenos derivados de ovoalbúmina. Para ello, utilizamos un virus mutante para la glicoproteína D (VHS-2 delta-gD) complementado fenotípicamente con gD de HSV-1 (VHS-2 delta-gD^{-/+gD1}). Nuestros resultados muestran que DCs expuestas a VHS-2 delta-gD^{-/+gD1} son significativamente más viables que DCs infectadas con VHS-2 silvestre, las cuales presentan una viabilidad menor al 20%. Además, VHS-2 delta-gD^{-/+gD1} promueve la expresión de MHC-I y MHC-II en DCs y reduce la secreción de IL-6 por estas células, mientras que se observa lo opuesto con VHS-2 silvestre. Finalmente, DCs inoculadas con VHS-2 delta-gD^{-/+gD1} promueven una significativa activación de células T CD8⁺ virus-específicas (gBT-I) y células T CD4⁺ antígeno-específicas (OT-II, ovoalbúmina) y estimulan la expresión de marcadores de activación (CD25 y CD69), así como la secreción de IL-2 en estas células.

FONDECYT 1140011, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia P09/016F, Proyecto CRP-ICGEB 2762-011.

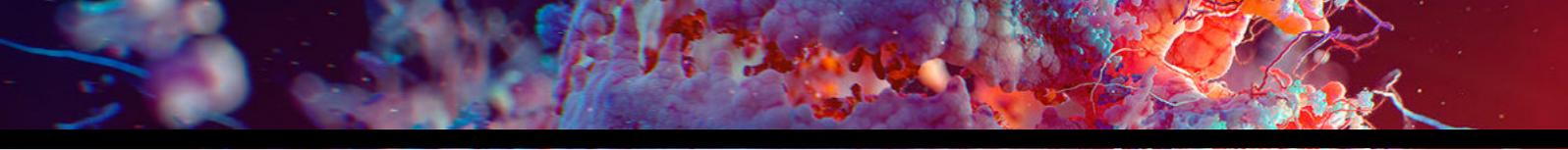


EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE FUSIÓN VIRAL EN CÉLULAS TUMORALES, COMO MECANISMO PARA INDUCIR UNA RESPUESTA ANTITUMORAL.

Robles, C.¹, Sanchez, G.¹, Acuña, C.¹,¹Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El cáncer es una de las enfermedades con mayor incidencia y tasas de mortalidad a nivel mundial. La Viroterapia, un tipo de terapia antitumoral, aprovecha la actividad patológica que tienen los virus en células eucariontes, utilizando virus activos tanto líticos como fusogénicos, los cuales si bien tienen efectos positivos, presentan desventajas como alta inmunogenicidad, baja especificidad de infección y toxicidad en células no tumorales. Una alternativa, es la utilización de las proteínas que llevan a cabo dicho efecto tóxico en la célula. Las FMGs virales, han sido utilizadas en terapias contra el cáncer, por producir sincicios altamente sensibles a drogas. Para esto, la célula tumoral debe incorporar el DNA foráneo, gracias a algún compuesto que lo permita. Nuestra apuesta es desarrollar el uso de nanopartículas, por su alta eficiencia y baja toxicidad. Se evaluarán distintas técnicas de transfección, utilizando nanopartículas de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , PEI, Dendrímeros y Chitosano. Estas se utilizarán para transfectar y evaluar el efecto de la expresión de las proteínas de fusión de hRSV, ISAV y Reo, en líneas celulares tumorales EG7 y B16. Posteriormente, se evaluará el efecto de la administración directa sobre el tumor del gen de estas proteínas más las nanopartículas, sobre el desarrollo tumoral y poblaciones linfocitarias, indicando la inducción de una respuesta antitumoral, en modelos tumorales EG7 y B16. CaCO_3 y CaPO_4 , no mostraron transfección y PEI, resultó ser altamente tóxico para las células. Tanto las nanopartículas de dendrímeros como las de chitosano, mostraron altos niveles de transfección. Finalmente, las proteínas virales poseen actividad fusogénica, al observar formación de sincicios en células tumorales.

Financiamiento bajo los proyectos DICYT 0215431AC y Corfo consorcio ICTIO.

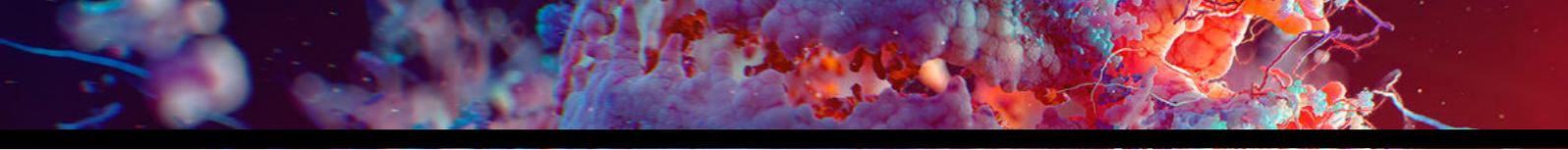


LISADOS CELULARES DE CÁNCER DE VESÍCULA BILIAR INDUCEN LA MADURACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS HUMANAS.

Rojas-Sepúlveda, D.^{1,2}, Gleisner, M.A.^{1,2}, Pereda, C.^{1,2}, López, M.^{1,2}, Salazar-Onfray, F.^{1,2},¹Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.²Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia Universidad de Chile.

Chile posee la mayor incidencia y tasa de mortalidad de cáncer de vesícula biliar (CVB) en el mundo. Su diagnóstico es tardío y sus alternativas terapéuticas escasas. Nuestro laboratorio ha desarrollado una innovadora y efectiva terapia contra el melanoma maligno basado en el uso de células dendríticas (DCs) autólogas maduras con un lisado celular condicionado llamado TRIMEL. En este trabajo, se estudió el efecto de lisados de líneas celulares de CVB condicionados con calor sobre la maduración de DCs humanas generadas a partir de PBMC las cuales fueron estimuladas por 24h con distintas mezclas de lisados condicionados de CVB. Se analizó por citometría de flujo la expresión de los marcadores de maduración MHC clase I, MHC clase II, CD80, CD83 y CD86, así como también la secreción de las citoquinas IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-12p70 y TNF- α . Lisados de CVB inducen la maduración de DCs humanas aumentando los niveles de expresión de MHC clase I/ II, CD80, CD83, CD86 y la secreción de IL-1 β , IL-10 y IL-12p70. Entre los lisados, dos mezclas lograron inducir mejores índices de maduración de DCs. DCs humanas maduras con lisados de CVB podrían ser consideradas como una nueva estrategia terapéutica contra esta enfermedad.

FONDECYT 1130320, 1130324; FONDEF D1111036; MIII P09/016-F.

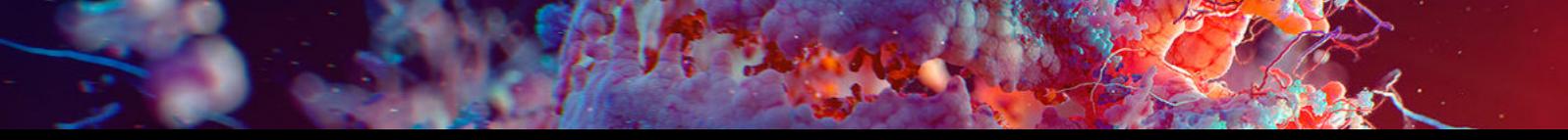


LA DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE UBIQUITINACIÓN ES NECESARIA PARA LA ADHESIÓN DE HELICOBACTER PYLORI A LAS CÉLULAS EPITELIALES GÁSTRICAS-

Alvarez, A¹., Peña, M.A¹., Uribe, F¹., Cerda, O¹., Toledo, H.¹., ¹Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La ubiquitinación es una modificación post traduccional versátil y dinámica que regula diversos procesos celulares, como el ciclo celular, el tráfico de vesículas, la transducción de señales y la degradación proteosomal. Bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Legionella sp*, inyectan variados efectores en sus células hospederas, que pueden manipular la vía de ubiquitinación, favoreciendo su infección y persistencia. La infección por *Helicobacter pylori* ha sido fuertemente asociada al desarrollo de cáncer gástrico. *H. pylori*, es una bacteria neutrófila, Gram negativa, microaerófila que coloniza el epitelio gástrico. No se ha descrito si la infección por *H. pylori*, induce alteraciones en la vía de ubiquitinación en las células epiteliales gástricas. En este trabajo, demostramos que los niveles de las proteínas ubiquitinadas aumentan durante la infección por *H. pylori* en células AGS y que la inhibición farmacológica del proteosoma disminuye la adhesión de la bacteria a las células epiteliales. Además, observamos un aumento de los niveles de la proteína Cullin 3, una E3 ubiquitina ligasa, durante la infección por *H. pylori*. Estos resultados sugieren que la vía ubiquitina-proteosoma es necesaria para la adhesión de *H. pylori* a las células epiteliales gástricas, por medio de la estimulación de la degradación de proteínas en la célula huésped.

Proyecto Fondecyt 1150384

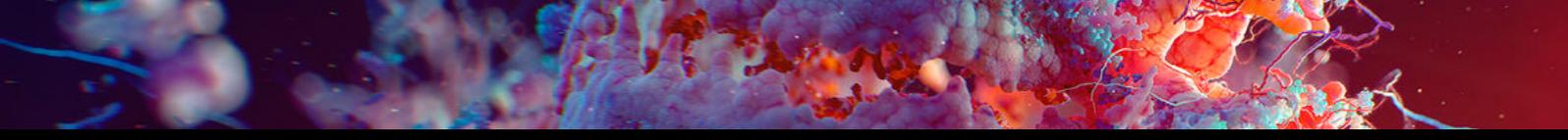


FOSFOLIPASA D DEL VENENO DE LOXOSCELES LAETA INDUCE LA PRODUCCIÓN DE QUIMIOCINAS EN CELULAS THP-1: EVALUACIÓN DE SU PAPEL EN MIGRACIÓN CELULAR.

Arán, T.¹, Rojas , J.¹, Ortiz, F.¹, Lozano, A.¹, Aicón, C.¹, Araya, J.E.¹, Catalan, A.¹,¹Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Marcos Cikutovic Salas)

La familia de fosfolipasas D (PLD) del veneno de *Loxosceles laeta* son capaces de hidrolizar la esfingomielina para formar colina y ceramida 1- fosfato (C1P), así como también lisofosfatidilcolina, formando colina y Ácido lisofosfatídico (LPA). El rol de C1P en el proceso inflamatorio gatillado por el cuadro de loxoscelismo es desconocido, sin embargo, se conoce el papel de C1P en la inducción de la proliferación, migración y acción pro-inflamatoria en macrófagos. Estudios realizados en nuestro laboratorio, demostraron la expresión de CXCL8, IL-6, CCL2 y CXCL1 por Fibroblastos HFF-1 incubados en presencia de la Fosfolipasa D recombinante (LIPLD1). Evaluamos el perfil de producción de quimiocinas inflamatorias mediante ELISArray en macrófagos THP-1 diferenciados con PMA por 48 h y tratados con PLD1, PLD2, LPA, C1P y LPS, observando la producción de CXCL8, CCL2, CXCL1, CXCL11 entre otras. Además, se evaluó la migración celular en monocitos THP-1 con medio condicionado de fibroblastos HFF-1 tratados con PLD1 y PLD2, así como estimulados directamente con C1P, LPA y LPS, obteniendo los mayores valores de migración entre las 2-8 horas, utilizando nuestro medio condicionado con PLD1, con valores por sobre el control de migración con MCP-1. Los datos obtenidos aportan a entender el papel de C1P durante el proceso inflamatorio gatillado por el veneno de *Loxosceles*.

FONDECYT Iniciación N° 11130020. CONICYT- Chile.

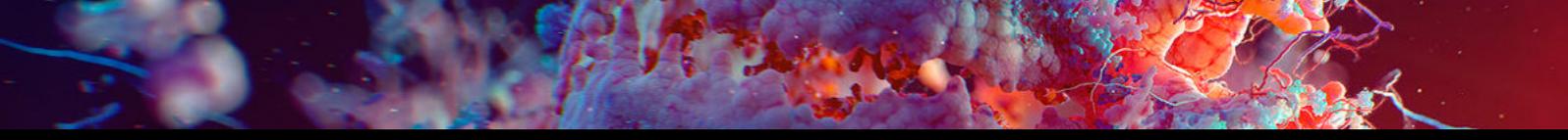


CARACTERIZACIÓN DE SANGRE PERIFÉRICA HUMANA PREVIO A PURIFICACIÓN DE LINFOCITOS T REGULADORES PARA EXPANSIÓN IN VITRO Y POTENCIAL USO COMO TERAPIA CELULAR .

Campos-Mora, M.^{1,2}, Gajardo, T.¹, Yañez, L.¹, Terraza, C.¹, Khoury, M.¹, Figueroa, F.¹, Pino-Lagos, K.¹,¹Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.²Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Sponsored by Karina De Las Mercedes Pino-Lagos)

En terapia celular, una de las poblaciones de alto interés son los linfocitos T reguladores (Tregs). Estas células pueden ser utilizadas para inducir tolerancia inmunológica, necesaria para la aceptación de trasplantes y control de auto-inmunidad. En este trabajo se analizaron concentrados leucocitarios provenientes de plaquetoféresis de donantes sanos, para estandarizar un protocolo de purificación y expansión de Tregs humanos para terapia celular. Mediante centrifugación por gradiente de densidad, se obtuvo la fracción de células mononucleares que fueron cuantificadas y fenotipificadas utilizando los marcadores CD3, CD4, CD11c, CD14, CD25, CD56, CD127, Foxp3, Helios y Neuropilina-1 (Nrp1), analizados mediante citometría de flujo. Los resultados indican que los Tregs corresponden al 10% de las células T CD4⁺ totales, las que pueden o no expresar Nrp1 (al igual que las poblaciones efectoras y presentadoras de antígeno convencionales). Se espera que la fracción de células Treg Nrp1⁺ produzcan mayores niveles de citoquinas IL-10 e IL-35, y mejor función supresora in vitro e in vivo, evaluado en un modelo murino humanizado de Enfermedad de Injerto Contra Huésped. Este es el primer acercamiento en Chile a una terapia celular utilizando Tregs.

PMI UAN1301 y CONICYT (Beca Nacional Doctorado)



RITMO CIRCADIANO DEL SISTEMA FIBRINOLÍTICO; ALTERACIÓN DEL FOTOPERIODO DURANTE LA GESTACIÓN Y SUS EFECTOS SOBRE LA PROGENIE ADULTA.

Carmona, P^{1,2}., Sarmiento J^{1,2}., Torres-Farfán, C²., Folch, H³., Richter, H²., Seron-Ferre, M²., Mendez, N²., Spichiger, C². ¹Instituto de Fisiología; ²Laboratorio de Cronobiología del Desarrollo; ³Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

Introducción: La eliminación oportuna de coágulos sanguíneos y depósitos de fibrina son esenciales en la regulación de la hemostasia, proceso regulado por el sistema fibrinolítico mediante una vía enzimática, llevada a cabo principalmente por el activador de plasminógeno tisular (tPA) que regula la activación de plasminógeno a su forma activa plasmina. Este sistema está finamente regulado por inhibidores del activador de plasminógeno (PAI), siendo el más relevante inhibidor fisiológico de fibrinólisis PAI-1.

Material y Método: Ratas preñadas de la cepa Sprague-Dawley fueron expuestas a fotoperiodo normal (LD) o a Chronic Phase Shift (CPS) durante la gestación y la expresión de genes candidatos fue determinada en la progenie a los 90 días de desarrollo postnatal.

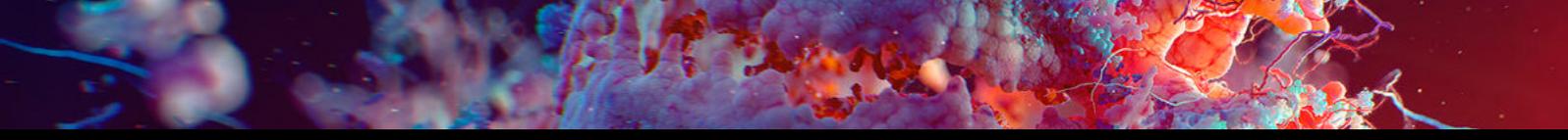
Resultados: En este trabajo informamos los resultados obtenidos de la determinación en hígado mediante q-PCR Tiempo Real de la expresión a nivel de mensajero de tPA y PAI-1, durante un período de 24 horas. Nuestros resultados demuestran que la oscilación de la expresión del mRNA de ambos genes se ajusta a un ritmo de 24 horas (circadiano) en ratas gestadas en LD y este ritmo está ausente en ratas gestadas bajo CPS.

Conclusión: La alteración del fotoperiodo normal durante la gestación altera en la progenie el ritmo circadiano de la expresión de genes relevantes del sistema fibrinolítico.

Circadian rhythm of fibrinolytic system; alteration of photoperiod during pregnancy and its effects on the adult progeny.

PROYECTO ANILLO ACT-1116

PROYECTO FONDECYT N°1150789

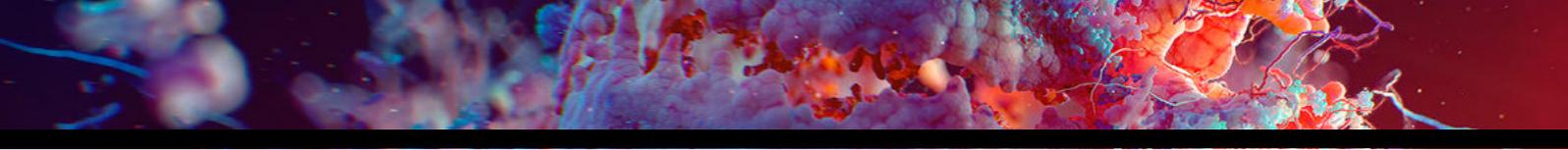


IL-33 PERMITE LA EXPANSIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE LINFOCITOS T REGULADORES IN VIVO PERMITIENDO LA ACEPTACIÓN DE TRASPLANTE DE PIEL

Gajardo, T.^{1.}, Morales, R.^{2.}, Campos-Mora, M.^{1.}, Campos-Acuña, J.^{2.}, Pérez, F.^{2.}, Pino-Lagos, K.^{2.}, ¹Centro de Investigación Biomédica, Medicina, Universidad de Los Andes. ²Programa Disciplinario de Inmunología, Medicina, Universidad de Chile.

IL-33 ha sido ampliamente estudiada por sus diversos efectos en linfocitos TCD4⁺ (LT). En este trabajo evaluamos el rol modulador de IL-33 en la respuesta inmune de rechazo a trasplante de piel. Para ello, ratones C57BL/6 recibieron trasplantes singénicos o alogénicos y tratamientos diarios de IL-33. Luego de 10 días se analizaron las células de ganglios linfáticos drenantes del injerto (GLd). Nuestros datos indican que IL-33 permite un incremento en el número de células CD11b+Gr1^{low} y de células T reguladoras-Foxp3⁺ (Tregs) en ratones alogénicos. Mediante experimentos de transferencia adoptiva, demostramos que IL-33 promueve la expansión de Tregs y la conversión de LTCD4⁺Foxp3⁻ a LTCD4⁺Foxp3⁺ en la periferia. Además, el patrón de citoquinas de células de GLd indica que IL-33 disminuye la producción de IFN- γ e IL-17, y estimula la producción de IL-10. Por último, la sobrevida de los injertos incrementó en aquellos animales tratados con IL-33, corroborando estudios previos sobre la actividad inmuno-moduladora de IL-33. Nuestro estudio demuestra por primera vez que IL-33 permite la conversión in-vivo de LT hacia TregsFoxp3⁺, favoreciendo un estado anti-inflamatorio mediante el cambio del patrón de citoquinas. Esto propone a IL-33 como potencial herramienta terapéutica.

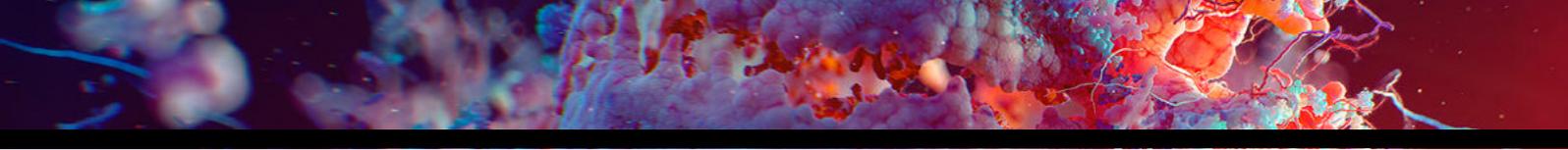
FONDECYT-11121309/PMI-UA1301.



LOCALIZACIÓN DE LÍPIDOS EN LA ZONA I DE MICRODESECADOS LAGRIMALES.

Traipe, F.^{1.}, Salinas, D.^{2.}, López, D.^{2.}, Valenzuela, F.^{2.}, Toledo, H.^{1.}, Varela, I. P.^{1.}, Traipe, L.^{2.}, **López-Solís, R.^{1.}**,
¹Biología Celular y Molecular-ICBM, Medicina, Universidad de Chile. ²Superficie Ocular Fundación Oftalmológica Los Andes.

La película lagrimal que recubre la superficie anterior del globo ocular, es usualmente representada por una estructura trilaminar conformada por un componente lipídico externo (expuesto al aire), otro mucoproteico intermedio y uno mucínico interno. Numerosos colirios y lágrimas artificiales contienen cloruro de benzalconio (BAK) como preservante. BAK es un detergente que podría alterar la capa lipídica lagrimal, efecto que ha sido asociado a intolerancia hacia tales fármacos por parte de pacientes quienes en algunos casos (glaucoma) deben emplearlos en forma permanente. En microdesecados lagrimales sobre superficies de vidrio se ha identificado cuatro dominios morfológicos discretos principales: zonas I-III y banda de transición. Algunos de ellos representarían subtipos particulares de materiales lagrimales. En este estudio se propuso localizar lípidos en microdesecados lagrimales normales. Primero, se estudió la distribución de colorantes lipofílicos (Oil Red O y Azul de Nilo) incorporados a fluido lagrimal sometido a microdesecación. También se estudió el efecto de solventes orgánicos sobre la estructura de microdesecados normales. En ambas evaluaciones se usó microscopía de luz transmitida bajo iluminación diferencial de campo claro y distintos contrastes de fase. Los colorantes lipofílicos fueron localizados preferentemente en la Zona I. Igualmente, etanol, cloroformo/metanol, cloroformo, y otros solventes orgánicos, alteraron particularmente la apariencia de la zona I sin afectar las estructuras predominantes de las zonas II y III (ricas en microcristaloides con forma de helecho). Por contraste, el agua desorganizó masivamente las zonas II y III con preservación de grandes bloques de zona I. Los solventes orgánicos extrajeron desde el microdesecado un material translúcido fácilmente deformable ante la compresión mecánica. Se concluye que la zona I de los microdesecados lagrimales concentra los lípidos lagrimales. Fondecyt 1151005



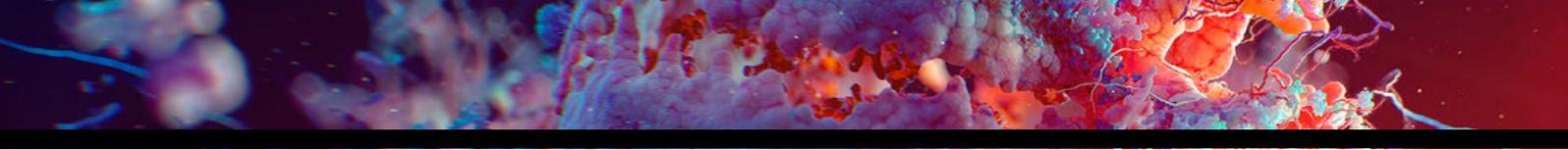
LA ESTIMULACIÓN DEL RECEPTOR B1 DE CININAS INDUCE LA SECRECIÓN DE VEGF EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA FAVORECIENDO LA ANGIOGENESIS.

Pavicic, M¹., Matus, CE¹., Figueroa, CD¹., Ehrenfeld, P¹., ¹Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Carlos Figueroa)

La interacción entre células tumorales y su microambiente facilita la progresión tumoral y la angiogénesis. Entre los moduladores del microambiente se encuentran las cininas como Lis-des[Arg⁹]bradicinina (LDBK), péptido que ejerce sus efectos estimulando al receptor B1 (RB1). Sin embargo, la participación de este receptor en angiogénesis tumoral aún no ha sido estudiada. Nuestro objetivo fue determinar si la activación del RB1 induce la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en células tumorales de mama sensibles a estrógeno, favoreciendo procesos como migración y angiogénesis. Para ello, células MCF-7 fueron estimuladas con LDBK y los niveles de VEGF evaluados mediante *Western blotting* y ELISA. Para evaluar el efecto migratorio del medio condicionado (MC) de células MCF-7 estimuladas con LDBK se usaron sistemas bicamerales y ensayos de herida. La angiogénesis fue evaluada en esferoides de células endoteliales cultivados en 3D. Observamos que LDBK induce un aumento significativo en la secreción de VEGF al medio por parte de las células MCF-7. Este MC induce además un aumento en la migración y en la formación de brotes angiogénicos en los esferoides de células endoteliales.

Nuestros resultados sugieren que la activación del RB1 en el microambiente tumoral puede modular la secreción de VEGF favoreciendo la angiogénesis.

FONDECYT 11090292, Chile; DID UACH; Escuela de Graduados de Medicina UACH



COMPARACIÓN DE EXPRESIÓN DE LOS TLR-1, 5M, 9, 21 Y 22, NF-KB Y MY88 ENTRE SALMO SALAR SANOS E INFECTADOS NATURALMENTE CON PISCIRIKETSSIA SALMONIS.

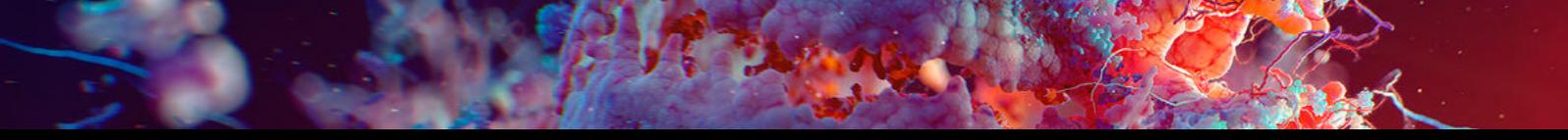
Soto, M. L.¹, Hausmann, Denise¹, **Figueroa, J.¹**, ¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Jaime Figueroa Valverde)

Los receptores tipo Toll (TLRs), pertenecen al sistema inmune innato y están encargados del reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos. Una vez activados, activan una cascada de señalización que generalmente converge en My88, que puede a su vez seguir una serie de caminos y activar diversos factores como el factor nuclear κ B, quien al translocarse al núcleo activa la expresión de diversos genes relacionados con la inmunidad tal como interleuquina 1 β .

En el presente trabajo se analizaron las diferencias de expresión a nivel de transcritos de los genes de TLR1, 3, 5M, 9, 13 y 21 en hígado, branquias, corazón, Ojo, intestino, musculo, cabeza de Riñón y Bazo tanto de peces sanos, como infectados naturalmente con *P. salmonis*. También se analizó por Western blot, la expresión proteica de TLR1, 5M, 22, MyD88 y NF- κ B, en los mismo órganos y entre los mismos grupos de peces.

Los resultados arrojan diferencias que indican una importante participación de estos TRLs en la respuesta inmune frente a una infección natural con *P. salmonis*, una bacteria de gran transcendencia en Chile por las enormes pérdidas económicas que produce. Lo anterior nos da luces de un posible blanco de tratamientos en contra de dicho patógeno.

Fondecyt-1130069 y FONDAP-15110027. Agradecimientos: Marine-Harverst.

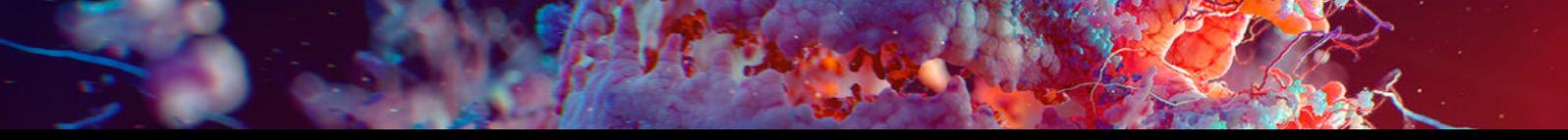


EL RECEPTOR LOX-1 ES SOBRE-EXPRESADO EN CÉLULAS DE CÁNCER DE PRÓSTATA Y PROMUEVE LA PROLIFERACIÓN E INVASIÓN TUMORAL.

González-Chavarría, I.^{1.}, Fernández, E.^{1.}, Gutiérrez, N.^{1.}, Toledo, J.R.^{1.}, ¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

La expresión y función del receptor LOX-1 se ha asociado a patologías como disfunción endotelial, aterosclerosis y obesidad. En estas patologías LOX-1 activa vías de señalización involucradas en proliferación, motilidad celular y angiogénesis. Estudios recientes demostraron la expresión de LOX-1 en adenocarcinomas prostáticos humanos de estadios clínico patológicos caracterizados por la invasión local y la generación de metástasis, sin embargo su función en cáncer de próstata (CaP) no ha sido determinada. Nuestro objetivo fue determinar el rol de LOX-1 en la proliferación e invasión tumoral de células de CaP. Determinamos a través de western Blot que LOX-1 es sobre-expresado en cinco líneas celulares de CaP (LNCaP, C4-2, C4-2B, PC3 y DU-145) y la línea transformada con el oncogén Ki-ras (RWPE-2), comparadas con la línea de epitelio normal de próstata RWPE-1. Además, determinamos utilizando ensayos de proliferación celular y de agar suave que la activación de LOX-1 por oxLDL aumenta de forma significativa la proliferación y el potencial tumorigénico en células de CaP. En este sentido, analizamos la función de LOX-1 en crecimiento tumoral de xenograft de células de CaP en ratones nu/nu y determinamos que células que expresan un shRNA contra el receptor LOX-1 disminuyen significativamente el tamaño tumoral comparadas con células de CaP control. Por último, determinamos que la activación de LOX-1 promueve la generación de una transición epitelio mesenquimal y aumenta la capacidad invasiva de células de CaP. Así, hemos logrado posicionar al receptor LOX-1 como un importante componente en la progresión tumoral en Cáncer de Próstata.

Fondecyt 112115; Beca de doctorado Conicyt 21110290



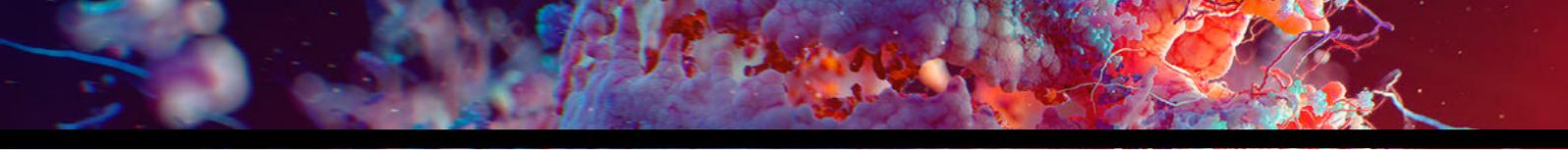
INDUCCIÓN DE UNA RESPUESTA ANTITUMORAL MEDIANTE INMUNIZACIÓN CON CUERPOS CELULARES, EN MODELO DE TUMOR LINFOCITARIO EG7.

Michelson, S¹., Madrid, B.¹.,Cortéz, M.¹.,Montoya, M.¹.,Acuña-Castillo, C.¹.,¹Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El cáncer es una de las enfermedades con mayor incidencia a nivel mundial, y aunque a la fecha existen muchos tipos de terapias para tratarla, siguen lejos de eliminarla. En nuestro laboratorio hemos desarrollado un tipo de inmunoterapia, la cual consiste en inmunizar animales, previamente desafiados con tumores vivos, usando células muertas por privación de nutrientes (CCs). En el modelo b16, este tratamiento induce una protección antitumoral de un 20%, mientras que en el modelo de mama 4T1, no existe protección. En base a los resultados variables obtenidos con anterioridad, se evaluó si los CCs generan protección frente a otro tipo tumoral, y estudiamos este tratamiento en el modelo de linfoma murino, EG7.

Determinamos que los CCs son capaces de inducir la maduración de DCs y aumentan la presentación cruzada de antígenos. Al usarlos en la inmunización, se observa un 60% de protección anti tumoral, así también se observó que aquellos animales en los cuales aparecen los tumores, se retrasa el crecimiento. El efecto del tratamiento en la respuesta inmune se refleja en una disminución de linfocitos Treg sistémicos e incremento de las poblaciones CD4-Tbet positiva infiltrantes. Con todo lo anterior se concluye que la inmunización con CCs tiene un efecto anticancerígeno en el modelo de linfoma EG7, el cual puede ser debido a una facilitación de la presentación cruzada de antígenos gatillada por estos CCs.

Financiado por FONDECYT, ICTIO y DICYT USACH.

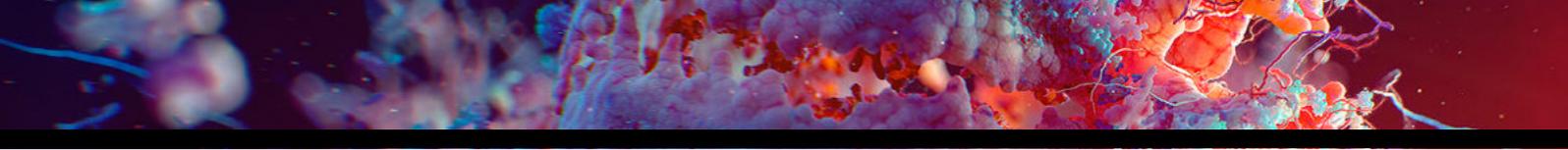


GPR30, ¿UN NUEVO SOCIO DEL CÁNCER MAMARIO?

Molina, L.^{1.}, Sarmiento, J.^{2.}, Ehrenfeld, P.^{3.}, Figueroa, C. D.^{3.}, ¹Laboratorio de Patología Celular, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. ²Laboratorio de Cronoinmunología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. ³Laboratorio Patología Celular, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Carlos D Figueroa)

GPR30 es un nuevo receptor de estrógeno, acoplado a proteína-G y potencialmente implicado en el desarrollo del cáncer de mama. Evaluamos la movilización de calcio intracelular y la activación de ERK1/2 y p38 en las líneas celulares de cáncer mamario MCF-7 y ZR-75-1 (ambas, receptor de estrógeno +/GPR30 +) tratadas con el agonista G1 o en combinación con G15 (antagonista de GPR30). Como control negativo, usamos la línea MDA-MB-231 (receptor de estrógeno -/GPR30 -). Las células fueron incubadas con Indo-1-AM por 1h antes de estimularlas con diferentes concentraciones de G1 o se trataron simultáneamente con G1 100 nM y G15 1 μ M. La estimulación con G1 incrementó la movilización de calcio intracelular tanto en células MCF-7 como ZR-75-1, efecto que fue inhibido cuando se coestimuló con G15. La estimulación de células MCF-7 con estrógeno 10 nM o G1 (1, 10 o 100nM) desencadenó la fosforilación de ERK1/2 y p38. La fosforilación inducida por G1 se redujo significativamente cuando las células fueron pretratadas con G15. Complementariamente, se comprobó la expresión de GPR30 en las células MCF-7 y ZR-75-1 utilizando Western blotting y anticuerpos específicos contra la porción extra o intracelular del receptor. Nuestros resultados demuestran la expresión de GPR30 en dos líneas celulares receptor de estrógeno positivas y sugieren que su estimulación podría resultar en un aumento de la proliferación celular.

Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Veterinarias; Dirección de Investigación y Desarrollo (DID) UACH; FONDECYT 1150789.

