

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTITULO**

**ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE
DOS POBLACIONES DE *MYTILUS CHILENSIS*
MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES**

MARÍA FERNANDA BARRERA DEL VALLE

Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2009.

La producción del bivalvo *Mytilus chilensis* (chorito) se concentra en centros de cultivo de la Isla de Chiloé. A pesar del gran desarrollo de la miticultura, las características genéticas de las poblaciones han sido poco estudiadas en Chile. Con el fin de investigar la estructura genética de dos poblaciones separadas por una gran distancia geográfica, ubicadas en las localidades de Conchas Blancas (Región de los Lagos) y Golfo Almirante Montt (Región de Magallanes), se emplearon ocho marcadores microsatélites y el marcador de DNA nuclear "Me 15/16", previamente descritos en otras especies del género *Mytilus*.

Se determinó que, en su mayoría, los individuos de *M. chilensis* de las poblaciones de la bahía de Conchas Blancas y Golfo Almirante Montt presentaron para el marcador "Me 15/16" el mismo patrón de amplificación característico de *M. galloprovincialis* y que además existiría un 10% de individuos híbridos *M. galloprovincialis* / *M. trossulus* en Conchas Blancas, en relación a un 1% presente en Golfo Almirante Montt, lo que podría estar demostrando la existencia de más de una entidad genética en las costas de Chile.

Se estableció que existe una leve diferenciación genética entre las dos poblaciones estudiadas, dado por los análisis de AMOVA, estadístico FST y análisis factorial de correspondencias múltiples, con una tendencia a encontrar mayores niveles de variabilidad genética intrapoblacional en la localidad de Golfo Almirante Montt, correspondiente a un banco natural, en relación a Conchas Blancas; un centro de cultivo.

Al analizar la divergencia genética y las relaciones filogenéticas entre las dos poblaciones chilenas de mitílidos y cinco poblaciones extranjeras representantes de las especies *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus edulis* y *Mytilus trossulus*, se observó que las muestras chilenas se agrupan entre ellas en un nodo diferente al que agrupa a sus congéneres extranjeros.

Estos resultados respaldan los estudios realizados en Chile y en el mundo en relación a las características genéticas de *M. chilensis*, que presenta un alto flujo genético entre sus poblaciones y propiedades que ratifican su estado taxonómico endémico, en relación a las demás entidades del complejo *Mytilus*.

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTITULO**

**DESARROLLO DEL ENSAYO EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)
PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR
CRYPTOSPORIDIUM spp. EN HECES DE TERNEROS DIARREICOS EN CHILE**

PAMELA DEL PILAR MUÑOZ A.

Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2009

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria considerada actualmente como reemergente, descrita en todos los continentes y cuyo principal signo clínico en los rumiantes domésticos neonatos es la diarrea.

El diagnóstico de rutina basado en la detección de los ooquistes de *Cryptosporidium*, en Chile y especialmente en medicina veterinaria, es realizado en las heces de los animales e incluye el examen microscópico de estas muestras procesadas con la tinción de Ziehl Neelsen (ZN). Recientemente se han desarrollado distintos protocolos moleculares usando la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR) a nivel mundial, sobre todo en humanos, para el diagnóstico de este parasitismo, aduciendo su mayor sensibilidad y especificidad.

Por lo anterior resultó de interés desarrollar y estandarizar en Chile un nuevo protocolo de extracción de DNA y de PCR para detectar *Cryptosporidium* **género-específico** en heces diarreicas de terneros. Para esto se utilizaron “primers” específicos para el gen 18S rRNA que

permitieron amplificar una sección blanco del protozoo de 522 pb.

Se recolectaron 205 muestras de terneros diarreicos de dos lecherías de la región Metropolitana, mediante ZN, el 49,75% (n = 102) resultó positivo. De éstas se seleccionaron 58, las que fueron corroboradas por Crypto Strip®, así como 11 negativas. De las primeras, 37 amplificaron la sección blanco, en tanto que en las muestras negativas, los controles negativos y de reacción no se observó producto de amplificación.

Así también se determinó comparativamente el límite de detección de ZN y el PCR, obteniéndose que la técnica molecular detectó una menor cantidad de ooquistes de *Cryptosporidium* (10^4 ooquistes/ml aproximados), que la prueba tradicional de ZN, (2×10^4 ooquistes/ml, aproximados).

