

XX Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo



Caja Los Andes, Centro Vacacional La Serena

La Serena, Chile

2-4 de Septiembre de 2009

Patrocinadores

Sociedad de Biología de Chile
Sociedad de Infertilidad
Sociedad de Andrología y Gametología de Chile
Universidad de Chile
Universidad de Valparaíso
Universidad de La Serena
Universidad Austral de Chile
Universidad de Antofagasta
Universidad de la Frontera
Universidad de Concepción

Auspiciadores

MERCK- SERONO
EQUILAB
EDILAB
GENEXPRESS
PHARMABRIL
ARQUIMED

Este año la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo ha decidido entregar, en vez del tradicional bolso de congreso, una bolsa que reúne dos propiedades: está confeccionada en un material mas amigable con el medio ambiente y es el producto de un taller perteneciente a la Fundación Donnebaum, institución sin fines de lucro que contribuye al desarrollo individual y social de las personas con discapacidad intelectual a través de un proyecto educativo orientado a la capacitación e inserción laboral
(www.fundaciondonnebaum.cl).

XX Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo

Caja Los Andes. Centro Vacacional La Serena,
Av. Los Nísperos N°0661, La Serena, Chile.
2,3 y 4 de septiembre de 2009



Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo Directorio 2009

Presidente	:	Donald Brown González
Vice-Presidente	:	Carmen Romero Osses
Past-President	:	Ricardo Moreno Mauro
Director	:	Cecilia Johnson Pena
Director	:	Emilce Silvina Díaz
Director	:	Hugo Díaz Murillo
Director	:	Jennie Risopatrón González
Secretaria	:	Selva Leticia Luna
Tesorera	:	Monika Greiner Gebauer
Encargada de Vínculos	:	Dolores Busso Perkins

XX Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo



Comité Organizador

Prof. Donald Brown
Dra. Dolores Busso
Dra. Carmen Romero
Dr. Alfonso Paredes
Dra. Mónica Greiner
Prof. Leticia Luna

Comité Científico

Dr. Enrique Castellón
Dra. Margarita Vega
Prof. Donald Brown

Comité Premio 2009

Dr. Enrique Castellón
Dr. Patricio Morales
Dr. Pedro Orihuela
Dra. Ana María Ronco

El contenido de cada una de las presentaciones incluidas en esta publicación y el estilo utilizado en cada una de ellas, son de responsabilidad exclusiva de los autores. El Comité Científico tuvo por misión cautelar el formato y la calidad de cada uno de los resúmenes a ser presentados en la XX Reunión Anual de la SCHR.



PROGRAMA RESUMIDO



Miércoles 2 de septiembre

- 14:00 Inscripciones
- 15:00 **Ceremonia Inaugural.** Prof. Donald Brown, Presidente SCHR D
- 15:15 **Homenaje al Dr. Claudio Barros.** Dr. Eduardo Bustos-Obregón
- 15:45 **Miniconferencia: Premio SCHR D año 2008.**
- 16:15 Café
- 16:45 **Simposio 1: Efectos del medio ambiente sobre el desarrollo.**
Coordinador: **Dra. Kathleen Whitlock.**
- Efectos de alcohol, anti-hongos y pesticidas en desarrollo de embriones de pez cebra. **Dra. Kathleen Whitlock.** Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.
 - Efectos de cobre en regeneración de células de línea lateral **Dr. Miguel Allende.** Universidad de Chile.
 - Malformaciones congénitas en humanos. **Dra. María Elena Ojeda** (ECLAMC), Unidad de Genética, Hospital Regional de Rancagua, Chile.
- 18:30 **Conferencia 1: Neuroendocrine and circadian changes during aging in rhesus macaques.** Dr. Henryk Urbanski. Oregon National Primate Research Center, Oregon Health and Sciences University, USA
- 19:30 Cóctel de Bienvenida

Jueves 3 de septiembre

- 9:00 **Sesión de Comunicaciones Libres I**
- 10:30 Café
- 11:00 **Conferencia 2: Oncofertility: Nonhuman Primate Models for Female Fertility Preservation.** Dra. Mary Zelinski. Oregon National Primate Research Center, Oregon Health and Sciences University, USA.
- 12:00 **Sesión de Incorporaciones**
- 13:00 Almuerzo
- 15:00 **Sesión de Comunicaciones Libres II**
- 17:00 Café

17:30 **Conferencia 3: La Progesterona Previene el Aborto Séptico en un Modelo de Pérdida Temprana de la Preñez Inducida por Lipopolisacárido.** Dra. Ana Franchi. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET, Argentina.

18:30 **Sesión de Posters**

Viernes 4

9:00 **Sesión de Comunicaciones Libres III**

10:30 Café

11:00 **Simposio 2: Cáncer en tejidos reproductivos. Aspectos celulares y moleculares.** Coordinador: **Dr. Enrique Castellón.** ICBM, Universidad de Chile.

- Rol de las estatinas en el tratamiento del cáncer ovárico. **Dr. Mauricio Cuello.** Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Variantes moleculares de FSH: ¿nuevos aspectos en reproducción y en terapias oncológicas?. **Dr. Gareth Owen.** Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Mecanismos de resistencia a hormono y quimioterapia en cáncer prostático. **Dr. Enrique Castellón.** Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile.

13:00 Almuerzo

15:00 **Simposio 3: MERCK-SERONO. Caracterización molecular del endometrio humano normal y en disfunciones reproductivas.** Coordinador: **Dr. Luigi Devoto.** IDIMI. Universidad de Chile.

- Expresión génica en receptividad endometrial. **Dr Alejandro Tapia.** IDIMI. Universidad de Chile.
- Modelos heterólogos y homólogos de implantación humana. **Dr. Luis Velásquez.** Universidad de Santiago.
- Caracterización molecular del endometrio durante la receptividad uterina. Efecto del Levonorgestrel. **Dr Alberto Palomino.** IDIMI. Universidad de Chile.
- Alteraciones moleculares en el endometrio de mujeres con síndrome de ovario poliquístico: Potencial causa de fallas en la implantación. **Dra. Margarita Vega.** Hospital Clínico. Universidad de Chile.
- La vía NFkB en endometrio y en endometriosis pélvica. **Dr. Reinaldo González.** IDIMI. Universidad de Chile.

17:00 Café

18:00 Reunión de socios de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo

20:30 **Ceremonia y Cena de Clausura.**

PROGRAMA DETALLADO



- 14:00 Inscripciones
- 15:00 **Ceremonia Inaugural**
Prof. Donald Brown, Presidente SCHRD
- 15:15 **Homenaje al Dr. Claudio Barros**
Dr. Eduardo Bustos-Obregón
Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile
- 15:45 **Miniconferencia: Premio Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo del año 2008.**
Niveles y funcionalidad de moléculas involucradas en el tráfico intracelular de GLUT4 en endometrios de mujeres con síndrome de ovario poliquístico.
Prof. Carlos Rosas.
Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Hospital Clínico, Universidad de Chile, Chile.
- 16:15 Café
- 16:45 **Simposio 1: Efectos del medio ambiente sobre el desarrollo**
Coordinador: Dra. Kathleen Whitlock
- Efectos de alcohol, anti-hongos y pesticidas en desarrollo de embriones de pez cebra.
Dra. Kathleen Whitlock
Centro de Genómica Celular, Centro de Neurociencia de Valparaíso (CNV), Universidad de Valparaíso, Chile
- Efectos de cobre en regeneración de células de línea lateral en el pez cebra.
Dr. Miguel Allende
Departamento de Biología, Centro de Genómica Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile.
- Malformaciones congénitas en humanos.
Dra. María Elena Ojeda
Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), Unidad de Genética, Hospital Regional de Rancagua, Chile.

- 18:30 **Conferencia 1: Neuroendocrine and circadian changes during aging in rhesus macaques**
 Dr. Henryk Urbanski
 Oregon National Primate Research Center, Oregon Health and Sciences University, USA
- 19:30 Cóctel de Bienvenida

Jueves 3 de septiembre

Sesión de Comunicaciones Libres I

Coordinadores:

Dr. Enrique Castellón
 Dra. Rosita Smith

- 9:00 p73 regulates the physiologic apoptosis in male germ cells.
^{1,2}Codelia V.A., ²Cisterna M., ²Alvarez A., ¹Moreno R.D. ¹Depto. Cs. Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Dpto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 9:15 TACE/ADAM17 induce apoptosis en células germinales de rata al procesar el dominio extracelular del receptor c-kit.
Rojas-Benítez D., Lizama C., Moreno R.D.
 Unidad de Reproducción y Desarrollo, P. Universidad Católica de Chile.
- 9:30 Evidencia de imposex en el caracol marino *Xanthochorus cassidiformis* en la costa centro norte de Chile (Neogastropoda: Muricidae).
^{1,2}Naretto J.A., ²Castillo V.M., ²Brown D.I.
¹Fac. de Ciencias del Mar y Recursos Naturales; ²Lab. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, Depto. de Biología y Ciencias Ambientales, Fac. de Ciencias, Universidad de Valparaíso.
- 9:45 NBS1 y 53BP1 ¿participan también en la reparación de la cromatina asináptica en híbridos Robertsonianos?
¹Manterola M., ¹Berríos S., ²Page J., ³Vasco C., ¹Manieu C., ¹Ayarza E., ¹Marchant L., ³Garagna S., ¹Fernández-Donoso R.
¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile,
²Universidad Autónoma de Madrid, ³Università degli Studi di Pavia.

- 10:00 Relación entre la presencia de caspasa 9 activada y anomalías de apareamiento y recombinación cromosómicas en espermatoцитos I de *mus domesticus* 2n=40.
¹Ayarza E., ¹Berrios S., ¹Manterola M., ²Page J., ¹Marchant L., ¹Manieu C., ¹Fernández-Donoso R.
¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Universidad Autónoma de Madrid.
- 10:15 Análisis histológico e inmunohistoquímico para determinar los cambios reproductivos causados por el envejecimiento en testículo de *Octodon degus*.
 Leverton R., Vargas A., Hartley R., Bustos-Obregón E.
 Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 10:30 Café
- 11:00 **Conferencia 2: Oncofertility: Nonhuman primate models for female fertility preservation**
 Dra. Mary Zelinski
 Oregon National Primate Research Center, Oregon Health and Sciences University, USA.

Sesión de Incorporaciones

Coordinadores:

Dra. Carmen Romero
 Dra. Margarita Vega

- 12:00 Complement regulatory proteins interact at molecular level and are colocalized in human endometrium during implantation window.
¹Palomino W.A., ¹Barros D., ¹Kohen P., ¹Devoto L., Lessey B.
¹Institute for Maternal and Child Research University of Chile School of Medicine. ²REI Division Greenville Hospital System, Greenville SC, USA.
- 12:20 Nuevas estrategias de criopreservación de espermatozoides de mamífero: Generación de un banco de germoplasma de equinos de tiro pesado para uso en el Plan Nacional de Fomento Equino.
Ramírez A.
 Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- 12:40 Lipid peroxidation in testis and epididymidis under intermittent hypobaric hypoxia: protective role of ascorbic acid.
Farias J.G., Dirección General de Investigación, Universidad Arturo Prat.

13:00 Almuerzo

Sesión de Comunicaciones Libres II

Coordinadores:

Dra. Cecilia Johnson
Dr. Alfonso Paredes

- 15:00 Metabolización de DHEA a androstenediol en endometrios de mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP).
¹Plaza F., ²Gabler F., ³Valladares L., ^{1,4}Romero C., ^{1,4} Vega M.
¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro, ³INTA, ⁴Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 15:15 La exposición a una dosis alta de estradiol durante la etapa neonatal-infantil desarrolla la condición de ovario poliquístico (PCO) irreversible en la rata.
Cruz G., Lara H.E.
Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- 15:30 Regulación de la expresión génica del transportador de glucosa GLUT4 por el factor de transcripción PPAR- γ en endometrios de mujeres con síndrome de ovario poliquístico insulino resistentes (SOP-IR).
¹Kohan K., ¹Carvajal R., ¹Rosas C., ²Gabler F., ^{1,3}Romero C., ^{1,3}Vega M.
¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro ³Dpto. Obstetricia/ Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 15:45 Inducción de P₄₅₀Arom y SF-1 en células epiteliales endometriales controles por cAMP, PGE₂ y líquido peritoneal de mujeres con endometriosis.
¹Castro J., ¹Torres M., ¹Pino M., ^{1,3}Sovino H., ^{1,3}Fuentes A., ^{2,3}Gabler F., ¹Boric M.A., ¹Johnson M.C.
¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), ²Depto. Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ³Hospital Clínico San Borja Arriarán.
- 16:00 TNF- α está asociada al silenciamiento de una vía no-genómica del estradiol en el oviducto de la rata.
^{1,4}Oróstica M.L., ^{2,3}Zúñiga L.M., ^{1,3,4}Velásquez L.A., ^{1,3,4}Croxatto H.B., ^{1,3,4}Orihuela P.A.
¹Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, USACH, ²Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad

de Ciencias Biológicas, PUC ³Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, ⁴Centro de Desarrollo en Nanociencia y Nanotecnología-CEDENNA.