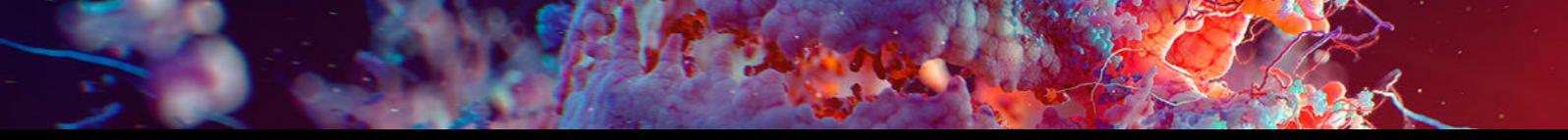


IDENTIFICACIÓN DE RECEPTORES TIPO NOD EN TRUCHA ARCOÍRIS (O. MYKISS)

Ramírez, F¹., Alvarez, C¹., Santana, P¹., Donoso, F¹., Cortés, J¹., Torres, E¹., Mercado, L¹., ¹Grupo de Marcadores Inmunológicos en Organismos Acuáticos, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Luis Alberto Mercado Vianco)

El inicio del desarrollo de la respuesta inmune contra patógenos requiere de sistemas sensores eficientes para detectar microorganismos, éstos últimos poseen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), los cuales son reconocidos por receptores de reconocimientos de patrón (PRR), estratégicamente situados en diferentes compartimientos celulares. Los receptores tipo NOD (NLR), son un tipo de PRR, que actúan como sensores citosólicos solubles activando mecanismos de defensa contra patógenos. En peces teleósteos, la identificación y función de los NLRs aún no ha sido completamente dilucidada. Con el fin de aportar nuevas evidencias acerca de estos sistemas sensores en salmónidos, tres nuevas secuencias de NLR fueron obtenidas para trucha arcoíris. Los resultados mostraron que el marco abierto de lectura para NLRC3, NLRC5 y NLRX1 codifica para proteínas de 1135, 836 y 1010 aa., respectivamente. Los receptores encontrados poseen repeticiones ricas en leucina en el C-terminal y un dominio NACHT en el extremo amino. El análisis filogenético reveló que estos tres receptores presentan un alto grado de conservación. Mediante qPCR se evidenció la expresión constitutiva de los NLRs en hígado, bazo, intestino, branquias, piel y cerebro. Al desafiar las truchas con LPS, se observó un aumento en los niveles de expresión de todos los NLRs en riñón y branquias. En estudios futuros se evaluará la respuesta inmune a través de NLR en endotelio branquial, ya que la sobre expresión observada en este tejido podría estar asociada con un sistema sensor clave de esta mucosa.

FONDECYT 1140797



CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL INHIBIDOR DE NF-KB DEL OSTIÓN DEL NORTE *ARGOPECTEN PURPURATUS* Y SU PARTICIPACIÓN DURANTE LA RESPUESTA INMUNE.

Oyanedel, D.³, Gonzalez, R.¹, Brockordt, K.¹, Mercado, L.³, Rosa, R. D.², **Schmitt, P.³**, ¹Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA) Universidad Católica del Norte. ²Laboratorio de Inmunología Aplicada a la Acuicultura Universidad Federal de Santa Catarina, Brasil. ³Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Luis Mercado Vianco)

Los inhibidores del factor nuclear NF-κB (IκBs) son uno de los principales componentes de regulación de la vía de señalización Rel/NF-κB. Esta vía está constituida por proteínas de alrededor de 300 aa que poseen una región de unión a ADN, un dominio de dimerización, una señal de localización nuclear y una región de interacción con la proteína inhibidora de la familia de IκB. Esta última molécula constituye un blanco para la identificación de genes cuya expresión es regulada por NF-κB, una ruta ampliamente utilizada por el sistema inmune de vertebrados e invertebrados. Con el fin de identificar este tipo de regulación en moluscos, se caracterizó la secuencia de ADNc que codifica a la proteína IκB de *Argopecten purpuratus*, Ap-IκB. Los análisis bioinformáticos demostraron que Ap-IκB presenta mayoritariamente las características propias de proteínas IκB. Los análisis filogenéticos revelaron un alto grado de identidad entre Ap-IκB y las IκB de otros moluscos y de insectos. Luego, en cultivos primarios de hemocitos de *A. purpuratus* desafiados con zimosán y en animales desafiados con la bacteria patógena *Vibrio splendidus*, se detectó la sobreexpresión de transcritos de Ap-IκB mediante RT-qPCR. Posteriormente y con la idea de determinar la función de IκB, se silenció su expresión *in vivo* mediante la técnica de ARN interferencia (dsRNA). Los resultados indican que este importante miembro de la vía Rel/NF-κB regula la expresión del péptido antimicrobiano Big-Defensina, lo que sugiere la implicación funcional de Ap-IκB en la respuesta inmune de *A. purpuratus* para la expresión de efectores inmunitarios.

PROYECTO DI-PUCV 037.472/2015

PROYECTO FONDECYT 1140849-2014/CEAZA

SESION PANELES I

1.- DIETA ALTA EN POTASIO PRODUCE UN AUMENTO DE LA FUERZA Y REDUCE EL FENOTIPO FIBRÓTICO DE MÚSCULO DISTRÓFICO.

Acuña, MJ^{1,2}, Vio, C. P.¹, Brandan, E.²,¹Facultad de Ciencias Biológicas, Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Facultad de Ciencias Biológicas, Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Carlos Pablo Vio Lagos)

Introducción: Estudios previos mostraron que una dieta alta en potasio (DAP) produce un aumento de calicreína (KK) renal y esto protege al riñón del daño y fibrosis en un modelo de proteinuria por sobrecarga reduciendo TGF- β . En la distrofia muscular de Duchenne (DMD) los niveles de TGF- β están aumentados y contribuyen a la progresión de daño y fibrosis en el músculo.

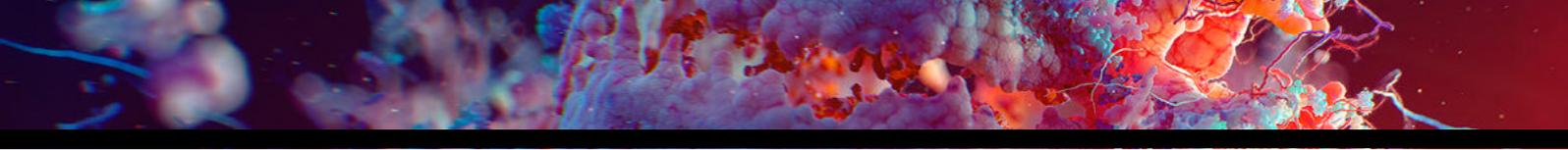
Hipótesis: Una DAP podría reducir el daño y fibrosis en el modelo murino de DMD el ratón *mdx*.

Métodos: Ratones *mdx*, fueron alimentados con dieta normal suplementada con 2% K⁺ y KCl al 1% en el agua de bebida. Se midió la fuerza isométrica en músculos aislados. La histología muscular fue evaluada por tinción con hematoxilina/eosina. La fibrosis fue evaluada por western blot y tinción de sirius red. Se determinó la expresión génica de TGF- β por RT-qPCR.

Resultados: La DAP incrementó la actividad de KK renal. La DAP produjo un aumento de la fuerza y una reducción del fenotipo fibrótico del músculo distrófico. Además los niveles de expresión de TGF- β disminuyeron.

Conclusiones: Una DAP previene el daño y fibrosis del músculo distrófico, sugiriendo un papel protector del sistema calicreína cinina en distrofias musculares.

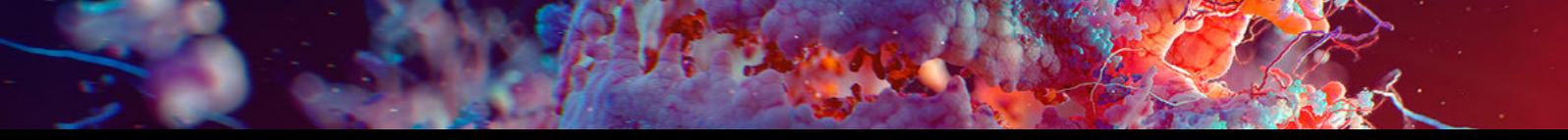
FONDECYT-3140323, PFB-2007-12, CARE-UC-SQM



3.- ROL DEL RECEPTOR P2X₇ EN LA PRESENTACIÓN CRUZADA DE ANTÍGENOS.

Barrera, C¹., Morales, J.¹., Robles, C.¹., Castro, C.¹., Leiva-Salcedo, E.¹., Acuña Castillo, C.¹., ¹Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Sponsored by Universidad de Santiago de Chile)

La presentación cruzada de antígenos es un evento clave en la inducción de la respuesta celular contra virus y tumores. Se han propuesto que esta ocurre en una vía citoplasmática y otra vacuolar. La primera vía requiere que los antígenos escapen desde la fuente antigénica, generalmente cuerpos apoptóticos y exosomas, al citoplasma de la célula dendrítica (DC), mediante mecanismos no claros. En nuestro laboratorio, planteamos que el receptor P2X₇, un receptor importante en la maduración y presentación de antígenos en DC, induce fusión entre cuerpos apoptóticos y fagosoma, permitiendo la liberación de los antígenos al citoplasma de las DC favoreciendo la presentación cruzada. Nuestros resultados indican que cuerpos apoptóticos cargados con sonda fluorescente verde, generados a partir de células que expresan OVA y P2X₇R, favorecen la transferencia de la sonda-antígenos hacia el citoplasma de la DC. Al evaluar este efecto en la presentación cruzada mediante citometría de flujo, existe un aumento en este proceso, medido como aumento de SIINFEKL (OVA₂₅₇₋₂₆₄) unido a MHC-I en su superficie. Por el contrario, ensayos con DC KO-P2X₇, y cuerpos apoptóticos que no expresan P2X₇R no muestran aumento en el complejo SIINFEKL-MHC-I, ni favorecen el traspaso de antígenos hacia el citoplasma de la DC. En conclusión, el receptor P2X₇ estaría involucrado en el proceso de presentación cruzada de antígenos en células dendríticas.

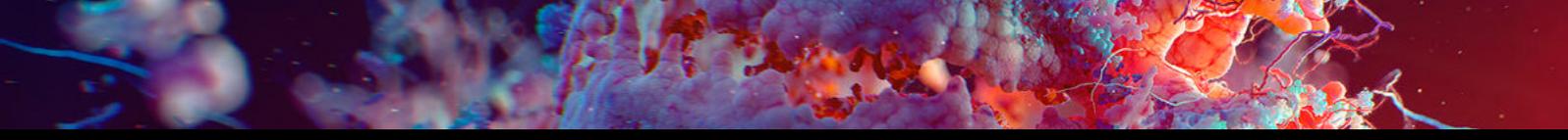


5.- FACTORES DE TRADUCCIÓN EN TRYPANOSOMA CRUZI: CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y MOLECULAR DE EIF4E Y EIF2A.

Díaz, D¹., Cruz, .V. P.².,Orrego, P. R.³.,Araya, J. E².,¹, Cs. de la Salud, Universidad de Antofagasta.²Unidad de Parasitología Molecular, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.³Unidad de Biología Celular y Molecular, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Cristian Wulff Zotelle)

La enfermedad de Chagas,cuyo agente etiológico o causal es el *Trypanosoma cruzi*, presenta un especial proceso de traducción. La iniciación de la traducción en eucariotas es apoyado por la acción de varios factores de iniciación eucarióticos (eIFs), los cuales son altamente conservados y han sido muy bien caracterizados, pero son poco conocidos en los grupos evolutivamente más divergentes, incluyendo linajes unicelulares como los tripanosomátidos (*Trypanosomas* y *Leishmanias*). De entre ellos dos adquieren importancia clave en la traducción, eIF4E quien inicia el proceso reconociendo y uniéndose a CAP y eIF2 α que es regulada por fosforilación. En consecuencia este estudio tiene por objetivo determinar la existencia de diferencias estructurales y moleculares de eIF4E y eIF2 α de *T. cruzi* en relación a sus homólogos de *Homo sapiens*. Así, empleando diversas técnicas de biología molecular; se identificaron, clonaron y expresaron eIF4E y eIF2 α de *T. cruzi*. Los análisis comparativos, entre las secuencias homologas, evidenció una gran divergencia evolutiva. Finalmente, mediante ensayos de inmunoprecipitación, se evidenció la interacción in vitro de estas moléculas con el ARNm, evidenciando su participación en la vía de traducción dependiente de CAP.

FONDEF CA12i10298; FONDECYT 1051045 y al Dr. Cristian Wulff Zotelle



7.- EFECTO DE LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD OXIDADA LDLox EN EL PROCESO DE TRANSICIÓN EPITELIO-MESENQUIMAL, EN MODELOS CELULARES DE CÁNCER DE PRÓSTATA.

Fernández-Caniulén, E¹., Gutierrez, N¹.,González-Chavarría, I¹.,Sandoval, F.A¹.,Cerro, R.P¹.,Cifuentes, P.P¹.,¹Departamento de Fisiopatología, Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Facultad de Ciencias Biológicas , Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Recientes estudios han establecido una relación entre la obesidad y cáncer. Características de la obesidad como elevados niveles de LDL, junto con aumento del estrés oxidativo, conduce a la formación de LDLox. Esta lipoproteína modificada es un factor de riesgo para el desarrollo y progresión de diferentes tipos de cáncer, entre los cuales se encuentra el cáncer de próstata (CaP). Actualmente no se ha establecido los mecanismos por los cuales la LDLox produce una potenciación en la progresión tumoral en pacientes dislipidemicos. En consecuencia, planteamos como hipótesis que el estímulo con LDLox induce una transición epitelio-mesenquimal (TEM) en modelos celulares de CaP. Como primera estrategia, se analizó mediante western blot la expresión de LOX-1 en las líneas celulares de cáncer de próstata: LNCaP, C4-2, C4-2B y DU-145. Además, se analizó la expresión de marcadores de TEM en los modelos celulares tratadas con LDL nativa y LDLox. Se demostró que la LDLox induce una disminución de los niveles de marcadores epiteliales, y un aumento de los niveles de marcadores mesenquimales, en comparación con el control y células tratadas con LDLnativa. LDLox potencia el proceso de TEM favoreciendo procesos de invasión y metástasis en modelos celulares de CaP.

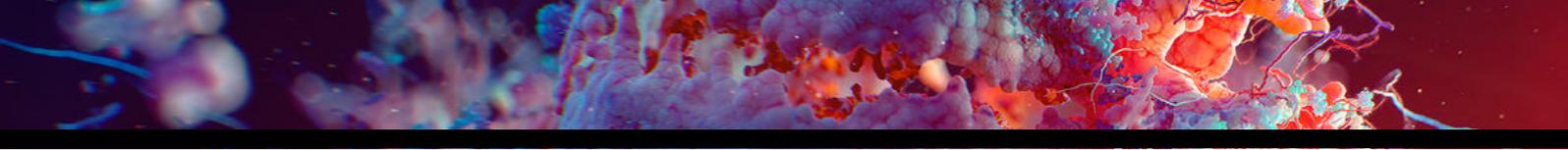
Proyecto FONDECYT N° 1121159

9.- HIPOTIROXINEMIA GESTACIONAL CAUSA UNA RESPUESTA INMUNE DEFICIENTE ANTE UNA INFECCIÓN POR VRS EN LA PROGENIE.

Jara, E^{1.}, Muñoz-Durango, N.^{1.}, Soto, J.^{1.}, Becerra, D.^{1.}, Salazar, F.^{1.}, Bueno, S.^{1.}, Kalergis, A.^{1.}, Riedel, C.^{2.}, ¹Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Laboratorio de Inmunología Molecular Biomédica y Patogenicidad Microbiana, Departamento de Genética y Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Laboratorio de Biología Celular y Farmacología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello.

La hipotiroxinemia es una condición clínica caracterizada por bajos niveles de T_4 y concentraciones normales de T_3 y TSH. Durante la gestación solo T_4 y no T_3 puede atravesar la barrera placentaria y alcanzar el feto. Estudios han reportado que el hipotiroidismo y la hipotiroxinemia gestacional temprana causa daño irreversible al SNC del feto. Es más, la hipotiroxinemia materna puede incrementar significativamente la severidad de la encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) en la progenie. Dado que el hipotiroidismo gestacional altera la población inmune de la progenie, nosotros evaluamos si la hipotiroxinemia (Hpx) durante la gestación lleva a cambios en la respuesta inmune ante infecciones virales en la progenie. Para ello, indujimos Hpx gestacional a ratones hembras grávidas por administración de 0,02% de metimazol en el agua de beber durante los días 10 a 15 de la preñez. Tras 6 a 8 semanas, la progenie nacida desde los diferentes grupos fueron infectados o no intranasalmente con 10^5 PFU de virus respiratorio sincicial (VRS). Se pudo observar que la progenie nacida desde ratones hembras hipotiroxinémicas (Hpx_{pro}) infectada con VRS presentaron una mayor pérdida de peso, comparada con la progenie nacida desde ratones hembras control (Control_{pro}). Además, no se observaron diferencias significativas en la carga viral y la infiltración de polimorfonucleares (PMN) presentes en pulmón y lavado bronqueoalveolar (BAL) entre animales Hpx_{pro} y Control_{pro} infectados con VRS. Por otra parte, animales Hpx_{pro} presentaron una menor infiltración de células T CD8⁺ en pulmón y BAL, así como una menor secreción de INF-gamma tras la infección con VRS, comparado al grupo Control_{pro}. Estos resultados sugieren que la progenie nacida bajo condiciones de hipotiroxinemia presenta una respuesta inmune deficiente ante una infección viral, y que las células T CD8⁺ podrían jugar un rol fundamental en este proceso.

Fondecyt #3150559 y #1150862



11.- MODIFICACIÓN GENÉTICA DE LA RUTA DE GLICOSILACIÓN EN CÉLULAS EPITELIALES MAMARIAS.

Jiménez, S.¹, Leiva, M. J.¹, Montesino, R.¹, Toledo, J.R.¹,¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Los sistemas actuales de expresión de proteínas recombinantes de uso terapéutico van desde procariontes hasta animales transgénicos, y la elección adecuada dependerá del tipo de proteína a expresar y de las modificaciones post-traduccionales que esta posea siendo la glicosilación una de las más relevantes. Una proteína de alta demanda es la eritropoyetina humana (hEPO), esta proteína se ha expresado en distintos sistemas siendo las líneas celulares de mamíferos las que expresan la proteína con un patrón de glicosilación de tipo tetra antenarario y tetra sialilado, similar al de la proteína humana. Un sistema novedoso para la expresión de proteínas recombinantes es la utilización de la glándula mamaria de animales no transgénicos como bioreactores. Este procedimiento consiste en transducir la glándula con vectores adenovirales con la información de la proteína, sin embargo las proteínas expresadas en este sistema poseen un patrón de glicosilación di-antenarario y asialilado, lo que se podría relacionar con una disponibilidad reducida de las enzimas que generan estructuras tri y tetra-antenadas en la vía de secreción celular (GnT IV y V). En este trabajo se realizó una aproximación para resolver este fenómeno, utilizando un cultivo primario de células epiteliales de glándula mamaria de cabras en el que se sobreexpresó la enzima GnTV en conjunto con una variante de hEPO encontrándose un aumento en la expresión de la enzima y una variación en el patrón de glicosilación de hEPO.

13.- NUEVOS MECANISMOS DE ARRITMOGENESIS EN INSUFICIENCIA CARDIACA DIASTOLICA: ROL DEL REMODELAMIENTO DE LA MATRIZ EXTRACELULAR Y EL APARTO DE CONDUCCION ELECTRICA.

Lucero C.¹, Andrade, D.¹, Toledo, C.¹, Oyarce, M. P.¹, Retamal, M.², Del Rio, R.¹, ¹Unidad de Control Cardiorespiratorio Universidad Autónoma de Chile. ²Fisiología Celular e Integrativa Universidad del Desarrollo. (Sponsored By Rodrigo Del Rio)

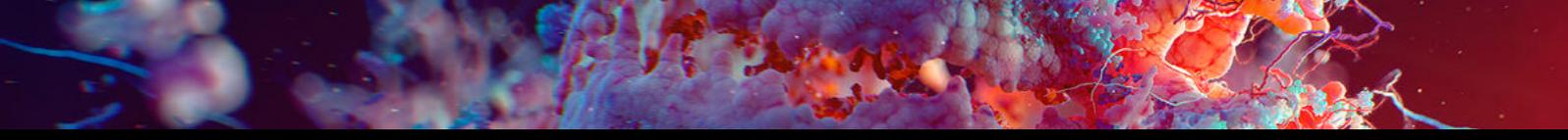
Chronic heart failure (CHF) is a major public health problem worldwide. Hearts from patients with diastolic cardiac dysfunction display overt signs of hypertrophy and remodeling. Furthermore, lethal arrhythmias have been strongly related to the degree and type of cardiac remodeling. Then, the aim of this study was to characterize changes in key proteins involved in the turnover of cardiac extracellular matrix and electrical conduction systems in CHF.

Sprague-Dawley rats (250g) underwent surgical of an aorto-caval shunt to induced CHF. After 8 weeks, rats were anesthetized to study cardiac function using a pression-volume conductance catheter. Arrhythmia incidence was also evaluated. Hearts from CHF and sham rats were used to determine tissue fibrosis (Picosirius Red staining), cardiomyocyte size (Masson's trichrome staining) and expression levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), its inhibitor (TIMP-2) and Connexin-43 (Cx43) by western blot.

End-diastolic pressure and heart hypertrophy were increased in CHF vs. Sham rats (576.1±39.2 vs. 434.9±30.1 mmHg and 7.0±0.4 vs. 3.4±0.3 mg/g, respectively). Cardiomyocyte cross sectional area and fibrosis area were higher in CHF vs. Sham rats. Accordingly, proMMP-2/TIMP-2 ratio and MMP-2 were increased in the hearts from CHF compared to sham rats (0.336±0.045 vs. 0.168±0.055 and 0.134±0.003 vs. 0.081±0.008 a.u., respectively). Ventricular Cx43 expression was reduced (0.104±0.004 vs. 0.147±0.060 a.u.) in CHF vs. Sham rats. Accordingly, CHF rats displayed a higher incidence of cardiac arrhythmias compared to sham rats.

Our results show that CHF rats displayed cardiac hypertrophy characterized by a shift in the expression of pro-fibrotic enzymes towards extracellular matrix remodeling. Furthermore, CHF rats showed altered expression in proteins strongly related with the cardiac electrical conduction system suggesting a role in the increased arrhythmia incidence of heart failure animals.

Supported by Fondecyt #1140275.

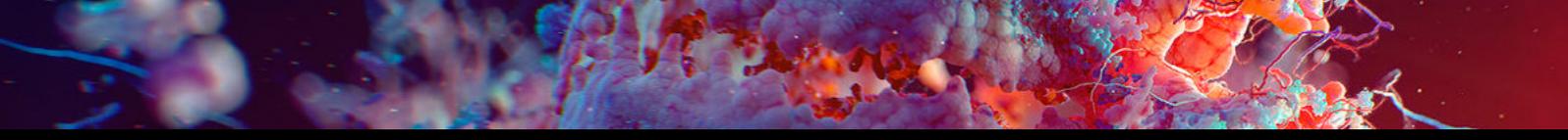


15.- EVALUACIÓN CLÍNICA, ENDOSCOPICA Y CITOLÓGICA DE CABALLOS CON OBSTRUCCIÓN RECURRENTE DE LAS VÍAS AÉREAS (ORVA) TRATADOS CON TAMOXIFENO.

Morales, N.¹., Folch, H.²,¹Instituto de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.²Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by HUGO FOLCH)

La Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (ORVA) es un proceso inflamatorio similar al asma humano en respuesta a una hipersensibilidad debido a la inhalación de agentes alérgenos, que se caracteriza por hiperreactividad bronquial, aumento en la producción de mucus e infiltración neutrofílica. En este estudio se pone en evidencia la eficacia de tamoxifeno sobre disminución en la acumulación de mucus bronquial y porcentaje de neutrófilos en el lavado broncoalveolar (LBA) de los caballos enfermos. Aquí reportamos el efecto de 100 mg PO de tamoxifeno administrado por 7 días en 6 caballos diagnosticados con ORVA. Los resultados muestran que existe mejoría clínica, disminución en la acumulación de moco y disminución significativa del porcentaje de neutrófilos en el LBA de animales enfermos tratados con esta droga. Concluimos que tamoxifeno es un fármaco efectivo en la reducción de inflamación y obstrucción asociado a la presencia de mucus en las vías aéreas bajas, mejorando la condición clínica de los caballos con ORVA. Sin embargo, se necesita más investigación sobre el modo de acción de esta droga y el real efecto que produce en los caballos con ORVA.

Agradecimiento a Proyecto Fondecyt: 1130355

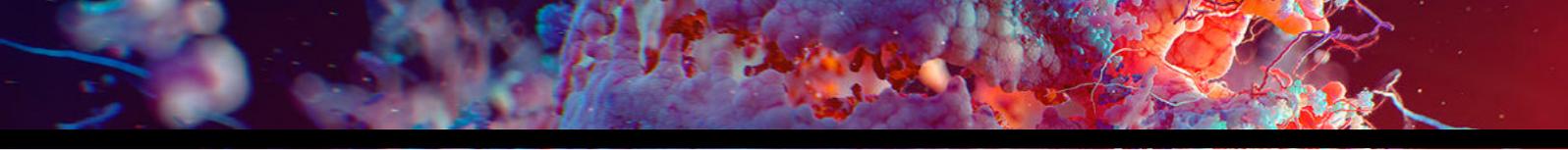


17.- FENOFIBRATO -UNA DROGA HIPOLIPEMIANTE- INCREMENTA LOS NIVELES SANGUÍNEOS DE ACETALDEHÍDO REDUCIENDO LA INGESTA VOLUNTARIA DE ALCOHOL EN RATAS.

Muñoz, D.^{1.}, Rivera-Meza, M.^{2.}, Quintanilla, M. E.^{2.}, Karahanian, E.^{1.}, ¹Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile.²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En los últimos años se ha demostrado que diversos agonistas del receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR α) reduce el consumo voluntario de alcohol en roedores. Sin embargo el mecanismo por el cual se obtiene el efecto es desconocido. Postulamos que la proliferación de peroxisomas en el hígado aumenta los niveles hepáticos de catalasa, transformando rápidamente el etanol a acetaldehído en sangre, lo que produciría un efecto aversivo al alcohol. Para probar la hipótesis, se administró por vía oral fenofibrato (50 mg/kg/día) durante 14 días a ratas bebedoras UChB que habían ingerido alcohol durante 2 meses. Se observó una reducción entre 70-90% en el consumo de alcohol. La administración oral de 1 g de etanol/kg produjo un aumento marcado del acetaldehído en la sangre de animales tratados con fenofibrato (70 microM vs. 7 microM en los controles). La actividad de catalasa hepática después del tratamiento con fenofibrato aumentó 3 veces. Otras enzimas hepáticas (ADH, ALDH2) responsables también del metabolismo del etanol se mantuvieron sin cambios. El análisis en la actividad de la transaminasa séricas no mostro daño hepático. Estos datos apoyan la hipótesis que el aumento del acetaldehído mediado por catalasa genera un efecto aversivo al etanol.

FONDECYT 1150850

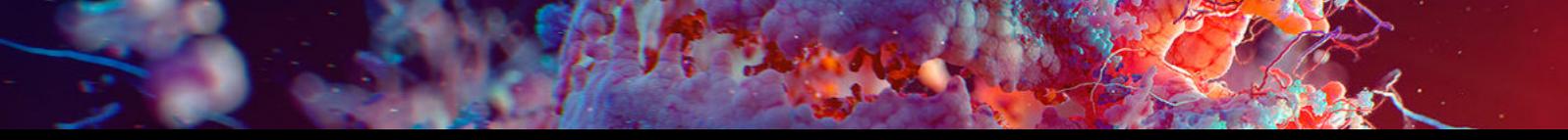


19.- ALTERACIONES CONDUCTUALES, MOLECULARES Y GABAÉRGICAS EN UN MODELO DE ESQUIZOFRENIA EN RATAS INDUCIDO POR KETAMINA.

Perez, M¹., Morales, C.¹.,Martínez, J.¹.,Moya, P.¹.,Fuenzalida, M.¹.,¹Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. (Sponsored by Fondecyt 1130614 (MF); 1141272(PM); NuMIND NC-130011.)

Aunque las causas exactas de la esquizofrenia (SZ) aún se desconocen, los marcadores moleculares en pacientes post-mortem indican que la alteración en la transmisión GABAérgica subyace la fisiopatología de éste síndrome. En pacientes con SZ, el ARNm de la enzima que sintetiza GABA, GAD65; GAD67 y la proteína parvalbúmina (PV) se encuentran disminuidos en la corteza prefrontal (PFC). Ketamina (Ket), es ampliamente utilizado como modelo de SZ. Sin embargo, son pocas las evidencias sobre los cambios en la transmisión inhibitoria. Nuestro objetivo es determinar si el tratamiento crónico con Ket durante la adultez afecta la transmisión GABAérgica en el hipocampo y PFC. La inyección diaria de Ket, durante 7 días a ratas macho induce hiperlocomoción, aumenta la ansiedad y altera la interacción social. Ket no altera la memoria de trabajo espacial, pero deteriora la memoria de trabajo no-espacial. A nivel molecular, el ARNm de GAD65, GAD67 están disminuidos en la PFC, mientras que están aumentados en Hipocampo. Los registros electrofisiológicos (whole cell patch-clamp) indican que el tratamiento con Ket disminuye la transmisión GABAérgica en la PFC, alterando el balance entre la excitación/inhibición, lo cual explica el déficit en la memoria de trabajo dependiente de la PFC.

Fondecyt 1130614 (MF); 1141272(PM); NuMIND NC-130011.

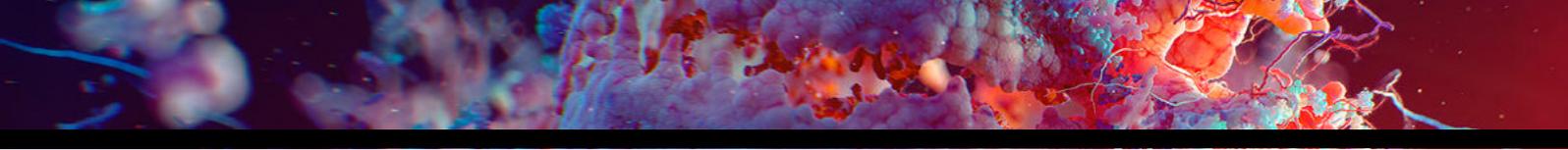


21.- FRECUENCIA DE LA VARIANTE RS5925 DEL GEN DEL RECEPTOR DE LDL EN POBLACION DEL NORTE DE CHILE.

Rojas, C.^{1.}, Ramirez, H.^{1.}, Salazar, L. A.^{2.}, Escobar, J.^{1.}, ¹Laboratorio de Genética, Dpto. Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Departamento Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

Los estudios genético moleculares buscan relaciones entre los polimorfismos de genes y la susceptibilidad a expresar una enfermedad. La caracterización e identificación de polimorfismos de riesgos pueden permitir una intervención temprana para reducir la morbimortalidad de la enfermedad. Estudios de marcadores genéticos, en individuos del sur de Chile, han demostrado asociación entre diversas variantes moleculares y mayor susceptibilidad de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Entre ellos, el polimorfismo rs5925, localizado en el exón 13, del gen del receptor de las lipoproteínas de baja densidad (RLDL), el cual ha sido relacionado con mayor riesgo cardiovascular e incremento de los niveles de LDL-C. Sin embargo, estos datos no han sido replicados en otros grupos poblacionales de nuestro país. Así, el objetivo del presente estudio fue evaluar la distribución genotípica y frecuencia alélica del polimorfismo rs5925 del gen RLDL, y su efecto sobre las concentraciones de lípidos en una cohorte de la población general de la ciudad de Antofagasta. Fueron evaluados 172 individuos adultos de ambos sexos. El ADN genómico fue extraído de leucocitos de sangre periférica mediante método de precipitación salina. La genotipificación del polimorfismo rs5925 C>T del gen RLDL fue realizada mediante la técnica de PCR-RFLP. El perfil lipídico fue determinado mediante exámenes bioquímicos convencionales. La distribución genotípica para el polimorfismo rs 5925 del gen RLDL fue CC= 19%, CT= 52% y TT= 29%. La frecuencia del alelo mutado T fue 0.55. Además, nuestros datos muestran que la variante genética no afecta los parámetros del perfil lipídico en los sujetos estudiados. Por otro lado, la frecuencia del alelo mutado T fue mayor que la observada en población general del sur de Chile (0.55 vs 0.37, $p < 0.01$). Los resultados obtenidos muestran que hay diferencias geográficas de presentación del polimorfismo estudiado. Sin embargo, se requiere aumentar el tamaño muestral y de un estudio de casos-controles para determinar el potencial impacto de esta variante genética en nuestra población.

Financiamiento: Programa Semilleros de Investigación, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Antofagasta

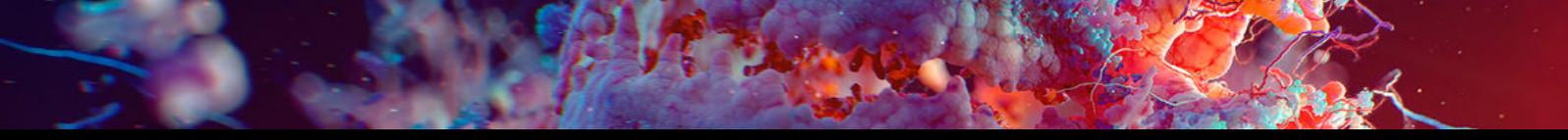


23.- FUNCIÓN DE LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD OXIDADA EN LA RESISTENCIA A TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO CON ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS.

Sandoval, F. A¹., González-Chavarría, I¹., Cerro, R.P¹., Cifuentes, P¹., Fernández-Caniulén, E¹., Gutiérrez, N¹., Toledo, J.R¹., ¹Departamento de Fisiopatología, Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

En países desarrollados, el cáncer de próstata (CaP) ocupa el segundo lugar en el índice de mortalidad del total de los cánceres. Se ha descrito que el crecimiento de células de CaP depende de la presencia de andrógenos. Así, la deprivación de andrógenos es una de las terapias utilizadas para tratar pacientes con CaP avanzado, sin embargo en un 80% de los casos el cáncer reaparece con mayor agresividad y capacidad de invasión. Nuestro objetivo fue determinar en línea celular de CaP, C4-2 de qué forma oxLDL es capaz de mediar una acción preventiva en la interacción de drogas antagonistas del receptor de andrógenos (AR), como flutamida. A través de ensayos de viabilidad celular basados en la reducción metabólica de MTT, se determinó la mitad de la concentración mínima inhibitoria (IC₅₀) y la respuesta de células C4-2 a tratamientos con Flutamida y oxLDL. Mediante western blot y RT-PCR se evaluó el nivel de expresión de AR en células C4-2, tratadas con y sin oxLDL junto a Flutamida. Nuestros resultados señalan que existe un mecanismo mediante el cual oxLDL previene el efecto de las drogas antagonistas del AR utilizadas en tratamiento de CaP.

Fondecyt 1121159

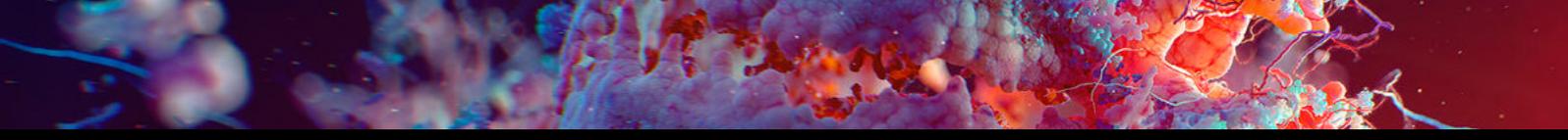


25.- ROL DIFERENCIAL DE LA ACTIVACIÓN QUIMIOREFLEJA CENTRAL Y PERIFÉRICA EN EL AJUSTE DE LA FUNCIÓN CARDIACA EN INSUFICIENCIA CARDIACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN PRESERVADA.

Toledo, C.¹, Andrade, D.¹, Lucero, C.¹, Del Rio, R.¹, ¹Unidad de Control Cardiorespiratorio Universidad Autónoma de Chile. (Sponsored by Rodrigo Del Rio Troncoso)

Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is a highly prevalent form of HF affecting 45% of total HF patients. It has been shown that activation of the chemoreflex pathways in HF plays a pivotal role in cardiac function (CF) deterioration. However, this has been only shown in HF with a decreased ejection fraction. Therefore, our aim was to evaluate the contribution of the activation of peripheral (carotid body) chemoreflex (PC) and central chemoreceptors (CC) on CF adjustments in experimental HFpEF and to determine if these alterations were associated with changes in autonomic control. Adult male Sprague Dawley rats were subjected to aorto-caval shunt to increase heart pre-load through volume overload. After 8 weeks, rats were anesthetized (i.p. injection of pentobarbitonesodium $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and CF was determined by intra-ventricular pressure-volume loops. Activation of the PC and CC were preferentially assessed by allowing the rats to spontaneously breathe brief hypoxic (FiO_2 2-3%,15s) and hypercapnic (FiCO_2 7%,30s) gas mixtures. The contribution of sympathetic and parasympathetic tone on altered cardiac function was addressed by i.v. injection of propranolol ($1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and atropine ($1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), respectively. Compared to control rats, HFpEF rats displayed a significant ($p<0.05$) increase in stroke volume (SV) (0.15 ± 0.01 to $0.28 \pm 0.05\text{mL}$), end diastolic pressure (EDP) (2.52 ± 0.68 to $8.51 \pm 1.94\text{mmHg}$) and EDPVR (3.35 ± 2.19 to $22.17 \pm 8.36 \text{ mmHg/mL}$). Interestingly, in rats with HFpEF, activation of the CC induced an increase in EDPVR (15.57 to 33.09 mmHg/mL). However, no differences in CF parameters were found during hypoxic stimulation in HFpEF rats. In contrast, control rats showed no cardiac effects of either PC and/or CC activation. Our results show that CF can be modulated by CC activation but not by acute activation of the PC in rats with HFpEF. Together, our results suggest that CF deterioration could be dependent on autonomic imbalance associated with activation of the CC pathways.