Por último se puede concluir que este es el primer protocolo de PCR género-específico desarrollado en Chile y la primera descripción molecular para *Cryptosporidium* en bovinos de la Región Metropolitana de Chile.

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO**

**ESCENARIO EPIDEMIOLÓGICO Y ECONÓMICO DE LA REINTRODUCCIÓN
DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA EN CHILE**

MARIO IGNACIO ALGÜERNO I.

Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2009.

La fiebre aftosa (FA) es considerada una de las enfermedades transfronterizas más importantes de los animales de abasto, debido a las grandes pérdidas económicas que genera en los sistemas productivos.

El objetivo de este estudio es caracterizar epidemiológica y económicamente el impacto de la reintroducción del virus de la FA en Chile, bajo dos estrategias de control diferentes, con el fin de servir como material de apoyo fundamental en los procesos de toma de decisiones sobre las medidas de control más adecuadas y eficientes para enfrentar una emergencia sanitaria.

La metodología de trabajo se divide en dos fases. La primera comprende la evaluación epidemiológica de la reintroducción del virus, mediante la utilización de simulaciones computacionales de brotes de FA y, en la segunda se evaluó el impacto económico que tal hecho tendría sobre la economía del país.

Los resultados indicaron que la estrategia de sacrificio sanitario junto con la aplicación de vacunas presentó valores estadísticamente menores de duración en semanas (3,66) y número de brotes reportados (4,32), en comparación con la estrategia de sacrificio sanitario sin vacunación (3,89 y 4,46).

La estimación de los costos bajo los dos escenarios, afirmó la idea de que la estrategia de aplicar vacunas antiaftosa resulta menos eficiente, en términos económicos, que la estrategia de sacrificio sanitario sin esta medida. Los costos estimados para el escenario con vacunación ascendieron a \$36.355.396.120,73 pesos chilenos, y para el escenario sin vacunación estos fueron de \$20.707.858.630,51. En ambos casos, los mayores costos fueron representados por los ingresos no percibidos debido al cierre de los mercados internacionales (95,92 y 96,01% respectivamente).

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTTÍTULO**

**APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS JERÁRQUICO EN LA
PRIORIZACIÓN DE ENFERMEDADES EN MITÍLIDOS**

MARCELA ALEJANDRA CORTÉS G.

Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2009.

El presente estudio consistió en la utilización de un método de evaluación y decisión multicriterio, para realizar una jerarquización de enfermedades de mitílidos. Se utilizó el Proceso Analítico Jerárquico (AHP) a través del programa computacional Expert choice 2000®.

En la metodología se requirió la participación de un grupo de especialistas del área de la investigación, producción y organismos reguladores, los cuales plantearon los siguientes criterios de priorización: 1) Probabilidades de Difusión e Infectividad; 2) Consecuencias Económicas con impacto en Comercio y Productividad, Consecuencias Biológicas considerando Patogenicidad y Virulencia y 3) Control y/o Erradicación.

Mediante un proceso de priorización y evaluación asignaron un valor numérico a cada componente del problema. Como resultado, las Consecuencias tuvieron la mayor importancia relativa.

Respecto a las enfermedades, las tres primeras prioridades fueron *Marteilia refringens*, Enfermedad Viral y *Haplosporidium tumefacientis*. Los resultados se explican fuertemente por las características de las enfermedades, y la primera por encontrarse en la lista de la OIE.

Finalmente se concluyó que el método AHP, aplicado a problemas de decisión, resultó ser una buena metodología de priorización de enfermedades facilitando el análisis del problema y la priorización en forma grupal.

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTITULO**

**ROL DEL SISTEMA NERVIOSO PARASIMPÁTICO SOBRE EL
CONTROL METABÓLICO EN RATAS ALIMENTADAS CON
DIETA DE CAFETERÍA (ALTA EN GRASA)**

ANGÉLICA MARIA ARAYA S.

Magister en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2009.