- 16:15 Diferencias en la expresión génica y/o contenidos proteicos de IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, IGF-IR, ERK_{42/44} y AKT en placentas de recién nacidos pequeños (PEG), adecuados (AEG) y grandes (GEG) para su edad gestacional.
Argandoña F., Rivera J., Johnson M.C., Cassorla F., Iñiguez G.
IDIMI, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 16:30 Diferencias en los efectos sistémicos y locales de la administración de ACTH sobre la síntesis de esteroides ováricos.
^{1,2}Ortega H., ¹Amweg A., ³Paredes A., ^{1,2}Salveti N., ^{1,2}Rey F., ³Lara H.E.
¹Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. ³Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- 16:45 El factor de crecimiento nervioso (NGF) favorece el envejecimiento ovárico.
Díaz A., Lara H.E., Paredes A.
Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- 17:00 Café
- 17:30 **Conferencia 3: La progesterona previene el aborto séptico en un modelo de pérdida temprana de la preñez inducida por Lipopolisacárido.**
Dra. Ana Franchi
Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET, Argentina

18:30 a 20:30

Sesión de Posters

Coordinadores:

Dra. Emilce Díaz

Dr. Hugo Díaz

- Poster 1 Efecto del glutatión en la localización y expresión de los transportadores de vitamina C en el epitelio seminífero de rata.
¹Mancilla H., ¹Maldonado R., ¹Villarroel F., ¹Pulgar E., ¹Yañez A.E., ¹Slebe J.C., ³Vera J.C., ¹Castro M.A., ^{1,2}Angulo C., ¹Concha I.I.

¹Instituto de Bioquímica, ²Instituto de Química, Universidad Austral de Chile, ³Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción.

- Poster 2 Localización de la histona 3 monometilada (H3K4Me1) durante la espermatogénesis de híbridos robertsonianos *Mus domesticus* 2n32.
¹Manieu C., ¹Manterola M., ¹Berríos S., ²Page J., ³Vasco C., ¹Ayarza E., ¹Marchant L., ³Garagna S., ¹Fernández-Donoso R.
¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Universidad Autónoma de Madrid, ³Università degli Studi di Pavia.
- Poster 3 Distribución de la histona H2A.X y su forma fosforilada γ H2A.X durante la profase I de espermatozoides de *Mus domesticus* 2n=40 y en 2n=32 heterocigotos robertsonianos.
¹Marchant L., ¹Berríos S., ¹Manterola M., ²Page J., ¹Ayarza E., ¹Manieu C., ³Garagna S., ¹Fernández-Donoso R.
¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Universidad Autónoma de Madrid, ³Università degli Studi di Pavia
- Poster 4 Disminución de proteínas involucradas en la apoptosis de células germinales en el hombre mayor.
¹Baeza K., ¹Rivera J., ¹Jeria F., ¹Chaucón M.E., ¹Folch C., ²Gabler F., ¹Castro A., ¹Smith R.
¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, ²Depto Anatomía Patológica-Centro, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Poster 5 Niveles proteicos de factores mitocondriales relacionados con la apoptosis testicular.
¹Rivera J., ¹Chaucón M.E., ¹Baeza K., ¹Jeria F., ¹Folch C., ²Gabler F., ¹Madariaga M., ¹Castro A., ¹Smith R.
¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, ²Depto. Anatomía Patológica-Centro Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Poster 6 Efecto de los oviductos y sus secreciones sobre la integridad del ADN espermático de bovinos.
^{1,2}Navarrete P.A., ³Morató R, ⁴Mateu E., ²Paramio M.T., ²Mogas T., ¹Sánchez R.
¹CEBIOR, Depto. de Ciencias Preclínicas, Universidad de La Frontera, ²Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, ³Depto. de Ciencia Animal y de los Animales, Universidad Autónoma de Barcelona, ⁴Depto. de Ciencia Animal y Anatomía, Centro de Investigación en Salud Animal (CReSA), Universidad Autónoma de Barcelona.
- Poster 7 Participación del proteosoma espermático en la fecundación in vitro en bovino.
^{1,2}Sánchez R., ^{1,3}Deppe M., ¹Schulz M., ¹Bravo P., ⁴Morales P., ^{1,3}Risopatrón J.
¹Centro de Biotecnología en Reproducción ²Depto. de Ciencias

Preclínicas, ³Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, ⁴Depto. de Biomedicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

- Poster 8 Desarrollo nuclear y citoplasmático de gránulos corticales durante 48 horas de cultivo en ovocitos de perra.
Luna D., Palomino J., De los Reyes M.
Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- Poster 9 N, N'-dithiobisphthalimide, compuesto aromático disulfurado, es un potente agente espermiostático en humanos.
Flórez M., Díaz E.S., Brito I., Morales P.
Laboratorio Biología de la Reproducción, Universidad de Antofagasta.
- Poster 10 La reacción acrosómica (RA) inducida por fibro-nectina es mediada por tirosina quinasas, PKA Y MAPK en espermatozoides humanos.
Díaz E.S., Yañez A., Pérez B., Pozo P., Morales P.
Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
- Poster 11 La inducción de la reacción acrosómica (RA) por laminina (LN) es mediada por el proteosoma en espermatozoides humanos.
Tapia S., Rojas M., Pizarro E., Morales P., Díaz E.S.
Laboratorio Reproducción Animal, Universidad de Antofagasta.
- Poster 12 Fibronectina y progesterona tienen un efecto sinérgico sobre la reacción acrosómica en espermatozoides humanos, el cual es mediado por PKA.
Pérez B., Pozo P., Morales P., Díaz E.S.
Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
- Poster 13 Inmunodetección de acrosina durante la capacitación in vitro de espermatozoides caninos criopreservados.
Palomino J., De los Reyes M.
Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- Poster 14 Expresión estadio-dependiente de proteínas de la familia ADAM en testículo de rata.
Urriola P.A., Moreno R.D.
Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
- Poster 15 Testicular activity in young and old age male rhesus monkeys exposed to dietary caloric restriction (CR).
^{1,2}Brown D.I., ²Downs J., ²Garyfallou V.T., ²Urbanski H.F.
¹Departamento de Biología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile. ²Division of Neuroscience, Oregon National Primate Research Center.

- Poster 16 Prenatal exposure to testosterone excess modifies Sertoli cells characteristic in rams.
¹Rojas-García P.P., ¹Recabarren M.P., ²Sarabia L., ³Schön J., ³Gabler G., ³Einspanier R., ⁴Maliqueo M., ⁴Sir-Petermann T., ⁵Rey R., ¹Recabarren S.E.
¹Laboratory of Animal Physiology and Endocrinology, Faculty of Veterinary Sciences, University of Concepción, ²Institute of Biomedical Sciences, University of Chile, ³Institute of Veterinary Biochemistry Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, ⁴Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Chile, ⁵Centro de Investigaciones Endocrinológicas, Hospital de Niños "R. Gutiérrez", and Departamento de Histología, Biología Celular, Embriología, Universidad de Buenos Aires.
- Poster 17 Expresión de enzimas esteroideogénicas en cultivos de células de Leydig de machos ovinos expuestos prenatalmente a testosterona. .
¹Palma S., ¹Tobar H., ¹Rojas-García P.P., ¹Recabarren M.P., ²Sir-Petermann T., ¹Recabarren S.E.
¹ Laboratorio de Fisiología Animal y Endocrinología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán y ²Depto. de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Poster 18 Análisis de dos polimorfismos de nucleótido simple (SNP) en la secuencia génica del receptor de andrógenos en hombres chilenos con falla espermatogénica primaria.
¹Parada-Bustamante A., ¹Madariaga M., ¹Lardone M.C., ⁴Piottante A., ²Valdebenito R., ³Ebensperger M., ³Estrugo A., ¹Pommer R., ¹Castro A.
¹Laboratorio de Andrología Molecular y Reproductiva; Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Hospital Clínico Universidad de Chile. ³Hospital Clínico San Borja-Arriarán ⁴Universidad Andrés Bello.
- Poster 19 Etoposide, una droga anticancerígena, induce activación de metaloproteasas extracelulares en líneas celulares derivadas de células germinales.
¹Lizama C., ²Antonelli M., ³Reyes J.G., ¹Moreno R.D.
¹Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Poster 20 Compuestos fenólicos presentes en mieles y plantas nativas chilenas afectan la viabilidad de células cancerígenas humanas.
¹Urzúa N., ²Moreno R.D., ¹Montenegro G.
¹Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, ² Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

- Poster 21 Efecto del inhibidor GW 441756 en la síntesis del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) en una línea celular de cáncer ovárico. Tapia V., Vega M., Romero C. Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico, Universidad de Chile.
- Poster 22 Expresión de calreticulina humana y su localización en ovario normal y cáncer de ovario epitelial. ¹Espinoza J., ¹Rosas C., ¹Piquer B., ²Gabler F., ³Ferreira A., ⁴Selman A., ^{1,4}Vega M., ^{1,4}Romero C. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile, ²Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ³Programa de Inmunología del ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ⁴Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Poster 23 Incidencia del estrés crónico por frío prenatal sobre el desarrollo folicular del ovario durante la etapa adulta. ^{1,2}González D., ²Araya C., ²Lara H.E., ²Paredes A. ¹Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de las Américas, ²Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- Poster 24 El aumento del factor de crecimiento nervioso disminuye la población folicular en ovario de ratones de diferentes edades. Vega-Villaruel C., ²Dissen G.A., ²Ojeda S.R., ¹Lara H.E., ¹Paredes A.H. ¹Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, ²Division of Neuroscience, ONPRC, Oregon Health and Science University.
- Poster 25 Contribución de las variantes moleculares de FSH al desarrollo y función endocrina del folículo ovárico. ^{1,2}Velásquez E.V., ³Ortiz M.E., ^{2,3}Croxatto H.B., ¹Owen G.I. ¹Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Universidad de Santiago de Chile, ³Instituto Chileno de Medicina Reproductiva.
- Poster 26 Presencia del receptor de LH/hCG en células del cúmulo humanas. Arriagada C., Pustovrh C., Castro O., Villaruel C., Kohen P., Argüello B., Devoto L. Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Hospital San Borja-Arriarán (IDIMI-HCSBA), Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Poster 27 Detección de la mutación progins para el receptor de progesterona en mujeres infértiles con falla de implantación.

^{1,3}Tapia A., ¹Figueroa P., ¹Brito J., ^{1,2}Marín J.C.
¹Facultad de Medicina, Universidad Mayor, ²Facultad de Ciencias, Universidad del Bío Bío. ³Dirección actual: Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

- Poster 28 Metformina aumenta la expresión y activación del factor transcripcional MEF2A en endometrios de pacientes con síndrome de ovario poliquístico insulino resistentes (SOP-IR).
¹Carvajal R., ¹Kohan K., ¹Rosas C., ²Gabler F., ^{1,3} Vantman D., ^{1,3}Romero C., ^{1,3}Vega M.
¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro, ³Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Poster 29 Terapéutica anti-angiogénica aplicada a un modelo murino de endometriosis (EDT).
Ricci A.G., Olivares C., Bilotas M., Meresman G., Barañao R.
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
- Poster 30 Evaluación experimental de Celecoxib y Rosiglitazona como nuevas alternativas terapéuticas para la endometriosis.
Olivares C., Ricci A., Bilotas M., Barañao R., Meresman G.
Instituto de Biología y Medicina Experimental.
- Poster 31 Expresión del RE α , las distintas isoformas del RE β y de GPR30 en endometrio eutópico de mujeres con y sin endometriosis.
¹Araya G., ¹Torres M., ¹Pino M., ¹Boric M.A., ¹Sovino H., ²Gabler F., ¹Fuentes A., ¹Johnson M.C.
¹Instituto de Investigaciones Materno-Infantil (IDIMI), ²Dpto. Anatomía Patológica, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán.
- Poster 32 La exposición de línea celular de coriocarcinoma humano (JEG-3) a cadmio induce una alteración en la expresión del gen *HSD11B2* por mecanismos epigenéticos.
Castillo P., Llaguno E., Epuñan M.J., Llanos M., Ronco A.M.
Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA, Universidad de Chile
- Poster 33 El estrés durante la lactancia induce cambios en el sistema endocanabinoide y factores lipogénicos asociados en hígado de ratón adulto.
Castillo V.A., Valenzuela C.A., Aguirre C.A., Orellana O.A., Ronco A.M., Llanos M.N.
Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.