Supported by Fondecyt #1140275.

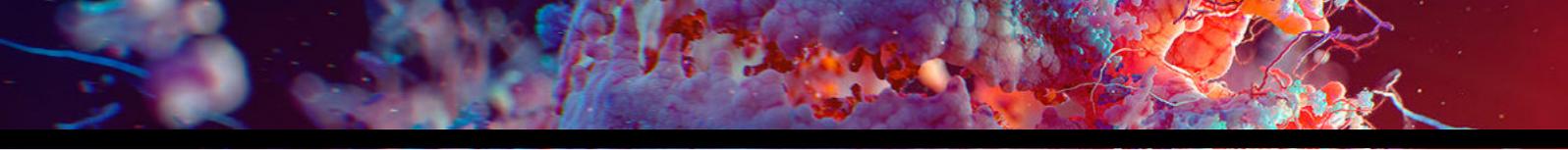


27.- USO DE LEVADURAS MUERTAS COMO FERTILIZANTES ORGÁNICOS NATURALES PARA EL CULTIVO DE TOMATE Y PIMENTÓN HASTA LA ETAPA DE TRASPLANTE EN INVERNADERO.

Valenzuela, E.^{1.}, Aranda, C.^{1.}, Godoy, R.^{2.}, Martínez, O.^{1.}, Díaz, P.^{1.}, González, A.^{3.},¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.²Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.³Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Velazquez 144, Madrid, España. Centro de Investigaciones Biológicas. (Sponsored by Roberto Eduardo Godoy Borquéz)

Cepas de levaduras muertas se utilizaron como fertilizantes para el cultivo de tomate y pimentón hasta etapa de trasplante en invernadero. En bandejas conteniendo suelo trumao solo y adicionado de: superfosfato triple; guano reforzado; levadura 1; 21 y 28, fueron sembradas semillas de tomates y pimentón, las bandejas permanecieron 40 días en invernadero: fotoperiodo de 16 horas luz/ 8 horas oscuridad, entre 12 y 30 °C, riego con agua destilada, un riego mensual con solución de Hoagland sin nitrógeno y fósforo. A 15 plántulas por control y tratamiento se le midieron (cm) el largo radical, aéreo, total, y número de hojas verdaderas. Los resultados se sometieron a varianza (ANOVA) simple y para determinar si existen diferencias entre los tratamientos se empleo test de Tukey ($p \leq 0.05$). Al usar como fertilizantes las levaduras 21 y 28 se obtuvieron plántulas de tomates y pimentón aptas para el trasplante estas fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$) a las obtenidas con superfosfato triple, pero difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$) de las obtenidas usando como abono guano reforzado.

FONDECYT 1141066

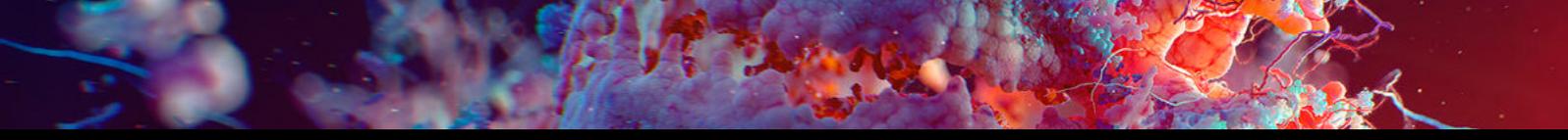


29.- INTERACCIÓN DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA DE HEMOCITOS DE TENEBRIO MOLITOR CON TOXINAS DEL VENENO DE *LOXOSCELES LAETA*.

Cruz, V. P. ¹, Díaz, D. D.², Orrego, P. R.³, Araya, J.E.², ¹Unidad de Parasitología Molecular, Facultad Ciencia de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Unidad de Parasitología Molecular, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ³Unidad de Biología Celular y Molecular, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Cristian Wulff Zotelle)

Todos los arácnidos poseen veneno, el cual lo utilizan para cazar, un grupo pequeño de ellos ha sido estudiado, entre estos se encuentra *Loxosceles laeta*, una araña endémica de Sudamérica, la cual posee una alta tasa de letalidad a causa de su mordedura, por lo que se decidió estudiar las propiedades de su veneno y probar si sus componentes son capaces de interactuar con proteínas de membrana de insectos (hemocitos de *Tenebrio molitor*). Para ello, péptidos de baja masa molecular de *L. laeta* se expresaron en el vector Champion™ pET SUMO, a partir de sus ARNm sintetizados, obtenidos de sus glándulas de veneno. Una de las proteínas recombinantes expresadas, denominada rTxLI presento actividad insecticida. Con el propósito de identificar como interactúa la toxina recombinante, se realizó un ensayo de Far western blotting. Para ello, proteínas de membrana de los hemocitos de la larva *T. molitor* se pusieron en contacto con la proteína rTxLI. Las proteínas de *T. molitor* fueron tratadas con concentraciones decrecientes de guanadina-HCl para un proceso de denaturación/renaturación de la proteína presa, y luego fueron incubadas con la proteína cebo (rTxLI). La interacción entre las proteínas fue revelada empleando un anticuerpo policlonal anti-rTxLI, evidenciándose unas bandas de entre 81 y 89 kDa.

FONDEF IDeA CA12110298 (CONICYT) y al Dr. Cristian Wulff Zotelle

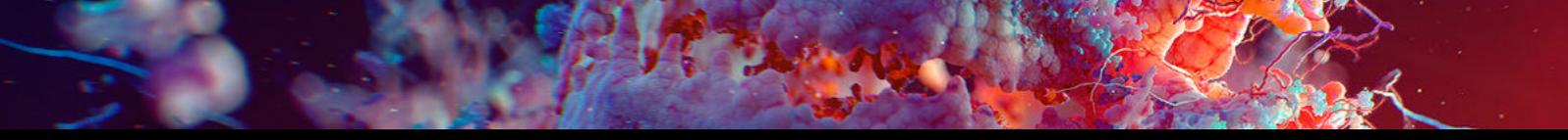


31.- NIVELES DE INMUNOGLOBULINAS DE RATONES BALB/C INMUNIZADOS CON VACUNAS DE ADN QUE PORTAN FRAGMENTOS DE LA ENTEROTOXINA SIGA DE *SHIGELLA FLEXNERI* 2A STR. 2457T.

Flores, M.^{1.}, Molina, R.^{1.},Gómez, L.^{1.},Oñate, Á.^{2.},¹Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.²Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Las infecciones entéricas son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Una de estas enfermedades es la shigelosis, una gastroenteritis causada por el patógeno bacteriano *Shigella sp* que produce más de un millón de muertes al año. Para tratar la infección con este patógeno se han utilizado antibióticos pero, desde hace décadas, este patógeno ha presentado resistencia a estos antimicrobianos, complicando su tratamiento. Además, en la actualidad no existe un tratamiento vaccinal contra este enteropatógeno, generando la necesidad de crear una estrategia preventiva para su control. Con el objetivo de contribuir al desarrollo de una estrategia vaccinal efectiva contra este patógeno, construimos dos vacunas de ADN, basadas en los fragmentos putativos de la enterotoxina SigA de *Shigella*, F1 y F3, y evaluamos los niveles de anticuerpos en ratones BALB/c. Los resultados muestran que el fragmento F3 induce una respuesta de inmunoglobulinas, incluyendo altos niveles de IgG2a, una inmunoglobulina asociada al control de patógenos intracelulares. Debido que *Shigella* es un patógeno intracelular facultativo, consideramos que la vacuna de ADN que porta el fragmento F3 produce una respuesta que podría ayudar a prevenir la enfermedad causada con este patógeno.

Proyecto FONDECYT 1130093

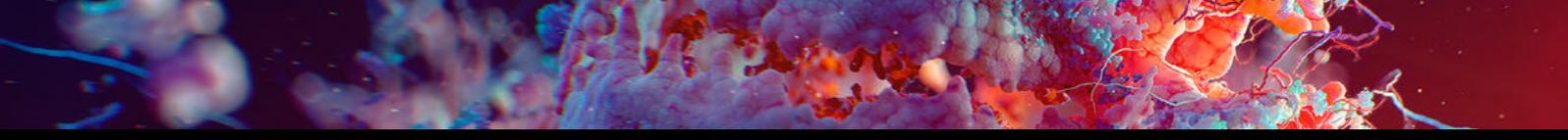


33.- VARIANTE DE LA CÁPSIDE DEL CIRCOVIRUS TIPO 2 EN FORMULACIÓN VACUNAL CONTRA EL SÍNDROME DE DESMEDRO MULTISISTÉMICO POST DESTETE.

Gutiérrez, F^{1,2}., Villamil, A³., Lamazares, E⁴., Ruiz, A³., Sánchez, O⁴., Toledo, J.R⁴., ¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología Universidad de Concepción. ³Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción. ⁴Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

El Síndrome de Desmedro Multisistémico Post-destete (PMWS), es una enfermedad viral producida por la infección del Circovirus porcino tipo 2 (PCV2). Este virus infecta células del sistema inmune como células dendríticas, monocitos y macrófagos, debilitando al animal contra infecciones de patógenos concomitantes. Los animales que cursan PMWS pueden alcanzar una morbi-mortalidad del 60%. Actualmente existen alternativas de vacunación que no eliminan la infección subclínica. En el presente trabajo, mostramos la generación de una formulación vacunal para la prevención del PMWS, la cual combina: La una variante antigénica de la cápside del PCV2 con una citoquina inmunoreguladora. Se diseñó un vector plasmidial que permite la integración genética estable en la levadura metilotrófica *Pichia pastoris* y la co-expresión de las dos proteínas de interés para la formulación vacunal. La correcta expresión de las proteínas recombinantes fue analizada a través de western blot. Demostramos que, la variante antigénica recombinante del PCV2 es reconocida por el suero de animales infectados. Posteriormente, la formulación vacunal fue evaluada en cerdos y se demostró por ensayos de PCR en tiempo real, que la formulación vacunal generada disminuye significativamente la carga viral del PCV2 en los animales vacunados.

Fondef D11I1188



35.- OBTENCIÓN DE CITOQUINAS INMUNO-MODULADORAS BIOLÓGICAMENTE ACTIVAS, EN SISTEMAS DE EXPRESIÓN DE *E. COLI*.

Hidalgo G., A¹, Gutiérrez M., N¹, Toledo, J. R.¹,¹Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Los inmuno-moduladores son moléculas que tienen la capacidad de potenciar el sistema inmune. Esta capacidad tiene un potencial como terapia adyuvante en enfermedades del tipo infeccioso, las que tienen como problema principal la resistencia a antibióticos. Las citoquinas son las principales proteínas inmuno-moduladoras que se expresan de forma soluble por linfocitos y células especializadas del sistema inmune. En Chile, la industria porcina corresponde al 40% de la producción total de carne, por lo que las pérdidas de animales por enfermedades infecciosas, causa un impacto económico significativo. Debido a esto, y a que las vacunas no son 100% efectivas, es que se hace posible hacer uso de citoquinas inmuno-moduladoras que potencien la respuesta a vacunas para mejorar la protección de los animales. El objetivo del trabajo fue obtener dos citoquinas de origen porcino, para su posterior uso como inmuno-moduladores. Para cumplirlo se sintetizaron vectores de expresión con las secuencias génicas de las citoquinas, los cuales se incorporaron a bacterias para inducir su expresión. Las citoquinas se obtuvieron en la fracción soluble de la ruptura celular. Por último se purificaron por cromatografía de afinidad y se les evaluó la actividad biológica en cultivos celulares de fibroblastos porcinos. Los resultados obtenidos indican que las citoquinas generadas poseen actividad biológica, aumentado la expresión de sus genes diana, lo que fue observado mediante cuantificación de mRNA por qRT-PCR. Estos resultados indican que las citoquinas potencian la expresión de proteínas claves del sistema inmune *in vitro*, lo que se puede extrapolar *in vivo*.

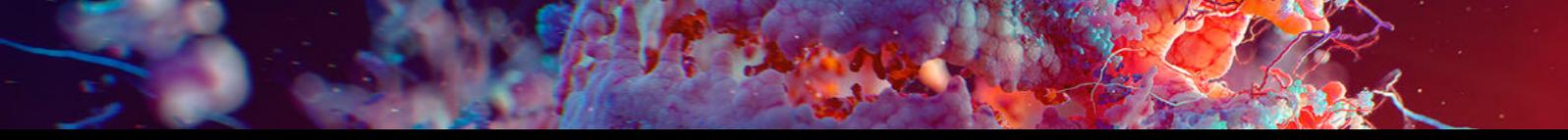
Proyecto IDeA: ID14i10335

37.- OBTENCIÓN DE FRAGMENTOS DE ANTICUERPO DE SIMPLE CADENA ANTI-VEGF MEDIANTE LA TECNOLOGÍA DE PRESENTACIÓN DE PROTEÍNAS EN FAGOS FILAMENTOSOS.

Mansilla, R., Zapata, L.^{1.}, Camacho, F.^{1.}, Sánchez, O.^{1.}, Toledo, J.^{2.}, ¹Farmacología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Fisiopatología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

El Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF) es el principal mediador del proceso de angiogénesis, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Dentro de los procesos cancerígenos, VEGF estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos en la cercanía de la masa tumoral, e induce un aumento en la permeabilidad vascular. Estos efectos fisiológicos están mediados por la interacción entre VEGF y sus receptores, de modo que la inhibición de dicha interacción es uno de mecanismos terapéuticos empleados para frenar el crecimiento y metástasis tumoral, la cual puede ser inhibida mediante la utilización de anticuerpos monoclonales. No obstante, dichos anticuerpos son producidos a través de tecnologías costosas como hibridomas, las tecnologías de quimerización y humanización, y cultivos de células de mamíferos. Mediante el empleo de la tecnología de presentación de proteínas en fagos filamentosos, es posible producir anticuerpos humanos de alta afinidad, empleando sistemas de expresión de bajo costo, como bacterias. Con el fin de obtener fragmentos de anticuerpo de simple cadena (scFv) humanos contra VEGF₁₂₁ humano, se construyó una biblioteca de fagos que expresan scFv en su superficie. Esta biblioteca se construyó a partir del scFv 4D5, introduciendo aleatoriedad sobre las regiones hipervariables H1, H2, H3 y L3 mediante la metodología de mutagénesis de Kunkel, obteniéndose una biblioteca con diversidad de 5.1×10^9 . Mediante 3 rondas de selección empleando a VEGF₁₂₁ humano como antígeno inmovilizado en placas de ELISA, fue posible aislar 35 clones de fagos que expresan distintos scFv inmunoreactivos para el ligando. Dos de estos scFv se expresaron en el periplasma de bacterias *E. coli*, y purificados mediante cromatografía de afinidad a iones metálicos. Se demostró que los scFv obtenidos a partir de *E. coli* conservan su capacidad de reconocer de forma específica a la molécula de VEGF₁₂₁ humana. Con estos resultados se logró demostrar que es posible obtener fragmentos de anticuerpo de simple cadena con capacidad reactiva hacia hVEGF₁₂₁.

Proyecto Fondef D10I1282

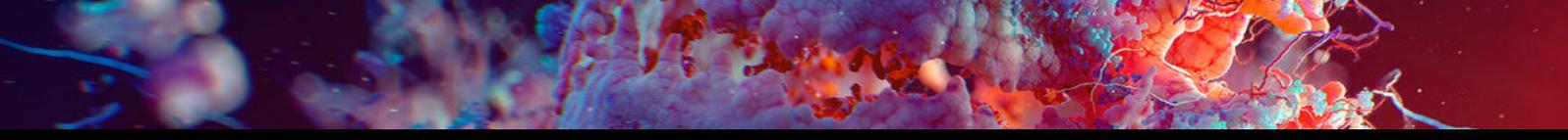


39.- IFN- α 1 EN SALMÓN DEL ATLÁNTICO; PRODUCCIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE, ANÁLISIS DE BIOACTIVIDAD Y DESARROLLO DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL.

Montero, R.¹, Flores, C.¹, Fuentes, N.¹, Maisey, K.¹, ¹ICTIO Biotechnologies Universidad de Santiago de Chile.

IFN- α 1 es una citoquina producida principalmente por células dendríticas (DC). Frente a una infección viral aumenta rápidamente su expresión y actúa como una señal para otras células, promoviendo un estado antiviral, aumentando su propia expresión e induciendo la expresión de proteínas claves que bloquean la replicación viral. Además, estimula la maduración de los precursores de células dendríticas y la maduración funcional de las DC ya que induce un aumento en la expresión de MHC I, convirtiéndolas en potentes presentadoras de antígenos que activan linfocitos T citotóxicos. En peces se han descrito genes para IFN tipo I en pez cebra, bagre de canal, fugu, trucha arcoíris y salmón del Atlántico, sin embargo hasta la fecha, no se han desarrollado herramientas que permitan identificar y evaluar su expresión a nivel celular ni se ha descrito si modula la expresión de proteínas antivirales. El objetivo de este trabajo fue producir una proteína recombinante (rIFN- α 1) y evaluar su bioactividad en leucocitos de riñón anterior de Salmón del Atlántico, y producir un anticuerpo monoclonal contra rIFN- α 1 que nos permita cuantificar la secreción de la citoquina e identificar poblaciones celulares productoras de IFN- α 1. Para ello, se clonó la secuencia de IFN- α 1 en un vector de expresión, se transformaron bacterias *E. coli* BL21 (DE3) y posteriormente se purificó la proteína. Para evaluar la bioactividad de la proteína recombinante se estimularon leucocitos de riñón anterior *in vitro* por 2, 4 y 6 horas con distintas concentraciones de rIFN- α 1 y se analizó la expresión del ARNm de Mx y PKR. Finalmente se produjo un anticuerpo monoclonal contra rIFN- α 1 el cual nos permite detectar esta proteína mediante ELISA y Western blot en sobrenadantes celulares y actualmente estamos optimizando un procedimiento para detectar IFN- α 1 en células de riñón anterior mediante citometría de flujo.

CORFO 13CTI-21527

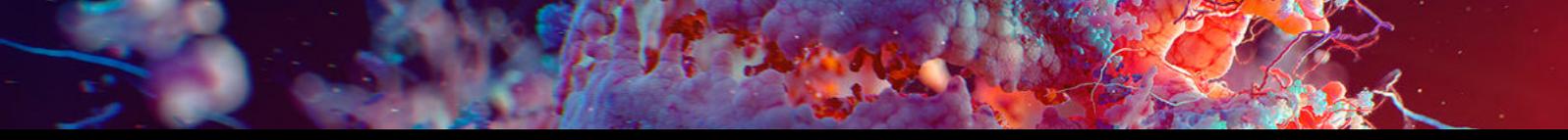


41.- INTERACCIÓN ENTRE POLIFENOLES NO FLAVONOIDES Y LA FRACCIÓN PROTEICA DE LA SALIVA HUMANA.

Orellana R., F., López Solís, R.¹, **Obreque Slier, E.**², ¹Programa de Biología Celular y Molecular-ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.²Agroindustria y Enología, Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de alta relevancia en el crecimiento, desarrollo, defensa y dispersión de las plantas. Estos compuestos se clasifican en flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles o proantocianidinas) y no flavonoides (ácidos fenólicos), y participan en numerosas propiedades sensoriales de los alimentos (color, amargor, astringencia). La astringencia representa un grupo complejo de sensaciones que incluyen sequedad y rugosidad de la superficie oral, la cual ha sido asociada particularmente a la interacción de proantocianidinas con proteínas salivales en la boca. Existe escasa información sobre la eventual participación de otras familias de polifenoles en tales interacciones. En este estudio se evaluó la interacción entre algunos polifenoles no flavonoides monoméricos (ácidos vainillínico, protocatéquico, ferúlico, gálico, cafeico, p-cumárico y tánico) y la fracción proteica de la saliva. Para ello, se midió el efecto antidifusor de los polifenoles individuales sobre la difusión de la proteína salival en matrices laminares de celulosa. Además, se evaluó la capacidad de los polifenoles para precipitar la proteína salival. Todos los polifenoles estudiados exhibieron capacidad antidifusora y precipitante de proteínas salivales, destacando los ácidos tánico y ferúlico. Se concluye que los polifenoles no flavonoides monoméricos pueden ser contribuyentes importantes a la sensación de astringencia.

Fondecyt Regular 1150240

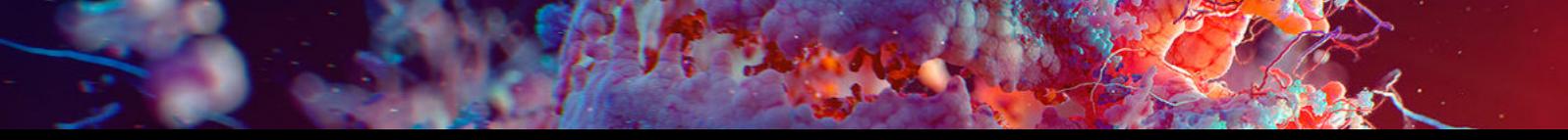


43.- LEVADURAS AISLADAS DESDE LA RIZÓSFERA DE *NOTHOFAGUS ALPINA* EN SUELOS VOLCÁNICOS DEL SUR DE CHILE, CON POTENCIAL PARA PROMOVER EL CRECIMIENTO VEGETAL.

Oliva, N.^{1.}, Martínez, O.^{1.}, Godoy, R.^{2.}, ¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. ²Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Roberto Eduardo Godoy Bórquez)

Nothofagus alpina, especie endémica de Chile, posee el potencial para convertirse en una de las especies productoras forestales más importantes, debido a la calidad de su madera. Levaduras rizósfericas, poseen funciones esenciales para el crecimiento y salud de plantas, a pesar de su importancia, existen pocos estudios en suelos volcánicos sobre levaduras promotoras del crecimiento de plantas. Se aislaron 100 cepas de levaduras desde 2 sitios, pertenecientes a series de suelos volcánicos distintos: San José y Pelchuquín, en la Región de los Ríos. Mediante espectrofotometría se evaluó la producción de auxinas en las 100 cepas. Posteriormente, se analizó mediante HPLC la producción de ácido indol acético (AIA) y alfa-cetobutirato (AC) (indicador de actividad ACC desaminasa) en 30 cepas seleccionadas. Las cepas promediaron una producción de $13,5 \pm 3,7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (AIA) y $13,2 \pm 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (AC). Según análisis mediante digestión enzimática, los 30 aislados, corresponden a una especie del género *Candida* spp. Finalmente, la cepa N°20, presentó la mayor actividad de ambos mecanismos ($19,8 \text{ mgL}^{-1}$ AIA y $14,3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AC). Este estudio evidenció presencia de levaduras en la rizósfera de *N. alpina* con potencial para promover el crecimiento y mejorar la tolerancia al estrés de las plantas.

FONDECYT 11130352

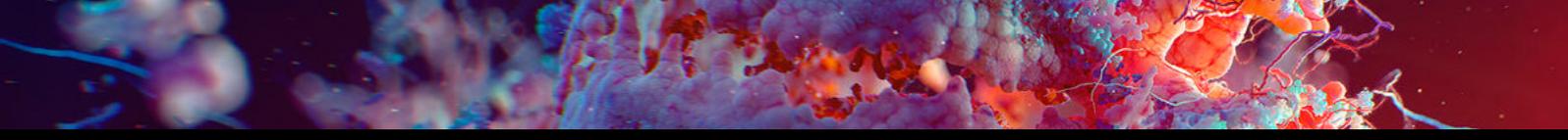


45.- DISEÑO Y DESARROLLO DE UN CANDIDATO VACUNAL RECOMBINANTE CONTRA HANTAVIRUS BASADO EN LAS PROTEÍNAS DE VIRUS ANDES.

Starck-Méndez, M. F.^{1,2}, Mansilla, R.^{1,2}, Varas, N.¹, Neira-Pelen, P.¹, Macaya-Zapata, L.¹, Bravo, F.¹, Sánchez, O.^{1,2}, Toledo, J.^{3,2}, ¹Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Departamento de Investigaciones Centro de Biotecnología y Biomedicina Spa. ³Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Los *Hantavirus* son virus transmitidos por roedores, asociados a dos patologías: Fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR) en Eurasia, y Síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH) en América. En Chile, el agente etiológico de SCPH es el virus Andes (ANDV), cuyo principal reservorio es el roedor *Oligorizomys longicaudatus*. Se han confirmado más de 900 casos de SCPH, con letalidad de alrededor del 34%. Debido a la inexistencia de medicamentos, antídotos o vacunas para su tratamiento o prevención, la única ayuda que se brinda a pacientes infectados es tratamiento de soporte. Un obstáculo importante en el desarrollo de medidas eficaces contra *Hantavirus* es no contar con un modelo animal confiable que recapitule la enfermedad observada en humanos. Sin embargo, en los últimos años se ha descrito al hámster sirio como modelo animal de SCPH provocado por ANDV.

En este trabajo, buscamos desarrollar un candidato vacunal recombinante basado en las proteínas de ANDV. Para esto, diseñamos una molécula conteniendo epítopes B y T contra proteínas virales. Esta proteína fue expresada en *Escherichia coli*, purificada mediante cromatografía de afinidad y empleada para inmunizar hámsteres sirios, con el fin de caracterizar la respuesta inmune celular y humoral inducida por distintas formulaciones del antígeno. Caracterizada la respuesta celular mediante ensayos de ELISpot y linfoproliferación, y la respuesta inmune humoral determinando títulos de anticuerpos totales y neutralizantes, se seleccionará la mejor formulación vacunal. Finalmente se evaluará la capacidad de nuestro candidato de proteger a hámsteres sirios contra signos clínicos e infección viral en un ensayo de reto.



47.- DETERMINACIÓN CUALITATIVAS DE ENZIMAS EN CEPAS BACTERIAS AISLADAS DE UN RELAVE MINERO DE COYHAIQUE - XI REGIÓN DE CHILE.

Valenzuela, E.^{1.}, **Wistuba, J.^{1.}**, Valenzuela, X.^{2.}, Schwenke, V.^{2.}, Godoy, R.^{3.}, ¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ²Campus Patagonia-Coyhaique, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ³Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Roberto Eduardo Godoy Borquez)

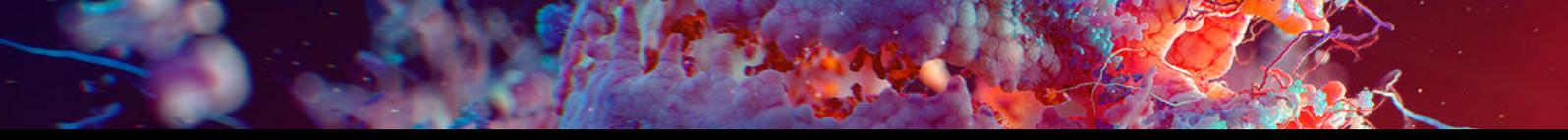
Los métodos biológicos, usados para recuperar suelos contaminados con metales pesados utilizan principalmente bacterias, estas deben tener características fisiológicas y metabólicas destacadas tanto para neutralizar el contaminante como para sobrevivir. El potencial enzimático es un buen indicador para seleccionar el biorremediador a utilizar, pues indica las potenciales fuentes de carbono y nitrógeno que podrían ser utilizadas. En la Región de Aysén existen suelos contaminados con metales pesados que deben ser recuperados. A 78 cepas de bacterias aisladas del relave minero de Puerto Cristal, Región de Aysén – Chile (46°33'31.14"S, 72°23'21.14"O) se les determinaron cualitativamente las enzimas: β -galactosidasa, celulasas, nitrato reductasa, proteasas y ureasas, sembrando las cepas en medios de cultivos selectivos o diferenciales fueron incubados a 23 ± 2 °C por 48 horas. El mayor y menor porcentaje de cepas positivas fueron para: β -galactosidasa con un 87, 2 %, y nitrato reductasa con un 24, 4 %, respectivamente. Los datos indican que potencialmente existen bacterias cuyo crecimiento podría estimularse agregando fuentes de carbono y nitrógeno al suelo de relave.

Proyecto FIC-Biorremediación BIP 30347042-0

49.- OBTENCION DE AFFIBODIES MULTIMÉRICOS ANTI-VEGF EN LEVADURA P. PASTORIS.

Zapata, L^{1.}, Sanchez, O.^{2.}, Mansilla, R.^{3.}, Sepulveda, E.^{4.}, Toledo, J.^{5.}, ¹Farmacología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Farmacología, Universidad de Concepción. ³Farmacología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ⁴Farmacología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ⁵Fisiopatología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo)

Los anticuerpos monoclonales (mAb) son ampliamente utilizados en el tratamiento de diversas patologías. El uso de estas moléculas está sujeto a diversas limitaciones como: Altos costos productivos por el uso de cultivos de células de mamíferos y una reducida capacidad para traspasar barreras biológicas. Los fragmentos de anticuerpos de simple cadena (scFv) consisten en la unión de las regiones hipervariables de la cadena pesada y liviana de un anticuerpo, con afinidad similar a la del anticuerpo completo. Los scFvs pueden ser expresados en microorganismos, como bacterias y levaduras en mayor cantidad y a menor costo en comparación a un mAb. Sin embargo, los scFv son filtrados con facilidad a nivel renal, reduciendo su tiempo de vida media en circulación y disminuyendo su efectividad como biofármaco. El presente trabajo propone una alternativa al uso de mAb terapéuticos expresados en células de mamífero, esta consiste en expresión de scFvs multimericos expresados en levaduras, a un menor costo y con un tamaño mas cercano al de un anticuerpo completo. Con el objetivo de obtener un scFv multimericos, se diseñó un vector que contenía el scFv H20 (anti-VEGF), unido al dominio de trimerización de la tetranectina. El scFv fue expresado en la cepa MP-36 de levadura *Pichia pastoris*. Tanto la expresión de las proteínas como su capacidad para trimerizar fueron analizadas mediante SDS-PAGE, Western Blot y densitometria. Se midió la afinidad del scFv multimerico y el tiempo de vida media en circulación en un modelo in-vivo. Como resultados de este trabajo se logró expresar en altas concentraciones fragmentos scFv los cuales se encontraban acoplados mediante el dominio de trimerización de la tetranectina. La estimación del peso molecular de los scFv trimericos fue cercana al de un mAb del isotipo IgG. Por otro lado los scFvs demostraron tener una elevado tiempo de vida media en comparación a un scFv monomeric. Este trabajo confirma la posibilidad de expresar scFvs multimericos y funcionales acoplados a travez del dominio de la tetranectina.



49a.- EXPRESIÓN DE PROTEÍNA RECOMBINANTE HEPO-FC EN HÍGADO DE GALLINAS PONEDORAS Y SU OBTENCIÓN DESDE LA YEMA DE HUEVO. (hEPO-Fc Recombinant Protein Expression on Liver's Laying Chickens and its Recovery from Egg Yolk)

Araneda, C., Toledo, J.R. Montesino, R. Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La eritropoyetina humana (hEPO) es una hormona glicoproteína sintetizada en el riñón para regular la diferenciación de eritrocitos. Es utilizada como biofármaco contra la anemia, principalmente causada por Insuficiencia Renal Crónica (IRC). Su alta demanda ha potenciado su obtención a partir de tecnología de ADN recombinante. Actualmente hEPO recombinante se produce *in vitro* en cultivos celulares de organismos superiores, proceso altamente demandante de infraestructura y altos costos asociados. El uso de animales como biorreactores ha surgido como alternativa para la expresión de proteínas terapéuticas complejas de manera más económica comparada con la producción *in vitro*. El presente trabajo consiste en la expresión de hEPO fusionada a la cadena Fc de la IgG humana (hEPO-Fc). La proteína de fusión se expresa en hígado de gallinas ponedoras y se acumula en yema de huevo. Para la expresión transiente del fármaco en el bioreactor, se utilizó un vector adenoviral que contiene en su constructo el gen hEPO-Fc y un gen reportero EGFP bajo el control del promotor CMV. El vector adenoviral se inoculó mediante inyección intravenosa a las gallinas y se evaluó la incorporación de la molécula hEPO-Fc en los huevos obtenidos a partir del segundo día post-infección. La acumulación de hEPO-Fc en yema fue corroborada por Inmuno-detección (Western Blot) utilizando anticuerpos anti-hEPO y anti-hIgG, luego de purificar la molécula en cromatografía de afinidad. La variante dimérica hEPO-Fc permitió incrementar la actividad biológica del biofármaco, respecto a la EPO comercial (EPO-CHO), lo que pudiera disminuir la dosis del fármaco en tratamientos prolongados.

Agradecimientos:

- Profesor Patrocinador: Dr. Jorge Roberto Toledo
- Facultad de Ciencias Biológicas, Carrera Bioingeniería

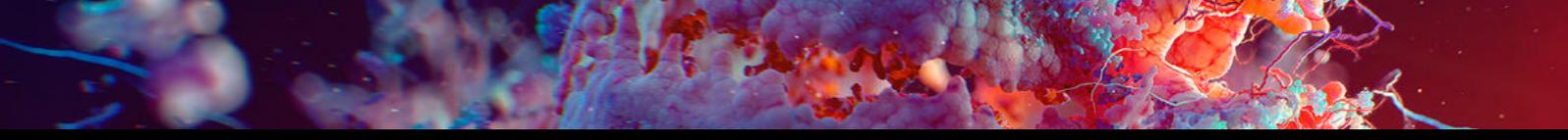
Email: caranedac@udec.cl

51.- ASOCIACIÓN ENTRE NIVELES BASALES DE VITAMINA D Y CITOQUINAS INFLAMATORIAS/REGULADORAS EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

Castillo, C.^{1.}, Acuña, E.^{1.}, Arellano, G.^{1.}, Iruretagoyena, M.^{2.}, Burgos, P.^{2.}, Cárcamo, C.^{3.}, Naves, R.^{1.}, ¹Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ³Departamento de Neurología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune que afecta al sistema nervioso central, caracterizada por una alteración en la homeostasis inmunológica. El déficit de vitamina D (VD) ha sido sugerido como un factor de riesgo para desarrollar EM mientras que su suplementación regula el estado inflamatorio de pacientes en tratamiento. Sin embargo, se desconoce la relación entre los niveles basales de vitamina D y el estatus inmunológico de estos pacientes. En este estudio, analizamos los niveles séricos de VD y el perfil de citoquinas inflamatorias (IFN- γ y IL-17A) y reguladoras (IL-10 y TGF- β) en el plasma de pacientes con síndrome clínico aislado (SCA, n=11), con diferentes subtipos clínicos de EM sin tratamiento (n=55) y controles sanos (CS) (n=18). Los pacientes con enfermedad recurrente-remitente (EMRR) y progresiva primaria (EMPP) presentaron niveles de VD significativamente más bajos que CS. Pacientes SCA exhibieron niveles de IFN- γ significativamente más altos que CS y que todos los otros subtipos de EM. Además, en SCA se determinó una correlación negativa entre los niveles de IFN- γ y VD ($r = -0.8571$; $P = 0.0238$). En cambio, pacientes con EMPP presentaron una asociación positiva entre IL-17A y VD ($r = 0.7333$, $P = 0.0311$). Estos resultados sugieren una posible alteración en los procesos de metabolismo, transporte y/o señalización de VD como mecanismo subyacente al estado inmunopatogénico de algunas formas clínicas de EM.

Financiamiento: FONDECYT 1140049 (RN) y 1141211 (PB). CONICYT 21130452 (GA).



53.- LA INMUNIZACIÓN PASIVA CON UN ANTICUERPO MONOCLONAL CONTRA LA NUCLEOPROTEÍNA DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL HUMANO (VRSH) PREVIENE LA NEUMONÍA VIRAL EN RATONES .

Díaz, R. A.¹, Céspedes, P. F.¹, Kalergis, A. M.¹,¹Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Mundialmente, el Virus respiratorio Sincicial humano (VRSh) es la principal causa de infecciones respiratorias agudas del tracto respiratorio bajo en infantes y niños menores de 2 años de edad. Actualmente el método de profilaxis más efectivo es la utilización de un anticuerpo monoclonal humanizado conocido como Palivizumab, el cual es específico contra el principal receptor de VRSh, la proteína de fusión (F). Este anticuerpo es capaz de neutralizar el VRSh con alta eficiencia, sin embargo el alto costo de esta terapia la hace inaccesible para toda la población en riesgo de enfermar. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio muestran que la nucleoproteína (N) se encuentra en la superficie de células infectadas por VRS y se arrastra en la superficie de partículas virales. Por consiguiente, en el presente trabajo evaluamos la capacidad protectora de anticuerpos monoclonales contra la proteína N de VRSh. Con este fin se inmunizó ratones BALB/cJ con 1mg de anticuerpos anti-N VRS provenientes del hibridoma clon 1E9/D1 y 24 horas después fueron infectados intranasalmente con 10^6 unidades formadoras de placa (UFPs) de VRSh. Se observó que ratones infectados e inmunizados con los anticuerpos anti-N VRSh presentan una menor pérdida de peso comparado con ratones infectados sin inmunizar. Además se observó una baja en dos importantes parámetros asociados a la patología pulmonar causada por VRSh: la carga viral y la infiltración de neutrófilos en lavados bronqueoalveolares (BALs) de ratones inmunizados. Estos resultados sugieren que la inmunización con anti-N protegen frente a la infección con VRSh.

