

PL-33. Expresión diferencial de los micro-ARN en células endoteliales infectadas con virus del dengue

Diego Álvarez, Natalia Campillo-Pedroza, Juan Carlos Gallego-Gómez

Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Instituto de Investigaciones Médicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

La patogénesis del virus del dengue es producto de la interacción de factores virales, genéticos y del sistema inmune del huésped. Existe una seria disfunción en la microvasculatura en el dengue grave, que constituye el signo patognomónico del cuadro clínico. Sería de gran utilidad identificar los biomarcadores solubles provenientes de la microvasculatura infectada con el virus del dengue tanto para el diagnóstico y el pronóstico como para entender los mecanismos celulares asociados con la gravedad.

El objetivo del estudio fue determinar, cuantificar y explicar la expresión diferencial de los micro-ARN provenientes del genoma de las células endoteliales infectadas con el virus del dengue.

Se infectaron de manera sincronizada células endoteliales de microvasculatura humana cultivadas en condiciones basales usando una multiplicidad de infecciones de 5 unidades formadoras de placa por célula. Se construyeron librerías de micro-ARN para la secuenciación de última generación (NGS) usando ARN total de células recolectadas a las 3, 12, 24 y 48 horas después de la infección. Las lecturas de los micro-ARN se analizaron mediante herramientas computacionales para la identificación de los micro-ARN anotados y putativos expresados diferencialmente. Se recurrió a bases de datos en línea para dilucidar los posibles mecanismos celulares alterados durante la infección a partir de los blancos putativos de los micro-ARN expresados diferencialmente.

En comparación con el control, se encontraron cuatro micro-ARN distintos expresados diferencialmente a las 3 y 24 horas después de la infección. Además, se hallaron 67 micro-ARN putativos mediante herramientas de predicción computacional específicas. El análisis de las redes con genes blanco de micro-ARN con mayor expresión diferencial sugiere alteraciones en procesos celulares como la angiogénesis, la proliferación celular, la supervivencia, la migración y el mantenimiento de uniones adherentes.

Las células endoteliales infectadas con virus del dengue 2 presentaron alteraciones en la expresión de los micro-ARN que pueden regular genes implicados en el mantenimiento de la función de la barrera endotelial, como son las proteínas tirosina fosfatasas, las fosfatasas y los factores de crecimiento.

..... X

PL-34. El papel del inmunomodulador ST2 soluble durante la infección *in vitro* con virus del dengue al regular negativamente la producción de la IL-8 en macrófagos humanos infectados

Nadia Castañeda-García, Félix G. Delgado, Jaime E. Castellanos

Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

Los niveles de ST2 soluble registran aumentos significativos en los pacientes con dengue grave. La ST2 soluble controla la expresión de citocinas en eventos inflamatorios tales como los que ocurren en la sepsis y el asma alérgica.

El objetivo del estudio fue determinar el papel de la molécula ST2 soluble como reguladora de la respuesta inflamatoria en la infección *in vitro* con virus del dengue.

Se infectaron macrófagos humanos U937 con virus del dengue 2 en diferentes multiplicidades de infección y tiempos, y los sobrenadantes del cultivo se sometieron a la prueba ELISA para cuantificar los niveles de ST2 soluble. Los niveles del ARN mensajero de la ST2 soluble se cuantificaron usando PCR cuantitativa. Se estimularon células endoteliales con sobrenadantes de macrófagos humanos infectados con el virus del dengue 2 y los niveles de proteína y de ARN mensajero de la ST2 soluble se cuantificaron mediante ELISA y PCR cuantitativa, respectivamente. Por último, los macrófagos U937 infectados con el virus se trataron con ST2 soluble recombinante humana y los niveles de citocinas proinflamatorias se cuantificaron por citometría de flujo y PCR cuantitativa después del tratamiento.

Se detectó el antígeno viral en más del 85 % de las células U937; la mayor producción de virus se registró a las 72 horas de la infección (log 4,5 ufp/ml). El ARN mensajero y la proteína de la ST2 soluble no fueron inducidos por la infección con