- Poster 34 Rol de la monoaminoxidasa A (MAO A) durante la implantación embrionaria.
Díaz P., Luz P., Cárdenas H., Orihuela P., Velásquez L.
 Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.
- Poster 35 Evaluación de la toxicidad de glifosato sobre el desarrollo utilizando cultivo de embriones de rata post implantación.
¹Campos C., ¹Flores S., ²Díaz H., ¹Cavieres M.F.
¹Laboratorio de Toxicología, Facultad de Farmacia y ²Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.
- Poster 36 Estudio del efecto del tributilestaño (TBT) en el sistema urogenital de embriones de ratón.
¹Díaz H., ¹Carvajal D., ¹Carrasco R., ²Soler M., ³Cavieres M.F., ⁴Aguilera F., ⁵Esponda P.
¹Depto. de Biología & Cs. Ambientales, Facultad de Ciencias; ²Depto. de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias; ³Facultad de Farmacia; ⁴Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso. ⁵Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC).
- Poster 37 Evaluación morfológica y morfométrica del efecto de la exposición materna al etanol sobre el desarrollo mandibular en ratas.
¹Araneda J., ¹Bazo Y., ²Díaz H., ¹Cavieres M.F.
¹Laboratorio de Toxicología, Facultad de Farmacia y ²Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

20:30 Coctel

Viernes 4

Sesión de Comunicaciones Libres III

Coordinadores:

Dr. Ricardo Moreno
 Dr. Miguel Llanos

- 9:00 Regulación del metabolismo del glucógeno testicular: expresión de malina y laforina.
¹Villaruel F., Mancilla ¹H., ¹Maldonado R., ^{1,2}Angulo C., ¹Castro M.A., ¹Slebe J.C., ¹Concha I.I.
¹Instituto de Bioquímica, ²Instituto de Química, Universidad Austral de Chile

- 9:15 Lactato: factor de supervivencia de espermatoцитos en cultivo.
¹Bustamante-Marín X., ²Quiroga C., ²Lavanderos S., ³Reyes J.G.,
¹Moreno R.D.
¹Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y ³Facultad de Química Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- 9:30 Proteína fosfatasa tipo PP2A participa en la regulación de los eventos iniciales de la capacitación, en espermatozoides humanos.
Signorelli J., Díaz E.S., Arredondo L., Morales P.
Laboratorio de Biología de la Reproducción, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
- 9:45 Descondensación del núcleo espermático en ovocitos de perra inmaduros y madurados *in vitro*.
Vergara J., Palomino J., De los Reyes M.
Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- 10:00 Efecto de la concentración espermática en la incidencia de poliespermia durante la fecundación *in vitro* en caninos utilizando ovocitos inmaduros.
Lisboa J., Palomino J., De los Reyes M.
Laboratorio de Reproducción, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- 10:15 ¿Existen sub-poblaciones de espermatozoides humanos que expresan diferencialmente integrinas y el receptor de progesterona?
Pozo P., Martínez E., Morales P., Díaz E.S.
Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
- 10:30 Café
- 11:00 **Simposio 2: Cáncer en tejidos reproductivos. Aspectos celulares y moleculares.**
Coordinador: Dr. Enrique Castellón. ICBM, Universidad de Chile.
- Rol de las estatinas en el tratamiento del cáncer ovárico.
Dr. Mauricio Cuello. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Variantes moleculares de FSH: ¿Nuevos aspectos en reproducción y terapias oncológicas?
Dr. Gareth Owen. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Mecanismos de resistencia a hormono y quimioterapia en cáncer prostático.

Dr. Enrique Castellón. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

13:00 Almuerzo

15:00 **Simposio 3: MERCK-SERONO.** Caracterización molecular del endometrio humano normal y en disfunciones reproductivas. Coordinador: Dr. Luigi Devoto. IDIMI. Universidad de Chile.

Expresión génica en receptividad endometrial.

Dr. Alejandro Tapia. IDIMI. Universidad de Chile.

Modelos heterólogos y homólogos de implantación humana.

Dr. Luis Velásquez. Universidad de Santiago.

Caracterización molecular del endometrio durante la receptividad uterina. Efecto del Levonorgestrel.

Dr. Alberto Palomino. IDIMI. Universidad de Chile.

Alteraciones moleculares en el endometrio de mujeres con síndrome de ovario poliquístico: Potencial causa de fallas en la implantación.

Dra. Margarita Vega. Hospital Clínico. Universidad de Chile.

La vía NFkB en endometrio y en endometriosis pélvica

Dr. Reinaldo González. IDIMI. Universidad de Chile.

17:00 Café

18:00 Reunión de socios de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo

20:30 **Ceremonia de Clausura:**

Entrega del Premio Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo al Mejor Trabajo Presentado, año 2009.

Recepción de los nuevos socios

21:00 **Cena de Clausura:**

CONFERENCIAS



NEUROENDOCRINE AND CIRCADIAN CHANGES DURING AGING IN RHESUS MACAQUES.

Urbanski H.F.

Division of Neuroscience, Oregon National Primate Research Center, Beaverton, Oregon 97006-3448, USA.

Like humans, rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) show age-related decreases in sleep quality, cognition and reproductive function. Furthermore, because monkeys can be maintained under strictly controlled environmental conditions, they represent a valuable animal model in which to study the etiology of normal and pathological human aging. Recently, we began examining how the neuroendocrine axis of rhesus monkeys changes during aging, and how this change impacts brain physiology. One important finding is that plasma testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) – two steroids that act as precursors in the synthesis of estradiol – both have pronounced 24-hour rhythms, and both show marked age-related decreases. We have also begun using gene microarrays to identify age-related changes in gene expression, and so far have made two important observations. First, many peripheral organs, such as the testis and adrenal gland, express the same well-established circadian clock mechanism that exists in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the brain; this raise an interesting possibility that desynchronization of various circadian rhythms may contribute to the cause of age-related disorders. Second, many brain regions express genes that are involved in the intracrine conversion of DHEAS to estradiol, and some of these genes themselves show an age-related change in expression; this suggests that brain functions may be affected by decreased steroid hormone secretion, not only from the gonads but also from the adrenal glands. Our hope is that these results will help to lay a foundation for the development of more effective hormone replacement therapies for human aging-related disorders, especially in postmenopausal women.

This work was supported by National Institute of Health grants: AG029612, HD029186 and RR000163.

ONCOFERTILITY: NONHUMAN PRIMATE MODELS FOR FEMALE FERTILITY PRESERVATION.

Zelinski M.B.

Division of Reproductive Sciences, Oregon National Primate Research Center, Beaverton, Oregon 97006-3448, USA.

Radio- and chemotherapy destroy reproductive germline cells in the gonads, causing infertility. Unlike men who can cryopreserve semen, methods for preventing ovarian failure in women and girls surviving cancer remain experimental. Two strategies for fertility preservation form the basis for current research in oncofertility. First, elimination of the gametotoxic effects of cancer therapies on the ovary in vivo was achieved in mice wherein pretreatment with sphingosine-1-phosphate (S1P), an anti-apoptotic agent, prevented oocyte death and preserved fertility. Intraovarian delivery of S1P or S1P agonist prior to ovarian X-irradiation also protects nonhuman primate follicles from apoptosis, allows the return of ovarian cyclicity, and yields oocytes capable of fertilization, embryonic development and production of live offspring. The second strategy involves removing the gametes/ovary prior to radio- or chemotherapy followed by cryopreservation, and returning gametes or embryos for fertility after eradicating the cancer. Remarkable advances in three-dimensional (3D) culture of mouse follicles in an alginate matrix led to mature oocytes capable of fertilization with subsequent live offspring. This technique reduces limitations of transplantation strategies, such as re-introducing cancer cells and grafting ovarian tissue at accessible, patient-acceptable sites. An alginate-based, 3D culture system is under development in rhesus monkeys, and early results indicate it can support the survival, growth and steroid production of preantral follicles and their oocytes to antral stages. Thus, nonhuman primate models are now available to pursue the translational goal of producing developmentally competent oocytes for fertility preservation in female cancer survivors.

Supported by HD045787, RR00163, and Oncofertility Consortium UL1DE019587, RO1B-HD058294, PL1-EB008542.

LA PROGESTERONA PREVIENE EL ABORTO SÉPTICO EN UN MODELO DE PÉRDIDA TEMPRANA DE LA PREÑEZ INDUCIDA POR LIPOPOLISACARIDO (LPS).

Aisemberg J., Vercelli C., Wolfson M., Billi S., Cella M., Ribeiro M.L., Farina M., Franchi A.M.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYBO). Buenos Aires, Argentina. afranchi@mail.retina.ar

Las infecciones del tracto genital inducen aborto y parto prematuro pero los mecanismos involucrados no están fehacientemente dilucidados. En nuestro laboratorio hemos establecido un modelo de aborto séptico en el que la administración de dosis bajas de lipopolisacárido de *E. Coli* (LPS) a hembras preñadas Balb/C en el día 7 de gestación produce un alto porcentaje de reabsorción embrionaria (RE) con la posterior expulsión fetal. En este efecto hemos encontrado que están implicados el sistema nitrérgico y las prostaglandinas. El tratamiento con Progesterona (P), hormona que se encuentra disminuida en este modelo, retrasó en más de 48 h la RE y en un alto porcentaje la previno. Al mismo tiempo inhibió el aumento observado de óxido nítrico, PGE₂ y TNF α . Uno de los mecanismos que explican que el feto no sea rechazado es la presencia de moléculas inmunomoduladoras inducidas por P en la unidad feto-placentaria. Por ello caracterizamos la producción por el útero y la decidua de dos de estas moléculas: PP14 o glicodelina (Proteína endometrial dependiente de P) y LIF (Factor inhibidor de leucemia). La glicodelina se expresa en el tracto reproductivo materno, especialmente durante la preñez temprana y tiene efectos anti-inflamatorios. El LIF es una citoquina indispensable para la implantación del blastocito murino. Los niveles proteicos de glicodelina están disminuidos en los animales tratados con LPS mientras que la expresión de LIF se encuentra aumentada, lo que es bloqueado por la P. La anandamida (AEA, N-araquidoniletanolamina), uno de los endocannabinoides más estudiados, forma parte de la compleja red de interacciones entre hormonas y citoquinas que regulan la fertilidad en humanos. La AEA modula la implantación del blastocisto y los cambios uterinos que permiten la anidación en el endometrio sin embargo niveles altos de esta molécula producen aborto y retraso en el crecimiento fetal. En estudios *in vitro* observamos que el LPS aumenta la producción de AEA y disminuye su degradación. Además, la AEA a través de sus receptores estimula la expresión de la NO sintasa inducible y la producción de NO en el útero de hembras gestantes incubados con LPS. También, la desorganización tisular desencadenada por el tratamiento con LPS es revertida por la co-incubación con un antagonista selectivo de los receptores de AEA. Los linfocitos periféricos de los animales preñados presentan mayor actividad de FAAH (enzima metabolizante de la AEA) que los no preñados. Además, encontramos que la P es capaz de revertir la inhibición que ejerce el LPS sobre la actividad de la FAAH en linfocitos murinos. Hasta ahora la terapéutica más aceptada para prevenir la pérdida temprana del embarazo son los progestágenos. En este sentido estos resultados sugieren que varias moléculas inflamatorias están involucradas en la RE inducida por LPS y que su modulación por P puede ser una herramienta útil para prevenir el aborto séptico.

**MINICONFERENCIA
PREMIO
SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO
2008**

NIVELES Y FUNCIONALIDAD DE MOLÉCULAS INVOLUCRADAS EN EL TRÁFICO INTRACELULAR DE GLUT4 EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP).

(Levels and function of molecules involved in the intracellular GLUT4 traffic in endometria from women with Polycystic Ovary Syndrome).

¹Rosas C., ¹Kohan K., ¹Carvajal R., ²Gabler F., ^{1,3}Romero C., ^{1,3}Vega M.

¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro ³Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En endometrios de pacientes-SOP insulino-resistentes existe una menor expresión génica y proteica del transportador de glucosa 4 (GLUT4). Sin embargo, se desconoce el estado funcional y niveles proteicos de moléculas reguladoras del tráfico de GLUT4 a la membrana plasmática como AS160 y Rab10; así como, de WASP que participaría en la exposición de GLUT4 en membrana. El objetivo fue evaluar si en la condición SOP existen modificaciones en la expresión y/o en el estado funcional de proteínas involucradas en la regulación del tráfico de vesículas con GLUT4. En muestras de endometrios controles proliferativos (ECp n=7), secretores (ECs n=7) y SOP proliferativos con y sin insulino-resistencia (ESOPp-IR n=7; ESOPp-nIR n=7, respectivamente), se determinó la localización de AS160 fosforilada en Thr⁶⁴² (pAS160T⁶⁴²) y Rab10 por Inmunohistoquímica, de WASP por inmunofluorescencia y los niveles proteicos de todas mediante Western Blot, normalizados con β -actina. Se evaluó el porcentaje de colocalización de WASP con α -tubulina por inmunofluorescencia. Observamos pAS160T⁶⁴² aumentada en ECs versus ECp ($p < 0,05$). En ESOPp-IR, pAS160T⁶⁴² disminuyó respecto a ECp, al igual que la relación pAS160T⁶⁴²/AS160-total ($p < 0,05$). Rab10 se localizó a nivel del epitelio y estroma endometrial, siendo similar los niveles proteicos en todos los grupos. El nivel proteico de WASP disminuyó en ESOPp-IR versus ECp, al igual que su colocalización con los microtúbulos ($p < 0,05$). Los resultados sugieren que el ambiente hiperinsulinémico-hiperandrogénico regula negativamente los niveles y el estado funcional de moléculas asociadas a la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática, pudiendo comprometer la capacidad fértil de estas mujeres.