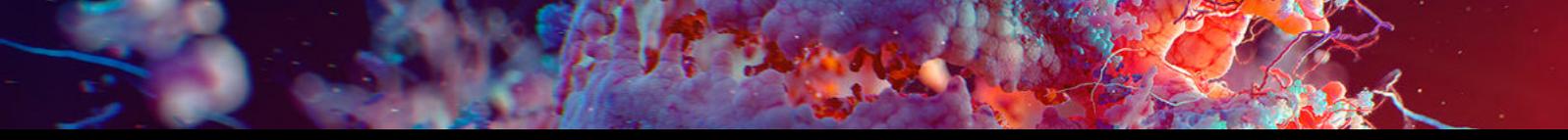
Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia de Chile (P09/016-F) y por fondos de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT)/FONDECYT Postdoctorado N° 3140455, y FONDECYT N° 1150862 y 1070352.

55.- PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO DEFICIENTES DE VITAMINA D PRESENTAN MAYORES NIVELES SÉRICOS DE IL-21.

Hirigoyen, D.^{1.}, Alvarez, A.^{1.}, Montalva, R.^{1.}, Naves, R.^{2.}, Gonzalez, A.^{1.}, Burgos, P.^{1.}, Iruretagoyena, M.^{1.},
¹Departamento de Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Facultad de Medicina Universidad de Chile. (Sponsored by Alfonso González D.)

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune sistémica. Se ha asociado niveles bajos de vitamina D con LES, pero los mecanismos asociados no están completamente dilucidados. Un posible blanco es la interleuquina 21 (IL-21). El objetivo de este estudio fue determinar los niveles de Vitamina D en pacientes con LES y describir su relación con los niveles séricos de IL-21. Se reclutaron 19 pacientes con LES, que cumplieran criterios de ACR para el diagnóstico y 6 controles sanos. Luego de firmar un consentimiento informado, de acuerdo a la Declaración de Helsinki, se determinaron los niveles séricos de Vitamina D e IL-21 por espectrometría de masa en tándem y ELISA, respectivamente. Se consideró como hipovitaminosis D a niveles séricos menores a 30 ng/ml. Los niveles de vitamina D en pacientes con LES fue de 19.7 ± 6.85 ng/ml y 13.58 ± 4.74 ng/ml en controles. La prevalencia de hipovitaminosis D fue de 89.5% en los pacientes. Encontramos mayores niveles de IL-21 en el suero de pacientes con LES (226.3 ± 54.11 pg/ml) que en controles sanos (37.1 ± 22.53 pg/ml) (Mann-Whitney, $p < 0.005$). Los pacientes chilenos con LES analizados presentan una alta prevalencia de hipovitaminosis D y niveles aumentados de IL-21 comparado con controles sanos. Mayores estudios se requieren para establecer el rol de Vitamina D en los niveles de IL-21 en pacientes con LES.

FONDECYT# 1141211 PFCHA#21150777

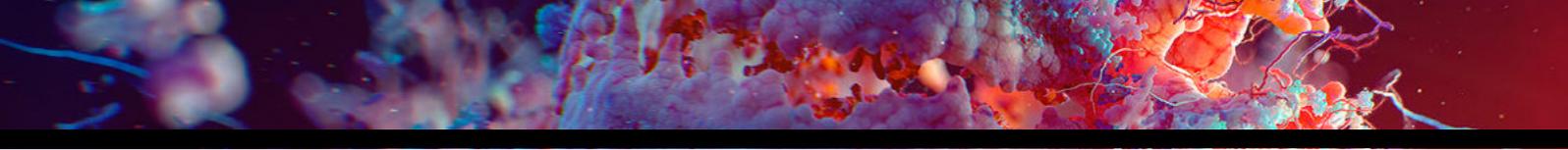


57.- LA VÍA CLÁSICA DEL COMPLEMENTO HUMANO ES ACTIVADA POR HEMOCIANINAS DE MOLUSCOS EN PRESENCIA DE ANTICUERPOS NATURALES DE DONANTES NO INMUNIZADOS.

Pizarro, J¹., Maldonado, I¹., López, MN¹., Salazar-Onfray, F¹., Valck, C¹., Ferreira, A¹., Becker, MI^{2,3}., ¹ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. ³Biosonda S.A. Biosonda S.A.. (Sponsored by María Inés Becker Contreras)

Las hemocianinas son metaloglicoproteínas de moluscos con potentes propiedades inmunoestimulantes, siendo la de *Megathura crenulata* (KLH) la más usada y sumándose recientemente las de *Concholepas concholepas* (CCH) y *Fisurella latimarginata* (FLH). Sin embargo, los mecanismos que gobiernan sus propiedades inmunomodulatorias son poco conocidos. Se ha reportado anticuerpos naturales que unen KLH y activan el complemento. Buscamos, en donantes no inmunizados, anticuerpos que uniesen estas proteínas y activasen la vía clásica, incubando hemocianinas nativas o desglicosiladas con suero inactivado como fuente de anticuerpos y detectando la activación del complemento, vía la cuantificación del depósito de C4b producido por las hemocianinas. Encontramos anticuerpos IgM en el suero de los cinco donantes e IgG en tres de ellos. La desglicosilación no siempre redujo la unión de anticuerpos y la unión de IgM aumentó para FLH desglicosilada. Las hemocianinas nativas y desglicosiladas activaron la vía clásica, sin embargo, FLH desglicosilada generó mayor activación que FLH nativa. Proponemos que estos anticuerpos, mediante activación de la vía clásica, son parcialmente responsables de las propiedades inmunoestimulantes de las hemocianinas, pero que el rol de los carbohidratos, contrario a lo esperado, no es central para dichas propiedades.

FONDECYT 1151337 (MIB) y FONDECYT 1130099 (AF).

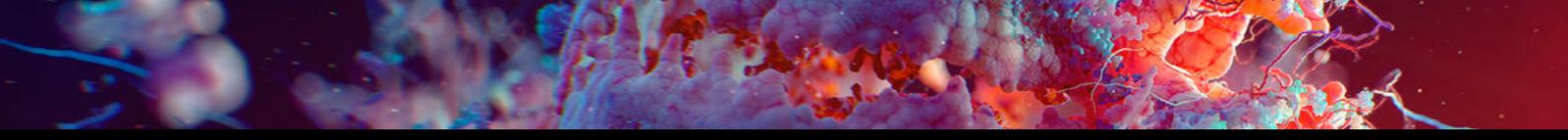


59.- IL-33 MODULA EL FENOTIPO Y FUNCIÓN DE CÉLULAS MADRE MENSENQUIMALES.

Terraza, C.¹, Yañez, L.¹, Gajardo, T.¹, Soto, V.¹, Pino-Lagos, K.¹, ¹Centro de Investigación Biomédica, Medicina, Universidad de los Andes. (Sponsored by Karina De Las Mercedes Pino Lagos)

Se ha descrito a IL-33 como una *alarmina*, sin embargo, se ha visto que también está asociada a inmunoregulación, al igual que las células madres mesenquimales (MSCs). Basados en esto, decidimos evaluar el potencial efecto modulador de IL-33 en MSCs. Para esto, incubamos MSCs derivadas de médula ósea durante 24 horas con IFN- γ con o sin IL-33. Posteriormente, las células fueron recolectadas y caracterizadas fenotípicamente mediante citometría de flujo. Se aisló RNA total para evaluar la expresión de ciertos genes mediante qRT-PCR. Adicionalmente, los sobrenadantes fueron almacenados para cuantificación de citoquinas mediante test de ELISA. Nuestros resultados indican que, tanto IFN- γ como IL-33, aumentan la expresión de CD44, pero solo IFN- γ promueve la expresión de MHC-II. Además, IL-33 aumenta la secreción de IL-6, no así IFN- γ . Se evaluó la expresión génica de las siguientes enzimas capaces de modular la respuesta de linfocitos-T: óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), Arginasa-1 (Arg1), y dos metaloproteinasas (MMP2/MMP9). Observamos que, aunque IFN- γ regula positivamente la expresión de estos genes, IL-33 tiene un efecto más potente. Considerando lo anterior, nuestro estudio sugiere que IL-33 puede afectar los niveles de expresión de diversas moléculas capaces de regular la función de linfocitos-T, por lo que esta citoquina podría postularse como un posible factor inmunomodulador de MSCs.

FONDECYT-11121309 y PMI-UA1301

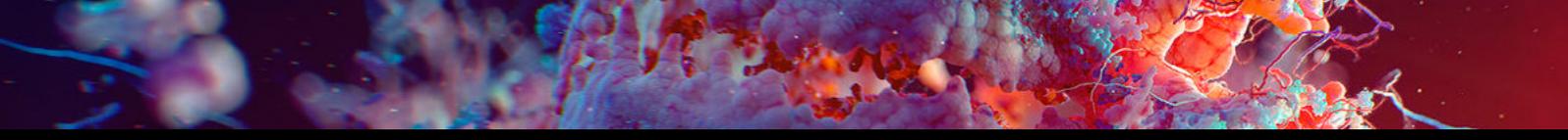


61.- COMPARACIÓN DEL FENOTIPO Y FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS T CD4+ FOXP3+ GENERADOS IN VITRO EN PRESENCIA O NO DE ÁCIDO RETINOICO.

Yañez, L.^{1.}, Terraza, C.^{2.}, Gajardo, T.^{2.}, Pino-Lagos, K.^{2.}, ¹Centro de investigación Biomedica, Medicina, Universidad de Los Andes. ²Centro de Investigación Biomedica, Medicina, Universidad de los Andes. (Sponsored by Karina Pino Lagos)

El equilibrio inmunológico esta mediado por muchos subconjuntos de células inmunes, incluyendo los linfocitos T reguladores. Actualmente, se han descrito diversos “sabores” de células T CD4 + reguladoras (Tregs), que se diferencian principalmente por las condiciones en que han sido generadas. Recientemente, el ácido retinoico (AR) se identificó como potente inductor de Tregs *in vitro*, pero una caracterización completa y comparación con las “tradicionales” Tregs inducidas con TGFβ (iTregs) no ha sido plenamente descritos. En este estudio hemos generado iTregs en ausencia o presencia de AR (AR-iTregs) y analizamos su fenotipo y función. El fenotipo de los Tregs se evaluó en términos de expresión de las moléculas de superficie CD25 y Nrp-1 y de los factores de transcripción Foxp3, Eos y Helios. Asimismo, se comparó el patrón de secreción de citoquinas y la expresión de algunos genes relevantes para la actividad de células Tregs. Nuestros datos indican que AR afecta a la expresión de Nrp-1 y CD25 en iTregs, induciendo un fenotipo más activado, pero secretando citoquinas características de Tregs como IL-6. Estos datos preliminares sugieren que es posible detectar diferencias en la función de este tipo de células *in vivo*, que se estudiarán en un modelo murino de trasplante de piel.

FONDECYT-11121309 y PMI/UANDES-1301.

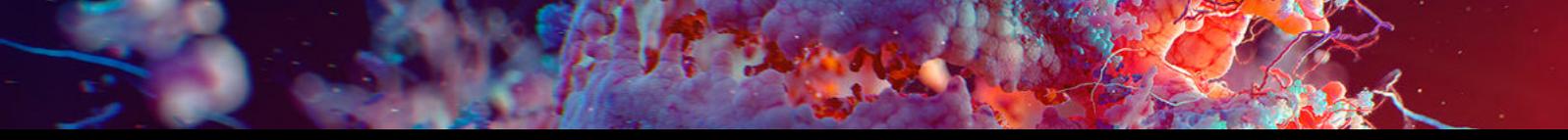


63.- ROL DE LOS MARCOS DE LECTURA ABIERTOS BAB1_0267 Y BAB1_0270 EN EL TRÁFICO INTRACELULAR DE *BRUCELLA ABORTUS* 2308 EN MACRÓFAGOS J774.

Alvarez, F.¹, Gómez, L.¹, Oñate, Á.¹,¹Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La brucelosis bovina es una de las principales zoonosis a nivel mundial causante de importantes pérdidas económicas. El agente etiológico es la bacteria Gram negativa *Brucella abortus*, capaz de sobrevivir y utilizar como nicho replicativo el retículo endoplásmico para proliferar al interior de diversos tipos celulares, incluyendo macrófagos y células dendríticas. Esta capacidad se debe a diversos factores de virulencia, alguno de estos codificados en marcos de lectura abiertos (ORFs) presentes en la isla genómica 3 (IG3). Se evaluó la importancia de los ORFs BAB1_0267 y BAB1_0270 y se demostró que ambos contribuyen a la virulencia de este patógeno. De acuerdo a estos resultados comenzamos a estudiar mediante inmunofluorescencia el tráfico intracelular de estas cepas mutantes y de la wild type en macrófagos J774. Resultados preliminares indican que las mutantes Δ BAB1_0267 y Δ BAB1_027 reduciría su colocalización con el retículo endoplasmático a diferencia de lo descrito con cepa Wild type. Esto indica que estos ORFs estarían involucrados en la capacidad de este patógeno para utilizar el retículo endoplásmico como nicho replicativo.

Proyecto FONDECYT 1130093.

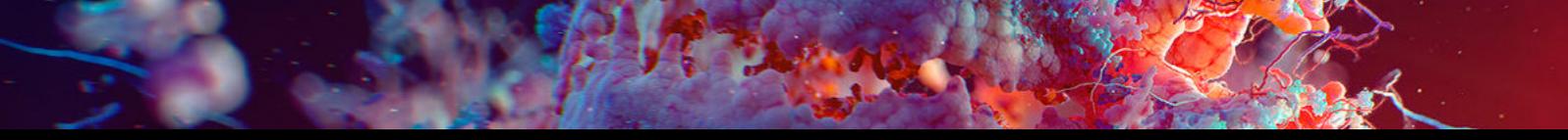


65.- IDENTIFICACIÓN DE GENES RELACIONADOS CON BIOSÍNTESIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS DESDE DOS GENOMAS BACTERIANOS DEL “SULFURETO DE HUMBOLDT”.

Fonseca, A^{2.}, Macaya, L^{2.}, Fica, V^{2.}, Espinoza, C^{1.}, Gallardo, V^{1.}, Salas, A^{2.},¹Departamento de Oceanografía, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.²Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Alexis Marcelo Salas Burgos)

La necesidad de encontrar nuevas moléculas que permitan enfrentar enfermedades graves como el cáncer, infecciones microbianas o procesos inflamatorios. Además del aumento de bacterias patógenas resistentes a antibióticos tradicionales, ha llevado a la búsqueda de nuevas fuentes de compuestos. En este contexto la comunidad bacteriana del denominado “Sulfureto de Humboldt” frente a las costas centro-norte de Chile posee un potencial enorme, tanto por su diversidad como por su adaptación temprana a este medio ambiente particular, el cual mantiene vías metabólicas que conducen a la síntesis de metabolitos secundarios de tipo antibióticos entre otros. Aislamos dos microorganismos desde los sedimentos frente a Concepción; *Beggiatoa sp.* (Megabacteria sulfro-oxidante) y un tipo de *Spirochaeta*. Luego de la extracción y amplificación del ADN se secuenció en un equipo 454FLX de Roche. Por medio de la estrategia bioinformática de ensamblaje de novo (WGS, Celera), se reconstruyeron genomas de 6 Mb (*Beggiatoa sp.*) y 6,8 Mb (*Spirochaeta*), con 821 y 1.051 contigs. Por medio de las herramientas de anotación RAST y antiSMASH se identificaron clústers de genes relacionados en síntesis de terpeno y metabolito secundario desconocido, en conjunto con genes relacionados con síntesis de auxina en *Beggiatoa sp.* En *Spirochaeta* se identificaron cuatro clúster de genes para síntesis de PKSs tipo IV, uno tipo III y homoserina lactona. Demostrando que ambos tipos bacterianos potencialmente podrían producir compuestos de tipo metabolito secundario de diversa índole, incluido fitohormonas como auxinas y PKS tipo III asociado a síntesis de chalconas, clásicos compuestos orgánicos de defensa natural.

Laboratorio de Diseño de Farmacos, Departamento de Farmacología, Universidad de Concepción y Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción

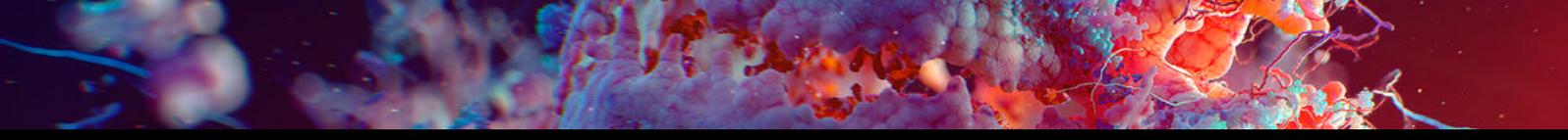


67.- INMUNOTERAPIA BASADA EN CUERPOS CELULARES B16 TRANSFECTADAS CON PROTEÍNAS DE FUSIÓN VIRAL.

Castro, C¹., Barrera, C.¹., Robles, C.¹., Montoya, M.¹., Cortez, M.¹., Acuña, C.¹., ¹Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El melanoma, el tipo más serio de cáncer a la piel generado en los melanocitos. En nuestro laboratorio se ha desarrollado una manera de inducción de muerte mediante depresión de nutrientes denominados cuerpos celulares (CCs), los cuales son capaces de inducir maduración de células dendríticas (DC) *in vitro* y de generar un 20% de protección a ratones B6, mediante una metodología profiláctica. Con el fin de determinar si el favorecer la transferencia de antígenos desde el CC al citoplasma de la DC estimula la presentación cruzada de antígenos, se evaluó la transfección de estas células con proteínas de fusión viral y el efecto de la inmunización con estos en el crecimiento de tumores B16. A la fecha no se han obtenido cambios en la aparición del tumor, pero si se observa un crecimiento tumoral más paulatino. En cuanto a la respuesta inmunológica, los tratamientos inducen un aumento de las poblaciones de los linfocitos T asociados a respuestas antitumorales. En conclusión, la utilización de CCs transfectados con proteínas virales mejora la respuesta antitumoral del ratón de manera profiláctica pero no es suficiente para impedir la aparición tumoral.

FONDECYT 1110734 y DICYT USACH

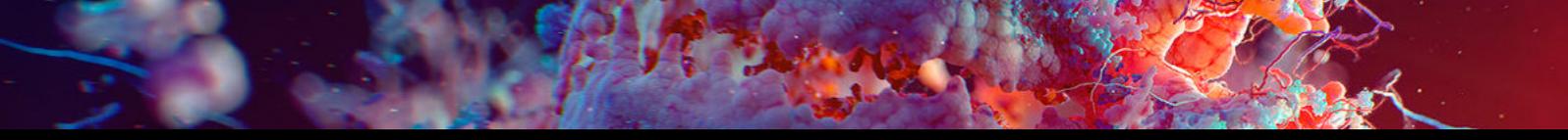


69.- GENERACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE CANCER DE PROSTATA CON EXPRESIÓN ESTABLE DEL TRAZADOR FLUORESCENTE INFRARROJO IRFP, MEDIANTE TRANSDUCCIÓN LENTIVIRAL PARA ESTUDIOS *IN VIVO*.

Cifuentes, P¹., Cerro, R.P¹.,Sandoval, F.A¹.,González, I¹.,Gutierrez, N¹.,Fernández-Caniulén, E¹.,Toledo, J.R¹.,¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

La imagenología óptica es una importante herramienta para el estudio de la progresión de enfermedades como el cáncer. En estos estudios, las proteínas fluorescentes ofrecen una gran ventaja sobre otros marcadores. Uno de los parámetros importantes que considera la imagenología es maximizar la profundidad de penetración de los fotones en el tejido celular, efecto logrado en la región del infrarrojo cercano (NIR). Nuestro objetivo fue generar líneas celulares estables de cáncer de próstata (CaP) que expresen proteínas fluorescentes infrarrojas (pIRFs) a través de transferencia lentiviral, para utilizarlas posteriormente en investigaciones de progresión tumoral *in vivo*. Los plásmidos de transferencia lentiviral que median la expresión de IRFP fueron generados a partir de las secuencias codificantes para IRFP de los plásmidos pCMV/IRF670 y pCMV/IRF682, las cuales fueron subclonadas en el plásmido pLCW. La producción de partículas lentivirales (pLv-pLCW/IRF70 y 682) se realizó mediante co-tranfección de los plásmidos pLP1, pLP2 y pLP-VSVG en células HEK293-FT. Para la generación de las líneas celulares estables de CaP que expresan IRFP, se transdujeron células de CaP con pLv-pLCW/IRF670 y pLv-pLCW/IRF682 y se seleccionaron clones mediante citometría de flujo de Cell Sorting. Para estudios *in vivo* se inocularon células transformadas en ratones machos inmunodeficientes, generando tumores de fluorescencia infrarroja visible en el equipo LI-COR Pearl impulse. Nuestros resultados indican que poseemos líneas celulares estables de CaP que expresan ambos trazadores IRFP y que además permitirán realizar estudios de progresión tumoral en CaP *in vivo*.

Fondecyt 1121159, Proyecto ECM-12 (CMA BIOBIO) y Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción.

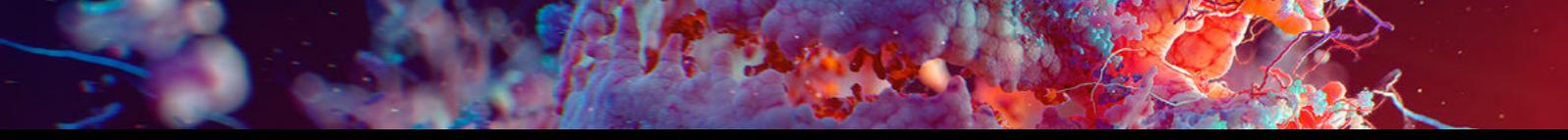


71.- ANÁLISIS PROTEÓMICO DE UN LISADO DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS (TRIMEL) UTILIZADO EN INMUNOTERAPIA DEL CÁNCER.

Fuentes, C.^{1.}, Chernobrovkin, A.^{2.}, Pereda, C.^{1.}, López, J.^{1.}, Salazar-Onfray, F.^{1.}, Zubarev, R.^{2.}, González, F. E.^{1.}, ¹Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia Universidad de Chile. ²Departamento de Bioquímica Médica y Biofísica Instituto Karolinska.

La utilización de células dendríticas (DCs) autólogas cargadas con antígenos tumorales (TAA) ha surgido como una herramienta prometedora en la inmunoterapia del cáncer, debido a su capacidad para estimular la respuesta inmune antitumoral. Recientemente, hemos demostrado que DCs cargadas con un lisado condicionado de células tumorales alogénicas (TRIMEL) pueden inducir una potente respuesta inmunológica en pacientes con melanoma. TRIMEL funciona tanto como una fuente de TAA, así como induciendo la maduración de las DCs mediante señales de peligro (DAMPs). Nuestro objetivo fue caracterizar el perfil proteómico de TRIMEL, con y sin condicionamiento por calor, con el fin de identificar nuevos DAMPS. Las muestras, con y sin shock térmico, se digirieron y se realizó un análisis proteómico de alto rendimiento analizando los datos mediante el software MaxQuant para la identificación de proteínas. Se encontraron 71 proteínas significativamente sobre-reguladas por shock térmico. Entre estas: haptoglobina, vinculina, proteínas de la familia EIF y anexina IV. Estas proteínas serán consideradas como candidatas a DAMPS y se estudiarán sus propiedades inmunológicas. La identificación de nuevos DAMPS presentes en lisados tumorales, permitirá una mejor comprensión de la activación de las DCs durante la respuesta antitumoral, ayudando además al desarrollo de tratamientos inmunoterapéuticos más efectivos.

Financiamiento FONDECYT 11130607



73.- OXLDL AUMENTA LA ACTIVIDAD DE METALOPROTEINASAS MMP-2 Y MMP-9 EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE PRÓSTATA.

Gutierrez, N¹., Fernández-Caniulén , E¹.,González-Chavarría, I¹.,Cerro, R.P¹.,Sandoval, F.A¹.,Toledo, J.R¹.,¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

La lipoproteína de baja densidad oxidada (oxLDL) se ha asociado al proceso aterosclerótico y disfunción endotelial activando vías de señalización que promueven migración celular, proliferación y síntesis de metaloproteinasas. Datos clínicos relacionan la etiología de las enfermedades coronarias con las del cáncer de próstata (CaP), estudios previos señalan a la obesidad como factor de riesgo en enfermedades coronarias y diversos tipos de cáncer, relacionándolos con el aumento del estrés oxidativo, que aumenta la formación de oxLDL. Además, se demostró que altos niveles de oxLDL estarían relacionados con etapas avanzadas de CaP y que oxLDL promueve efectos proliferativos, de migración e invasión en líneas celulares de CaP. Ensayos de nuestro laboratorio muestran que LOX-1 el receptor para oxLDL promueve la proliferación celular y la expresión de moléculas pro- angiogénicas en forma dosis dependiente en células CaP. Remodelación del estroma circundante al tumor es necesario para el proceso de invasión tumoral. Proponemos como hipótesis que oxLDL aumenta la actividad metaloproteinasa y su expresión en líneas celulares de CaP. Observamos en nuestro trabajo que células C4-2, C4-2b, LnCAP y DU-145 estimuladas con oxLDL aumentan la actividad metaloproteinasa en ensayos de zimografía, lo que demostraría que oxLDL estaría involucrado en los procesos de invasión tumoral.

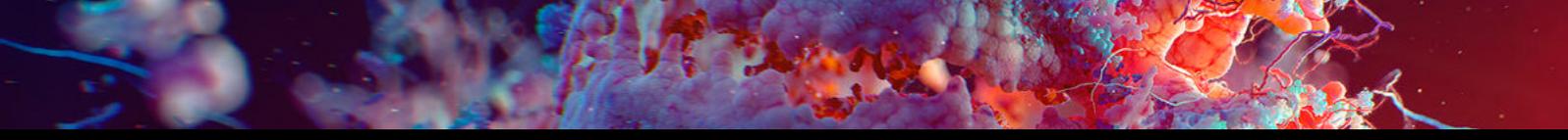
Proyecto FONDECYT N°1121159

75.- EXPRESIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN ANTICUERPO MONOCATENARIO ANTI-VEGF.

Saavedra-Venegas, C¹., Saavedra, P¹.,Salgado, E¹.,Benavente, B¹.,Toledo, J.R¹.,¹Laboratorio de Biotecnología y Biofarmacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

La sobreexpresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) se ha identificado en etapas tempranas de la progresión tumoral en varios tipos de cáncer. El VEGF es una proteína señalizadora implicada en la formación de los vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes, evento conocido como angiogénesis. Por lo tanto un tumor primario sobreexpresa VEGF para inducir la angiogénesis y la formación de un microambiente tumoral que permita el crecimiento y metástasis de los diferentes tipos celulares involucrados. Por lo anteriormente expuesto es que VEGF se convirtió en un blanco para terapias complementarias a las convencionales con resultados exitosos. Sin embargo, los biofármacos existentes en el mercado basados en anticuerpos antiVEGF de origen monoclonal, cuentan con una estructura bicatenaria compleja que para una producción eficiente requieren de procesos que elevan su precio en el mercado. El objetivo del presente trabajo consiste en la generación de un nuevo tipo de anticuerpo de origen sintético con estructura monocatenaria como terapia antiangiogénica, basada en el bloqueo del VEGF. Para esto primero se diseñó y subclonó el gen del anticuerpo en un plásmido que dió origen a un vector adenoviral. Se comprobó que estas partículas virales tienen capacidad infectiva y además, mediante western blot se detectó la producción de la proteína de interés cultivos celulares transducidos. A futuro con estos vectores adenovirales se espera producir el anticuerpo a mayor escala para su validación en ensayos funcionales *in vivo*.

Financiado por FONDEF D09I 1262



77.- IDENTIFICACIÓN Y CLONAMIENTO DEL TRANSCRITO DE IFN α DE SALMÓN COHO Y EVALUACIÓN DE SUS NIVELES FRENTE A LA INFECCIÓN POR VIRUS ISA.

Andrade-Madrigal, C.^{1.}, Morales, J.^{1.}, Soto-Herrera, V.^{1.}, Sandino, A M.^{1.}, Reyes-Cerpa, S.^{1.}, ¹Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile / ICTIO Biotechnologies. (Sponsored by Ana Maria Sandino)

De las tres especies salmónidas cultivadas en Chile, salmón coho muestra menor susceptibilidad a infecciones virales. Se realizó la identificación de transcritos de IFN α e ISGs de salmón coho y se evaluó su expresión *in vitro* frente a la estimulación con PAMPs e infección con ISAv para compararla con salmón del Atlántico y trucha arcoíris.

En base a las secuencias de salmón del Atlántico y trucha arcoíris disponibles en Genbank, mediante PCR y análisis bioinformáticos se obtuvo la secuencia de IFN α de salmón coho. Posteriormente utilizando primers diseñados para la región conservada entre las tres especies salmónidas se evaluaron mediante qRT-PCR los niveles de transcritos de IFN α e ISGs en células derivadas de estas tres especies salmonídeas estimuladas con poli(I:C), LPS, zimosano o infectadas con ISAv.

Las células de las tres especies no mostraron estimulación de la respuesta antiviral con LPS o zimosano, como se esperaba. Mientras que, con poli(I:C) se observan altos niveles de transcritos de IFN α e ISGs, en todas ellas. En contraste, células de salmón coho y trucha arcoíris infectadas con ISAv prácticamente no muestran estimulación de la respuesta antiviral, a diferencia de salmón del Atlántico que presenta altos niveles de transcritos de IFN α e ISGs.

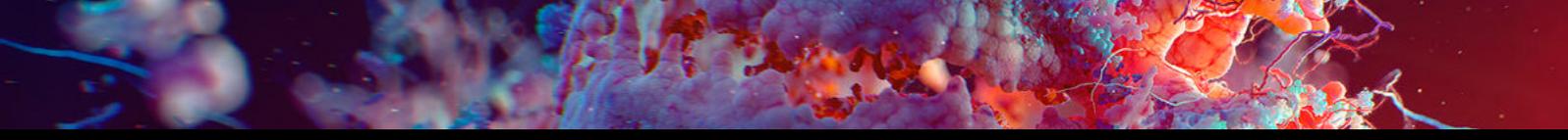
Nuestros resultados indican que al contrario de lo esperado aparentemente la menor susceptibilidad de salmón coho a la infección viral podría estar asociada a una débil respuesta antiviral.

79.- DIFERENCIACIÓN IN VITRO DE LINFOCITOS T CD8 MODIFICADOS CON UN RECEPTOR QUIMÉRICO ANTITUMORAL A UN FENOTIPO DE MEMORIA RESIDENTE DE TEJIDOS.

Durán-Jara, E.^{1,2}, López , E.¹.,Murgas , P.¹.,Lladser, A.¹.,¹Laboratorio de Inmunoterapia Génica Fundación Ciencia y Vida.²Bioquímica Clínica e Inmunología Universidad de Concepción.

La administración de linfocitos T (LT) CD8 modificados con receptores de antígeno quiméricos (CAR) ha sido usada exitosamente como inmunoterapia contra cánceres hematológicos. Sin embargo, esta inmunoterapia ha mostrado baja eficacia en tumores sólidos debido a la baja capacidad de los T-CAR para infiltrar tumores y persistir *in vivo*. Por otro lado, los LT de memoria-residente (T_{RM}) permanecen en tejidos no-linfoides por largo tiempo, otorgando una rápida y potente respuesta frente a la presencia de su antígeno. Los T_{RM} poseen una capacidad efectora superior a otros subtipos de memoria y su infiltración en tumores sólidos se asocia a mejor pronóstico en distintos tipos de cáncer. En consecuencia, resulta interesante generar LT-CAR diferenciados a T_{RM} para mejorar su capacidad antitumoral *in vivo*. En este trabajo, se estableció un protocolo *in vitro* de transducción retroviral de LT CD8 con un CAR contra el antígeno carcinoembrionario (CEA) y posterior diferenciación a T_{RM} usando TGF- β , IL-15 e IL-33. La adquisición del fenotipo T_{RM} se evaluó por la expresión de los marcadores CD103, CD69, CD127 y KLRG1 mediante citometría de flujo. Los linfocitos CAR- T_{RM} generados *in vitro* mostraron actividad efectora (producción de IFN- γ y granzima) y citotóxica específica frente a CEA unido en placas y a células tumorales. El trabajo actual está enfocado en determinar su potencial antitumoral *in vivo*.

CORFO-INNOVA12IDL2-13348, CONICYT-PFB-16, FONDECYT-3130764, Beca arancel UdeC.



81.- ANÁLISIS COMPARATIVO DE EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES TLR1, 5 Y 22, FRENTE A INFECCIÓN CON *PISCIRICKETTSIA SALMONIS* EN CÉLULAS SHK-1 DE *SALMO SALAR*.

Muñoz, M.^{1.}, Lagos, F.^{1.}, Hausmann, D.^{1.}, Figueroa, J.^{1,2.}, ¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.²U. Austral de Chile, Valdivia, Centro Fondap, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR).

La respuesta innata posee un rol preponderante en peces, por lo que es clave estudiar los distintos participantes involucrados en ella. Dentro de estos se encuentran los Toll-Like Receptors (TLRs) los cuales responden a distintos patrones y moléculas conservados en patógenos, actuando de manera rápida y eficiente frente a una infección. Por otro lado en Chile el patógeno *Piscirickettsia salmonis* causa pérdidas millonarias en la salmonicultura nacional, y es de gran interés entender como el sistema inmune reacciona frente a este. Para ello, se estudió los efectos de esta bacteria sobre la expresión de TLR1, TLR5 y TLR22 a nivel de mRNA, mostrando que existen cambios de expresión a través del curso de la infección. Para complementar se realizó inmunofluorescencia contra los TLRs indicados en células SHK-1 infectadas a distintos tiempos con la cepa patógena IBM-40 y análisis de *Western blot* a células SHK-1 infectadas y estimuladas con LPS y Poly(I:C). Los resultados muestran que existen variaciones de la expresión proteica de los TLRs estudiados post-infección. Además es posible apreciar un patrón punteado en las inmunofluorescencias que indicaría que estos receptores se encuentran en *clusters* en la membrana, lo que facilitarían y amplificaría la respuesta de estos TLRs frente a diversos estímulos. Queda claro que la infección con *P.salmonis* modula la expresión tanto a nivel de mRNA como de proteínas en células SHK-1, teniendo un comportamiento de expresión fluctuante que respondería a la forma en que cada TLR responde a su ligando específico.

Proyectos Fondecyt-1130069 y Fondap-15110027

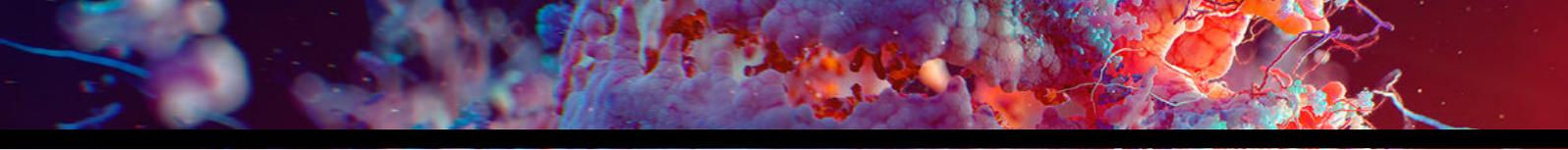
83.- DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *PISCIRICKETTSIA SALMONIS* MEDIANTE MLST

Isla, A.¹, Haro, R.¹, Haussmann, D.², Mancilla, J.³, Avendaño-Herrera, R.⁴, Figueroa, J.², Yañez, A.⁵,
¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.²Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Centro FONDAP INCAR.³Puerto Montt, Chile, Marine Harvest.⁴Centro FONDAP, INCAR, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.⁵Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Centro FONDAP, INCAR.

El patógeno *Piscirickettsia salmonis* fue aislado en el año 1989 en la zona de Puerto Montt, desde *salmón Coho* (*Oncorhynchus kisutch*). Aunque originalmente esta fue la especie de cultivo más susceptible a esta bacteria, rápidamente ocurrió la adaptación del microorganismo y fue capaz de infectar otras especies de salmónidos como *Salmo salar* y *Oncorhynchus mykiss*. Esta bacteria cocoide, no-móvil, aerobia e intracelular facultativa es miembro de la clase Gammaproteobacteria y provoca importantes pérdidas económicas a la salmonicultura chilena.