La Diabetes Mellitus es una de las patologías metabólicas más prevalentes a nivel mundial y nacional, generando costos socio-económicos importantes. La Diabetes Mellitus tipo 2 es la forma de presentación más común, representando un 85-90% de los casos totales, caracterizándose por una resistencia insulínica en conjunto con una secreción insuficiente de insulina desde las células J3 pancreáticas. En la etiopatogenia de esta enfermedad influyen tanto factores genéticos como ambientales. Así, el consumo de alimentos altamente calóricos y de fácil acceso además de un estilo de vida sedentario llevan a un aumento de peso y a la insulino-resistencia. La secreción de insulina es controlada por diversos estímulos, siendo el principal la respuesta a glucosa y otros nutrientes. Además, se ha descrito que el sistema nervioso autónomo, a través de sus neurotransmisores, es capaz de controlar en parte la secreción de insulina, siendo estimulada por el sistema nervioso parasimpático e inhibida por el sistema nervioso simpático.

En el presente estudio se evaluó el rol de la interrupción del sistema nervioso parasimpático a través de una cirugía de vagotomía subdiafragmática en ratas alimentadas con dieta de cafetería

(alta en grasa) sobre el control glicémico *in vivo* y sobre la secreción de insulina *in vitro*.

El consumo de una dieta de cafetería causó una mayor ganancia de peso en conjunto con pérdida a la sensibilidad a la insulina, pero no pérdida del control glicémico, en cambio la vagotomía realizada a corto plazo causó pérdida del control glicémico independiente de la sensibilidad previa a la insulina que tenían los animales. A largo plazo, la vagotomía causó una pérdida de peso independientemente si la alimentación fue con dieta de cafetería o normal.

A su vez, tanto la vagotomía como el consumo de una dieta de cafetería causaron una pérdida de la respuesta de secreción de insulina *in vitro* frente a un ambiente rico en glucosa, que fue compensado frente a carbacol. Sin embargo, ambos factores en conjunto hicieron que los islotes perdieran la respuesta al agonista colinérgico.

Estos resultados indican que la dieta de cafetería (alta en grasa) afecta negativamente la sensibilidad a la insulina y que la integridad del sistema nervioso parasimpático tiene un rol importante en la secreción de insulina, independientemente del estado previo de sensibilidad a la insulina en dichos animales.

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTITULO**

EXPRESIÓN DE SINDECANO-2, B-CATENINA, E-CADHERINA Y P120-CATENINA EN MUESTRAS DE CÁNCER PRIMARIO DE PROSTATA Y SUS METÁSTASIS A NODULO LINFÁTICO Y HUESO

FEDERICO FRANCISCO CIFUENTES R.

Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2009.

El cáncer prostático es uno de los cánceres más frecuentes que afectan a hombres en el mundo occidental. Se caracteriza por presentar metástasis linfonodales y óseas en sus estados avanzados lo que está asociado a alta mortalidad. El objetivo del presente estudio fue determinar la expresión de las moléculas de adhesión Sindecano-2, β -Catenina, E-Cadherina y p120-Catenina en muestras de cáncer de próstata primario y metástasis a nódulo linfático y hueso. Para esto se trabajó con archivos de biopsia procedentes de dos hospitales públicos y correspondientes a prostatectomías radicales (carcinoma prostático y sus metástasis linfonodales) y muestras de metástasis óseas. En las muestras seleccionadas se realizó inmunohistoquímica convencional y se evaluó la expresión de estas moléculas en cuanto a localización subcelular e intensidad de marca, comparándolas con los mismos parámetros obte-

nidos en sectores de Hiperplasia Prostática Benigna utilizada como control no tumoral.

Sindecano-2 presentó una localización citoplasmática asociada a transformación neoplásica en el tumor primario y en las metástasis linfonodales y óseas. Las moléculas del complejo de adhesión a membrana presentaron un cambio desde su localización normal asociada a membrana plasmática a citoplasmática o nuclear en el tumor primario y las metástasis óseas. En cambio, en las metástasis linfonodales, su localización fue similar al tejido utilizado como control.

Los patrones de expresión observados representarían cambios que le dan al cáncer prostático características particulares de interacción con el estroma favoreciendo la invasión y establecimiento de sus metástasis. El conocimiento de estas dinámicas puede ser de utilidad diagnóstica y terapéutica en el futuro.