Financiamiento FONDECYT #1050098 y #1095127.

SIMPOSIOS



EFFECTOS DE MEDIOAMBIENTE EN EL DESARROLLO DE EMBRIONES DE PEZ CEBRA: OLORES, ALCOHOL, Y PESTICIDAS.

¹Whitlock K. E., ¹Boric K., ²Harden M. V., ²McKenzie M. G., ¹Maturana C.

¹Centro de Genómica Celular, Centro de Neurociencia de Valparaíso (CNV), Universidad de Valparaíso, Avenida Gran Bretaña 1111, Valparaíso, Chile. ²Department of Molecular Biology and Genetics, Cornell University, Ithaca NY.

Nuestro laboratorio esta investigando los efectos del medioambiente sobre el desarrollo de embriones de vertebrados. Estamos usando el sistema modelo de pez cebra par ver efectos del ambiente natural y del ambiente que contiene contaminantes hechos por humanos. Anteriormente hemos mostrado que el ambiente natural (olores) afecta la expresión de genes en el sistema olfatorio, y este cambio tuvo correlación con la formación de memorias olfatorias. También estamos trabajando con químicos en el medioambiente que no son naturales y que podrían tener efectos negativos en el desarrollo de embriones. Hemos mostrado que el alcohol afecta el desarrollo de células cráneo-faciales que tienen su origen en cresta neural craneal. Los defectos que observamos son similares a aquellos observados en humanos que sufren de síndrome alcohol fetal. Además el alcohol puede reducir la expresión de genes que codifican ligandos y receptores importantes en la migración de las células de cresta neural. En resumen nuestros datos muestran que el desarrollo de embriones es un proceso dinámico que depende en parte de sus interacciones con el medioambiente.

Funding Sources: FONDECYT 1071071, CGC/ICM-P06-039F, NIH/NICHD R01HD050820.

EFFECTOS DEL COBRE EN REGENERACIÓN DE CÉLULAS SENSORIALES DE LA LÍNEA LATERAL EN EL PEZ CEBRA. (Effects of copper on regeneration of lateral line sensory cells in zebrafish).

Allende M.L.

Centro de Genómica Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. allende@uchile.cl

Por varios años, hemos analizado los efectos que genera el cobre disuelto en el agua sobre el desarrollo del pez cebra, un modelo de amplio uso en investigación básica en biología del desarrollo y genética y más recientemente propuesto como organismo centinela ambiental. En un hallazgo fortuito, detectamos un efecto tóxico altamente específico de este metal sobre las células ciliadas encargadas de la mecanotransducción, que forman parte de la línea lateral del pez. Este órgano es esencial para la sobrevivencia del animal ya que es usado para la detección de presas y predadores, para el cortejo y el nado en cardúmen. Usando larvas de pez, encontramos que las células ciliadas expuestas a cobre muestran altos niveles de estrés oxidativo y mueren vía apoptosis y necrosis. Notamos además, que el daño producido en este órgano es dependiente de la concentración de cobre en el agua. Dosis bajas eliminan sólo las células ciliadas y, una vez removido el metal, éstas pueden regenerar. Concentraciones más altas eliminan permanentemente este sistema mecanosensor, indicando un efecto sobre las células progenitoras. Por otro lado, un análisis mediante microarreglos para detectar genes inducidos por cobre reveló el aumento de marcadores del sistema inmune innato luego de tratamientos con el metal. En experimentos recientes, encontramos una activación y migración específica de macrófagos a los órganos dañados por cobre, generándose un modelo reproducible y eficiente de respuesta inflamatoria. Discutiremos las diversas aplicaciones biotecnológicas que estos hallazgos nos ofrecen.

Financiamiento: ICM P06-039F.

MALFORMACIONES CONGÉNITAS EN RECIÉN NACIDOS VIVOS.

Ojeda Bustamante M. E.

Unidad de Genética, Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), Hospital Regional de Rancagua.

En el Hospital Regional Rancagua (HRR) de la sexta región, Chile, se ha implementado desde 1996, el sistema de registro y vigilancia epidemiológica del Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), en la modalidad caso control, programa de investigación clínica y epidemiológico de las malformaciones congénitas (MC), que opera con nacimientos hospitalarios en países latinoamericanos. Esta vigilancia de más de una década, ha permitido establecer la frecuencia de las MC en el HRR, con una metodología comparable a otros hospitales del ECLAMC, pudiendo científicamente establecerse que (1) la frecuencia total de MC es similar a otros hospitales de Chile, (2) se confirma los efectos beneficiosos de la fortificación de la harina con ácido fólico con respecto a los defectos del tubo neural, y (3) que la tasa de síndrome Down, es mayor que en otros países del ECLAMC.

En esta presentación, se muestran los resultados de esta experiencia, avalada en publicaciones nacionales e internacionales.

POTENCIAL ROL TERAPÉUTICO DE LAS ESTATINAS EN CÁNCER DE OVARIO. (Potential therapeutic role of statins in ovarian cancer).

Cuello M.A.

Unidad de Oncología Ginecológica, Departamento de Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El cáncer ovárico constituye la neoplasia ginecológica más letal en el mundo. En Chile se ha observado un aumento progresivo en el número de muertes por este cáncer, coincidente con el aumento en la incidencia de obesidad y expectativas de vida en la población. Estudios epidemiológicos sugieren la participación de la obesidad en la carcinogénesis ovárica. El mecanismo por el cual la obesidad determina dicho proceso no es completamente conocido pero se hipotetiza que involucraría una respuesta inflamatoria crónica anormal, gatillada por exceso de colesterol. Estudios retrospectivos han mostrado un efecto benéfico de las estatinas, inhibidores de la HMGCoA reductasa, en la prevención y tratamiento de varios cánceres epiteliales. Durante los últimos años nuestro grupo ha trabajado en descifrar las vías que intervienen en la carcinogénesis ovárica. Ello con el interés de identificar nuevos blancos moleculares para el diseño de nuevas estrategias para el tratamiento del cáncer ovárico. Recientemente, trabajando en modelos *in vitro* de cáncer ginecológico, hemos demostrado que las estatinas inducirían muerte celular en cánceres ováricos que poseen una actividad elevada de la HMGCoA reductasa. Más importante aún, este efecto sería mediado sólo por estatinas lipofílicas y no hidrofílicas. Junto a ello, las estatinas tendrían un efecto sinérgico en modular la muerte por agentes quimioterapéuticos. Interesantemente, un estudio retrospectivo reciente ha validado nuestros hallazgos sugiriendo que pacientes quienes fueron tratadas por cáncer ovárico, y que coincidentemente estaban tomando estatinas, tuvieron mejor sobrevida que aquellas no usuarias de tal fármaco. Nuestros resultados apoyan el diseño de estudios clínicos con estatinas en cáncer ovárico.

Investigación financiada por proyecto Fondecyt: 1080163.

VARIANTES MOLECULARES DE FSH: ¿NUEVOS ASPECTOS EN REPRODUCCIÓN Y TERAPIAS ONCOLÓGICAS? (Molecular variants of FSH: New aspects in reproductive and cancer therapies?).

^{1,2}Velásquez E.V., ³Ortiz M.E., ^{2,3}Croxatto H.B., ¹Owen G.I.

¹Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Universidad de Santiago de Chile, ³Instituto Chileno de Medicina Reproductiva (ICMER).

El cáncer derivado de células granulosas es uno de los cánceres de ovario con peor pronóstico. La Hormona Folículo Estimulante (FSH), conocida por su función trófica y esteroidogénica sobre células de la granulosa del folículo, presenta variantes moleculares que difieren exclusivamente en la composición y estructura de sus carbohidratos. Usando como modelo células de la granulosa (CG) y folículos intactos de rata en cultivo evaluamos la actividad biológica de variantes de FSH obtenidas por fraccionamiento de la hormona recombinante comercial. Las fracciones de FSH presentaron efectos diferenciales sobre la producción de estradiol y la proliferación celular. En concordancia, también afectan el crecimiento y destino de folículos en cultivo. Sorprendentemente, una variante produjo muerte de CG en cultivo, efecto totalmente contrario a la clásica actividad de FSH. Interesantemente, el mismo efecto se observó en líneas de cáncer de ovario, pero no en líneas de cáncer de mama y endometrio. En resumen, mostramos por primera vez que solamente la glicosilación puede modificar la función biológica de FSH determinando proliferación o muerte celular. Una fracción que puede producir muerte celular tiene atractivas implicancias en el tratamiento de cáncer de ovario y otros cánceres que responden a FSH. Estudios adicionales de la estructura y mecanismo de acción de las variantes se requieren para establecer sus implicancias fisiológicas y aplicación clínica.

Financiado por CONICYT, FONDECYT #3090066.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A HORMONO Y QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER PROSTÁTICO. (Mechanisms of hormone and chemotherapy resistance in prostate cancer).

Sánchez, C., Vergara, J., Clementi, M., Contreras H.R., Huidobro C., Castellón E.A.

Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

El cáncer prostático presenta una elevada resistencia a la quimioterapia y, en etapas avanzadas, también a la hormono terapia. Los mecanismos que dan cuenta de la resistencia a la quimioterapia se asocian a una sobre-expresión de proteínas de multirresistencia a drogas (MDR), particularmente los transportadores ABC, Gp-P y MRP1, y del complejo transportador LRP. Por otro lado, la hormono resistencia se relaciona con mutaciones del receptor de andrógeno, la desregulación de las vías de factores de crecimiento y la disminución de receptores de GnRH. En nuestro laboratorio hemos estudiado, en un modelo de cultivos primarios de células de carcinoma prostático humano, la expresión de proteínas MDR y el receptor de GnRH, así como los efectos en la sobrevivencia celular de un panel de drogas quimioterapéuticas y de agonistas y antagonistas de GnRH. También hemos evaluado la inhibición funcional (inhibidores farmacológicos) y de expresión (siRNA) de las proteínas MDR, así como el aumento de la destinación a la membrana plasmática de receptores de GnRH (farmacoperonas). Nuestros resultados indican que es posible recuperar parcialmente la sensibilidad de las células de cáncer prostático a la quimioterapia mediante la inhibición de proteínas MDR y a la hormono terapia estimulando la ruta hacia la membrana plasmática de receptores de GnRH retenidos en los sistemas de endomembranas.

Fondecyt 1070827 (EC) y Fondecyt Postdoctoral 3090016 (CS).

EXPRESION GÉNICA Y RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL. (Endometrial gene expression and receptivity).

Tapia A.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El endometrio es un tejido que responde en forma cíclica a niveles circulantes de hormonas esteroidales ováricas, estradiol y progesterona. La genómica funcional (GF) ha permitido una aproximación global para entender la regulación de la expresión génica en el endometrio con miras a traducir este conocimiento en aplicaciones clínicas. Uno de los principales eventos que ocurren durante la implantación embrionaria es el desarrollo de un endometrio receptivo y su diferenciación a decídua. En los últimos siete años, varios estudios se han enfocado en la GF del endometrio y su énfasis se ha centrado en identificar marcadores, además de nuevas vías y procesos celulares que estén involucrados en la adquisición del fenotipo endometrial receptivo en ciclos espontáneos. Otra estrategia útil ha sido el estudio del endometrio en condiciones fisiopatológicas o intervenciones farmacológicas en las que se sabe de antemano que la receptividad endometrial se encuentra comprometida. Estos estudios han generado un gran cúmulo de datos acerca de la regulación y disregulación de la expresión génica endometrial en fase receptiva. Llama la atención que varias biomoléculas clásicamente involucradas en la receptividad endometrial/implantación embrionaria, no aparezcan en varios de los estudios de GF endometrial. Esta discrepancia genera confusión al momento de identificar marcadores que definitivamente están involucrados en la receptividad. Sin embargo, los estudios de GF deben analizarse en forma colectiva, de manera que estos hallazgos provean un marco teórico complementario a lo conocido para orientar futuras investigaciones dirigidas a comprender los procesos fisiológicos y fisiopatológicos del endometrio.

MODELOS HETERÓLOGOS Y HOMÓLOGOS DE IMPLANTACIÓN HUMANA. (Heterolog and homolog models of human implantation).

Velásquez L.

Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Fallas en la implantación embrionaria representan una importante causa de infertilidad y pérdidas recurrentes en mujeres. La implantación humana es un proceso complejo multifactorial que presenta como dificultades adicionales la obtención de tejido humano para preparar cultivos primarios y la imposibilidad de realizar experimentación con embriones humanos. Por ello la implantación se ha estudiado en variados modelos experimentales en animales y otros *in vitro* en los cuales se reemplaza al embrión humanos. Por ello se han desarrollado diversos sistemas y líneas celulares que presentan ventajas y desventajas dependiendo del proceso que desee estudiar. Recientemente, hemos identificado mediante microarreglos candidatos que podrían participar en el proceso de implantación humana. Para estudiar su papel en la implantación humana decidimos desarrollar un sistema de implantación heterólogo utilizando células epiteliales EEC1 transfectadas con los genes a estudiar y embriones de ratón. Al reprimir, sobreexpresar los genes o inhibir farmacológicamente el producto génico se puede determinar los efectos de estas manipulaciones sobre la capacidad de los embriones para unirse a las células epiteliales y el efecto sobre el crecimiento expansivo que se observa en embriones cultivados con células epiteliales. Utilizando este sistema hemos determinado que las monoaminas podrían estar implicadas tanto en la regulación de la implantación como en el desarrollo embrionario.

FONDECYT 1080523, 1090589, Proyecto BASAL FBO-07.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ENDOMETRIUM DURING THE ENDOMETRIAL RECEPTIVITY. EFFECT OF LEVONORGESTREL USED AS EMERGENCY CONTRACEPTIVE.

Palomino W.A., Barros D., Jara C., Poch A., Bley C., Kohen P., Devoto L.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Departamento de Obstetricia y Ginecología Hospital Clínico San Borja Arriaran.

Levonorgestrel used as emergency contraceptive (LNG-EC) has been used with clinical success. However the mechanism of action is not completely understood. Progesterone has effect on endometrium through its cognate receptor (AB and B) acting directly on genes bearing DNA response elements to progesterone or indirectly from stromal compartment through local signals like cytokines and growth factors. Moreover, the downregulation of epithelial endometrial progesterone receptor (PR) and its persistence in the stroma compartment is a common feature in all mammalian endometrium during the implantation period and appears to be critical for endometrial receptivity. To test the hypothesis that LNGEC administered the day of LH surge may alter the expression of endometrial PR and endometrial receptivity biomarkers we conducted a randomized prospective trial to compare the effect of LNGEC in treated and non-treated subjects previously sterilized by tubal ligation. Our study demonstrated that neither ovulation nor progesterone production by the corpus luteum and PR expression was effected by LNGEC. Moreover, the critical epithelial endometrial PR downregulation as well as the expression of selected endometrial receptivity biomarkers including Glycodelin-A $\alpha v\beta 3$ integrin and L-selectin ligand were not different between control subjects than those treated with LNGEC. The contraceptive mechanism of LNGEC during this time, if any, remains unclear. However our recent in-vivo investigation demonstrates that it does not include alteration of the corpus luteum function or alteration of PR or endometrial receptivity biomarkers indicating that the molecules involved in embryo implantation are not impaired.

Supported by FONDAP Grant # 150160000 and PLISSER reentry grant 213/99.

ALTERACIONES MOLECULARES EN EL ENDOMETRIO DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP): POTENCIAL CAUSA DE FALLAS EN LA IMPLANTACIÓN. (Molecular alterations in the endometrium from women with Polycystic Ovarian Syndrome: Potential cause of implantation failure).

^{1,2}Vega M., ³Gabler F., ⁴Valladares L., ^{1,2}Romero C., ²Vantman D.

¹Laboratorio Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico Universidad de Chile, ³Dpto. Anatomía Patológica Campus Centro, Facultad de Medicina, ⁴Laboratorio de Hormonas, INTA, Universidad de Chile.

Desde hace 20 años hemos estudiado la fisiología del endometrio humano y sus disfunciones moleculares en situaciones patológicas. Como se sabe, la función endometrial está regulada esencialmente por la acción de esteroides. Por ello, en patologías asociadas a alteraciones endocrinas, como el SOP, además de la función ovárica defectuosa, el endometrio también se ve afectado. Hemos descrito que los endometrios-secretores de mujeres con SOP-hiperandrogénicas y ovulación espontánea, presentan sobre-expresión de receptores esteroidales y co-activadores y niveles disminuidos de algunos marcadores de receptividad uterina, conduciendo a una receptividad uterina alterada, concordante con la falla reproductiva que ellas presentan. Así mismo, hemos reportado que las características moleculares de endometrios-proliferativos de mujeres SOP-hiperandrogénicas son compatibles con aumento en la sobrevida y proliferación celular y disminución de apoptosis. Estos datos concuerdan con la proposición de un aumento de hiperplasia y cáncer endometrial en estas pacientes. Un actor importante en la regulación del ciclo celular son los estrógenos. Hemos demostrado que en endometrios de mujeres SOP-hiperandrogénicas, el metabolismo intracelular de esteroides está orientado a la formación de compuestos con actividad estrogénica, independiente de la vía de aromatasa. También, considerando que un porcentaje elevado de mujeres-SOP, además del hiperandrogenismo presenta resistencia a la insulina, desde hace algunos años hemos estudiado en endometrio la vía de señalización de insulina. Hemos reportado niveles proteicos disminuidos de diversas moléculas de la vía de insulina en endometrios patológicos, sugiriendo un defecto en la exposición del gluco-transportador en la periferia de la célula. En conjunto, estas alteraciones explicarían parcialmente el potencial reproductivo disminuido de estas pacientes.

FONDECYT # 1050098/1095127.

LA VÍA NUCLEAR FACTOR-KAPPAB (NF-KAPPAB) EN ENDOMETRIO Y ENDOMETRIOSIS PÉLVICA. (The nuclear factor-kappaB pathway in endometrium and pelvic endometriosis).

González Ramos R., Devoto L.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El factor de transcripción NF-kappaB juega un rol primordial en la respuesta inmune e inflamatoria, modula la proliferación celular, apoptosis, adhesión, invasión y angiogénesis en diversos tipos celulares. La literatura científica y nuestros estudios respaldan un rol importante de esta proteína en el origen, mantención y progreso de la endometriosis, a su vez que una participación en los procesos fisiológicos y patológicos del endometrio. Estudios *in vitro* e *in vivo* sugieren que la transcripción génica y síntesis proteica mediada por NF-kappaB promueve la inflamación y proliferación celular, e inhibe la apoptosis de las células endometriósicas. La adhesión celular, invasión y angiogénesis son probablemente moduladas por NF-kappaB en los tejidos endometriósicos. Nuestros estudios han demostrado una activación constitutiva de NF-kappaB en lesiones endometriósicas y macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis. Agentes inhibidores de NF-kappaB disminuyen el desarrollo de endometriosis en modelos animales y algunas drogas con efecto inhibitor de NF-kappaB han demostrado ser eficientes en reducir los síntomas de la endometriosis en mujeres. La activación de NF-kappaB mediada por hierro en macrófagos y posiblemente en células endometriósicas estimula la síntesis de citoquinas proinflamatorias y factores de sobrevivencia, generando una retroalimentación positiva en la vía NF-kappaB y promoviendo el establecimiento, mantención y desarrollo de la endometriosis. En conclusión, NF-kappaB modula procesos celulares clave en la fisiopatología de la endometriosis. Inhibir NF-kappaB es una estrategia prometedora en el futuro tratamiento de la endometriosis, apuntando diferentes funciones celulares como la adhesión celular, invasión, angiogénesis, inflamación, proliferación y apoptosis. Investigaciones en curso aclararán estas hipótesis.

INCORPORACIONES



COMPLEMENT REGULATORY PROTEINS INTERACT AT MOLECULAR LEVEL AND ARE COLOCALIZED IN HUMAN ENDOMETRIUM DURING IMPLANTATION WINDOW.

¹Palomino W.A., ¹Barros D., ¹Kohen P., ¹Devoto L., Lessey B.

¹Institute for Maternal and Child Research University of Chile, School of Medicine. ²REI Division Greenville Hospital System, Greenville SC USA.

Precise balance of immune reaction is a critical function of maternal mucosal surface during implantation. Prevention of complement activation is mandatory to avoid embryo wastage due to activated complement deposition. A protein complex composed by $\alpha v \beta 3$ integrin-Osteopontin-Factor H is involved in the cell escape from complement damage. To determine the endometrial expression, colocalization and molecular interaction of complement regulatory proteins (CRPs): Decay accelerating factor (DAF), $\alpha v \beta 3$ integrin and Osteopontin (OPN) during the window of implantation. Endometrial biopsies were obtained from 6 fertile women during the LH timed mid-secretory phase. The colocalization of CRPs was determined by dual immunofluorescence and confocal analysis. To demonstrate molecular association of CRPs endometrial tissue were immunoprecipitated with $\alpha v \beta 3$, osteopontin and DAF and western blot were performed for DAF or OPN. The CRPs were immunolocalized in epithelial cells from luminal and glandular compartment. Immunoblot for DAF or OPN show a similar intensity of bands in all samples, demonstrating protein-protein interaction. The $\alpha v \beta 3$ integrin and DAF were colocalized in epithelial cells. Protein complex involved in the prevention of cell damage from activated complement system are colocalized and interact each other at molecular level in the endometrium during the implantation window.

FONDAP Grant # 150160000.

NUEVAS ESTRATEGIAS DE CRIOPRESERVACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE MAMÍFERO: GENERACIÓN DE UN BANCO DE GERMOPLASMA DE EQUINOS DE TIRO PESADO PARA USO EN EL PLAN NACIONAL DE FOMENTO EQUINO. (New strategies for mammalian sperm cryopreservation: Generation of a germplasm bank of heavy draft horses for use in the National Equine Support Plan).

Ramírez A.

Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Austral de Chile

La criopreservación de semen es una importante herramienta para la reproducción asistida, no obstante la fertilidad de los espermatozoides sometidos al congelamiento-descongelamiento es baja debido al daño funcional subletal, que no es completamente comprendido. Existe consistente evidencia de que el proceso de criopreservación (dilución, refrigeración, congelamiento y descongelación) induce cambios similares a los experimentados durante el proceso de capacitación espermática. Entre las similitudes de la capacitación y la crioinjuria destacan la fluidización y la reorganización de la membrana plasmática, importantes influjos de calcio al espermatozoide. En el mismo sentido, se ha demostrado que los espermatozoides criopreservados (parcial o totalmente) revelan una conducta tipo-capacitación (criocapacitación) al elevar la concentración de calcio intracelular y presentar la capacidad de sobrellevar la reacción acrosomal o fertilizar ovocitos *in vitro*.

Concretamente, la investigación en desarrollo se centra en el diseño y validación de diluyentes de refrigeración y congelación, basados en la regulación farmacológica del metabolismo energético durante el proceso de refrigeración y criopreservación. La hipótesis es que el tratamiento hipometabólico durante el enfriamiento inhibe la aparición del proceso de criocapacitación, mejorando con ello la viabilidad, longevidad y la fertilidad del semen congelado equino y de otras especies de mamíferos. En este trabajo se presentan los resultados iniciales de calidad y función espermática producto de las pruebas de refrigeración hipometabólica y posterior congelación/descongelación de semen de espermatozoides de equinos de tiro pesado para uso en el Plan Nacional de Fomento Equino.

(FONDEF D08I1076; DID 2009-61).

LIPID PEROXIDATION IN TESTIS AND EPIDIDYIMIDIS UNDER INTERMITTENT HYPOBARIC HYPOXIA: PROTECTIVE ROLE OF ASCORBIC ACID.

Farias J.G.

Dirección General de Investigación. Universidad Arturo Prat.

The present study was conducted to evaluate the effects of intermittent hypobaric hypoxia on lipid peroxidation of testis, epididymidis and the protective role of ascorbic acid. Wistar rats were separated in six groups: 1) Normobaric conditions, 2) Normobaric conditions (Nx) and physiological solution, 3) Nx ascorbic acid, 4) Intermittent hypobaric hypoxia conditions (IHH), 5) IHH and i.p. injections of physiological solution and 6) IHH conditions and i.p. injections of ascorbic acid ($10 \text{ mg.Kg}^{-1} \text{ bw}$). Animals subjected to IHH were exposed for 96 h followed by a normobaric conditions for 96 h (96 h hypoxia / 96 h normoxia) for a total of 30 days. The controls groups (2 and 5) were injected with doses of physiological solution (0.1 ml sodium chloride solution) and treated groups (3 and 6) were injected with doses of ascorbic acid at an interval of 96 h. Rats were sacrificed at 30 days, to obtain blood samples and body weight. The testis and epididymidis were collected in phosphate buffered saline (pH 7.2) to determine lipid peroxide formation using a thiobarbituric acid-reactive substances test (TBARS). The epididymidis were minced and filtered to release spermatozoa. The results of this study revealed that intermittent hypobaric hypoxia induced testis and epididymidis lipid peroxidation. Sperm count in the epididymidis decreased under intermittent hypobaric hypoxia conditions. Ascorbic acid had a protective effect on testis and epididymidis lipid peroxidation and the epididymidis sperm count was normalized by ascorbic acid in rats subjected to intermittent hypobaric hypoxia.

COMUNICACIONES LIBRES



P73 REGULATES THE PHYSIOLOGIC APOPTOSIS IN MALE GERM CELLS.