El análisis de la secuencia del gen 16S rRNA de 40 aislados de *P. salmonis* sugiere la formación de 2 clúster monofileticos cerrados, que no se correlacionan con los diferentes hospederos, distribución geográfica y patrones de patogenicidad de los aislados estudiados. En orden de ampliar la comprensión y discriminar los distintos tipos bacterianos dentro de poblaciones cerradas, se utilizó la herramienta de Tipificación de Secuencias Multilocus (MLST). En este estudio fueron analizados por secuenciación y comparación 7 loci de 30 aislados obtenidos entre 1989 y 2015. Los resultados de MLST demuestran la existencia de tres clúster génicos principales, confirmando resultados previos de análisis de ITS, y ratifican que esta técnica facilita la comprensión de la evolución de microorganismos bacterianos complejos como *P. salmonis*.

FONDAP-INCAR N°15110027. CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2015-21151459.



85.- TAMOXIFENO INHIBE LA QUIMIOTAXIS DE NEUTROFILOS EQUINOS.

Henriquez, C¹., Folch, H²., ¹Farmacología y Morfofisiología, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.²Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Hugo Folch Vilchez)

El tamoxifeno (TX) es una droga sintética no esteroidea, que forma parte de la familia de moduladores selectivos de receptores a estrógeno (SERM), y que ha sido ampliamente utilizada como coadyuvante en terapias de pacientes con cáncer mamario. El TX ha demostrado tener propiedades antiinflamatorias, inhibiendo la actividad de NF- κ B, así como también disminuyendo las concentraciones de proteína C reactiva y fibrinógeno en mujeres sanas. En nuestro grupo, hemos determinado que el TX tiene efectos beneficiosos sobre la inflamación aguda del sistema respiratorio en equinos, disminuyendo el infiltrado neutrofílico en la vía aérea, así como el status clínico de los animales. El objetivo de este estudio fue caracterizar el efecto de TX sobre la capacidad quimiotáctica de neutrófilos obtenidos de equinos sanos. Para ello, se realizó un ensayo de Transwell con Interleuquina 8 recombinante humana (IL-8rh) como agente quimiotáctico. Las células se aislaron desde muestras de sangre obtenidas por venopunción yugular en tubos con citrato de sodio como anticoagulante y utilizado una gradiente de percoll sometida a centrifugación. La IL-8rh demostró tener actividad quimiotáctica en neutrófilos equinos incrementando la migración 3.5 veces por sobre el control. Por otra parte el tamoxifeno fue capaz de inhibir significativamente dicho efecto, a partir de una concentración de 1 μ M. Dicho efecto, sumado a otros obtenidos por nuestro grupo, como la disminución en el estallido respiratorio, incremento de la exposición de fosfatidilserina en la membrana, y disminución de la fagocitosis pudiesen explicar el efecto antiinflamatorio de esta droga.

DID Uach S-2015-19

Fondecyt 1130355

Fondecyt 1150789

87.- ESTUDIO DE LA INFECCION DE PISCIRICKETSSIA SALMONIS EN CELULAS ASK .

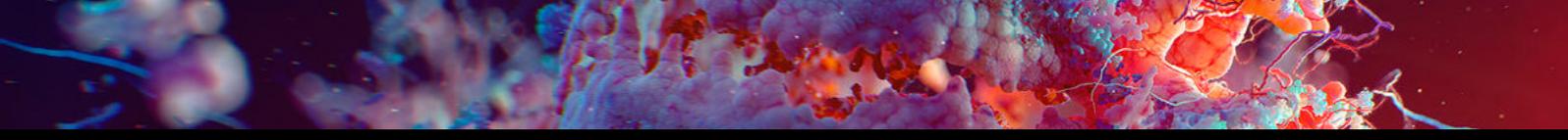
Morales-Reyes, J.^{1.}, Soto-Herrera, V.^{2.}, Gonzales-Bown, M.^{1.}, Andrade-Madrigal, C.^{2.}, Maisey, K.^{3.}, Spencer, E.^{1,2.}, Sandino, A. M.^{1,2.}, Reyes-Cerpa, S.^{1,2.},¹Laboratorio de Bacteriología de Peces IctioBiotechnologies.²Centro de Biotecnología Acuicola, Laboratorio de Virología, Universidad de Santiago de Chile.³Centro de Biotecnología Acuicola Universidad de Santiago de Chile. (Sponsored by Ana Maria Sandino)

Piscirickettsia salmonis es el principal patógeno de salmónidos en Chile. Esta bacteria infecta macrófagos, sugiriéndose que evade la respuesta inmune al residir en endosomas evitando su degradación lisosomal, sin embargo, el proceso por el cual logra sobrevivir y replicar dentro de los macrófagos ha sido pobremente caracterizado. En este trabajo nos hemos propuesto caracterizar la sobrevivencia y la posible replicación de *P. salmonis* al interior de células tipo macrófagos de salmón del Atlántico.

Para ello, se infectó la línea celular tipo macrófagos (ASK) con *P. salmonis* y se realizó una cinética de 6 días para determinar su residencia, sobrevivencia y replicación intracelular. La detección de *P. salmonis* al interior de macrófagos fue evaluada mediante microscopía confocal y electrónica. La sobrevivencia y viabilidad bacteriana fue determinada mediante ensayos de gentamicina-saponina y recuperación en agar sangre. La replicación intracelular fue determinada mediante ensayos de gentamicina-saponina y qPCR. Como resultado observamos que luego de 30 minutos post-infección ya se detecta a la bacteria dentro de las células ASK y que incluso luego de 6 días post-infección se recupera bacteria viable desde el interior de las células infectadas. Del mismo modo, en sobrenadantes de células infectadas se detecta la presencia de bacteria luego de 72 horas post-infección aumentando aún a 6 días post-infección.

En resumen, los resultados indican que *Piscirickettsia salmonis* infecta células tipo macrófagos siendo capaz de sobrevivir y replicar al interior de éstos por al menos 6 días post-infección.

Proyecto CORFO-Consortio 13CTI-21527



89.- ANÁLISIS DEL EFECTO DE CORTISOL SOBRE LA EXPRESIÓN DE NFκB E IκBα EN CÉLULAS SHK-1 DE SALMO SALAR .

Pérez, T.^{2.}, González-Stegmaier, R.^{2,3.}, Figueroa, J.^{1,3.}, Kausel, G.^{1.}, Rodríguez, M.^{2.}, Vega, M.^{1.}, Monras, M.^{2.}, Enríquez².R., **Romero, A.**^{2,3.}, ¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.²Patología Animal, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.³Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Chile, Centro FONDAF.

En mamíferos, los glucocorticoides modulan la expresión y activación de NFκB e IκBα a través de su receptor GR. En este trabajo, se evaluó el efecto de cortisol en células SHK-1 de *S. salar*, realizando una cinética de expresión de NFκB e IκBα utilizando 150 ng/ml de la hormona. Los resultados obtenidos muestran que cortisol aumenta la expresión de IκBα en 3 y 6 veces a 1 y 24 h post-tratamiento respecto de las células control. Para la expresión de NF-κB, se observa un incremento de la expresión a las 3 y 24 h con 2 y 4 veces de cambio. Paralelamente, NF-κB también fue inmunodetectado mediante Western Blot en células SHK-1 estimuladas con LPS 10 μg/ml a 1 y 3 h, lo cual reveló una fuerte señal inmunoreactiva cercana a los 60 kDa en células estimuladas versus el control sin estímulo. Estos resultados sugieren que cortisol modularía la expresión de ambas moléculas y se está evaluando su acción sobre la síntesis y activación del producto proteico de NFκB e IκBα.

Fondecyt 1141006; Fondap 15110027ti

91.- UTILIZACIÓN DE CUERPOS CELULARES PARA POTENCIAR LA RESPUESTA INMUNE DE SALMÓNIDOS.

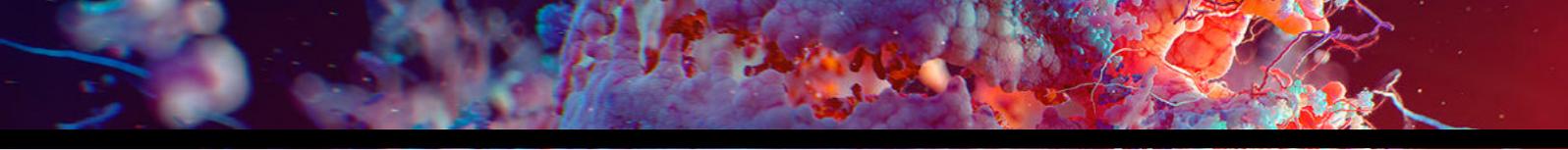
Santibañez, A¹., Gonzalez Catrilelbun, S.².,Toro-Ascuy, D.³.,Vásquez, Y.³.,Acuña, C.¹.,Montoya, M.¹.,Cortez-San Martín, M.³.,¹Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.²Virología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.³Virología Molecular, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Sponsored by Mónica Imarai Bahamondes)

Chile es potencia mundial en salmonicultura, sin embargo la elevada tasa de mortalidad generada por patógenos ha provocado pérdidas billonarias en la industria, lo que ha llevado a una continua vigilancia pasiva y al uso de vacunas. Esta última es posible ya que los salmones poseen un sistema inmune adaptativo reconocible, identificándose tipos celulares conservados entre teleósteos y mamíferos. Se desconoce si el uso de inmunoterapia celular, una nueva herramienta que ha demostrado estimular el sistema inmune de pacientes inmunodeprimidos, podría ser aplicada en salmónidos.

En el laboratorio se desarrolló una inmunoterapia celular capaz de mejorar la formulación de vacunas y potenciar la respuesta inmune. Para evaluar la potencia de la formulación en la activación de una respuesta inmune, se realizaron ensayos *ex vivo* en células adherentes derivadas de riñón anterior de salmón del Atlántico. Se cuantificó la expresión relativa de IFN- γ , TGF- β , moléculas involucradas en la activación de macrófagos, linfocitos T CD8⁺ y muerte celular; y los transcritos de IL-10, y CD4, marcadores con función inmunomoduladora y de proliferación celular. Adicionalmente, se realizaron ensayos *in vivo* en salmones inmunizados con estas formulaciones cuantificando las mismas citoquinas.

Los resultados *ex vivo* muestran un aumento en los niveles de IFN- γ e IL-10, aumento también observado en peces vacunados, sugiriendo que en esta respuesta participarían macrófagos/MHC clase I, favoreciendo un estado de alerta en el pez en ausencia del patógeno, situación observada en una infección natural. Estos resultados demuestran que la inmunoterapia es una alternativa para el desarrollo de nuevas vacunas en salmónidos.

FIA PYT-2012-0022

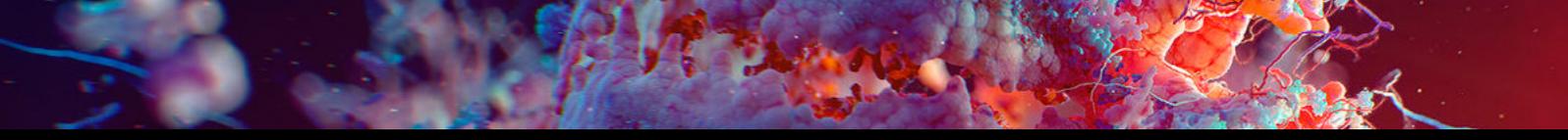


93.- ANALYSIS OF EXPRESSION OF MRP1 AND PGP IN CALIGUS ROGERCRESSEYI SUBJECTED TO TREATMENT WITH EMAMECTIN BENZOATE.

Vera, T.^{1,2}, Mancilla, A.¹, Pérez, H.¹, Cárcamo, J. G.^{1,2},¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.²Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR) Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Jaime Figueroa Valverde)

Caligus rogercresseyi is an ectoparasite that seriously affects to the Chilean salmon industry. This parasite causes skin damage and induces stress, triggering a decreasing in the host immune system and letting it more susceptible to secondary infections, which as a whole causes great economic losses. The constant presence of *C. rogercresseyi* in the salmon farmers, has led to the repeated use of antiparasitic drugs. One of the drugs historically used is Emamectin benzoate (EMB). In recent years, *C. rogercresseyi* has shown pharmacological resistance toward EMB, which may be the result of different molecular mechanisms, including changes in the metabolism of the drug associated to the expression level of efflux proteins. The objective of this study was to evaluate the expression of proteins associated to drug resistance in *C. rogercresseyi* subjected to treatment with EMB. The results show that EMB causes variations in the levels of expression of MRP1 and Pgp, both at the level of mRNA (qPCR) and protein (WB). In addition, we determined by immunocytochemistry the effect of EMB on tissue distribution of these proteins. The data presented here provide information relevant to assess one of the possible molecular mechanisms involved in the resistance to antiparasitic in *Caligus rogercresseyi*.

Funding: Fondap 15110027, Fondef D10I1128 and Fondecyt 1150934. Innova Chile 14IDL2-30112.

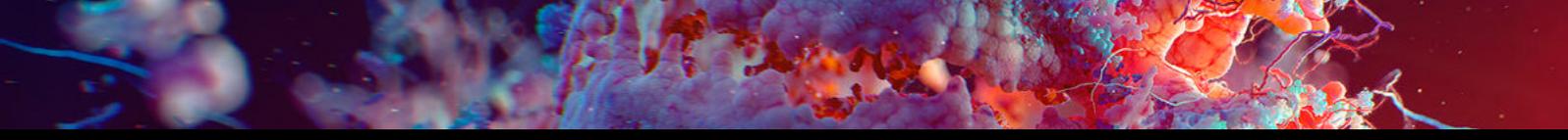


95.- CAPTACIÓN DE METALES, SULFATO Y VARIACIÓN DE OASTL EN RESPUESTA AL ESTRÉS DE Al^{3+} EN TEJIDOS DE *LOLIUM PERENNE*.

Lunario, L.^{1.}, Vera-Villalobos, H.^{2.}, Vera, H.^{2.}, Galvez, A.^{3.}, Mercado, A.^{1.}, Wulff-Zottele, C.^{1.}, ¹Biotecnología, Ciencias del Mar, Universidad de Antofagasta. ²Biomedico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ³Departamento Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Cristián Wulff)

Las lesiones de las raíces son causadas principalmente por la toxicidad Al^{3+} en suelos ácidos, reflejándose en alteraciones en la absorción de nutrientes desde la rizósfera. La aplicación enmiendas calcáreas, tales como yeso, a suelos ácidos reduce la concentración de Al^{3+} , e incrementa la presencia de nutrientes para plantas. Los efectos del sulfato, contenido en yeso, en los mecanismos de desintoxicación de Al^{3+} en plantas no están bien comprendidos todavía. Se ha planteado que el metabolismo de Azufre puede estar participando en los mecanismos de desintoxicación de Al^{3+} en plantas. En el presente estudio se evaluó la variación de la captación de metales Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} y de SO_4^{2-} en raíces y hojas de *L. perenne* cultivadas con concentraciones crecientes de fertilización de sulfato (120-360 μM) y Al^{3+} equivalente a 8,4 μM por 48 horas. Además, se realizó la evaluación de expresión, actividad enzimática de OASTL (O-acetil-serina tioriltransferasa) en los tejidos estudiados. Los resultados permiten concluir que en raíces ocurre una rápida absorción de Al^{3+} en todas las condiciones estudiadas; pero reduciendo la incorporación de Mg^{2+} , Ca^{2+} y SO_4^{2-} principalmente en raíces. También se estableció que OASTL incrementa su nivel de expresión y de actividad enzimática como consecuencia de la presencia de toxicidad de Al^{3+} ; pero varió en función de la condición de fertilización con sulfato.

Proyecto: Fondecyt 1130655



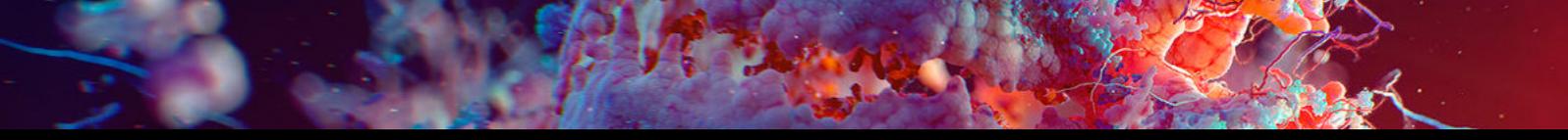
97.- CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE GLUCOSINOLATOS DE CRUCÍFERAS CULTIVADAS EN LA ZONA CENTRAL DE CHILE .

Mahn, A¹., Roman, J.¹, ¹Ingeniería Química, Ingeniería, Universidad de Santiago de Chile.

Los glucosinolatos (GSL) son metabolitos secundarios azufrados propios de las *Brassicaceae* o crucíferas. No presentan actividad biológica en sí, pero los isotiocianatos (ITC), productos de su hidrólisis, son considerados anti-carcinógenos y antioxidantes. Los GSL están distribuidos de manera desigual entre las crucíferas. Para determinar el potencial de estas plantas como fuente de compuestos anti-cancerígenos, se caracterizó el perfil de GSL en repollo, brócoli, coliflor y coles de Bruselas, adquiridos en el mercado local (Santiago). Los GSL se extrajeron en metanol, se llevaron a sequedad y se re-suspendieron en agua para analizarlos mediante HPLC acoplado a espectrometría de masa.

Se identificaron 9 GSL: glucoiberina, sinigrina, glucorafanina y glucobrasicina, presentes en todas las especies estudiadas; (epi)progoitina presente en repollo, coles de Bruselas y coliflor; hidroxiglucobrasicina, presente en repollo, brócoli y coles de Bruselas; gluconapina, presente en repollo y coles de Bruselas; glucosibarina, presente sólo en coles de Bruselas; y glucoiberiverina, presente sólo en coliflor. En repollo, el GSL más abundante es la glucoiberina, en brócoli es la glucobrasicina, en coliflor es (epi)progoitina, y en coles de Bruselas es glucobrasicina. Esta información servirá de base para investigar el potencial de estos vegetales para obtener altas concentraciones de ITC mediante la optimización de su procesamiento.

Proyecto Fondecyt N°1130384 y DICYT-USACH

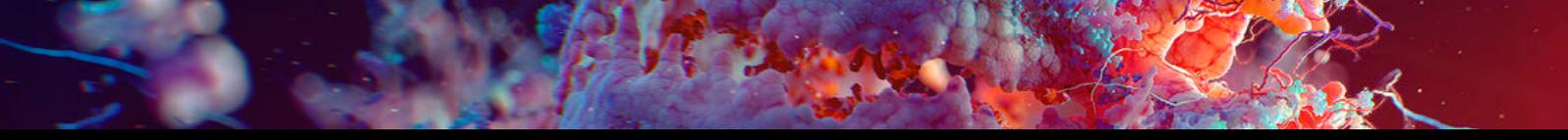


99.- EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN DE SULFATO EN LA INDUCCIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN MECANISMOS DE RESISTENCIA A LA TOXICIDAD AL³⁺ EN RAÍCES DE *L. PERENNE*.

Pérez, D¹., Vera Villalobos, H., Galvez, A.²., Mercado, A.³., Wulff-Zottele, C.³.,¹Biomedico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.²Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.³Bioteconología, Ciencias del Mar, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Cristian Enrique Wulff Zottele)

La toxicidad por Al³⁺ es el mayor factor limitante en la producción de cultivos en suelos ácidos. Al³⁺ inhibe el crecimiento y funciones fisiológicas de raíces, generando una reducción significativa en el rendimiento de los cultivos. Se han identificado genes relacionados a mecanismos de resistencia a la toxicidad de Al³⁺ en diferentes especies vegetales, destacándose los transportadores de malato activado por Al³⁺ (ALMT) y MATE (Multidrug and Toxic Compound Extrusion Protein). Mediante la metodología de qRT-PCR se analizó los niveles de expresión de ALMT y MATE inducido por selenio en tejido de raíz de *L. perenne* cultivados con condiciones crecientes de fertilización de sulfato (120, 240 y 360 µM) y con estrés de Al³⁺ a corto plazo (48h). Los resultados de qRT-PCR permitieron establecer que existe una inducción de ambos transportadores como consecuencia de Al³⁺, siendo ambos afectados por la condición de fertilización de sulfato en que se cultivaron las plantas. Además, se realizó un análisis bioinformático para ambos genes en estudio, ALMT fue identificada en un subgrupo perteneciente a ALMT1, mostrando una alta homología a ALMT1 De *Triticum aestivum*. Además, hemos identificado un transportador Se-MATE que es inducido por sulfato y que participaría en los mecanismos de resistencia contra Al³⁺ en raíces de *L. perenne*.

Financiado por proyecto FONDECYT 1130655

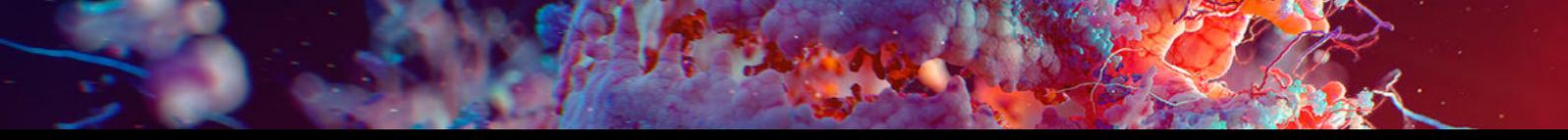


101.- ADAPTACIONES BIOQUÍMICAS Y FISIOLÓGICAS DE *LOLIUM PERENNE* A LA TOXICIDAD DE Al^{3+} A CORTO PLAZO: REDUCCIÓN DE LA TOXICIDAD DE Al^{3+} A CORTO PLAZO POR LA FERTILIZACIÓN CON SULFATO.

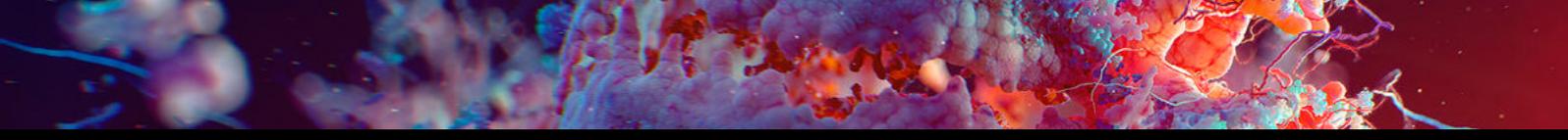
Wulff-Zottele, C.^{1,2}, Mercado, A., Vera-Villalobos, H.⁴, Perez, D.⁵, Lunario, L.⁶, ¹Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Universidad de Antofagasta Centro de Investigación Científico Tecnológico Para la Minería. ³Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. ⁴Doctorado en Ciencia Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ⁵Carrera de Bioquímica Universidad de Antofagasta. ⁶Magister en Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.

La acidez de suelos causa el incremento de Al^{3+} que es altamente tóxico para raíces de plantas forrajeras, como *Lolium perenne*. Para reducir los efectos de la toxicidad de Al^{3+} se realiza la aplicación de enmiendas calcáreas, tales como yeso, en suelos ácidos y favorecen el desarrollo radicular de *L. perenne*. Sin embargo, el conocimiento del efecto del sulfato, contenido en el yeso, a nivel fisiológico en plantas expuestas a Al^{3+} es limitada. Para establecer el efecto de dosis crecientes de fertilización de sulfato se realizó el diseño experimental de cultivos hidropónicos de *L. perenne* en condiciones combinatorias de dosis crecientes de sulfato y en presencia de Al^{3+} . Posteriormente se realizó la recolección de muestras para realizar mediciones químicas de Al^{3+} incorporado y sulfato en raíces de *L. perenne*, como también mediciones de la expresión genes de actividades enzimáticas asociadas a respuesta a estrés oxidativo, asimilación de azufre mecanismos de resistencia a Al^{3+} . También se evaluó metabolitos asociados a respuesta a estrés oxidativo, tales como glutatión y ascorbato. Para poder lograr simplificar la complejidad de los resultados se utilizó las metodologías estadísticas de minerías de datos, tales como los análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) y componentes principales (PCA). Los resultados permiten establecer que tratamientos combinados de toxicidad de Al^{3+} y condiciones crecientes de fertilización de sulfato causan patrones de comportamiento diferencial a nivel fisiológico en los niveles de metabolitos y expresión de genes asociados a la respuesta a estrés oxidativo, metabolismo de sulfato y mecanismos de resistencia a estrés de Al^{3+} en raíces de *L. perenne*.

El trabajo realizado en el laboratorio es financiado por el proyecto regular Fondecyt 1130655 (2013)



SESION PANELES II



2.- CONTRIBUCIÓN DE ARGINASA A LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL E HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE APNEA DEL SUEÑO.

Iturriaga, R., **Arias, P.**^{1.}, Krause, B.^{2.}, Casanello, P.^{3.}, Del Rio, R.^{4.},¹Laboratorio de Neurobiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Laboratorio de Programación Perinatal, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.³Laboratorio de Programación y Epigenética Perinatal, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴Laboratory of Cardiorespiratory Control, Center of Biomedical Research, Universidad Autónoma de Chile.

La hipoxia intermitente crónica intermitente (CIH, principal característica de la apnea obstructiva del sueño, produce disfunción endotelial e hipertensión. Los niveles de óxido nítrico (NO) dependen de la disponibilidad de L-arginina, que es también sustrato de las arginasas. Por lo tanto, un aumento de los niveles y/o actividad de arginasa podría contrarrestar la vasodilatación dependiente de NO. Estudiamos los efectos de la inhibición de la arginasa con ácido 2(S)-amino-6-boronoheptanoico (ABH) sobre la presión arterial (PA), medida por radio-telemetría, y la relajación dependiente de NO en ratas Sprague-Dawley (machos 250g) expuestas a CIH (5% O₂, 12 veces/h 8 h /día) o a condiciones sham por 28 días. Después de 14 días, un grupo de ratas CIH se trató ABH (400 mg/día, vía bombas osmóticas) hasta el día 28. Aislamos arterias carótidas externas para medir respuestas a KCl y acetilcolina (Ach) usando miografía de alambre, y medimos los niveles proteicos de eNOS y arginasa-1 por Western blot. La hipertensión producida por CIH (~ 10 mmHg) fue revertida por ABH. Las arterias de ratas-CIH mostraron una mayor contracción inducida por KCl que en ratas-sham y relajación menor inducida por Ach. ABH revirtió el aumento de la contracción y la disminución de la relajación inducida por Ach a valores controles. En arterias de ratas-CIH los niveles de arginasa-1 aumentaron, mientras que los eNOS disminuyeron. Los resultados muestran que la alteración en la razón eNOS /arginasa-1 contribuye a la disfunción endotelial y la hipertensión inducida por CIH.

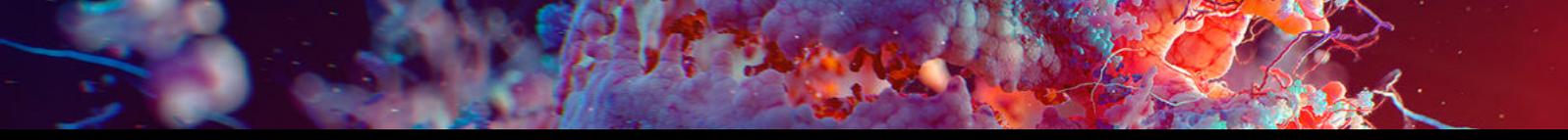
FONDEF D1111098

4.- LA AUMENTADA PROLIFERACIÓN DE CELULAS MDCK, ASOCIADO CON UNA ALCALINIZACIÓN INTRACELULAR Y SOBRE-EXPRESIÓN DEL INTERCAMBIADOR Na^+/H^+ (NHE1), EN PRESENCIA DE TRIOXÍDO DE ARSENICO, ES MODULADA POR EL FACTOR TRANSCRIPCIONAL (AP-1).

Cornejo, M. ^{1.}, Labarca, C. ^{1.}, Bravo, J. ^{1.}, Mieres, D. ^{1.}, Andrade, D. C. ^{1.}, Beltran, A., Araya, J. ^{3.}, Sobrevia, L. ^{4.}, Sanhueza, C. ^{4.}, Ramirez Gallardo, M. ^{1.}, ¹Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular, Departamento Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Educación, Educación, Universidad de Antofagasta. ³Laboratorio de Parasitología Molecular, Departamento de Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ⁴Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular, División de Ginecología y Obstetricia, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Dr. Cristian Wulff Zotele)

La regulación del pH intracelular (pHi) es fundamental para las células del organismo. El pHi es mantenido en un rango de 6,9-7,2 debido a la extrusión de protones (H^+), principalmente, a través del intercambiador Na^+/H^+ isoforma 1 (NHE1). La elevación patológica del pHi causa aumento en la proliferación celular y transformación neoplásica con aumento en la expresión de NHE1. Nosotros recientemente demostramos que trióxido de arsénico (0,05mM) favorece la proliferación celular lo que se asoció con una alcalinización intracelular y aumento en la expresión de NHE1. Objetivo: Determinar el rol del factor de transcripción AP-1 sobre la aumentada proliferación de células MDCK inducida por trióxido de arsénico (ATO) y su asociación con el pHi y la sobre expresión de NHE1. Método. Células MDCK fueron incubadas durante 48 hrs con ATO (0,05mM). La proliferación celular fue medida por medio de la determinación colorimétrica de LDH, el pHi fue medido a través de la sonda fluorescente BCECF-AM y la actividad de NHE1 fue medido en función de la velocidad de recuperación (dpH/dt), post acidificación con NH_4Cl (20mM). La expresión proteica de NHE fue determinado por medio de Wester blot. Resultados: El aumentado pHi debido a la sobre-expresión y aumentada actividad de NHE1, asociado con una aumentada tasa proliferativa de las células MDCK, fue abolido por el inhibidor selectivo de AP1, SR11302. Conclusión: Estos resultados sugieren que, en parte, el factor transcripcional AP-1 regula la aumentada proliferación y expresión de NHE1, inducida por ATO en células MDCK

Universidad de Antofagasta, Vicerrectoría de Investigación, Innovación y Post Grado (VRIIP), Proyecto Semillero 5309.



6.- ALTA D-GLUCOSA MODULA EL PORCENTAJE DE METILACIÓN GLOBAL DEL ADN GENÓMICO DE CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO HUMANO.

Fernández Garcés , P.^{1,2}, Herlitz Cifuentes, H.², Canteros Rivas, E.³, Hinojosa Moreno, M.¹, Schnake Mamut, N.¹, Rivas Valdés, F.¹, Gutierrez Gallegos , S.¹, ¹Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Tecnología Médica , Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Sebastian. ³Medicina Interna , Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. (Sponsored by PROYECTO FONDECYT 1130697)

Las Células Progenitoras de Endotelio Humano (hEPC) participan en la vasculogénesis post natal, reparo y angiogénesis del tejido dañado, sin embargo, estudios llevados a cabo *in vitro* y en pacientes diabéticos, señalan que la condición de alta glucosa altera el potencial de estas células para reparar la vasculatura. En el siguiente estudio, evaluamos el efecto de la alta concentración de D- Glucosa (HCG) en el estado de metilación de las hEPC, como un posible mecanismo epigenético involucrado en la disfunción angiogénica presente en estas células. Células mononucleares provenientes de donantes voluntarios sanos, fueron cultivadas y diferenciadas a hEPCs, evidenciado a través de la expresión de CD31 y KDR (marcadores endoteliales) y CD34 y OCT4 (marcadores característicos de células inmaduras). Se determinó la viabilidad celular a diferentes concentraciones de D-Glucosa y el patrón de metilación global del ADN genómico. Nuestros resultados preliminares indican que al cultivar las hEPC en HCG, no se afecta la viabilidad celular, sin embargo, disminuye el porcentaje de metilación global de las hEPC. Los cambios de metilación, están involucrados con la regulación de la expresión genética, por lo tanto, estos resultados pueden ayudar a explicar los cambios en la reparación vascular observados en los pacientes diabéticos con hiperglicemia permanente.

8.- IDENTIFICACIÓN DE REGIONES CIS REGULATORIAS PRESENTES EN SITIOS DE QUIEBRE CROMOSOMAL DEL GEN RUNX1

Hinojosa, M.^{1.}, Schnake Mamut, N.^{1.}, Fernandez Gárces, P.^{1.}, Gutiérrez Gallegos, S.^{1.}, ¹Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

t(8;21) es una de las translocaciones más frecuentes asociadas al desarrollo de leucemia. Involucra a los genes RUNX1 y ETO. A la fecha, las regiones de quiebre cromosomal (RQC) mapeados para esta translocación se localizan en 3 regiones acotadas del intrón 5 del gen RUNX1. Dos de estas regiones presentan a su vez sitios de hipersensibilidad a DNAsa I e hiperacetilación de histona H3 y H4, características asociadas a regiones cis regulatorias (RCR). Por ello, nuestro laboratorio plantea como hipótesis que las regiones de quiebre cromosomal localizadas en el intrón 5 del gen *RUNX1* presentan RCR.

Para validar esta hipótesis, se analizó el enriquecimiento en H3K4me3 y H3K27ac a lo largo del intrón 5 del gen RUNX1. Se utilizó data obtenida mediante análisis de ChIPseq en células hematopoyéticas (descargada desde el servidor ENCODE). Los análisis demuestran que a lo largo del intrón 5, solo una región de 2.1kb (que denominamos RRP= Región Regulatoria Putativa) presenta enriquecimiento en ambas marcas epigenéticas, esta región se localiza en un RQC.

Al clonar RRP en el vector reportero pGL3 se encontró que este activa, de forma orientación dependiente, la expresión del gen reportero de Luciferasa. Además se identificaron 2 sitios de unión a proteínas RUNX. Al realizar cotransfecciones con concentraciones crecientes de RUNX1 y RRP se observó que RUNX1 es capaz de modular la actividad de RRP.

Estos resultados demuestran que una de las RQC presentes en el intrón 5 del gen RUNX1 presenta un potencial elemento cis regulador que es modulado por RUNX1.

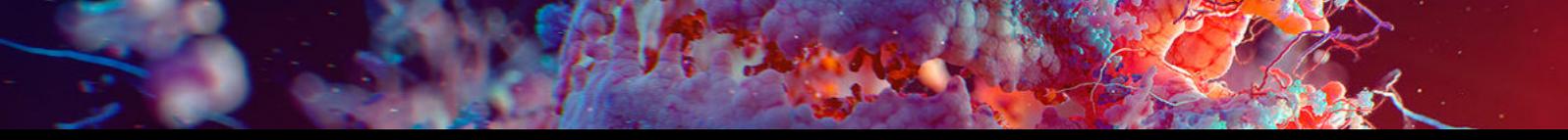
Proyecto Fondecyt 1130697

10.- ROL DE LOS RECEPTORES FC GAMMA EN LA INDUCCIÓN DE ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHOLICA (EHNA).

Jara, E^{1.}, Muñoz-Durango, N.^{2.}, Bermúdez, A.^{1.}, Cruz, R.^{3.}, Cabrera, D.^{4.}, Kalergis, A.^{2.}, Arrese, M.^{4.}, ¹Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Laboratorio de Inmunología Molecular Biomédica y Patogenicidad Microbiana, Departamento de Genética y Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Laboratorio de Inmunología Molecular Biomédica y Patogenicidad Microbiana, Departamento de Genética y Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ³Departamento de Gastroenterología y Patología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁴Departamento de Gastroenterología y Patología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es la forma más agresiva de hígado graso no alcohólico y se caracteriza por la presencia de infiltración de vesículas lipídicas en más del 5% de los hepatocitos, constituyendo la enfermedad hepática crónica más común en todo el mundo. Ha sido descrito que cambios en el fenotipo de células dendríticas, partes del sistema inmune innato, las cuales expresan los receptores de inmunoglobulinas (Fc gamma) contribuyen al desarrollo y progresión de EHNA. Por ello, evaluamos la contribución de los receptores RIIb y RIII en el desarrollo de la EHNA. Para ello, se indujo EHNA a ratones FcyRIIb-KO, FcyRIII-KO y wild type (WT) mediante la administración de una dieta deficiente en metionina y colina (MCD) durante 5 semanas. Primero, se observó que la ausencia del receptor FcyRIIb desencadenó una EHNA histológicamente similar a la desarrollada por animales WT (NAS score) y sin diferencias significativas en el número de macrófagos y neutrófilos infiltrantes en hígado. Por otra parte, estos animales presentaron una concentración de triglicéridos (TG) hepáticos similar al grupo WT, con un aumento significativo en los niveles de mRNA de marcadores inflamatorios (TNF- α e IL-6) y pro-fibróticos (colágeno 1, CTGF y fibronectina). Por el contrario, se pudo establecer que la ausencia del receptor FcyRIII disminuyó la severidad de EHNA, tanto del punto de vista histológico como de la concentración de TG hepáticos y además disminuyendo marcadores de inflamación como TNF- α e IL-6. Estos resultados sugieren un rol regulador de estos receptores en la etiopatogenia de la EHNA.

Fondecyt #3150559, #1150862 y #1110455

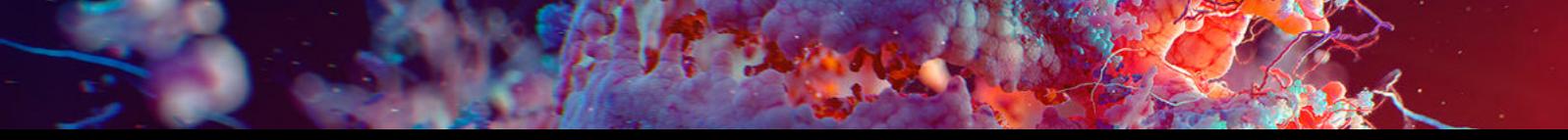


12.- MODIFICACIÓN DE LA GLICOSILACIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EXPRESADAS EN CÉLULAS EPITELIALES DE GLÁNDULA MAMARIA.