^{1,2}Codelia V.A., ²Cisterna M., ²Alvarez A., ¹Moreno R.D.

¹Depto. Cs. Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Dpto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

During the first round of spermatogenesis there is a massive wave of apoptosis, which is essential for further germ cell development. p53 and p73 are two transcription factors involved in apoptosis after physiological and genotoxic stimuli. However, previous studies have shown that p53 seems not essential for germ cell apoptosis. In this work we evaluate the role of p73 and the tyrosine kinase c-Abl, its upstream activator, in germ cell apoptosis. We found that p73 protein was expressed in male germ cells, mainly in spermatocytes, as shown by western blots and immunohistochemistry. p73 protein levels increased coincident with the peak of apoptosis in the first wave of spermatogenesis (in 25 day old rats). The c-Abl kinase was also expressed in meiotic spermatocytes and showed the same temporal expression pattern as p73. Immunofluorescence of 25 days old rats testis sections showed that phospho-Tyr99-p73 signal, a p73 epitope phosphorylated by c-Abl kinase, colocalized with TUNEL label. Inhibition of c-Abl by intratesticular injection of STI571 significantly decreased the number of spermatocytes undergoing apoptosis, as determined by counting the pycnotic (apoptotic) cells in PAS-hematoxylin sections of treated testis. In addition, STI treated testis showed significantly lower levels of active caspase-3 and FAS protein levels, as compared with controls. Finally, STI treatment decreased phospho-Tyr99-p73 and p73 levels as compared with controls in western blots. Pifithrin, a classical p53 inhibitor, did not change apoptosis levels. Our results support a role for p73 in the regulation of physiologic apoptosis during the first wave of spermatogenesis.

Fondecyt 1080221 and 1070360.

TACE/ADAM17 INDUCE APOPTOSIS EN CÉLULAS GERMINALES DE RATA AL PROCESAR EL DOMINIO EXTRACELULAR DEL RECEPTOR C-KIT. (TACE/ADAM17 induces apoptosis in rat germ cells shedding the ectodomain of c-kit receptor).

Rojas-Benítez D., Lizama C., Moreno R.D.

Unidad de Reproducción y Desarrollo, P. Universidad Católica de Chile.

La apoptosis en la espermatogénesis es indispensable para la correcta producción de espermatozoides y afecta principalmente a espermatoцитos en paquiteno. Sin embargo, se desconoce completamente el proceso fisiológico por el cuál las células germinales son inducidas a entrar en apoptosis. TACE/ADAM17 es capaz de procesar el dominio extracelular del receptor c-kit, transductor de la principal señal de supervivencia para los espermatoцитos. Nuestra hipótesis es que la activación de TACE/ADAM17 induce apoptosis en espermatoцитos al procesar el dominio extracelular de c-kit. La apoptosis se evaluó mediante técnicas histológicas y citometría de flujo, y por inmunohistoquímica el procesamiento y actividad de c-kit *in vivo*. La inyección intra-testicular de PMA (12,13-forbolmiristato) aumentó significativamente la apoptosis, pero en presencia del inhibidor de ADAM17, TAPI-0, esta se previno significativamente ($p < 0.05$). El 80% de las células apoptóticas no presentaron marca para el dominio extracelular de c-kit pero si tenían el dominio intracelular. Más aún el dominio intracelular estaba inactivo (no-fosforilado). Al evaluar el procesamiento de c-kit mediante histología en condiciones fisiológicas, los datos fueron los mismos que aquellos inducidos por PMA, lo que sugiere un mecanismo similar en ambos casos. Más aún, la inhibición *in vivo* de ADAM también previno significativamente la apoptosis fisiológica de células germinales. Cultivos *ex vivo* de testículos de rata mostraron que PMA induce el corte de c-kit, al ser evaluado por western blot. Estos datos muestran que la activación de TACE/ADAM17 procesa el dominio extracelular de c-kit, lo que se traduce en su inactivación e inducción de apoptosis en células germinales.

Financiado por Fondecyt 1070360.

EVIDENCIA DE IMPOSEX EN EL CARACOL MARINO *Xanthochorus cassidiformis* EN LA COSTA CENTRO NORTE DE CHILE (NEOGASTROPODA: MURICIDAE). (Evidence of imposex in the sea snail *Xanthochorus cassidiformis* in the north central coast of Chile).

^{1,2}Naretto J.A., ²Castillo V.M., ²Brown D.I.

¹Fac. de Ciencias del Mar y Recursos Naturales; ²Lab. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, Depto. de Biología y Ciencias Ambientales, Fac. de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile. j.naretto.a@gmail.com

El imposex, o desarrollo de características sexuales masculinas como la aparición de pene en moluscos gastrópodos de sexo femenino, es generado por tributilestaño y compuestos similares; constituyéndose este carácter en un monitor de contaminación. Asumiendo que distintos grados de contaminación se manifestarán en distintos grados de imposex, analizamos el imposex en *X. cassidiformis* en cinco lugares de la costa central de Chile. Animales adultos extraídos del sector de Laguna Verde, Playa Torpederas (Valparaíso); Bahía de Quinteros (V Región); y Bahía Herradura de Guayacán (Coquimbo); y Huasco (III Región), fueron fijados para calcular índice peniano (IP), tamaño peniano relativo (RPS), e índice gonádico (IG). Posteriormente fueron procesados por técnica histológica de rutina para su análisis. En organismos extraídos de los cinco sectores hubo evidencias de imposex, alcanzando un 100% tanto en Quintero como en Torpederas. Los IP y RPS más altos, y los IG menores se encontraron en *X. cassidiformis* de Quintero; mientras que los IP y RPS más bajos en Laguna Verde. A nivel gonadal existe una correlación entre la coloración de la gónada *in vivo* y el estado histológico de madurez gonadal. En el compartimento gametogénico de hembras muy afectadas hay grupos celulares adluminales similares a espermatogonias sobre la banda de células somáticas. Las hembras de *X. cassidiformis* estarían afectadas por un componente ambiental, que se manifestaría en la expresión del sexo a nivel corporal con un IP y RPS excediendo valores previamente reportados, y a nivel gonadal con bajos valores de IG, y posible espermatogénesis incipiente.

Proyecto DIPUV 36/04.

NBS1 Y 53BP1 ¿PARTICIPAN TAMBIÉN EN LA REPARACIÓN DE LA CROMATINA ASINÁPTICA EN HÍBRIDOS ROBERTSONIANOS?
(NBS1 and 53BP1, are also involved in unsynapsed chromatin repair of Robertsonian hybrids?).

¹Manterola M., ¹Berrios S., ²Page J., ³Vasco C., ¹Manieu C., ¹Ayarza E., ¹Marchant L., ³Garagna S., ¹Fernández-Donoso R.

¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile,
²Universidad Autónoma de Madrid, ³Università degli Studi di Pavia.

En *Mus domesticus* heterocigotos Robertsonianos (Rbs) $2n=32$, la alta incidencia de cromatina en asinapsis no está relacionada con muerte celular masiva durante la profase I meiótica. Esto ocurre debido al silenciamiento meiótico de la cromatina en asinapsis (MSUC), producido en respuesta a la presencia de sectores cromosómicos no apareados. El MSUC implica el depósito secuencial de proteínas γ H2AX, ATR, ubiH2A y SUMO-1, involucradas directa e indirectamente en la reparación e inactivación de los cromosomas sexuales. En espermatocitos de híbridos Robertsonianos $2n=32$, hemos investigado mediante inmunocitoquímica, la presencia durante la Profase I meiótica de las proteínas **NBS1** y **53BP1**, las que durante el ciclo mitótico, participan en el reclutamiento de factores de reparación de rupturas de doble hebra del DNA (DSBs) y en la activación del "checkpoint" de DSBs. **NBS1** fue localizada en el elemento axial de las regiones en asinapsis de trivalentes Rbs y en los cromosomas X e Y, desde paquiteno temprano hasta diploteno medio. En cambio, **53BP1** se localizó en toda la cromatina en asinapsis de trivalentes y cromosomas sexuales, solamente desde paquiteno medio a diploteno temprano. Estos resultados muestran la presencia retrasada de eventos reparativos en los trivalentes aún cuando los homólogos de los bivalentes del mismo núcleo comienzan su desapareamiento. La presencia, localización y temporalidad de 53BP1 indicaría también un rol en la resolución de DSBs durante los estadios tardíos de profase I. Finalmente, la localización y temporalidad de ambas proteínas, similar a la de los cromosomas sexuales, sugiere una reorganización local de la cromatina autosómica asináptica, funcional a la inducción de marcas epigenéticas.

Proyecto FONDECYT # 1080090.

RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE CASPASA 9 ACTIVADA Y ANOMALÍAS DE APAREAMIENTO Y RECOMBINACIÓN CROMOSÓMICAS EN ESPERMATOCITOS I DE *Mus domesticus* 2n=40. (Relationships between caspase 9 and chromosome pairing-recombination failures in mice 2n=40).

¹Ayarza E., ¹Berríos S., ¹Manterola M., ²Page J., ¹Marchant L., ¹Manieu C., ¹Fernández-Donoso R.

¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile,
²Universidad Autónoma de Madrid.

Durante la Profase I de la Meiosis los cromosomas homólogos hacen sinapsis, se recombinan y posteriormente segregan en las divisiones meióticas. Se ha sugerido que la normalidad de estos eventos es monitoreada por "checkpoints" específicos, los cuales habiendo detectado anomalías, enlentecen o detienen el desarrollo de la Profase I hasta que las anomalías se reparan, o inducirían la apoptosis de los espermatoцитos si tales anomalías persistieren. La relación entre la dinámica cromosómica de la Profase I de la Meiosis y la inducción de muerte celular es muy poco conocida y es objeto de controversias. En este trabajo nos propusimos estudiar la eventual relación entre la presencia de caspasas activadas y posibles alteraciones de los patrones de reclutamiento y distribución cromosómicas de proteínas meióticas de la reparación y sinapsis en espermatoцитos de *Mus domesticus* 2n=40. Se identificaron mediante inmunocitoquímica las proteínas γ H2AX y SYCP3 de la reparación y sinapsis respectivamente, y la caspasa 9 activada, precursora de la apoptosis. En los espermatoцитos de ratones sometidos previamente a un aumento moderado de temperatura (42°C x 15') observamos un incremento significativo de la caspasa 9 activada respecto de los controles. Estos mismos presentaban un patrón alterado en el reclutamiento, distribución y temporalidad de las proteínas γ H2AX y SYCP3. De éstos, un 75% presentaron un patrón alterado en ambas proteínas simultáneamente. Estos resultados son consistentes con la hipótesis de una estrecha relación y concomitancia entre la inducción de muerte celular y la presencia de anomalías de la recombinación y de la sinapsis en la Profase I meiótica.

Proyecto FONDECYT # 1080090.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO PARA DETERMINAR LOS CAMBIOS REPRODUCTIVOS CAUSADOS POR EL ENVEJECIMIENTO EN TESTÍCULO DE *Octodon degus*.
(Histological and immunohistochemical analysis to determine reproductive changes elicited by ageing in *Octodon degus* testis)

Leverton R., Vargas A., Hartley R., Bustos-Obregón E.

Fac. de Medicina, Universidad de Chile, Santiago.

El envejecimiento es un proceso continuo, genéticamente controlado y modificado por numerosos factores. En el testículo la espermatogénesis y esteroidogénesis decrecen, producto de una caída de los niveles de andrógenos. La disminución de la producción de espermatozoides puede ser un reflejo de la alteración en la renovación del epitelio seminífero lo que produce una reducción en la producción y aumento en la pérdida celular asociadas al envejecimiento (Bustos y Ramírez, 1997). Este estudio evaluó los cambios reproductivos causados por el envejecimiento en *Octodon degus*, en animales seniles vs controles juveniles, mediante la cuantificación de los diferentes tipos celulares en los túbulos seminíferos, recuento espermático en cauda epididimaria, análisis morfométrico de los túbulos seminíferos (diámetro tubular, altura epitelial y lumen tubular) y análisis inmunohistoquímico de la expresión de Caspasa 3 y Túnel. Los resultados indican que en los grupos seniles, el recuento de células presentó una disminución de células de Sertoli, espermatogonias A y B. Además disminuyó el recuento espermático epididimario. El análisis morfométrico de los túbulos seminíferos no presentó diferencias significativas entre los grupos seniles por lo tanto la estructura del epitelio seminífero no estaría afectada. Finalmente el estudio de marcación inmunohistoquímica de Caspasa 3 indicadora de apoptosis y de Túnel que indica fragmentación del ADN, señalan un aumento significativo de reacción (+) a la tinción en las células germinales del epitelio seminífero en los grupos seniles. La evaluación de los cambios producidos durante el envejecimiento y sus causas permiten concluir que la fertilidad se encuentra disminuida en *Octodon degus* seniles bajo las condiciones realizadas en este trabajo.