Leiva, M. J.¹, Salgado , E. ¹, Montesino, R.¹, Jiménez, S.¹, ¹Laboratorio de Biotecnología & Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

La glicosilación o adición de oligosacáridos a la secuencia de una proteína es una de las modificaciones post-traduccionales de mayor complejidad. El patrón de glicosilación influye en la actividad biológica y la vida media in vivo de una glicoproteína, por esto la producción de muchos biofármacos proteicos de uso terapéutico en su forma activa requiere de la maquinaria biosintética de células de mamíferos que logran imitar la glicosilación nativa. En los últimos años la expresión de proteínas recombinantes en leche de mamíferos ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, la glándula mamaria posee una maquinaria de glicosilación limitada que genera diferencias en el patrón de glicosilación de las proteínas recombinantes secretadas en leche en comparación a su contraparte nativa. Estas diferencias limitan la utilización de este atractivo sistema de expresión a proteínas cuya actividad biológica no esté comprometida con un patrón de glicosilación específico. Estudios demuestran que el patrón de glicosilación puede ser controlado intracelularmente con la modulación de la expresión de las enzimas GnTasa-IV y V. El presente trabajo logra modificar el patrón de glicosilación de una variante de hEPO in vivo mediante la sobre-expresión de GnTasa IV. Los resultados sugieren que es posible modificar el patrón de proteínas recombinantes secretadas a la leche mediante modulación genética de las enzimas glicosiltransferasas.

Agradecimientos: Innova 13.166-EM.TES; VIU 130056



14.- ANÁLISIS ESTRUCTURAL PARA LA SELECTIVIDAD DE SUSTRATO EN TRANSPORTADORES DE HEXOSAS BASADO EN IDENTIFICACIÓN DE POSICIONES DETERMINANTES DE ESPECIFICIDAD (SPDS).

Macaya-Zapata, L¹., Starck-Méndez, M¹., Fonseca, A¹., Fica, V¹., Salas-Burgos, A¹., ¹Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción. (Sponsored by Alexis Salas Burgos)

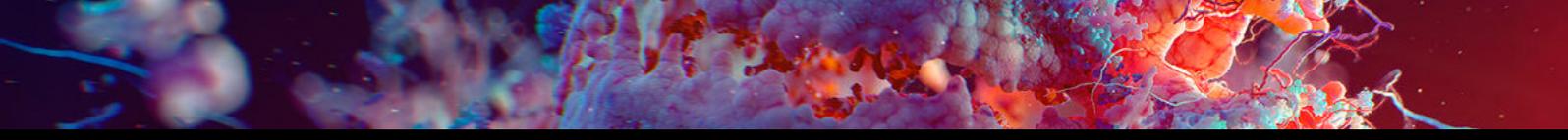
Las proteínas transportadoras de membrana pueden ser consideradas las principales determinantes en los perfiles farmacocinéticos y de eficacia de los medicamentos. Dentro de éstas, los transportadores de hexosas poseen una gran relevancia terapéutica en humanos, al poseer un rol clave en el desarrollo de patologías como diabetes mellitus tipo II y cáncer. Actualmente, la adquisición de nuevos antecedentes estructurales de esta familia de proteínas ha permitido ampliar el conocimiento con respecto a la selectividad frente a distintos sustratos y los cambios conformacionales ejercidos sobre el canal central. A partir de la caracterización del filtro de selectividad de distintos transportadores de hexosas, ha sido posible identificar residuos claves en la interacción con sustratos y establecer mutaciones que pueden alterar la permeabilidad frente a estos e incluso modificar la afinidad del transportador. Bajo esta premisa, hemos establecido un protocolo para el estudio de co-evolución de residuos implicados en el reconocimiento de hexosas, incorporando información de estructura primaria obtenida desde alineamientos múltiple de secuencia y de estructura terciaria generada por modelamiento comparativo. Utilizando distintas herramientas basadas en búsqueda de Specificity-Determining Positions (SDPs), se estableció su capacidad predictiva frente a los residuos involucrados en el transporte de D-glucosa, galactosa, fructosa y mioinositol, incorporando un mapeo automatizado de los aminoácidos consenso en las estructuras tridimensionales. Como proyecciones de este trabajo, se busca optimizar la metodología de co-evolución asociada a reconocimiento de sustrato incorporando información obtenida desde docking molecular y generar nuevas herramientas para la predicción de transporte selectivo de moléculas con interés terapéutico.

16.- EFECTO DEL TAMOXIFENO SOBRE EL ESTALLIDO RESPIRATORIO EN NEUTRÓFILOS EQUINOS.

Moran, G.^{1.}, Folch, H.^{2.}, ¹Farmacología, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.²Inmunología, Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Hugo Folch Vilches)

Tamoxifeno es un agente sintético anti-estrógeno no-esteroidal ampliamente utilizado para el tratamiento de todos los estados del cáncer de mama. Resultados preliminares de nuestro grupo muestran que caballos con inflamación neutrofílica de las vías aéreas tratados con esta droga, presentan una mejoría del estatus clínico. Sin embargo, la vía por el cual tamoxifeno tiene esta acción resolutive, aún no es bien entendida. Por esto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto *in vitro* del tamoxifeno sobre una de las funciones del neutrófilo, como la liberación de especies reactiva de oxígeno (ROS). Para esto, se obtuvo sangre por venopunción yugular de los animales y posteriormente se realizó la separación celular mediante el uso de una gradiente de percoll. Para la detección de ROS fue utilizada la técnica de quimioluminiscencia dependiente de luminol. Los neutrófilos fueron tratados con tamoxifeno (0,1 μ M a 10 μ M); ICI (0,003nM a 1 μ M) y β -estradiol (0,001nM a 100nM). Los resultados sugieren que el tamoxifeno presenta una acción inhibitoria sobre el estallido respiratorio en neutrófilos de manera dosis dependiente. Además, estos resultados sugieren que esta acción no estaría ligada al receptor estrógeno, ya que al ser tratados con un agonista (β -estradiol) y un antagonista (ICI) del receptor de estrógeno no se observaron cambios significativos en la producción de especies reactivas al oxígeno.

Proyecto Fondecyt 1130355

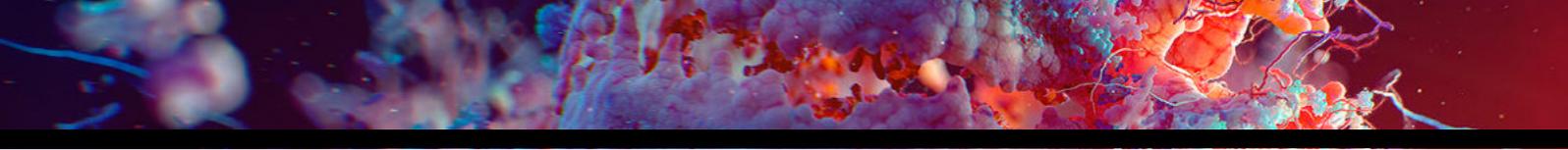


18.- EFECTO *IN VITRO* DEL TAMOXIFENO SOBRE LA FAGOCITOSIS EN NEUTRÓFILOS Y FENÓMENO DE EFERO-CITOSIS EN EQUINOS.

Olave, C¹., Folch, H.², ¹Instituto de Farmacología , Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. ²Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Hugo Folch)

Tamoxifeno (TX) es un modulador no esterooidal selectivo del receptor de estrógeno que ha sido utilizado como tratamiento de cáncer de mamas estrógeno positivo en mujeres. Estudios de nuestro grupo de trabajo han demostrado que tratamiento de asma neutrofílico equino, patología similar al asma humano, con este fármaco genera mejoras clínicas significativas en los animales tratados. Se ha observado en experimentos *in vitro* de TX inhibe la producción de especies reactivas a oxígeno y la respuesta quimiotáctica de los neutrófilos en equinos y humanos. El objetivo de este trabajo es conocer el efecto del TX sobre la fagocitosis de los neutrófilos y sobre el fenómeno de eferocitosis *in vitro*. Los experimentos se realizaron utilizando citometría de flujo y microscopia de doble fase, respectivamente. Los resultados muestran que los neutrófilos luego de ser incubados por 30 minutos con una concentración 5 μ M de TX, presentan una disminución de su capacidad fagocítica y un aumento de la eferocitosis. Esto podría indicar que el efecto modulador del TX en la inflamación neutrofílica de las vías aéreas en equinos podría ser mediado en parte por estos mecanismos.

Proyecto Fondecyt 1130355 y CONICYT PCHA/MagisterNacional/2015-22150666

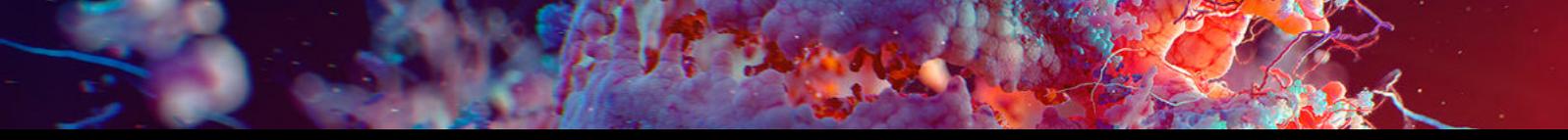


20.- CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DE LOX-1 (OLR1) EN GLIOBLASTOMA HUMANO.

Rodríguez, F¹., Espinoza, F¹.,González, E¹.,González, M².,Peña, E².,González, I¹.,Gutierrez, N¹.,Saavedra, P¹.,Toledo, J¹.,¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.²Laboratorio de Antioxidantes, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Recientemente, el receptor de LDL oxidada LOX-1 ha sido identificado como un gen importante en la transformación celular y la progresión tumoral. Nuestro laboratorio ha determinado que su activación por LDLox induce un aumento de la angiogénesis, vinculando la dislipidemia con la progresión del cáncer de próstata. Nuestro objetivo general es determinar la existencia de un vínculo entre la dislipidemia, la expresión de LOX-1 y la progresión de gliomas, que corresponden a los tumores más frecuentes y letales del cerebro. Para ello caracterizamos su expresión y función en biopsias humanas y en líneas celulares. Los análisis incluyeron QRT-PCR, Western blot e inmunocitoquímica. Mediante análisis de MTT y QRT-PCR, evaluamos el efecto de la activación de LOX-1 con LDLox sobre la proliferación celular y la expresión de marcadores de malignidad (VEGF, MCP-1, MMP-9). Los resultados demostraron por primera vez la expresión de LOX-1 en líneas celulares y biopsias de glioblastoma humano, el tratamiento con LDLox indujo un aumento de la proliferación celular y de los marcadores de malignidad. En conjunto los resultados indican que LOX-1 podría ser un gen importante en el desarrollo de los glioblastomas y un posible nuevo blanco terapéutico.

Financiado por FONDECYT Postdoctoral #3150569 y FONDECYT regular #1121759



22.- EFECTO DE UNA DIETA RICA EN POTASIO SOBRE LA REGULACIÓN DE CALICREÍNA Y CICLOOXIGENASA-2.

Salas, D. P.¹, Díaz-Elizondo, J.¹, Guerra, C.¹, Céspedes, C.¹, Vio, C. P.¹, ¹Fisiología, Centro CARE-UC, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Carlos Pablo Vio Lagos)

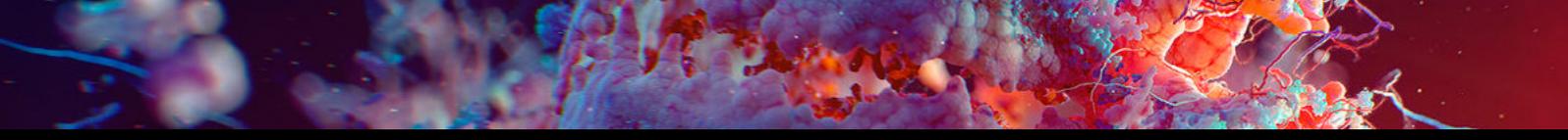
Existe abundante evidencia epidemiológica que una dieta alta en sodio (Na^+) induce hipertensión y que una dieta adecuada de potasio (K^+) previene la hipertensión arterial pero se desconoce su mecanismo benéfico. Con la hipótesis que el K^+ en la dieta controla sistemas hormonales reguladores de la excreción de Na^+ , estudiamos el efecto de una dieta enriquecida en K^+ sobre la expresión y actividad de calicreína (Kall) y ciclooxigenasa-2 (COX-2).

Métodos: Ratas macho SD con dieta normosódica recibieron dieta normal en K^+ (0,9%; NK) o alta en K^+ (3%; HK) por 4 semanas. Se colectó orina para electrolitos y actividad enzimática de Kall. Se estudió expresión génica (RT-qPCR), niveles proteicos (Western blot) y morfometría (inmunohistoquímica) del riñón.

Resultados: HK aumentó el área inmunoteñida de Kall, con hipertrofia de las células Kall-positivas en el túbulo conector. HK aumentó significativamente la expresión génica de Kall, niveles proteicos y actividad enzimática, que se correlacionó con la excreción urinaria de K^+ . HK redujo los niveles proteicos de COX-2, expresión génica y número de células COX-2-positivas, localizadas en el asa ascendente gruesa de Henle.

Conclusiones: El aumento de expresión y actividad de Kall es consistente con un efecto vasodilatador y natriurético del K^+ . La disminución de COX-2 puede corresponder a un mecanismo compensatorio y requiere estudios adicionales.

Proyectos Fondecyt 1130741, PFB 12/2007, SQM

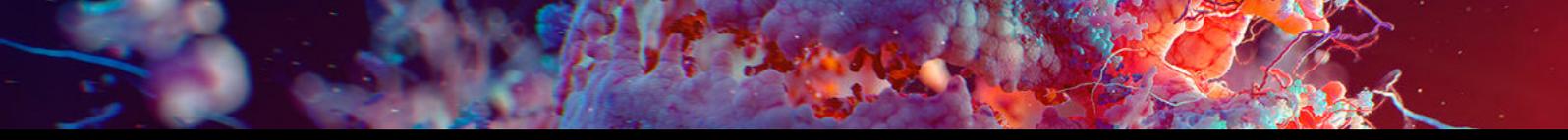


24.- ETOPÓSIDO INDUCE LA GENERACIÓN DE ALTERACIONES GENÓMICAS EN EL GEN *RUNX1* DE LEUCOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA.

Schnake, N.¹., Medina, D.¹., Hinojosa, M.¹., Fernández, P.¹., Gutiérrez, S.¹., ¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. .

La leucemia secundaria es un tipo de cáncer que se presenta como un efecto adverso de tratamientos quimioterapéuticos que consideran el uso de la droga etopósido, un inhibidor de topoisomerasa II, afectando a alrededor de un 8% de pacientes de cáncer. En estos pacientes es frecuente la presencia de alteraciones genómicas propias de la leucemia mieloide aguda, como es la translocación cromosómica (8;21), en la que está involucrado el gen *RUNX1*, regulador maestro de la hematopoyesis. Esto sugiere que las células mieloides se ven más afectadas por el tratamiento con etopósido. No obstante, el mecanismo molecular por el que el tratamiento con etopósido conduce al desarrollo de leucemia es aún desconocido. Es por ello que se plantea como hipótesis que el tratamiento con etopósido genera aberraciones genómicas en el gen *RUNX1* en células mieloides de sangre periférica. Para poner a prueba la hipótesis, analizamos la generación de alteraciones genómicas en el ADN de leucocitos tratados con etopósido utilizando la técnica de iPCR. Los resultados obtenidos muestran que las alteraciones genómicas en el gen *RUNX1* generadas por tratamiento con etopósido no se producen en regiones al azar, lo que sugiere que estas alteraciones podrían ser la primera etapa para la transformación celular en este tipo de leucemia.

FONDECYT N° 1130697

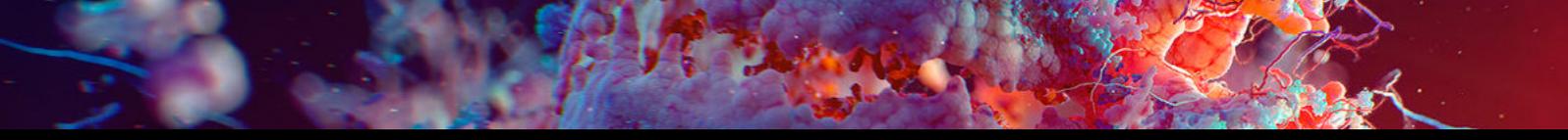


26.- EXPRESIÓN DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FOXO1 Y FOXO3A EN CULTIVOS DE CÉLULAS ENDOTELIALES MICROVASCULARES DE PLACENTA HUMANA.

Ortega, A.², Henríquez, B.², Reyes, L.², Sobrevía, L.¹, **Vázquez, M. C.²**, ¹Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), División de Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Ciencia, Universidad San Sebastián. (Sponsored by Lilian Reyes Sáez)

La placenta es un órgano altamente vascularizado que media la compleja interacción funcional entre la madre y el feto, siendo el endotelio es el tejido principal en esta interacción. La desregulación de la función endotelial conduce a trastornos del embarazo, como la diabetes mellitus gestacional (DMG). Se sabe que células endoteliales microvasculares de la placenta humana (hPMECs) de embarazos con DMG, presentan niveles basales elevados de óxido nítrico (NO) y responden a la insulina disminuyendo la síntesis de éste a los niveles normales observados en células no patológicas sin tratamiento. Sin embargo, la insulina aumenta la síntesis de NO en las células de embarazos normales. La enzima sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) es regulada por los factores de transcripción FOXO1/FOXO3a. Las hPMECs también expresan eNOS y se incrementa en DMG. Proponemos que FOXO1/FOXO3a regulan la expresión de eNOS en respuesta a la insulina en este tipo de células. Para demostrar esto, estamos analizando la expresión de FOXO1/FOXO3a en hPMECs en placentas normales y con DMG, luego del tratamiento con insulina, mediante Q-PCR y la localización núcleo-citosol mediante western blot. Esperamos que insulina induzca la activación de los factores FOXO1/FOXO3a y consiguientemente, disminuya la expresión de eNOS.

FONDECYT 11130667 (MCV), FONDECYT 11130584 (B.H.), FONDECYT 1150377 (LS), PROYECTO USS 2012-0004-R (LR).



28.- DISEÑO, PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA MOLÉCULA QUIMÉRICA CAPAZ DE UNIR Y BLOQUEAR TNF-A.

Contreras, M^{1.}, Salas, A^{1.}, Toledo, Jorge^{2.}, Sánchez, Oliberto^{1.}, ¹Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

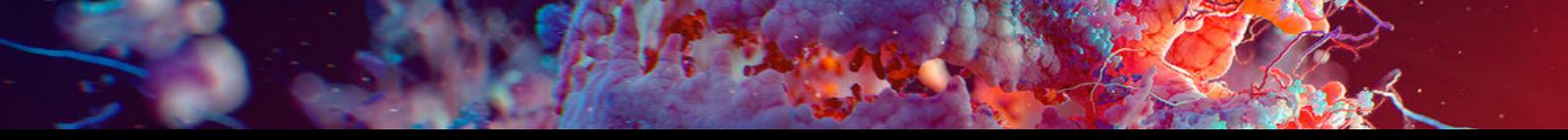
TNF- α es una citoquina implicada en inflamación e inmunidad que ejerce su acción al interactuar con los receptores TNF-R1 y TNF-R2. Altos niveles de TNF- α se relacionan con el desarrollo de patologías que cursan con inflamación crónica como artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, etc. Así, el bloqueo de TNF- α con agentes biológicos es una estrategia terapéutica para estas patologías. En este escenario, se propuso diseñar una molécula quimérica bloqueadora de TNF- α tomando como base el ectodominio de TNF-R2 y el dominio de trimerización del colágeno XV. La proteína de fusión generada se nombró 3cTNFR2, fue establemente producida en células HEK-293, y purificada mediante IMAC desde medio de cultivo. Los monómeros de 3cTNFR2 presentan un peso molecular aparente de 50 kDa en SDS-PAGE. Tras ensayos de crosslinking con formaldehído y glutaraldehído se demostró que 3cTNFR2 forma dímeros, trímeros y agregado de mayor peso molecular. Un ensayo de termoforesis microescala demostró que los monómeros de 3cTNFR2 interactúan con una Kd de 651 ± 130 nM. Además, 3cTNFR2 interactúa con TNF- α con una Kd de 571 ± 56 pM, y bloquea la actividad citotóxica de TNF- α en células L929. Así, en este trabajo se ha obtenido una proteína de fusión, 3cTNFR2, que oligomeriza y además bloquea la actividad de TNF- α in vitro, demostrando su potencial como biofármaco para el tratamiento de patologías inflamatorias.

30.- SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LEVADURAS OLEAGINOSAS AISLADAS DE SUELO TRUMAO UTILIZANDO “VINAZA” COMO MEDIO DE CULTIVO.

Díaz, P¹., Valenzuela, E.¹.,Martínez, O.¹.,Roberto , G.².,¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.²Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Roberto Godoy)

Se evaluó la capacidad de 80 cepas de levaduras de suelo trumao para acumular lípidos. Una primera selección se realizó en residuo Vinaza, utilizando el kit Spinreact para cuantificar los lípidos y seleccionar posibles cepas oleaginosas. La segunda selección se realizó en un medio de cultivo sintético líquido donde las cepas preseleccionadas se incubaron 5 días, 200 rpm a 25 °C. La identificación molecular se realizó por PCR-RFLP, con las enzimas *CfoI*, *HaeIII* y *HinfI*, y secuenciación de la región 5.8S-ITS rDNA. Los resultados de la primera selección indican que seis cepas de levaduras poseen sobre un 20% de lípidos. Estas mismas cepas evaluadas con limitación de Nitrógeno presentaron un aumento en estos porcentajes, destacando PP1 y PR27 con una biomasa de 3.01 g/L y 4.35 g/L y lípidos de 37,6% y 42,5%, respectivamente. La secuenciación de la región 5.8S-ITS rDNA de las dos cepas seleccionadas correspondieron a *Devariomyces hansenni* (PP1) y *Trichosporon sp.* (PR27). Los productos de PCR como los perfiles de restricción generados permitieron identificar solamente a PP1 como *Devariomyces hansenni*. Finalmente, PP1 Y PR27 aisladas de suelo trumao podrían ser candidatas promisorias para la generación de lípidos y posterior uso como biodiesel o como suplemento nutracéutico.

BECA CONICYT DOCTORADO NACIONAL, FOLIO 21140135 y FONDECYT 114106

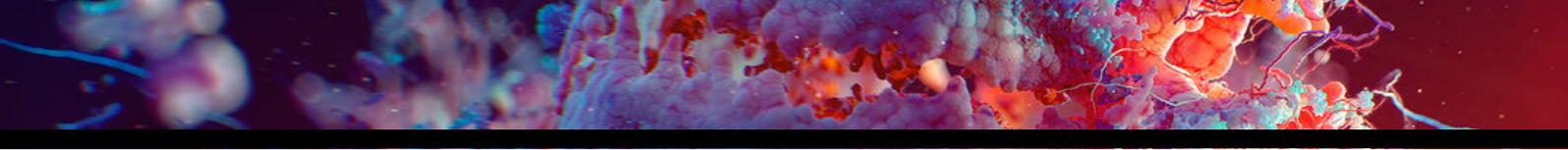


32.- EFECTO HIPOGLICEMIANTE DE *BERBERIS MICROPHYLLA* EN CÉLULAS L6 (Hypoglycemic effect of *Berberis microphylla* in L6 cells)

Furrianca, M. C^{1,2}., Alvear, Marysol³., Salazar, Luis Antonio⁴.,¹Depto. de Enfermería, Ciencias de la Salud, Universidad de Magallanes.²Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada Universidad de La Frontera.³Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales BIOREN-UFRO.⁴Centro de Biología Molecular y Farmacogenética BIOREN-UFRO. (Sponsored by Luis Antonio Salazar Navarrete)

La Diabetes Mellitus tipo 2, es una enfermedad crónica, metabólica progresiva que se caracteriza por defectos en la acción y secreción de la insulina. En la actualidad, casi un 30% de los pacientes no responde positivamente al tratamiento con metformina, por lo tanto surge la necesidad de encontrar terapias alternativas. Nuestro objetivo, fue determinar el efecto hipoglicemiante del extracto de *Berberis microphylla* en células musculares L6. A través de un ensayo enzimático de glucosa oxidasa se determinó el porcentaje de consumo de glucosa en el sobrenadante de células L6 estimuladas por el extracto de raíz de *Berberis microphylla* por 24 horas. Los resultados mostraron diferencias significativas entre todas las concentraciones estudiadas vs control (células sin tratamiento). Este aumento en la captación de glucosa puede ser producido por los compuestos activos descritos para esta especie, tales como berberina, que es un alcaloide estimulante para la captación de glucosa.

Beca de Doctorado Nacional del Programa de Formación de Capital Humano Avanzado de CONICYT, Chile (N° Folio: 24121475).

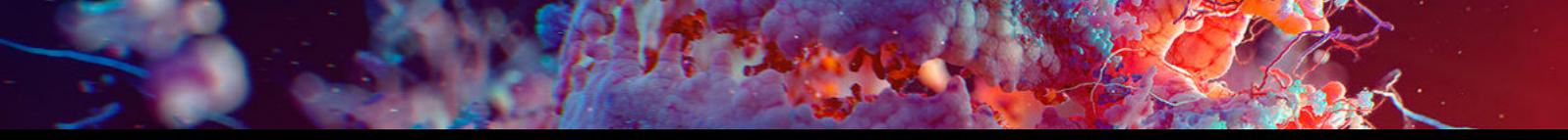


34.- CREACIÓN DE UN SISTEMA KNOCK-IN PARA LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS EN EL LOCUS DE B-CASEINA MURINA USANDO CRISPR/CAS MEDIANTE RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA FACILITADO POR RECA

Herrera, P¹., Parra, Natalie²., Camacho, Frank²., Sánchez Ramos, Oliberto²., Toledo Alonso, Jorge³.,
¹Farmacología, Ciencia Biológicas, Universidad De Concepción. ²Departamento de Farmacología Universidad De Concepción. ³Departamento de Fisiopatología Universidad De Concepción.

Desde la última década el ganado transgénico ha sido utilizado para la producción de proteínas transgénicas en leche. Dentro de las ventajas de este método están los altos rendimientos y la fácil purificación de las proteínas de interés. Los procesos de transgénesis actuales involucran la integración azarosa al genoma, afectando la eficiencia en la expresión de la proteína recombinante. Una alternativa a esta problemática es el uso del sistema de CRISPR/Cas, que genera un corte sitiodirigido dentro del genoma, que luego por la acción del sistema de reparación celular se integran mediante recombinación homóloga, proceso facilitado con el uso de la recombinasa A (RecA).

El objetivo de nuestro trabajo es desarrollar un sistema de knock-in generando un vector con el sistema CRISPR/Cas9 que permita un corte en el segundo exón del gen de la β -caseína murina y comprobar si existe un aumento en la eficiencia del proceso utilizando RecA. Para este experimento se construyeron cuatro plásmidos que contienen los genes necesarios para la implementación del sistema, uno con el CRISPR/Cas, otro con el genoma banco, un tercero con LacZ como reportero y el que se integrara en el genoma y un cuarto plásmido con RecA. Se realizó una transfección en células Hek293-AAV utilizando los 3 primeros plásmidos y otro utilizándolos todos. Luego se realiza un rescate del plásmido que contiene el genoma, se transformó en bacterias TOP10 y se hace selección de colonias blancas y azules, permitiendo diferenciar donde ocurrió el proceso de integración. Se obtuvo la integración de LacZ en el vector que contiene el genoma, además se observó una mayor cantidad de colonias azules con el uso de recA. Concluimos que el sistema CRISPR/Cas es una herramienta atractiva para la incorporación de genes de interés en el genoma de organismos superiores y además que recA aumenta la efectividad de la recombinación homóloga en estos casos.

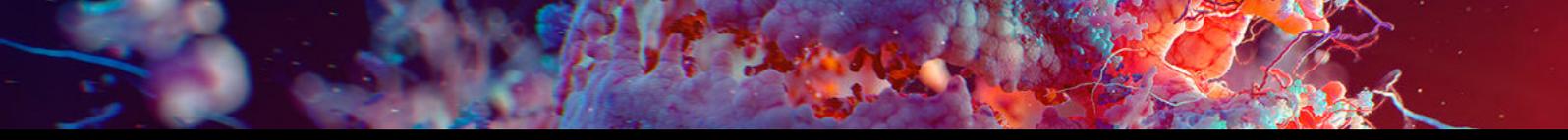


36.- VACUNAS ADN BASADAS EN LOS MARCOS DE LECTURA ABIERTOS BAB1_0273-SODC, BAB1_0278-SODC Y BAB1_0273-BAB1_0278-SODC GENERAN RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA FRENTE A *BRUCELLA ABORTUS* EN MODELO MURINO.

Llanos, J.^{1.}, Escalona, E.^{2.}, Sáez, D.^{2.}, Oñate, Á.^{2.},¹Microbiología , Ciencias biológicas , Universidad de Concepción.²Departamento de Microbiología, Ciencias Biológicas , Universidad de Concepción. (Sponsored by Angel Alejandro Oñate Contreras)

La brucelosis es una enfermedad zoonótica, que afecta mayoritariamente al ganado bovino, provocando principalmente abortos. El agente causal es *Brucella abortus*, un patógeno Gram negativo e intracelular facultativo. Los humanos infectados son tratados con antibióticos, mientras que los animales se previene su contagio con vacunas comerciales que producen efectos secundarios y son reactivas en humanos. Considerando las limitaciones que presentan estas vacunas, hemos diseñado vacunas de ADN. Para su construcción hemos utilizado los marcos de lectura abiertos (ORFs) BAB1_0273, BAB1_0278 de la isla genómica III y la proteína SODc (superóxido dismutasa) de *B. abortus*. Con estas secuencias diseñamos tres vacunas de ADN multivalentes denominadas pVax_0273-SODc, pVax_0278-SODc y pVax_0273-BAB1_0278-SODc, inmunizamos ratones BALB/c y procedimos a evaluar su efecto en la respuesta inmune humoral y celular. Nuestros resultados demuestran que todas las vacunas evaluadas generan una elevada respuesta celular medida por linfoproliferación y producción de INF- γ . La respuesta humoral mostró altos valores de anticuerpos IgM, IgG2a e IgG total en ratones inmunizados con pVAX_0278-SODc, por sobre las demás grupos experimentales. Por lo tanto, podemos indicar que la vacuna pVAX_0278-SODc genera respuesta humoral y celular eficaz para responder frente al patógeno, siendo un buen candidato para prevenir la infección con *Brucella abortus*.

Financiado por FONDECYT 1130093



38.- EFECTO ANTICANCERÍGENO Y ANTIBACTERIANO IN VITRO DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS PRESENTES EN EL VENENO DE LA ARAÑA “GRAMMOSTOLA BRUNNEIS”, UNA NUEVA ESPECIE ENDÉMICA DEL NORTE DE CHILE.

Mieres, D. E.^{1.}, Herrera, D. A.^{2.}, Orrego, P. R.^{1.}, Cornejo, M.^{1.}, Ramirez, M. A.^{1.}, Araya, J. E.^{2.},¹Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Dr. Cristian Wulff Zotelle)

Objetivo: Evaluar *in vitro* la actividad antitumoral y bactericida de diferentes fracciones del veneno de *Grammostola brunneis* sobre cultivos de células de carcinoma humano y cultivos bacterianos.

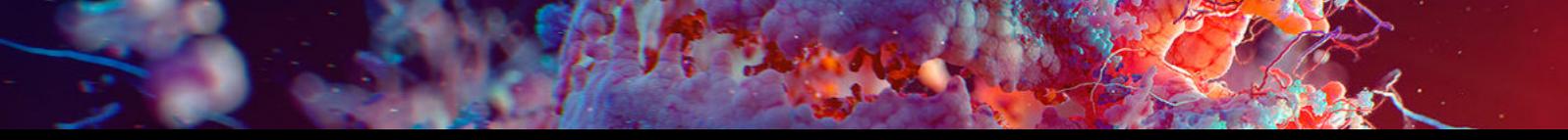
Métodos: El veneno fue obtenido mediante electro-estimulación, filtrado, cuantificado y almacenado a -80°C. La caracterización del veneno se realizó mediante 2D-PAGE. El fraccionamiento del veneno se realizó mediante RP-HPLC, utilizando una columna C18 y una gradiente lineal hasta un 50% de acetonitrilo con TFA al 0,1%, durante 50 minutos con un flujo de 2 ml/min, a 40°C. Las fracciones de veneno fueron visualizadas en SDS-PAGE. El efecto citotóxico de las fracciones sobre cultivos de células de carcinoma humano fue determinado por medición de LDH. El efecto bactericida de las fracciones sobre cultivos bacterianos en agar Mueller Hinton, se observó mediante la formación de halos de inhibición.

Resultados: En el 2D-PAGE se observó abundancia de péptidos básicos con masa molecular menor a 10 kDa. Mediante RP-HPLC se obtuvieron 8 fracciones proteicas de veneno, cada fracción con péptidos de baja masa molecular. La fracción 2 presentó actividad citotóxica sobre cultivos de células de carcinoma y actividad bactericida sobre cultivos bacterianos gram positivos y negativos.

Conclusión: La fracción 2 del veneno de la araña *Grammostola brunneis* posee péptidos bioactivos que se postulan como potenciales agentes anticancerígenos y antibacterianos.

Agradecimientos: Proyecto FONDEF IDeA CA12i10298. Profesor patrocinante Dr. Cristian Wulff Zotelle.

Proyecto FONDEF IDeA CA12i10298.



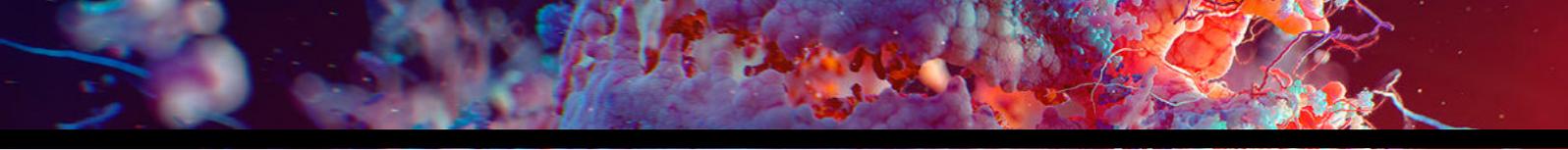
40.- EFECTO INMUNOMODULADOR DE HEMOCIANINAS DE MOLUSCOS COMBINADAS CON ADYUVANTES DE VACUNAS EN CÁNCER ORAL MURINO.

Mora, J^{1.}, Del Campo, M.^{1.}, Paolini, F., Curzio, G.^{2.}, Venuti, A.^{2.}, Jara, L.^{3.}, Ferreira, J.^{3.}, Manubens, A.^{4.}, Becker, M. I.^{1.}, ¹FUCITED Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. ²Virología Instituto Nacional del Cáncer Regina Elena. ³Instituto de Ciencias Biomédicas Universidad de Chile. ⁴Biosonda Biosonda.

Las hemocianinas de algunos moluscos son usadas en biomedicina, entre ellas, la de *Megathura crenulata* (KLH), de *Concholepas concholepas* (CCH) y de *Fissurella latimarginata* (FLH), éstas dos últimas producidas en Chile. El factor común en su mecanismo de inmunoestimulación es que polarizan la respuesta inmune hacia un tipo Th1, fundamental para combatir tumores. Sin embargo, para potenciar su efecto en cánceres más agresivos, se requieren adyuvantes. Así, el objetivo es estudiar la respuesta inmune específica, el efecto antitumoral en modelos murinos de cáncer oral y el efecto *in vitro* de una formulación terapéutica, constituida por una hemocianina y un adyuvante Th1 (QS-21, AddaVax).

Los resultados muestran que FLH-QS-21 presentó la mejor inmunogenicidad, reflejada en un mayor título de IgG total anti-hemocianina, con predominio de anticuerpos IgG2a, y una respuesta celular superior en un ensayo de hipersensibilidad retardada. En un modelo ortotópico de cáncer oral (línea AT-84 E7 Luc), mostró una menor tasa de crecimiento tumoral. *In vitro*, FLH sola o con adyuvantes generó una inhibición significativa del crecimiento de la línea AT-84 con respecto a las otras hemocianinas.

FONDECYT 1151337

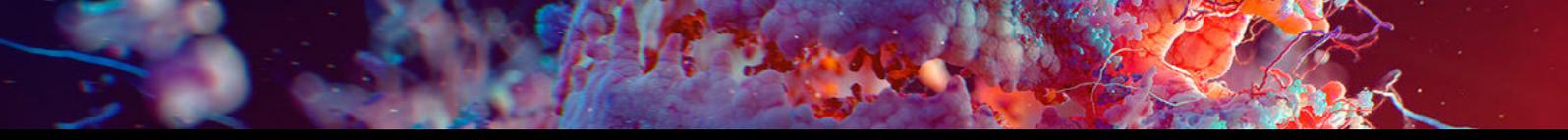


42.- EFECTO DE LOS FLAVAN-3-OLES MONOMÉRICOS SOBRE LA DIFUSIÓN Y PRECIPITACIÓN DE BSA.