METABOLIZACIÓN DE DHEA A ANDROSTENEDIOL EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP). (Metabolization of DHEA to androstenediol in endometria from women with polycystic ovary syndrome).

¹Plaza F., ²Gabler F., ³Valladares L., ^{1, 4}Romero C., ^{1, 4} Vega M.

¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro, ³INTA, ⁴Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Es ampliamente conocido que los estrógenos incrementan la proliferación celular en los tejidos, incluyendo al endometrio normal; este tejido en mujeres-SOP posee una alta sensibilidad a estos esteroides. Además, se ha descrito que intracelularmente, la DHEA-S puede metabolizarse a androstenediol, compuesto que al unirse al receptor, puede presentar actividad estrogénica. Los objetivos del trabajo fueron determinar si la producción endometrial de androstenediol es similar durante el ciclo menstrual y, si esto difiere en endometrios de mujeres-SOP. Biopsias endometriales de mujeres controles en fase proliferativa (ENp) y fase secretora (ENs), y endometrios de mujeres-SOP compatibles con fase proliferativa (ESOPp), fueron homogenizadas e incubadas con [³H]-DHEA en presencia de NADPH. La separación y caracterización de [³H]-androstenediol producido se realizó por TLC y HPLC. La cuantificación mostró valores similares en la metabolización entre los grupos ENp y ENs ($0,16 \pm 0,04$ pmol/mg proteína vs. $0,23 \pm 0,03$ pmol/mg proteína; $p=0,29$). En ESOPp, se determinó una alta capacidad de metabolización al compararlo con ENp ($0,6 \pm 0,06$ pmol/mg proteína vs. $0,16 \pm 0,04$ pmol/mg proteína; $p<0,01$). Estos resultados indican que en endometrios de mujeres-SOP existe una alta metabolización de DHEA a androstenediol, metabolito con capacidad de unirse a receptores de estrógenos. Estos datos sumados a los bajos niveles de expresión proteicos en ESOPp de la enzima 3β -HSD, molécula encargada de metabolizar androstenediol a testosterona, sugeriría una acumulación intracelular de androstenediol, lo cual podría favorecer la acción estrogénica en el ESOPp, como la proliferación celular.

FONDECYT #1095127.

LA EXPOSICIÓN A UNA DOSIS ALTA DE ESTRADIOL DURANTE LA ETAPA NEONATAL-INFANTIL DESARROLLA LA CONDICIÓN DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCO) IRREVERSIBLE EN LA RATA.

(The exposure to a single dose of estradiol during the neonatal-infantile developmental period induces an irreversible polycystic ovary condition in the rat).

Cruz G., Lara H.E.

Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Está bien establecido que la exposición a estradiol altera la función ovárica y la función reproductiva. La administración de valerato de estradiol (VE) a ratas produce ovario poliquístico (PCO). El síndrome PCO en mujeres comienza con manifestaciones clínicas, morfológicas y bioquímicas desde la pubertad y aparentemente es irreversible para toda la vida reproductiva teniendo un origen en etapas tempranas de la vida. En ratas, el modelo experimental de mayor uso en estudios de neuroendocrinología, no se conoce si la condición de PCO es irreversible como el humano. Ya que el ensamblaje folicular en dicha especie ocurre en el periodo neonatal, pensamos que este es el periodo sensible para desarrollar una "programación" folicular que haga irreversible el PCO. Ratas Sprague Dawley de 1, 7, 14, 21 y 30 días de edad fueron tratadas con VE, y se controló la aparición de la pubertad, su ciclicidad estral y fueron eutanasiadas a los 6 meses de edad para realizar el análisis morfométrico de los folículos ováricos y medir hormonas esteroidales. Encontramos que ratas tratadas a los 21 y 30 días recuperaron la ciclicidad estral, mientras que ratas tratadas a los 1, 7 y 14 días se mantuvieron acíclicas y sin cuerpos lúteos en el ovario. Además, las ratas tratadas al día 1 tenían menos folículos antrales y una menor concentración de androstenediona. Por otro lado, ratas tratadas a los días 7 y 14 tenían más estructuras quísticas. Concluimos que la administración de VE produce un daño reproductivo irreversible sólo si es administrado en la ventana de sensibilidad neonatal-infantil en ratas.

Fondecyt 1090036 (HEL).

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DEL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT4 POR EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN PPAR- γ EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO INSULINO RESISTENTES (SOP-IR). (Regulation of GLUT4 expression by the transcriptional factor PPAR- γ in endometria from women with PCOS and insulin resistance).

¹Kohan K., ¹Carvajal R., ¹Rosas C., ²Gabler F., ^{1,3}Romero C., ^{1,3}Vega M.

¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro ³Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Alrededor del 70% de las mujeres con SOP presenta insulino resistencia (IR). Se ha descrito que los factores FOXO1 y PPAR- γ participan en la vía de insulina regulando la expresión génica de GLUT4. FOXO1 reprime la expresión génica de PPAR- γ , este efecto disminuye cuando se encuentra fosforilado (FOXO1-p). Por su parte, PPAR- γ reprime la expresión génica de GLUT4. En endometrios SOP-IR (ESOPpIR), hemos observado aumento en los niveles proteicos de FOXO1-p, lo que permitiría mayor expresión de PPAR- γ , disminuyendo la expresión de GLUT4. El objetivo fue evaluar niveles génicos/proteicos de PPAR- γ y génicos de GLUT4 en ESOPpIR y controles. En endometrios controles en fase proliferativa (ENp, n=7), secretora (ENs, n=7) y en ESOPpIR (n=7), se determinaron los niveles proteicos de PPAR- γ por Western Blot (WB) y los niveles génicos de PPAR- γ y GLUT4 mediante RT-PCR. Los niveles del transcrito de PPAR- γ son similares en ENp y ENs. En los ESOPpIR existen niveles de mRNA de PPAR- γ significativamente mayores ($p < 0,05$) a los encontrados en los ENp, similar a lo determinado para los niveles proteicos (WB) en los ESOPpIR ($p < 0,05$). Respecto a la expresión génica de GLUT4, se observó una disminución del transcrito en los ESOPpIR en comparación con los ENp (40-50%). En conclusión, los altos niveles proteicos de PPAR- γ podrían reprimir la expresión génica de GLUT4 en ESOPpIR, lo que concuerda con los bajos niveles proteicos que hemos reportado previamente para este gluco-transportador.

FONDECYT #1095127.

INDUCCIÓN DE P₄₅₀AROM Y SF-1 EN CÉLULAS EPITELIALES ENDOMETRIALES CONTROLES POR cAMP, PGE₂ Y LÍQUIDO PERITONEAL DE MUJERES CON ENDOMETRIOSIS. (P₄₅₀Arom and SF-1 induction in control endometrial epithelial cells by cAMP, PGE₂, and peritoneal fluid from women with endometriosis).

¹Castro J., ¹Torres M., ¹Pino M., ^{1,3}Sovino H., ^{1,3}Fuentes A., ^{2,3}Gabler F., ¹Boric M.A., ¹Johnson M.C.

¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), ²Depto. Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ³Hospital Clínico San Borja Arriarán.

El endometrio eutópico de mujeres con endometriosis presenta un microambiente estrogénico con expresión anómala de P₄₅₀Arom, cuyo gen responde positivamente a cAMP y SF-1. Es una patología inflamatoria con volumen aumentado de líquido peritoneal (LP). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del LP sobre P₄₅₀Arom. Células epiteliales endometriales controles (n=12) sin transfectar o transfectadas con pcDNASF-1 fueron tratadas 24h con LP10% (pool, fase proliferativa) de mujeres con o sin endometriosis, cAMP (0.1 mmol/L), PGE₂ (10⁻⁶-10⁻⁹M) o LP adsorbido con carbón-dextrán. Se estudió mRNA (RT-PCR) y proteína (inmunoblot) de P₄₅₀Arom y SF-1. Estadística t-Student. Aprobado por Comité de Ética Institucional. En condición basal, SF-1 y P₄₅₀Arom fueron casi indetectables. La adición de LP de endometriosis o cAMP aumentó 10 veces las proteínas de SF-1 y P₄₅₀Arom respecto al basal, y ambos en conjunto potenciaron P₄₅₀Arom (22 veces). Este efecto no se observó con LP control o adsorbido. PGE₂ incrementó de manera dosis-respuesta (<0.05) ambas moléculas en estudio. En células epiteliales controles transfectadas tanto LP de endometriosis como cAMP aumentaron el mRNA de SF-1 (1.94 y 1.82 veces) y de P₄₅₀Arom (1.82 y 1.45 veces) con respecto a células transfectadas sin estímulo. La inducción de P₄₅₀Arom en células epiteliales controles por LP de mujeres con endometriosis estaría siendo mediada por dos vías independientes, la de prostaglandinas (cAMP) y la del SF-1. Estos resultados sugieren que el líquido peritoneal participaría en el microambiente estrogénico y en la mantención y crecimiento de las lesiones ectópicas en la endometriosis.

FONDECYT 1080229.

TNF- α ESTA ASOCIADA AL SILENCIAMIENTO DE UNA VÍA NO-GENÓMICA DEL ESTRADIOL EN EL OVIDUCTO DE LA RATA. (TNF- α is associated to the silencing of the estradiol nongenomic pathway in the rat oviduct).

^{1,4}Oróstica M.L., ^{2,3}Zúñiga L.M., ^{1,3,4}Velásquez L.A., ^{1,3,4}Croxatto H.B., ^{1,3,4}Orihuela P.A.

¹Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, USACH, ²Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC ³Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, ⁴Centro de Desarrollo en Nanociencia y Nanotecnología-CE DENNA, Santiago-Chile.

El coito cambia el modo de acción del estradiol (E₂) para acelerar el transporte ovular (TO) de una vía no-genómica dependiente de 2-metoxiestradiol (2ME) a una genómica independiente de 2ME. El coito también induce una respuesta inflamatoria en el tracto genital femenino por lo que algunas citoquinas podrían estar involucradas en el cambio del mecanismo de acción de E₂ en el oviducto. Aquí, determinamos si el coito modifica los niveles circulantes y oviductales de TNF- α y de sus receptores en el oviducto de rata y si la administración local de TNF- α puede silenciar la vía no-genómica del E₂ que acelera el TO. Ratas en la noche del pro-estro fueron apareadas por 30 minutos, luego 1, 3 ó 6 horas post-coito (hpc) se determinó los niveles séricos y oviductales de TNF- α por ELISA y los niveles de ARNm y proteína de los receptores de TNF- α , *Tnfrsf1a* y *Tnfrsf1b*, en la mucosa y la capa músculo/serosa del oviducto por Real-Time PCR y Western blot. Posteriormente se administró TNF- α por vía intra-oviductal a las 8:00 horas del estro, luego 2ME por vía subcutánea a las 18:00 horas del estro y 24 horas más tarde se determinó el número de huevos presentes en el oviducto. TNF- α aumentó dramáticamente en el fluido oviductal a las 3 hpc mientras que los niveles de ARNm y proteína de sus receptores no fueron afectados. La administración local de TNF- α disminuyó la sensibilidad del TO al 2ME. Estos resultados muestran que el efecto del coito sobre la vía no-genómica del E₂ está asociado a cambios en los niveles oviductales de TNF- α en el oviducto.

FONDECYT 1080523, 1090589; MIFAB P04-071-F y CONICYT AT-24080159.

DIFERENCIAS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA Y/O CONTENIDOS PROTEICOS DE IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, IGF-IR, ERK_{42/44} Y AKT EN PLACENTAS DE RECIÉN NACIDOS PEQUEÑOS (PEG), ADECUADOS (AEG) Y GRANDES (GEG) PARA SU EDAD GESTACIONAL. (Differences in IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, IGF-IR, ERK_{42/44} and AKT mRNA expression and protein contents in placentas from small (SGA) appropriate (AGA) and large (LGA) for gestational age newborns).

Argandoña F., Rivera J., Johnson M.C., Cassorla F., Iñiguez G.

IDIMI, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Modificaciones placentarias del eje somatotrófico (GH-IGFs-IGFBPs) o en su vía de transducción pueden alterar el crecimiento fetal. El objetivo del presente trabajo fue determinar la expresión y contenidos placentarios de IGF-I, IGF-II, IGFBP-3 e IGF-IR, ERK_{42/44} y AKT. Se recolectaron 25 placentas humanas de término de recién nacidos PEG, 25 AEG y 25 GEG. Se evaluó la expresión génica por RT-PCR y la proteica por *western blot* o inmunoensayos en la placa coriónica (PC) y la placa basal (PB) de las placentas. Los resultados se expresan como promedio \pm EEM y se analizaron por ANOVA. Se encontró una mayor expresión para IGF-I en la PC de las placentas PEG en comparación a las GEG (0.27 ± 0.05 vs. 0.11 ± 0.02 , $p < 0.05$), similares resultados se encontraron en la PB (0.21 ± 0.03 vs. 0.11 ± 0.02 , $p < 0.05$). Se encontró una mayor expresión de IGF-IR en la PC de las placentas PEG respecto a las GEG (0.34 ± 0.06 vs. 0.13 ± 0.02 , $p < 0.05$) y un mayor contenido en éstas (0.97 ± 0.24 vs. 0.32 ± 0.05 , $p < 0.05$). Además el contenido ERK_{42/44} fue mayor en la PC de las placentas PEG en comparación a las GEG (0.72 ± 0.17 vs. 0.27 ± 0.03 , $p < 0.05$). Estos resultados sugieren que la mayor expresión de IGF-I e IGF-IR y el mayor contenido de IGF-IR y ERK_{42/44} en las placentas PEG y la menor en las placentas GEG podrían estar favoreciendo el crecimiento fetal insuficiente en los PEG e interfiriendo con el crecimiento fetal excesivo en los GEG.