Contreras Cortez, V.², López Solís, R.¹, **Obrequé Slier, E.**², ¹Programa de Biología Celular y Molecular-ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Agroindustria y Enología, Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

La astringencia corresponde a una sensación táctil de sequedad y rugosidad generada en la cavidad bucal debido a la ingesta de alimentos ricos en polifenoles. Esta sensación se ha relacionado con la interacción entre las proteínas salivales y los flavan-3-oles polimerizados o taninos condensados. En los estudios de esta interacción, se ha utilizado ampliamente la albúmina sérica bovina (BSA), la cual corresponde a un proteína pura y de conformación globular. No obstante lo anterior, limitada información existe acerca del efecto de flavan-3-oles de bajo peso molecular (monoméricos) sobre BSA. En este estudio se evaluó el efecto de cuatro fenoles flavonoides monoméricos puros sobre BSA. Para ello, se evaluó la interacción fenol-BSA usando membranas laminares de celulosa como soporte sólido, considerando dos elementos indicadores de interacción: a) alteración de la difusión de BSA sobre la superficie de la lámina de celulosa producida por la presencia de cada uno de los flavan-3-oles monoméricos y b) la precipitación de la BSA producida por la presencia de estos compuestos. Se observó que todos los flavan-3-oles monoméricos (catequina, epicatequina, epigallocatequina y galocatequina) inhibieron significativamente la difusión de BSA, lo cual fue complementado con las observaciones realizadas en los estudios de la precipitabilidad de BSA en membranas de celulosa. Este efecto fue evidentemente amplificado cuando se utilizó catequina. En resumen, los flavanoles monoméricos afectan la difusión y precipitación de BSA, lo cual podría relacionarse con algún efecto sobre la percepción de astringencia.

Fondecyt Regular 1150240



44.- EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE NGF RECOMBINANTE PRODUCIDA EN UN SISTEMA ADENOVIRAL.

Salvatierra, P¹., Villagrán, R¹., Sotomayor, K¹., Castillo, C¹., Hidalgo, A¹., Montesino, R¹., Toledo, JR¹.,
¹Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

El factor de crecimiento neuronal (NGF) es un dímero de 26 KDa que pertenece a la familia de las neurotrofinas, las cuales se caracterizan por prevenir la muerte neuronal durante el desarrollo embrionario. El NGF específicamente actúa regulando la supervivencia y maduración de neuronas en el sistema nervioso periférico. Por mucho tiempo su función se limitó a etapas tempranas del desarrollo, sin embargo, actualmente se conoce su actividad como agente neuroprotector en el sistema nervioso central frente a lesiones causadas por neurotoxinas producidas en el infarto cerebral o en enfermedades neurodegenerativas.

El objetivo de este trabajo es producir eficientemente NGF de ratón recombinante activo (rNGF), para usarlo posteriormente en ensayos de neuroprotección *in vitro*. Para desarrollar este objetivo, se utilizó un vector adenoviral, que se amplificó en cultivos celulares de la línea celular HEK-293. Para la expresión de rNGF se transdujeron células SIHA donde la proteína se secretó al medio de cultivo. La purificación de rNGF del medio de cultivo se realizó utilizando una matriz de Níquel agarosa.

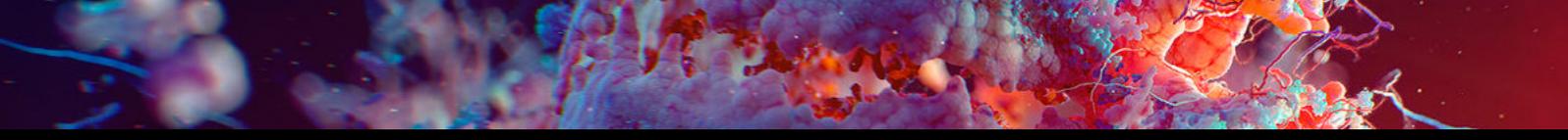
Para evaluar la actividad de rNGF se compararon sus efectos en diferenciación neuronal con los obtenidos utilizando NGF comercial. Se evaluó el crecimiento de neuritas en células de feocromocitoma de medula adrenal de rata (PC12) tratadas durante 7 días con ambas proteínas a las mismas concentraciones y finalmente evaluamos la actividad neuroprotectora de rNGF y NGF *in vitro*.

Innova 13IDL2:18688

46.- GENERACIÓN DE UN SISTEMA PARA EL ESTUDIO DE LA ENTRADA DE VIRUS ANDES BASADO EN EL PSEUDOTIPADO DE LENTIVIRUS CON GN/GC .

Varas, N¹., Starck, M. F.¹., Beltrán, C.¹., Fernández, Y.¹., Sánchez, O.¹., Toledo, J. R.²., ¹Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El Virus Andes (ANDV) es un Hantavirus presente en Chile que genera el Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH), enfermedad que posee una letalidad promedio de 40%. El estudio de este virus requiere de instalaciones de bioseguridad de nivel 3 o 4 lo que es algo limitante para la mayoría de los grupos de investigación. El uso de virus pseudotipados con las glicoproteínas de envoltura Gn y Gc de ANDV es una alternativa para su estudio. El pseudotipado de virus consiste en la incorporación de proteínas heterólogas en la envoltura de virus que lo permiten como retrovirus y rhabdovirus. En este trabajo generamos un lentivirus pseudotipado con Gn y Gc basado en el Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Esto fue hecho reemplazando el gen de la proteína G del Virus de la Estomatitis Vesicular (VEV), presente en un kit comercial para la expresión de lentivirus, por el gen del precursor polipeptídico de las glicoproteínas Gn y Gc. En este trabajo se muestra evidencia de que Gn y Gc están presentes en la membrana plasmática, permitiendo la correcta generación de los virus pseudotipados. Estos virus fueron capaces de infectar células HEK-293 y HEK-293-iβ3 que es una línea celular establemente transformada que sobreexpresa la integrina β3, conocido receptor para Hantavirus. En estas células los virus doblaron su capacidad de infección con respecto a las HEK-293. Estos virus permitirán la generación de un sistema para el estudio de la entrada a las células de ANDV, así como de posibles inhibidores. Todo esto solo requiriendo instalaciones BSL-2.



48.- EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE FRACCIONES PEPTÍDICAS OBTENIDAS DESDE LAS MICROALGAS *TETRASELMIS SUECICA* E *ISOCHRYSIS GALBANA*.

Wong, G.^{1.}, Schmitt, P.^{1.}, Guzmán, F.^{2.}, Henríquez, V.^{1.}, Rojas, M^a. V.^{1.},¹Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.²Núcleo de Biotecnología de Curauma Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

En la actualidad, las microalgas presentan diversas aplicaciones biotecnológicas principalmente por su gran valor nutricional y por ser biofactorías de una amplia gama de metabolitos secundarios tales como compuestos antimicrobianos. A la fecha, su potencial antibacteriano ha sido atribuido a ácidos grasos, terpenoides y sustancias fenólicas; no obstante, no se han descrito péptidos antimicrobianos (AMPs). La producción de diversos metabolitos secundarios probablemente favorece la colonización microalgal de distintos ambientes; en este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad bactericida de extractos microalgales enriquecidos para AMPs. Se evaluó la actividad antibacteriana de fracciones peptídicas obtenidas desde las microalgas marinas *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*. Para ello, se realizó una extracción ácida, seguida de una purificación por cromatografía de interacción hidrofóbica Sep-PakC-18 y RP-HPLC. Mediante electroforesis en geles de Tris tricina SDS PAGE y ácido urea PAGE se determinó la presencia de péptidos catiónicos y de bajo peso molecular. La actividad antibacteriana fue evaluada a partir de los eluidos post Sep-Pak y de las fracciones obtenidas por RP-HPLC, contra las bacterias Gram-negativa *Escherichia coli* y Gram-positiva *Micrococcus luteus* mediante ensayos de concentración mínima bactericida en microplaca. Se demostró actividad contra ambas bacterias, a partir de extractos enriquecidos para péptidos con características de AMPs obtenidos de ambas microalgas.

Financiamiento Proyecto DI-PUCV 037. 445.

50.- INTERFERÓN-GAMMA INDUCE INMUNOSUPRESIÓN DURANTE LA FASE CRÓNICA DE LA ENCEFALOMIELITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL.

Arellano, G.^{1.}, Tichauer, J., Acuña, .E.^{1.}, Castillo, C.^{1.}, Castro, M.^{2.}, Iruretagoyena, M.^{3.}, Burgos ,P.^{3.}, Naves, R.^{1.},
¹Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas , Facultad Ciencias Biológicas y Químicas, Universidad San Sebastián. ³Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Evidencia paradójica ha sido descrita en relación a la función de interferón (IFN)- γ en esclerosis múltiple (EM) y su modelo animal de encefalomiélitis autoinmune experimental (EAE). Mientras en algunos estudios, el tratamiento con IFN- γ suprime el desarrollo de la EAE en otros conduce a exacerbaciones. Nuestros resultados previos reconcilian aquellas discrepancias mostrando que IFN- γ tiene una actividad dual etapa-específica en EAE: patogénico durante la fase inductiva de la enfermedad pero protector en la etapa efectora (aguda y crónica). En este trabajo nosotros caracterizamos los efectos de IFN- γ durante la fase crónica de la EAE. Encontramos que la administración de IFN- γ durante esta fase redujo significativamente los síntomas clínicos de la enfermedad y la neuroinflamación comparado con ratones controles tratados sólo con vehículo. El tratamiento con IFN- γ redujo los focos inflamatorios, la desmielinización y la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y macrófagos infiltrantes. Además, ratones tratados con IFN- γ mostraron un aumento en la frecuencia de linfocitos T reguladores (Tregs) infiltrantes en el sistema nervioso central (SNC) asociado con un aumento en la producción de IL-10. Por lo tanto, nuestros resultados indican que IFN- γ ejerce una actividad anti-inflamatoria y protectora durante la fase crónica de la EAE.

Beca Conicyt Doctorado Nacional 21130452 (GA), Proyectos Fondecyt 1140049 (RN) y 1141211 (PB)

52.- MODIFICACIONES EN ELAM E ICAM-1 POR ÓXIDO NÍTRICO AL COMIENZO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA.

Córdova, F^{1.}, Aguilar, A.^{1.}, Marin, N.^{1.}, Guequén, A.^{1.}, Sarmiento, J.^{2.}, Ehrenfeld, P.^{3.}, Sánchez, F.^{1.}, ¹Inmunología, Medicina, UACH. ²Fisiología, Medicina, UACH. ³Histología y Patología, Medicina, UACH. (Sponsored by Hugo Folch)

La inflamación se caracteriza por la extravasación de leucocitos al sitio dañado, proceso regulado por un incremento en las moléculas de adhesión expresadas en el endotelio las que se unen a los leucocitos y favorecen a su diapédesis.

El rol del óxido nítrico (NO) en la adhesión de leucocitos ha sido mayormente conocido como inhibitorio. Sin embargo el hecho que los mismos agonistas que inducen producción de NO inducen adhesión de leucocitos a tiempos cortos nos llevó a proponer la hipótesis que el NO inducido por eNOS activa la adhesión de leucocitos al comienzo de la respuesta inflamatoria.

Estudiamos dos proteínas de adhesión: ELAM e ICAM-1. Como modelo usamos células EAhy926 tratadas con TNF- α e IL-8 por tiempos cortos y medimos la expresión y fosforilación de las proteínas por western-blot. El rol del NO fue medido usando el inhibidor LNMA. También probamos in vivo la adhesión inducida por IL-8 en el modelo del cremaster de ratón.

Nuestros resultados muestran que la expresión de ELAM no es afectada por los agonistas hasta 2 horas de tratamiento. En contraste, la expresión de ICAM-1 en la superficie es incrementada después de 5 minutos de tratamiento con ambos agonistas. Para ICAM, ambos agonistas incrementaron la fosforilación de Y518 la cuál fue inhibida en presencia de LNMA.

Fondecyt 1130769 y 1150789

54.- INTERLEUQUINA-8 PROVENIENTE DE GLIOBLASTOMA INDUCE LA PERMEABILIDAD MICROVASCULAR A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DE ENOS.

Guequén, A.^{1.}, Burboa, P.^{2.}, Marín, N.^{2.}, Quezada, C.^{3.}, Sarmiento, J.^{4.}, Sanchez, F.a^{2.}, ¹Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. ²Instituto de Inmunología, Medicina, Universidad Austral de Chile. ³Instituto de Bioquímica, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ⁴Instituto de Fisiología, Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Doctor Hugo Folch)

Mediadores pro-inflamatorios incrementan la permeabilidad microvascular a través de la activación de eNOS y la producción de óxido nítrico (NO), promoviendo la S-nitrosilación de proteínas de las uniones adherentes resultando en la desestabilización de este complejo. Interleuquina-8 (IL-8), es secretada por glioblastoma promoviendo incremento de la permeabilidad endotelial asociada con la internalización de VE-cadherina, pero sus vías de señalización se desconocen.

Como modelo utilizamos células endoteliales inmortalizadas EAhy926 tratadas con IL-8 y medio condicionado proveniente de células de glioblastoma (MC-U87). La permeabilidad endotelial fue medida a través del flujo de dextrano-FITC-70 en monocapas celulares y también medida en músculo cremaster de ratones silvestres. La activación de eNOS fue evaluada a través de western blot y la S-nitrosilación de VE-cadherina y p120 a través del ensayo de switch de biotina.

IL-8 y MC-U87 incrementan la permeabilidad microvascular a través de la vía de S-nitrosilación. Este incremento fue inhibido en presencia de un anticuerpo bloqueante de IL-8. IL-8 también induce la fosforilación de eNOS. IL-8 y MC-U87 inducen la S-nitrosilación de VE-cadherina y p120. Estos resultados indican que IL-8 presente en MC-U87 incrementa la permeabilidad microvascular a través de la activación de eNOS y la S-nitrosilación de proteínas de las uniones adherentes.

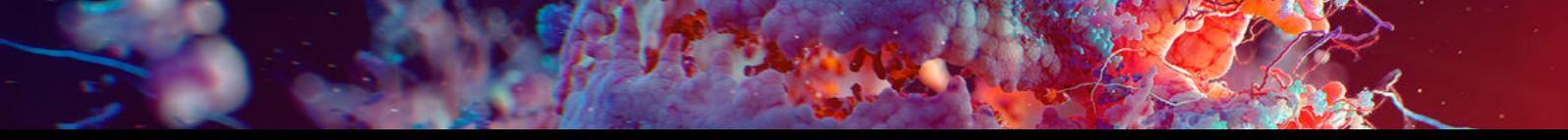
Fondecyt 1130769 y 1150789

56.- EFECTO A LARGO PLAZO DE LA CRONODISRUPCIÓN GESTACIONAL SOBRE EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.

Pérez, B¹., Sarmiento, J.²., Folch, H.³., ¹Escuela de Graduados , Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. ²Fisiología, Medicina, Universidad Austral de Chile. ³Inmunología, Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Hugo Folch Vilches)

La cronodisrupción gestacional es una alteración del ritmo circadiano de parámetros fisiológicos por alteración del fotoperiodo durante la gestación. Se ha demostrado que la perturbación del medio ambiente durante la gestación genera un impacto a largo plazo sobre la respuesta inmune de la descendencia. Dentro de los mayores mecanismos de defensa en la inmunidad innata se encuentra el sistema del complemento, por lo tanto en este estudio se analizaron los efectos de la cronodisrupción gestacional sobre la expresión de factores del sistema del complemento en fetos de estadio embrionario de 18 días (E18) y en adultos descendientes de ratas sometidas a luz constante durante la segunda mitad de la gestación (LL). En el hígado fetal (E18), observamos mediante microarray que la expresión de varios componentes del sistema del complemento fueron significativamente disminuidos o aumentados en LL. Se confirmó por PCR cuantitativo la expresión aumentada de C1qbp y la expresión disminuida de C3 y C9. Notablemente, los transcritos de C3 y C9 permanecieron significativamente disminuidos al estadio de desarrollo postnatal 90 días (P90), lo cual fue acompañado por una disminución significativa de los niveles plasmáticos de la proteína C3 en animales gestados LL. El componente C3 del sistema del complemento es clave en la coordinación de las vías de activación y es crucial para la generación de C3a y C5a, anafilotoxinas que juegan un rol importante en la respuesta inmune innata y adaptativa.

Fondecyt 1150789, ANILLO ACT-1116 de CONICYT Chile.

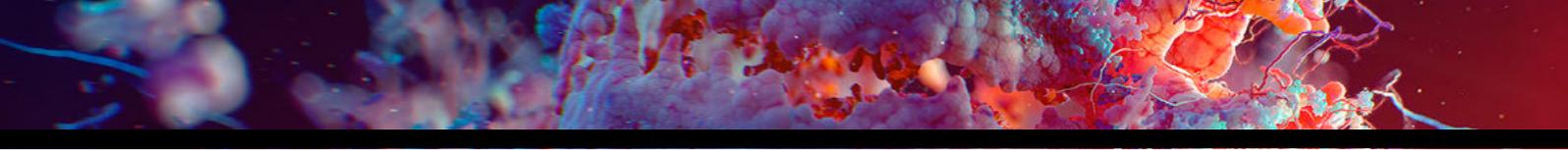


58.- FOSFOLIPASA D DEL VENENO DE LOXOSCELES LAETA, RECONOCE E HIDROLIZA ESFINGOMIELINA DE MEMBRANA PLASMÁTICA DE FIBROBLASTOS DE PIEL HFF-1 E INDUCE PRODUCCIÓN DE QUIMIOCINAS INFLAMATORIAS.

Rojas, J¹., Arán, T.¹., Catalan, A.¹., Araya, J. E.¹., ¹Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Marcos Cikutovic Salas)

El principal producto de la acción de fosfolipasas D del veneno de *Loxosceles* sobre sus sustratos esfingomielina y lisofosfatidilcolina, son ceramida 1-fosfato (C1P), y ácido lisofosfatídico (LPA), respectivamente. El papel de C1P gatillando el proceso inflamatorio en el loxoscelismo es desconocido. Sin embargo, se conoce su papel en proliferación, migración y acción pro-inflamatoria en macrófagos a través de una vía de acción extracelular mediante unión a un receptor acoplado a proteína G. Hipotetizamos una vía de producción de C1P exógena durante el envenenamiento con arañas del género *Loxosceles*, el cual es capaz de inducir una respuesta inflamatoria. Utilizando fibroblastos de piel HFF-1 como modelo de estudio in vitro para la producción de C1P a partir de esfingomielina de membrana plasmática, evaluamos la unión a membrana y capacidad de hidrolizar esfingomielina a partir de extractos lipídicos. Observamos que tanto la fosfolipasa catalíticamente activa (rLIPLD1) y una isoforma inactiva (rLIPLD2) son capaces de inducir un aumento en la producción de IL8, IL6 y CXCL1 en el tiempo y de una manera concentración dependiente. Además, rLIPLD1 es capaz de hidrolizar esfingomielina presente en extractos lipídicos purificados de células HFF-1, no así la isoforma inactiva. Junto con esto, tanto rLIPLD1 y rLIPLD2 fueron capaces de unirse a su sustrato celular. Nuestros datos, nos orientan hacia un mecanismo externo de producción de C1P en células de piel humana durante el proceso tóxico causado por el veneno de *L. laeta*.

FONDECYT Iniciación N° 11130020. CONICYT- Chile.

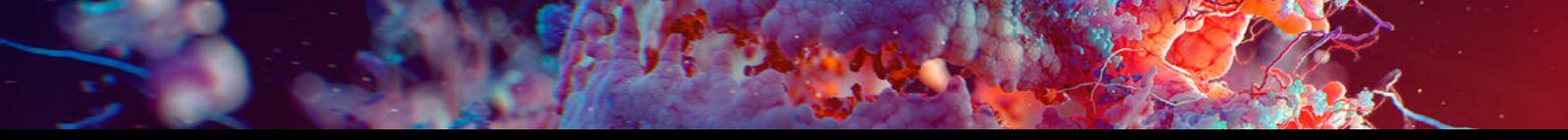


60.- ALTERACION DE LA UNION-ESTRECHA Y AUMENTO DE ACTIVACION DE MASTOCITOS EN MUCOSA INTESTINAL EN SINDROME DE INTESTINO IRRITABLE (SII).

Torres, V.², Portillo, H.², Vera, D.², Parra, I.¹, Perez De Arce, E.², Madrid, AM., Beltran, C. J.², ¹Anatomía Patológica Hospital Clínico Universidad de Chile (HCUCH). ²Gastroenterología Hospital Clínico Universidad de Chile (HCUCH).

La fisiopatología del SII involucra un desequilibrio en el eje cerebro-intestino que afecta el sistema inmune. Existen controversias en asociar el aumento del número de mastocitos con una mayor permeabilidad epitelial intestinal en SII. Nuestra hipótesis consiste en que pacientes chilenos con SII presentan elevada actividad de mastocitos asociada a alteradas uniones-estrechas (Tight-Junctions, TJ) del epitelio intestinal. En mucosa ileal y colónica de pacientes SII, diagnosticados según criterios Roma III, y sujetos-controles (SC), reclutados desde HCUCH, se determinó diferencias en el número de mastocitos y la expresión/distribución de proteínas TJ, mediante Inmunofluorescencia para triptasa y ZO-1 (zonula occludens-1), respectivamente. La activación de mastocitos y las alteraciones en la arquitectura de TJ, fueron evaluadas mediante microscopía electrónica de transmisión. Nuestros resultados mostraron una activación de mastocitos significativamente mayor en íleon SII comparado con SC, (SII: 78,22; SC: 60,73; $p=0,0190$), así como una tendencia a un mayor número y una disminución significativa de ZO-1 (SII: 0,1434; SC: 0,4975; $p=0.0005$) relacionada a alteraciones en la arquitectura de TJ. No se observaron diferencias en colon. Nuestros hallazgos sugieren que cambios en TJ pueden estar relacionados a una mayor activación de mastocitos en SII.

PROYECTO FONDECYT 11121527

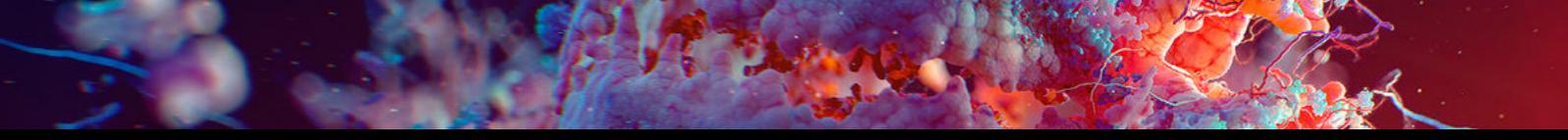


62.- VARIACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA ADAPTATIVA FRENTE AL ESTRÉS TÉRMICO EN EL NOTOTÉNIDO SUB-ANTÁRTICO ELEGINOPS MACLOVINUS INFECTADO CON PISCIRICKETTSIA SALMONIS.

Martínez, D.^{1.}, Oyarzún, R.^{1.}, Vargas-Lagos, C.^{1.}, Pontigo, J.P.^{1.}, Soto, M.^{1.}, Vargas-Chacoff, L.^{1.}, Yañez, A.^{2.},
¹Fisiología de Peces, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ²Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Dr. Jaime Figueroa)

E. maclovinus es el único representante de la familia Eleginopidae, perteneciente al suborden Notothenioidei (comúnmente llamados Nototénidos). Esta especie es endémica tanto de aguas templadas como de aguas subantárticas de América del sur, además es una especie euritérmica que debido a su amplia distribución soporta un gran espectro de temperaturas que rondan los 20°C al norte de su distribución, hasta un mínimo de 4°C en aguas del Canal Beagle. Es por ello que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la temperatura en la producción de anticuerpos Anti-IgM en ejemplares de robalo inyectados con la bacteria *Piscirickettsia salmonis*. Los especímenes fueron capturados desde el ambiente natural y trasladados al Laboratorio Costero de Recursos Acuáticos de la Facultad de Ciencias (UACH), en donde fueron aclimatados para posteriormente ser sometidos aleatoriamente a los tratamientos de 12°C y 18°C bajo la condición de aclimatación o en shock térmico, y con inyección bacteriana o con medio de cultivo. La cinética de muestreo fue cada 4 días por un tiempo total de 20 días, en donde se tomaron muestras de sangre para obtener plasma. Los resultados indican que los niveles de Inmunoglobulinas Tipo M (IgM) aumentan en los ejemplares inyectados con bacteria comparado con aquellos inyectados sólo con medio de cultivo (control negativo), además la temperatura está modulando la producción de IgM, pues a 18°C hay mayor producción de anticuerpos que a 12°C, lo cual se potencia aún más cuando los ejemplares están aclimatados a esta temperatura, en contraposición de aquellos que están sometidos a shock térmico. Por lo tanto se concluye que el robalo genera una respuesta inmunológica diferencial a alta temperatura y que esta respuesta estaría modulada por su capacidad euritérmica.

Este estudio fue financiado por el proyecto Innova Corfo 13IDL2-23565, proyecto Fondap-Inacar, No. 15110027 y proyecto Fondap-Ideal Grant 15150003.

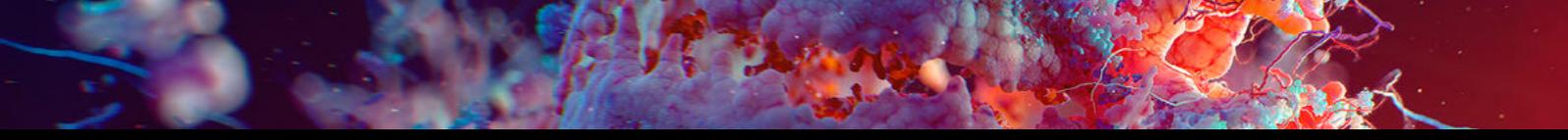


64.- DETECCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO SINTASA Y EVIDENCIAS DE TRANSPORTADORES DE NITRITOS EN *ULVA COMPRESSA*.

Calfo, C.¹, Moenne, A. ¹, Figueroa, X. ², García-Huidobro Toro, J. P. ¹, ¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. ²Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Óxido nítrico (NO) participa en la señalización intra e intercelular en plantas y animales. Macroalgas como *Ulva compressa* (UC), incubadas con cobre, sintetizan NO intracelular, reacción inhibida por un bloqueador de NOS animal. Planteamos que UC expresa una enzima tipo NOS animal, que hasta la fecha no ha sido identificada. Para detectar en UC esta hipotética enzima, evaluamos si anticuerpos contra NOS animales reconocen esta proteína. Se usaron extractos proteicos de UC que se separaron en geles SDS-PAGE al 7.5% y se incubaron con anticuerpos poli y monoclonales contra iNOS y eNOS animal. Se detectó una banda de 110 kD con cada uno de estos anticuerpos animales. Estos hallazgos son compatibles con la NOS descrita en la microalga verde *O.tauri* cuyo peso molecular es de 120 kD y que presenta un 42 y 43% de similitud en su secuencia de amino ácidos con iNOS y eNOS humana. Además, UC disminuye en 1-5 min los nitritos del medio (tanto trazas como nitritos adicionados), dato que indicaría la expresión de transportadores de NO₂⁻/NO₃⁻ propios de UC. Este transporte no depende de la concentración de L-arginina del medio. En resumen, UC expresa una proteína tipo NOS animal; el NO del medio es independiente de [L-arginina].

Financiamiento: Fondecyt 114-1132 y FB 0807, CEDENNA.

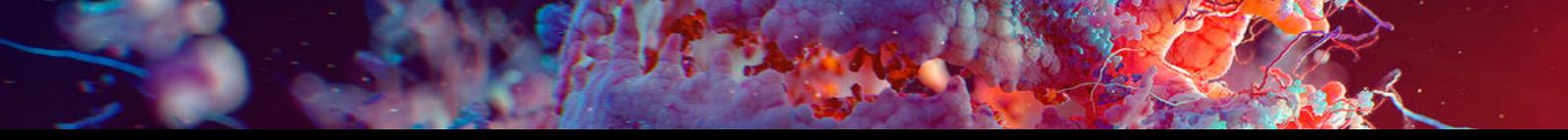


66.- EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE INMUNOGLOBULINAS Y CITOQUINAS DE RATONES BALB/C INMUNIZADOS CON VACUNAS DE ADN BASADAS EN MARCOS DE LECTURA ABIERTOS BAB1_0267 Y BAB1_0270 DE BRUCELLA ABORTUS.

Gómez, L.¹., Alvarez, F.¹.,Fernández, P.¹.,Oñate, Á.¹.,¹Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Brucella abortus es el agente etiológico de la brucelosis, una zoonosis que afecta a bovinos y humanos. Esta bacteria es un patógeno intracelular facultativo capaz de evadir la respuesta inmune mediante la expresión de diversos factores de virulencia. Algunos de estos factores están codificados en marcos de lectura abiertos (ORFs) presentes en la isla genómica 3. Previamente, se demostró que los ORFs BAB1_0267 y BAB1_0270 de *Brucella abortus* 2308 son importantes en la sobrevivencia intracelular de este patógeno. Basados en estos resultados, utilizamos ambos ORFs para construir las vacunas de ADN pVax_267 y pVax_270, y evaluamos su efecto en la respuesta inmune de ratones BALB/c. Nuestros resultados muestran que la vacuna pVax_270 induce un incremento significativo de IgM, IgG e IgG2a, además de INF- γ y TNF α , mientras que la vacuna pVax_267 incrementa IgM, IgG e IgG1. Estos resultados indican que la vacuna pVax_270 produce un perfil de inmunoglobulinas y citoquinas acorde a una respuesta del tipo Th1, eficaz para controlar patógenos intracelulares, mientras que la vacuna pVax_267 genera una respuesta del tipo Th2 asociada al control de patógenos extracelulares. Considerando que *Brucella abortus* es un patógeno intracelular, podemos señalar que la vacuna pVax_270 sería un buen candidato para prevenir la brucelosis.

Proyecto financiado mediante FONDECYT 1130093

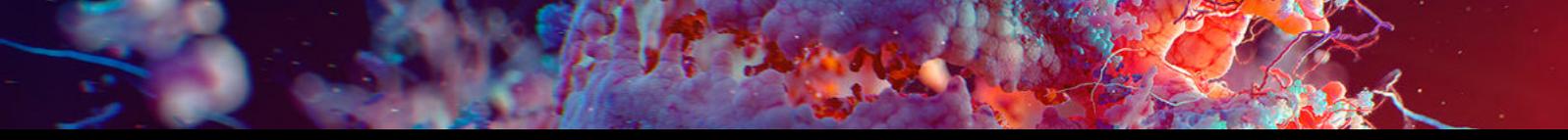


68.- GENERACIÓN DE UNA LÍNEA CELULAR ESTABLE DE CÁNCER DE PRÓSTATA KNOCK-DOWN PARA LOX-1, MEDIANTE VECTORES ADENO-ASOCIADOS QUE TRANSDUCEN ARNS DE INTERFERENCIA CONTRA EL GEN OLR-1.

Cerro, R¹., Cifuentes, P¹.,González, I¹.,Sandoval, F.A¹.,Gutierrez, N¹.,Fernández, E¹.,Toledo, J.R¹.,¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Jorge Roberto Toledo Alonso)

Estudios recientes mostraron la expresión de LOX-1 en células de cáncer de próstata (CaP) y en adenocarcinomas prostáticos humanos de estadios clínicos patológicos caracterizados por la invasión local y la generación de metástasis. Nuestro objetivo fue generar una línea celular estable de CaP LOX-1 *knock-down*, mediante transferencia con vectores adeno-asociados. Para transformar genéticamente la línea celular de CaP se diseñaron secuencias que codifican un *short hairpin* ARN (shARN) contra el gen del receptor LOX-1 (*OLR-1*), estas secuencias fueron subclonadas en un plásmido recombinante para generación de vectores adeno-asociados (pAAV/IRF/U6). Se determinó la funcionalidad y eficiencia del silenciamiento de los constructos diseñados en la línea celular HeLa a través del análisis de expresión de LOX-1 por RT-PCR y *western blot*. Posteriormente, el plásmido pAAV/IRF/U6_shARN_OLR-1 fue utilizado para generar las partículas virales mediante co-transfección en células HEK293-AAV. Las células de CaP fueron transducidas con las partículas AAV/IRF/U6_shARN_OLR-1 y seleccionadas mediante citometría de flujo con cell-sorting, la expresión de LOX-1 fue evaluada por RT-PCR y *Western-blot*. Nuestros resultados indican que poseemos una línea celular de CaP Knock-down para LOX-1, este modelo nos permitirá desarrollar posteriormente estudios de progresión tumoral de CaP *in vivo*.

VIU-FONDEF130040, Fondecyt 1121159 y Proyecto ECM-12 (CMA BIOBIO)

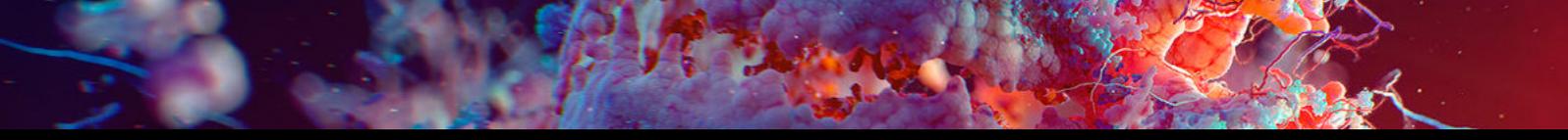


70.- NEUTRÓFILOS HUMANOS: UN NUEVO BLANCO FARMACOLÓGICO DE TAMOXIFENO.

Espinosa, G¹., Folch, H.²., ¹Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. ²Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Hugo Folch Vilches)

Tamoxifeno (TX) se clasifica como un modulador selectivo de la actividad del receptor de estrógeno (SERMs) y es ampliamente utilizado como coadyuvante en el tratamiento del cáncer de mama receptor estrógeno positivo. Tamoxifeno es metabolizado por citocromo P450 hepática y la actividad antagonista para la unión de 17-β-Estradiol a los receptores nucleares de estrógeno α y β (nERα/β) es mediada por los metabolitos 4-hidroxytamoxifeno (4-OH) y 4-hidroxy-N-desmetiltamoxifeno (Endoxifeno). Además, recientemente ha sido descrito un receptor de membrana para estrógeno acoplado a proteína G denominado GPR30, para el cual Tamoxifeno presenta una actividad agonista. En neutrófilos humanos obtenidos desde sangre periférica nuestros resultados indican que Tamoxifeno no afecta la viabilidad celular evaluada mediante el índice IP/Annexin V por citometría de flujo. Por otra parte, Tamoxifeno inhibe el estallido respiratorio inducido por zymosan opsonizado, siendo este efecto dosis dependiente. Interesantemente, agonistas de los receptores nucleares de estrógeno (17-β-Estradiol) y de membrana GPR30 (G1), así como antagonistas (ICI 182,780 y G15 respectivamente) no bloquean ni reproducen este efecto. Estos resultados sugieren que Tamoxifeno modula el estallido respiratorio de los neutrófilos humanos por un mecanismo independiente de receptores nucleares nERα/β y GPR30 de estrógeno.

Fondecyt 1150789, 1130355

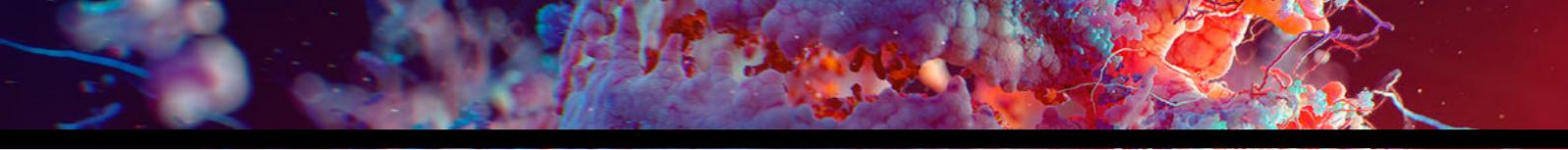


72.- EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α INDUCE UN AUMENTO EN LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE LDL OXIDADA LOX-1 EN CÉLULAS HUMANAS DE CÁNCER COLORRECTAL: EFECTO EN MARCADORES DE PROGRESIÓN TUMORAL.

González-Horta, E. E.¹, González-Chavarría, I.¹, Rodríguez, F. S.¹, Gutiérrez, N. A.¹, Saavedra, P.¹, Vargas, Y.¹, Toledo, J.R.¹, ¹Fisiopatología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El receptor para LDL oxidada (LOX-1) está implicado en la progresión tumoral en cáncer de próstata y de mama estimulando la angiogénesis, la proliferación y la transformación celular. Los niveles de expresión de este receptor son inducibles, aumentando frente a diferentes estímulos, incluyendo estímulos proinflamatorios. La función de LOX-1 respecto al cáncer colorrectal (CCR) no se ha estudiado. En pacientes con CCR se han detectado altos niveles de TNF- α en comparación con individuos sanos. En este trabajo nos propusimos conocer si el receptor LOX-1 se expresa en células de CCR, los efectos de su activación y si los niveles de expresión son inducibles por TNF- α . Nosotros mostramos evidencias de que el receptor LOX-1 se expresa en las líneas celulares de CCR: SW-620, HCT-116 y Colo-320. Los niveles de expresión de LOX-1 aumentan en estas células cuando son estimuladas con TNF- α . El tratamiento de estas células con TNF- α (rango de 1 a 50 ng/mL) no estimula la proliferación ni la muerte celular. La activación de LOX-1 a través de su ligando específico, induce en las células de CCR transición epitelio-mesenquimal caracterizada por disminución de marcadores epiteliales y aumento de marcadores mesenquimales. Además, se estimula la síntesis de marcadores angiogénicos. Estos resultados sugieren que LOX-1 pudiera estar implicado en la progresión tumoral de cáncer colorrectal.

Fondecyt Regular 1121159

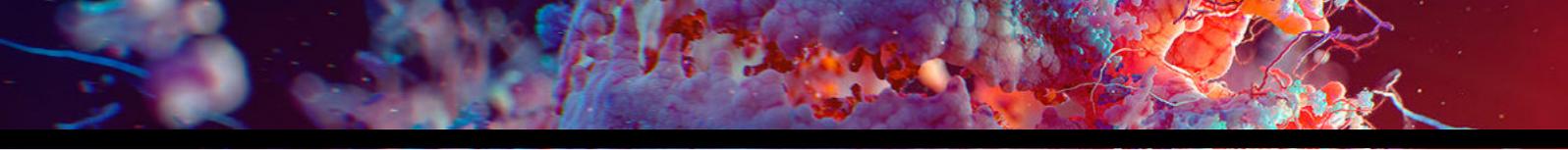


74.- PARTICIPACIÓN DE CANALES GAP JUNCTIONS EN LA CITOTOXICIDAD DE LINFOCITOS T CD8+ CONTRA MELANOMA.

Lillo, F.^{1,2}, Guerrero, I.^{1,2}, Gleisner, M^a A^{1,2}, López, M.^{1,2}, Salazar-Onfray, F.^{1,2},¹Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.²Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia Universidad de Chile.

Los canales tipo Gap Junction (GJ) están formados por 2 estructuras llamadas conexones, que a su vez se componen de 6 subunidades llamadas conexinas (Cx), siendo Cx43 la más expresada en mamíferos. Previamente demostramos que GJ-Cx43 son importantes para la respuesta inmune antitumoral mediada por células NK. En este trabajo, se estudió el papel de GJ-Cx43 en la citotoxicidad de linfocitos T CD8+ (LTCD8+) contra melanoma. Realizamos cocultivos de LTCD8+ con células de melanoma y evaluamos por inmunofluorescencia la localización de Cx43 y la funcionalidad de estos canales mediante ensayos de transferencia de Calceína. Asimismo, evaluamos en LTCD8+ la citotoxicidad mediante ensayos de liberación de Cr51, y la degranulación mediante FACS. En las líneas de melanoma medimos oscilaciones de calcio intracelular por FACS. Demostramos la polarización de Cx43 y la formación de GJ-Cx43 funcionales entre LTCD8+ y células de melanoma. El bloqueo específico de GJ-Cx43 generó una disminución del traspaso de Calceína, en las oscilaciones de calcio y en la citotoxicidad contra las células tumorales, sin embargo la degranulación no se vio afectada, demostrando que las GJ-Cx43 son importantes en la respuesta de los LTCD8+ contra células tumorales, lo cual resulta relevante para el diseño de nuevas estrategias inmunoterapéuticas.

FONDECYT-1130320, 1130324; FONDEF-D1111036; IMII P09/016-F.

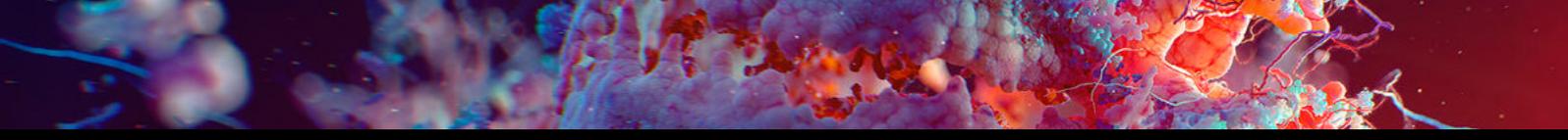


76.- GALECTINA 8 INCREMENTA LA PERMEABILIDAD MICROVASCULAR VÍA ENOS: POTENCIAL ROL EN CÁNCER.

Zamorano, P.^{1.}, Rebolledo, L.^{1.}, Guequen, A.^{1.}, Ehrenfeld, P.^{2.}, González, A.^{3.}, Soza, A., Sánchez, F.^{1.}, ¹Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. ²Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. ³Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Dr. Hugo Folch)

Gal-8 es una lectina que se secreta por una vía no-conventional y puede ejercer múltiples funciones interactuando con glicoproteínas y glicolípidos de la superficie celular. Gal-8 se sobre-expresa en varios tipos de cáncer y se la ha implicado en angiogénesis. Como la microvasculatura que irriga tumores tiene elevada permeabilidad y nosotros hemos demostrado hiperpermeabilidad vascular por activación de eNOS y s-nitrosilación de P120, estudiamos aquí el rol de Gal-8 en este sistema. Evaluamos la permeabilidad al flujo de dextrano FITC-70 y la s-nitrosilación de proteínas mediante el ensayo de “biotin switch” en células endoteliales EAhy926 tratadas con Gal8 recombinante o con medios condicionados de células MCF-7 que secretan Gal-8. Tanto Gal8 recombinante como el medio condicionado conteniendo Gal8 incrementaron la permeabilidad vascular, la activación de eNOS y la s-nitrosilación de P120. El medio condicionado también indujo activación de eNOS en cremaster de ratón in vivo. Estos resultados revelan a la activación de eNOS como un nuevo mecanismo de acción de Gal8 que podría contribuir a las características de irrigación vascular en tumores

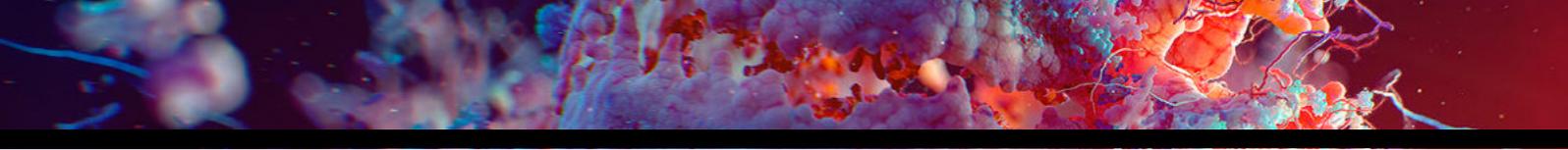
(Fondecyt # 1130769 (FS); #1141127 (AG) y # 1131122 (AS); CONICYT PFB12/2007).



78.- GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA PROTEÍNA DE FUSIÓN BASADA EN EL AUTOANTÍGENO MUC16.

Benavente, B.^{1.}, Meza, C.^{1.}, Saavedra-Venegas, C.^{1.}, Saavedra, P.^{1.}, Toledo, J.R.^{1.},¹Departamento de Fisiopatología, Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La Mucina 16 (MUC16) es una proteína tipo mucina altamente glicosilada y sobreexpresada en más del 80% de pacientes con cáncer de ovario. Diversos estudios relacionaron esta sobreexpresión con funciones biológicas vinculadas a la progresión tumoral; modulando el crecimiento de células cancerígenas, la motilidad celular, invasión e inmunosupresión. Diversas estrategias terapéuticas han utilizado a MUC16 como un autoantígeno, incluyendo algunas modalidades inmunológicas basadas en anticuerpos, las cuales han obtenido resultados heterogéneos reflejando la necesidad de continuar con la búsqueda de nuevos enfoques. Una estrategia atractiva, es el uso del par co-estimulador CD40/CD40L, cuya señalización cumple un rol fundamental en procesos esenciales como en la inducción de respuestas citotóxicas frente a células tumorales. Durante nuestro trabajo, se generó y caracterizó una proteína de fusión basada en los dominios C-terminales de MUC16 y de CD40L, en conjunto con las proteínas controles rMUC16 y rCD40L. Mediante estrategias moleculares, se generaron tres vectores adenovirales para las respectivas proteínas, los cuales se amplificaron en la línea celular complementaria HEK293. Las proteínas fueron expresadas en la línea celular SiHa, mediante transducción adenoviral y fueron caracterizadas mediante electroforesis SDS-PAGE y Western-blot. Estos resultados nos permitirán desarrollar una formulación vacunal utilizando los antígenos producidos, para determinar los niveles y persistencia de la respuesta inmune frente a MUC16 en modelos murinos.



80.- EFECTO DEL TAMOXÍFENO SOBRE LA QUIMIOQUINESIS EN NEUTRÓFILOS EQUINOS.

Castillo, C.^{1.}, Folch, H.^{2.}, ¹Farmacología y Morfofisiología Veterinaria, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.²Inmunología, Medicina, Universidad Austral de Chile.

En ciertos casos de asma en el hombre y en la obstrucción recurrente de las vías aéreas en el equino, los neutrófilos son las principales células inflamatorias. Tamoxifeno, es un fármaco ampliamente usado en todos los estadios de cáncer de mama estrógeno positivo. Estudios recientes de nuestro grupo de investigación muestran, que caballos con inflamación neutrofílica de las vías aéreas tratados con tamoxifeno, presentan una mejoría de la condición clínica. Sin embargo, la vía por la cual tamoxifeno tiene esta acción resolutive aún no es bien entendida. Por esto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tamoxifeno sobre la quimioquinesis. Para esto PMN equinos fueron aislados de sangre periférica, para ser luego tratados o no con 50 μ M de tamoxifeno por 30 minutos a 37°C. Las células adheridas a un cubreobjeto fueron puestas sobre una platina temperada bajo el microscopio, su movilidad fue evaluada, antes y después de ser estimuladas con una solución que contenía 100 nM de IL-8. Cada 10 segundos se obtuvieron imágenes, para construir posteriormente gráficos polares. Los resultados demuestran que tamoxifeno efectivamente disminuye la capacidad de movimiento de los neutrófilos, pudiendo ser esta una de las causas que contribuyen a su efecto antiinflamatorio en las vías aéreas que hemos reportado.

Proyecto Fondecyt 1130355

82.- EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES INMUNOGÉNICAS DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE VP1 DE IPNV EN ONCORHYNCHUS MYKISS.

Espinosa, M.^{1.}, Oyarzún, A.^{1.}, Vargas, D.^{1.}, Rodríguez, F.^{1.}, Imarai, M.^{2.}, ¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. ²Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

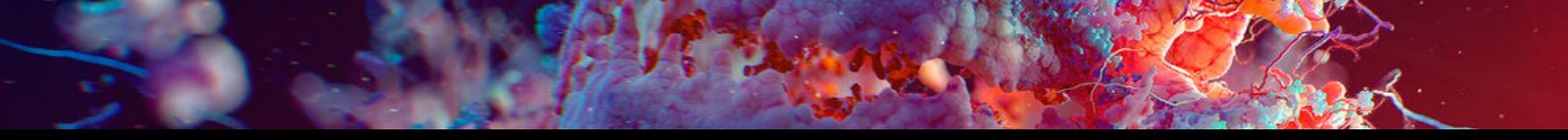
Introducción: El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) está asociado a estados de inmunosupresión y muerte en peces. La búsqueda de antígenos para el desarrollo de herramientas inmunológicas a partir de este virus se ha limitado a proteínas de la cápside como VP2. VP1, la RNA polimerasa viral, no ha sido evaluada como un posible antígeno a pesar de su gran tamaño (95KDa). Nosotros aislamos VP1 recombinante y analizamos sus propiedades inmunogénicas evaluando la expresión relativa de citoquinas inducidas por inoculación de VP1 en truchas.

Métodos: VP1 fue expresada en *E coli* BL21(DE3) y la proteína se recuperó desde cuerpos de inclusión. Los extractos se concentraron en columnas Amicon. Tres grupos de peces fueron inoculados por vía intramuscular con NaCl 0,9% (control), VP1 o VP1+adyuvante incompleto de Freud. Después de 21 días, los peces fueron inoculados nuevamente y a los 40 días los peces fueron sacrificados. Se aisló RNA del riñón de los peces para evaluar la expresión relativa de citoquinas mediante RT-PCR en tiempo real. Los cambios en la expresión relativa se analizaron con el programa REST.

Resultados: Los resultados muestran que VP1 induce un aumento en la abundancia relativa de IL-12, IFN- γ , INF- α , IL-4 y T-bet, mientras GATA-3 e IL-17a no sufrieron cambios respecto al grupo control (NaCl 0,9%). Este perfil de citoquinas fue similar en peces inoculados con VP1 con y sin adyuvante, mostrando que la proteína por sí sola es suficientemente inmunogénica como para inducir un cambio en el perfil de citoquinas.

Conclusión: Los resultados indican que VP1 es una de las proteínas inmunogénicas de IPNV capaz de inducir la expresión de citoquinas asociadas a respuestas tipo T_H1 y antivirales.

Fondecyt 1130882



84.- GLUCOSA COMO INMUNOESTIMULANTE? SUS EFECTOS EN LA EXPRESIÓN RELATIVA DE GENES INVOLUCRADOS EN LA RESPUESTA INMUNE INNATA EN SALMO SALAR.

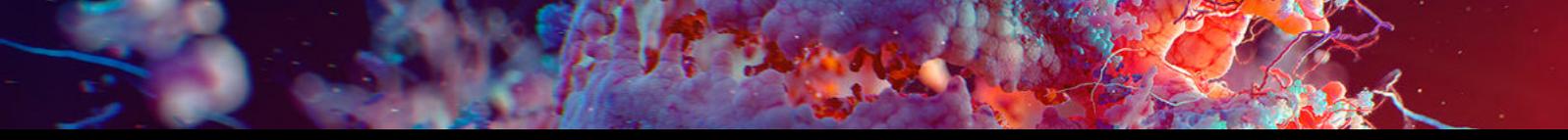
Rios, C¹., Soto, M. L.¹., Figueroa, J¹., Hausmann, Denise^{1,2}., ¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. ²Centro FONDAF: Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR)., Valdivia, Universidad Austral de Chile.

Los inmunoestimulantes son principalmente, elementos que permiten la estimulación del sistema inmune innato, mostrando un incremento de la resistencia frente a patógenos. Esto se logra gracias al aumento de ciertas moléculas clave en la inmunidad innata, tales como proteasas, citoquinas, y mediadores de respuesta adaptativa.

Existen antecedentes en humanos sobre la estimulación con glucosa, la que presenta un efecto en aumentar la expresión y liberación de prolactina, hormona descrita como un potente inmunoestimulante en vertebrados superiores y peces. También existen referencias bibliográficas de que la dietas con altas concentraciones de carbohidratos, principalmente, β -glucanos, aumentan la resistencia a ciertos patógenos.

En este estudio se muestran los cambios en la expresión relativa de genes, medidos mediante la técnica de PCR en tiempo real, que están involucrados en la respuesta inmune innata, en células de línea celular SHK1 (IL-1 β , subunidades de la NADPH oxidasa para evaluar estrés oxidativo, algunos TLRs y Prolactina y su receptor) estimuladas con diferentes concentraciones de glucosa que se encuentran por sobre los niveles de glicemia normal. Con esto se pretende buscar nuevas estrategias para aumentar la capacidad del sistema inmune frente a patógenos de una manera menos invasiva, con una menor cantidad de efectos adversos y así evitar grandes pérdidas económicas para la acuicultura.

Financiamiento: FONDECYT-1130069 y FONDAF-15110027.



86.- ANÁLISIS DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA Y GENES INVOLUCRADOS, MEDIANTE EL USO DE SNPS EN CEPAS DE *PISCIRICKETTSIA SALMONIS* AISLADAS EN CHILE.

Castro, D.¹, Hausmann, D.¹, Figueroa, J.¹, ¹Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile, Fondap INCAR.

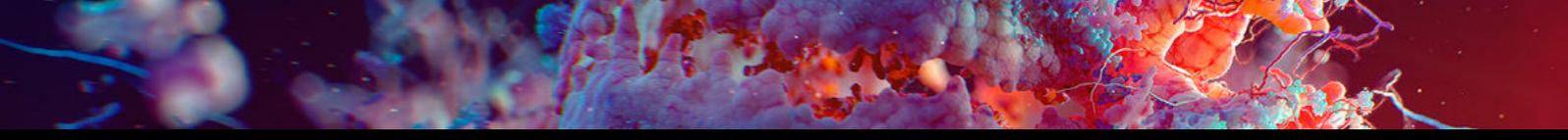
La enfermedad más perjudicial que afecta al cultivo de salmónidos en Chile, es Piscirickettsiosis (agente etiológico, *Piscirickettsia salmonis*). Para combatirla, se han usado altas dosificaciones de antibióticos, favoreciendo la propagación de bacterias resistentes. El análisis de SNPs en los genes de resistencia a antibióticos, ha sido una herramienta útil en algunas bacterias para dilucidar mecanismos de resistencia y hasta ahora poco utilizados en *P. salmonis*.

Se analizaron 9 genomas de *P. salmonis*, identificándose 10 genes de resistencia a oxitetraciclina y florfenicol, los fármacos más usados para Piscirickettsiosis. Mediante herramientas bioinformáticas se corroboró la identidad de los genes. Se identificaron los SNPs en cada uno de los genes, tomando como referencia la cepa tipo LF-89 recientemente secuenciada. Se construyó un árbol filogenético basado en SNPs, para seleccionar una cepa representativa por cada cluster y evaluar cantidad mínima inhibitoria (CIM) para estos antibióticos y nivel de expresión en los genes seleccionados.

De los dos clusters resultantes se seleccionaron 3 cepas, de las cuales las que presentaron mayor número de SNPs en los genes de resistencia, mostraron niveles más altos de CIM que las demás cepas.

Finalmente, se puede establecer que la resistencia a oxitetraciclina y florfenicol en las cepas de *P. salmonis* de campo estudiadas, estaría estrechamente relacionado con el número de SNP relevantes presentes en los genes de resistencia.

FONDECYT-1130069, FONDAP-INCAR-15110027

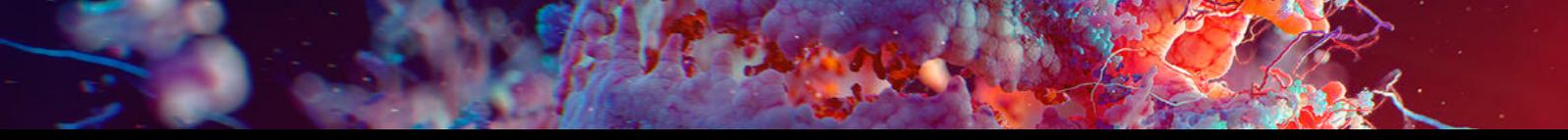


88.- EFECTO DE LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES DE CININAS SOBRE LA ADHESIÓN CELULAR Y EXPRESIÓN DE INTEGRINAS $\alpha 5$ Y $\beta 4$ EN QUERATINOCITOS HUMANOS NORMALES Y NEOPLÁSICOS.

Matus, CE^{1,2}, Pavicic, MF², Ehrenfeld, P², Burgos, RA¹, Figueroa, CD²,¹Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.²Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Carlos Figueroa)

Estudios realizados en piel humana normal han establecido que los queratinocitos expresan el receptor B1 (RB1) y B2 (RB2) de cininas. Nuestros estudios muestran que estos receptores al ser estimulados activan mecanismos de señalización intracelular relacionados con proliferación y diferenciación celular además de migración. De igual manera, hemos demostrado que el RB1 es expresado en queratinocitos humanos neoplásicos activando importantes vías de señalización. Nuestro objetivo fue determinar el efecto de la activación del RB1 y RB2 sobre la adhesión celular y la expresión de las integrinas $\alpha 5$ (ITGA5) y $\beta 4$ (ITGB4), en queratinocitos normales y neoplásicos. Mediante western blot observamos que la activación del RB2 induce un aumento en los niveles de expresión de ITGB4 en queratinocitos normales y una disminución de ITGA5 en queratinocitos neoplásicos. Sin embargo, la activación del RB1 tanto en queratinocitos normales como neoplásicos muestra una disminución de ITGB4 e ITGA5. Por otra parte, los ensayos de adhesión celular a colágeno I muestran que la activación de ambos receptores favorece la adhesión tanto de queratinocitos normales como neoplásicos. Nuestros resultados indican que la activación de RB1 y RB2 modula la expresión de integrinas ITGB4 e ITGA5 y la adhesión de queratinocitos humanos normales y neoplásicos.

FONDECYT 3130385, Chile y DID-UACH

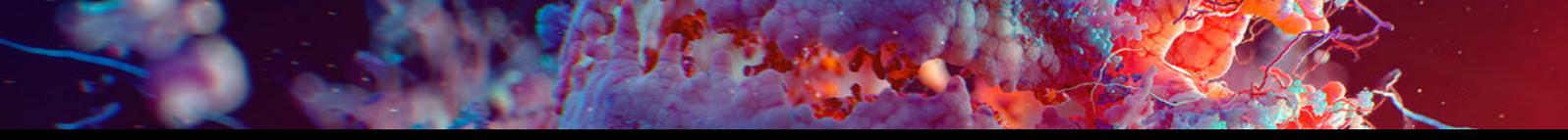


90.- IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES DE INMUNOCOMPETENCIA EN CULTIVOS PRIMARIOS DE HEMOCITOS DE ARGOPecten PURPURATUS.

Oyanedel, D¹., Schmitt, P.¹.,González, R.².,Brokordt, K.².,Mercado , L.¹.,¹Grupo de Marcadores Inmunológicos en Organismos Acuáticos, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.²Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA) Universidad Católica del Norte. (Sponsored by Luis Alberto Mercado Vianco)

La industria nacional de cultivo del ostión del norte, *Argopecten purpuratus*, ha disminuido significativamente su producción debido a mortalidades masivas. Por lo tanto, el desarrollo de estrategias de gestión para prevenir y controlar enfermedades requiere de la caracterización de los mecanismos de respuesta inmune de este bivalvo. En este trabajo se estudiaron componentes moleculares asociados a esta respuesta para la identificación de potenciales marcadores inmunológicos. Se seleccionaron una serie de genes inmunes efectores y reguladores, cuyas secuencias parciales fueron obtenidas mediante PCR con partidores degenerados. Se identificó el regulador de la vía Rel/NF- κ B, inhibidor kappa beta (I κ B); los componentes de la respuesta antioxidante Catalasa, Superóxido Dismutasa Cu/Zn intracelular y Peroxirredoxina; y los efectores antimicrobianos Big Defensina y Ferritina. Para la evaluación de la expresión *in vitro* de estos genes en respuesta a patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMPs), se establecieron cultivos primarios funcionales de las células inmunocompetentes los hemocitos. Para esto, se realizaron (i) ensayos de viabilidad celular, (ii) producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y (iii) capacidad fagocítica. La modulación de la expresión de los genes identificados fue evaluada por RT-qPCR en cultivos primarios desafiados con el β -glucano zimosán y *Vibrio splendidus*, identificándose una sobreexpresión de Big defensina y Catalasa en respuesta a Zimosán. La expresión de los genes fue evaluada *in vivo* en animales desafiados para definir potenciales marcadores inmunológicos utilizables en campo.

PROYECTO FONDECYT 1140849-2014/CEAZA



92.- CORTISOL MODULA LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE GLUCOCORTICOIDES GR1 Y GR2 EN CÉLULAS SHK-1 DE SALMO SALAR .

Miranda^{3,1}. C, González-Stegmaier, R.^{3,1}, Pérez, T.³, Kausel, G.², Figueroa, J.^{2,3,1}, Vega, M.², Carlos, M.³, Monras, M.³, Enríquez, R.³, **Romero, A.**^{3,1}, ¹Interdisciplinary Center for Aquaculture Research , INCAR, Chile, Centro FONDAF.²Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.³Patología Animal, Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Cortisol es el principal glucocorticoide en peces y su acción celular lo realiza a través de la unión a su receptor GR. Este estudio logró identificar *in silico* la región codificante de dos genes del receptor de cortisol GR1 y GR2 de *Salmo salar*. A partir de las secuencias identificadas, se diseñaron partidores específicos de qPCR para analizar la expresión de GR1 y GR2 en la línea celular SHK-1 de *S. salar*, tratada con diferentes concentraciones de cortisol. Los resultados obtenidos muestran que la expresión de GR1 es dosis-dependiente (5-300 ng/mL de cortisol) en células SHK-1 a las 3h post-estimulo. Asimismo, utilizando 150 ng/ml de cortisol, se observó un incremento de la expresión de GR1 de 3,5 veces a las 3 h; 1,6 veces a las 6h y de 6,4 veces a las 24h post-estimulo respecto de las células control. Para GR2, se observó un incremento significativo de 1,3 veces a las 3 h y de 2,8 veces a las 24 h post estimulo. Estos resultados indican que la expresión de ambos genes GR1 y GR2 es inducida por diferentes concentraciones de cortisol en células SHK-1.

Fondecyt 1141006; Fondap 15110027.

94.- RESPUESTA INMUNE HUMORAL Y CELULAR DE TRUCHA ARCOÍRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) FRENTE A IPNV.

Trujillo, A.^{1.}, Espinosa, M.^{2.}, Montero, R.^{2.}, Rodríguez, F.^{2.}, Reyes-Cerpa, S.^{2.}, Imarai, M.^{2.}, ¹Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Universidad de Chile. ²Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Centro de Biotecnología Acuícola.

Introducción: La Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN) es una enfermedad aguda y mortal de los salmónidos. La infección se produce por el virus IPN que causa tanto infección de tipo aguda como persistente en los peces sobrevivientes de los brotes. En este trabajo se evaluó el tipo de respuesta inmune en la infección aguda por IPNV, examinando los niveles y el tipo de anticuerpos totales y neutralizantes producidos contra el virus y los niveles de expresión de un grupo de citoquinas involucradas en la respuesta inmune adaptativa.

Métodos: Truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) libres de IPNV fueron obtenidas desde centros de cultivo locales y mantenidas en tanques con agua fresca. El virus utilizado en la infección fue IPNV variante ATCC VR-1318, la cual fue propagada en la línea celular CHSE-214. Los peces se inyectaron con 1×10^5 UFP/mL de IPNV y se analizaron los peces infectados con síntomas y peces controles sin infectar. Se detectaron los anticuerpos IgM e IgT totales y específicos neutralizantes utilizando anticuerpos anti-isotipo. Los niveles de transcritos de IFN- γ , IL-12, IL-10 y TGF β 1 se detectaron en el riñón y bazo de los peces tratados y controles mediante qRT-PCR.

Resultados: Los resultados mostraron que los anticuerpos totales disminuyeron en más de un 50% en todos los peces infectados, mientras que prácticamente no se detectaron anticuerpos neutralizantes específicos en el suero de los peces infectados. En lo que respecta a las citoquinas, el nivel de expresión de IFN- γ e IL-10 aumentó en riñón del grupo infectado mientras que IL-12 e TGF- β 1 no se modifican. Estos resultados difieren de la respuesta producida contra una de las proteínas virales. Los resultados demostraron que la infección aguda por IPNV se produce con muy bajos niveles de respuestas de anticuerpos, lo que parece relacionado con la alta expresión de citoquinas anti-inflamatorias como IL-10.

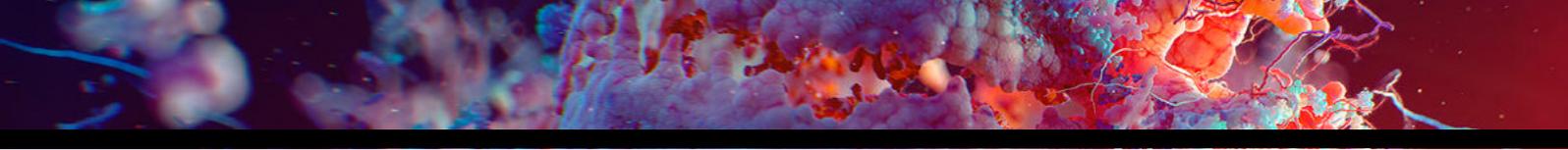
Fondecyt 1130882

96.- ESTUDIO DE LA UNIÓN DE HEMOCIANINAS A LOS RECEPTORES DE LECTINA TIPO C MR Y DC-SIGN.

Villar, J.¹, Del Campo, M.¹, Mitchell, D.I.², Martínez-Pomares, .³, Becker, M. I.¹,¹(FUCITED) Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo .²Medical School University of Warwick.³Life Sciences University of Nottingham. (Sponsored by María Inés Becker Contreras)

Las hemocianinas de gastrópodos, como *Megathura crenulata* (KLH), *Concholepas concholepas* (CCH) y *Fisurella latimarginata* (FLH), presentan efectos inmunomoduladores de diferente intensidad por lo cual han sido utilizados como inmuno-estimulantes no específicos en terapias antitumorales. Para explicar esta propiedad se han invocado características estructurales como su alto contenido de azúcares (3% (p/p) aprox.), siendo manosa, fucosa y N-acetilglucosamina las mayoritarias. Sin embargo, se ha estudiado escasamente su unión a receptores lectina tipo C de la inmunidad innata en células presentadoras de antígenos (APCs), como el MR (*Mannose Receptor*) y DC-SIGN (*Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin*); y el rol de estos receptores en su internalización. Para caracterizar la interacción de estas tres hemocianinas con estos receptores, se realizaron ensayos de unión con las hemocianinas nativas y desglicosiladas, del tipo ensayo inmunoenzimático (ELISA y por *resonancia* de plasmones superficiales (SPR), observándose que estas proteínas se unen con diferentes afinidades a cada receptor. Además, se evaluó la incorporación mediada por estos receptores en APCs murinas y humanas, y en células CHO transfectadas con el MR mediante citometría de flujo, encontrándose que estos receptores participan en la internalización *in vitro* de estas hemocianinas.

FONDECYT 1151337



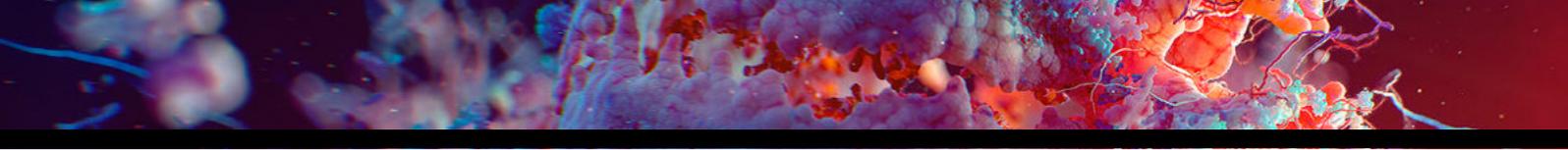
98.- PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE MIROSINASA (B-THIOGLUCOSIDASE GLUCOHYDROLASE) DE BRÓCOLI.

Mahn, A.^{1.}, Angulo, A.^{1.,1}Ingeniería Química, Ingeniería, Universidad de Santiago de Chile.

La enzima mirosinasa (E.C. 3.2.1.147) se encuentra en vegetales del género Brassicaceae, y cataliza la hidrólisis de glucosinolatos a isotiocianatos o “mustard oils”, los que son de interés para la industria alimentaria y farmacéutica debido a sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas. Por primera vez se logró purificar la mirosinasa de brócoli desde un extracto acuoso, utilizando precipitación con sulfato de amonio seguida de cromatografía de afinidad a concanavalina A. Se alcanzó una recuperación de 88% y un incremento en la pureza de 1318 veces con respecto al extracto inicial. Estos niveles de recuperación y purificación son muy superiores a los reportados para otras mirosinasas.

La enzima purificada se caracterizó en términos de unidad biológica, tamaño molecular y propiedades cinéticas. Los resultados indican que la molécula está compuesta por tres subunidades de 50 – 55 kDa, dando un tamaño molecular de 157 kDa para la molécula nativa. La enzima mostró máxima actividad sobre sinigrina a 40°C y a pH inferior a 5.0. Los ensayos cinéticos sugieren que la mirosinasa de brócoli está sujeta a inhibición por sustrato. Se estimaron los parámetros cinéticos ajustando los datos al modelo de Michaelis – Menten, resultando en V_{max} igual a 0.246 [mmol min⁻¹], K_m igual a 0.086 [mM], y K_i igual a 0.368 [mM].

Proyecto Fondecyt N°1130384 y DICYT-USACH

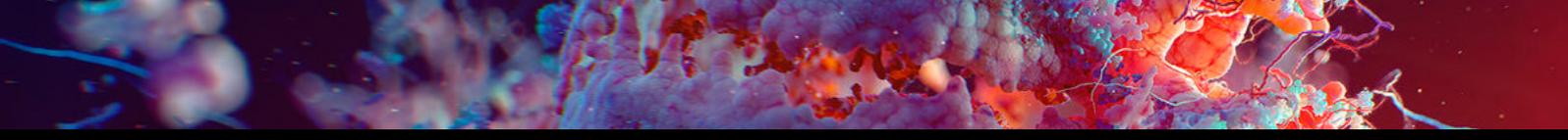


100.- ESTUDIO DEL CONTENIDO PROTEICO DE ASCORBATO PEROXIDASA CITOSÓLICA (APXC), ATPASAS TIPO P Y CHAPERONAS DE COBRE PARA SOD EN PLANTAS DE POLYPOGON AUSTRALIS TRATADAS CON COBRE.

Muñoz-Rojas, A.^{1.}, Barros-Vásquez, D.^{2.}, Ortiz-Calderón, C.^{1.},¹Laboratorio de Bioquímica Vegetal y Fitorremediación, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.²Laboratorio de Bioquímica Vegetal y Fitorremediación, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Polygona australis, es una especie nativa que crece en sitios con altos niveles de cobre, acumulándolo en sus tejidos, tolera 626 μM Cu^{+2} *in vitro* y al ser tratada con un RIL minero ácido, acumula 5.160 y 7.650 mg Cu^{+2} /Kg p.s. en hojas y raíces, respectivamente. La tolerancia a Cu^{+2} y la acumulación del metal exhibido por la planta, podría estar mediado por la actividad de proteínas que facilitan el secuestro y compartimentación de cobre intracelular, además de enzimas asociadas al sistema detoxificador. En este trabajo se estudió el efecto del tratamiento de plantas de *P. australis* con una solución de CuSO_4 50 μM a pH 5,1 sobre el peso seco, contenido de proteínas y niveles de ATPasas de tipo P, cAPX y CCSs. Los resultados indicaron un incremento en el contenido proteico entre las 12 y 48 horas, activación de los sistemas proteicos estudiados y del sistema detoxificador de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs).

Proyecto CORFO 09CN14-5795



102.- EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN DE SULFATO EN LA ACTIVACIÓN DE GLUTATIÓN REDUCTASA Y EL POTENCIAL REDOX CELULAR EN RAÍCES DE *L. PERENNE* EXPUESTO A TOXICIDAD DE Al^{3+} .

Vera, H¹., Galvez, A.¹., Mercado, A. ²., Wulff-Zottele, C. ².,¹Biomedico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.²Biotecnología, Ciencias del Mar, Universidad de Antofagasta. (Sponsored by Cristian Wulff-Zottele)

La acidificación de suelos tiene como consecuencia el incremento de Al^{3+} , que es tóxico para las raíces de plantas. Para mitigar la toxicidad de Al^{3+} , en suelos ácidos se aplican enmiendas calcáreas, tales como yeso. Sin embargo, el conocimiento del efecto del sulfato, contenido en el yeso, a nivel fisiológico en plantas expuestas a Al^{3+} es limitada. La toxicidad de Al^{3+} está relacionada con la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) que provocan daño a nivel celular en membranas biológicas. Previamente se ha establecido que diferentes condiciones de fertilización con sulfato afectan directamente reduciendo la generación de EROS y la activación de vías catabólicas antioxidantes (ej: Ciclo de Halliwell Asada), que son resultantes de la toxicidad de Al^{3+} a largo plazo en raíces de *L. perenne*. En este trabajo se evaluó la actividad enzimática de glutatión reductasa (GR), concentraciones de metabolitos antioxidantes, como glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG), y el potencial redox intracelular en raíces de *L. perenne* cultivado en condiciones crecientes de sulfato (120 a 360 μ M) por 48 horas. Los resultados demostraron que el incremento de fertilización de sulfato aumentó la actividad de GR, resultando en variaciones en las razones de GSH/GSSG que afectaron el potencial redox intracelular en raíces expuestas a toxicidad de Al^{3+} a corto plazo.

Financiación: FONDECYT 1130655

Auspiciadores



FUNDACIÓN CHILENA
PARA BIOLOGÍA CELULAR