FONDECYT 1061082.

DIFERENCIAS EN LOS EFECTOS SISTÉMICOS Y LOCALES DE LA ADMINISTRACIÓN DE ACTH SOBRE LA SÍNTESIS DE ESTEROIDES OVÁRICOS. (Differences in local and systemic effects of ACTH on the ovaric steroids synthesis).

^{1,2}Ortega H., ¹Amweg A., ³Paredes A., ^{1,2}Salveti N., ^{1,2}Rey F., ³Lara H.E.

¹Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. ³Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Chile.

La variación en los niveles de ACTH relacionados al estrés puede ser un factor muy importante en la patogenia de la enfermedad quística ovárica (COD). Por ello, el objetivo de este trabajo, fue comparar los niveles de esteroides intrafoliculares en animales con COD inducida experimentalmente con ACTH y su relación con la respuesta de la pared folicular, a la estimulación *in-vitro* con ACTH. La COD fue inducida mediante la administración de ACTH. Como controles se utilizaron animales sincronizados y ovarios de bovinos con COD provenientes de frigorífico y se extrajo el líquido folicular de los folículos terciarios y quísticos. Para el estudio de la respuesta ovárica, fragmentos de pared de folículos antrales grandes y de quistes espontáneos fueron cultivados durante tres horas en un medio libre de suero, con el agregado de ACTH ($1 \times 10^{-9} \text{M}$, $1 \times 10^{-8} \text{M}$ y $1 \times 10^{-7} \text{M}$). Los niveles de hormonas esteroideas (estradiol, progesterona, testosterona y cortisol) fueron determinados en el líquido folicular y medio de cultivo mediante un EIA comercial. En el líquido folicular se observaron variaciones similares en los animales con COD espontánea e inducida, con niveles reducidos de progesterona y elevados de testosterona y cortisol (superior en los animales tratados con ACTH). *In vitro*, la ACTH indujo la síntesis de estradiol en los quistes y de cortisol en ambos grupos. Nuestros resultados indican que la ACTH posee no solo una acción sistémica, sino también efectos directos en la pared folicular alterando la síntesis de hormonas esteroideas.

Financiamiento: APCyT PICT-2007-01193 / Convenio de Cooperación Internacional CONICYT (Chile) / MINCYT (Argentina) Proyecto CH/08/04.

EL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) FAVORECE EL ENVEJECIMIENTO OVÁRICO. (Nerve Growth Factor induces the ovarian ageing)

Díaz A., Lara H.E., Paredes A.
arieldiaz@vtr.net.

Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Recientemente se ha descrito que ovarios de ratas de 12 meses de edad presentan un aumento en la concentración de noradrenalina (NA), en el número de folículos tipo III (FTIII) y en quistes foliculares. Sin embargo, disminuye el número de cuerpos lúteos (CL), el porcentaje de ovulación y el número de crías y partos, indicando que la rata a esta edad, se encuentra al final del periodo reproductivo. Por otro lado, la administración de valerato de estradiol en ratas jóvenes induce ovario poliquístico (PCO), el que presenta características ováricas similares al envejecimiento, las que en PCO se deben a un aumento en la actividad simpática del ovario precedida por un aumento intraovárico de NGF. En este trabajo se propone que NGF favorece la aparición de las características observadas en el envejecimiento ovárico. Para ello, se utilizaron ratas Sprague-Dawley de 10 meses de edad (antes del término del periodo reproductivo), a las que se les administró NGF durante 28 días mediante una minibomba osmótica ALZET[®] que fue conectada al ovario. Posteriormente se determinó la concentración de NA intraovárica por HPLC, hormonas esteroidales en suero por EIA, ciclicidad estral por frotis vaginal y se analizó la morfología ovárica. Los resultados demostraron que la administración de NGF incrementó la concentración de NA y el número de FTIII en ovario, por otro lado, disminuyó el número de CL, el porcentaje de ovulación y el estradiol séricos. Estos resultados sugieren que el aumento intraovárico de NGF participa en el envejecimiento del ovario, favoreciendo la aparición de las características observadas al final del periodo reproductivo.

FONDECYT 109-0159.

REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO TESTICULAR: EXPRESIÓN DE MALINA Y LAFORINA. (Regulation of testicular glycogen metabolism: expression of malin and laforin).

¹Villarroel F., Mancilla ¹H., ¹Maldonado R., ^{1,2}Angulo C., ¹Castro M.A., ¹Slebe J.C., ¹Concha I.I.

¹Instituto de Bioquímica, ²Instituto de Química, Universidad Austral de Chile franzbq@gmail.com

Por años el depósito de glucógeno ha sido considerado sólo como una reserva energética para diferentes procesos metabólicos; sin embargo, la presencia de glucógeno (o polímeros de glucosa) en distintos tipos celulares puede ejercer un efecto nefasto sobre la célula, induciendo su apoptosis. Durante la espermatogénesis en mamíferos, existe una abundante actividad apoptótica en las células germinales e importantes fluctuaciones en los niveles de glucógeno testicular. Nos hemos propuesto evaluar si la muerte celular intratesticular depende del contenido de glucógeno. Mediante RT-PCR se identificó el transcrito para glucógeno sintasa muscular (MGS) en células de Sertoli y germinales masculinas de rata; sin embargo, sólo en células de Sertoli y espermatocitos se detectó la expresión de malina y PTG. Además, por inmunofluorescencia se observó una relocalización de MGS, desde el núcleo en espermatocitos hacia el citoplasma en espermátidas, y con ello un posible cambio en la actividad enzimática. Paralelamente hemos inmunodetectado las proteínas malina y laforina en testículo de rata, sugiriendo al igual que en la enfermedad de Lafora, la participación de estas proteínas en apoptosis y homeostasis del glucógeno en este tejido. Por lo tanto, un desequilibrio en la regulación del contenido de glucógeno podría ser responsable de la muerte de las células germinales masculinas durante espermatogénesis en mamíferos.

FONDECYT 1060135 y 1090740, DID-UACH, Beca CONICYT FV.

LACTATO: FACTOR DE SUPERVIVENCIA DE ESPERMATOCITOS EN CULTIVO. (Lactate: Survival factor in spermatocytes primary culture)

¹Bustamante-Marin X., ²Quiroga C., ²Lavanderos S., ³Reyes J.G.,
¹Moreno R.D.

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y ³Facultad de Química Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Los espermatoцитos, son células meióticas en diferenciación y las más susceptibles a sufrir apoptosis durante la primera onda de la espermatogénesis. Estudiar fenómenos como necrosis y autofagia es difícil dada la asincronía entre los túbulos y por la interacción célula-célula. En estos 3 tipos de muerte existen elementos comunes como el calcio (Ca^{+2}) y generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) vía mitocondria o proteína quinasa C (PKC). Se ha propuesto que el lactato es un factor de supervivencia para estas células pero, no existen evidencias claras. Nuestro objetivo fue estudiar distintos tipos de muerte en espermatoцитos en cultivo para mostrar que lactato es un factor de supervivencia de células germinales. Los espermatoцитos se cultivaron en medio KHB suplementado con 5 mM de lactato o 5 mM glucosa entre 0 y 24 h. La apoptosis fue evaluada por TUNEL y exposición de fosfatidil serina, la necrosis por incorporación de IP y actividad de lactato deshidrogenasa y la autofagia por detección de LC3-II mediante western blots. El análisis morfológico de las células se realizó mediante microscopía electrónica. Los niveles de Ca^{+2} se detectaron midiendo la fluorescencia de Fura-2 y los niveles de ROS a través de citometría de flujo. Los resultados muestran que lactato previene la apoptosis y necrosis de espermatoцитos en cultivo pero no la autofagia, y que los niveles de $[\text{Ca}^{+2}]_i$ y de ROS se mantienen. Estos resultados confirman a lactato como un factor de supervivencia y muestran las primeras evidencias de autofagia en espermatoцитos.

FONDECYT 1070360.

PROTEÍNA FOSFATASA TIPO PP2A PARTICIPA EN LA REGULACIÓN DE LOS EVENTOS INICIALES DE LA CAPACITACIÓN, EN ESPERMATOZOIDEOS HUMANOS. (Protein phosphatase-type 2A is involved in the initial events of human sperm capacitation).

Signorelli J., Díaz E.S., Arredondo L., Morales P.

Laboratorio de Biología de la Reproducción, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile.

Se ha descrito un aumento en la fosforilación en residuos de Tyr y Ser/Thr durante la capacitación espermática. El rol de proteínas quinasas durante este proceso está bien documentado; sin embargo, no se conoce cual es la participación de las PPs. PP2A es una Ser/Thr fosfatasa cuya actividad ha sido detectada en extractos de espermatozoides humanos y de primates. Se desconoce su función fisiológica durante la capacitación. El objetivo de este trabajo es estudiar la participación de PP2A en la regulación del proceso de capacitación espermática en humanos. Para ello, espermatozoides móviles seleccionados por percoll, fueron incubados a 37° C y 5% CO₂ en medio Tyrode de incubación o en medio no capacitante (sin BSA ni bicarbonato) en presencia o ausencia de los inhibidores específicos de PP2A, ácido okadaico (IC₅₀= 0.1 nM) y Endothal (IC₅₀= 90 nM). La capacitación fue evaluada a distintos tiempos (15, 30, 60 y 300 min), usando el ensayo de fluorescencia con clortetraciclina (CTC). Los resultados indican que el tratamiento con ácido okadaico y Endothal aumenta rápidamente el porcentaje de espermatozoides capacitados en ambos medios de cultivo. Este efecto es dosis dependiente durante la primera hora de incubación; después no se produce ningún aumento significativo. Estos resultados sugieren que PP2A tiene un rol importante en la regulación de los eventos iniciales de la capacitación de espermatozoides humanos.

Fondecyt 1080028.

DESCONDENSACIÓN DEL NÚCLEO ESPERMÁTICO EN OVOCITOS DE PERRA INMADUROS Y MADURADOS *IN VITRO*. (Sperm nucleus decondensation of immature and *in vitro* matured bitch oocytes)

Vergara J., Palomino J., De los Reyes M.

Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

La maduración del ovocito canino finaliza en el oviducto, 2 a 5 días después de la ovulación. Durante este proceso ocurren el reinicio meiótico y cambios en la cantidad y disposición de algunos organelos citoplasmáticos. Los antecedentes de maduración citoplasmática ovocitaria son escasos en esta especie, a pesar de su importancia en procesos como la desintegración de la membrana nuclear y descondensación de la cromatina del espermatozoide fecundante. Con el propósito de optimizar la maduración y fecundación *in vitro* en perras, se evaluó la maduración citoplasmática del ovocito, a través de la capacidad de descondensación del núcleo espermático. Para esto, ovocitos de perra inmaduros y madurados *in vitro* por 48h, se coincubaron por 24 h con espermatozoides caninos eyaculados frescos. Los ovocitos se tiñeron con DAPI (0,1%) y se evaluaron en microscopía de epifluorescencia. No se encontraron núcleos espermáticos descondensados en los ovocitos inmaduros, donde el 66% mostró espermatozoides no descondensados, y en el resto no se observaron espermatozoides (29%) o los ovocitos estaban degenerados (5 %). En los ovocitos madurados *in vitro*, 31% presentó descondensación espermática, con bajo porcentaje de ovocitos degenerados o sin espermatozoides. Estos resultados sugieren que a las 48 horas de maduración *in vitro*, los ovocitos de perra tienen mayor capacidad para descondensar el núcleo de espermatozoides fecundantes, en comparación a los ovocitos inmaduros, lo que implicaría un tiempo mínimo de maduración en sistemas de cultivo en esta especie.

Proyecto FONDECYT 1080618.

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA EN LA INCIDENCIA DE POLIESPERMIA DURANTE LA FECUNDACIÓN *IN VITRO* EN CANINOS UTILIZANDO OVOCITOS INMADUROS

(Effect of sperm concentration on the incidence of polyspermic penetration during *in vitro* fertilization in canines using immature oocytes)

Lisboa J., Palomino J., De los Reyes M.

Laboratorio de Reproducción, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

La alta incidencia de poliespermia es aun un problema en los sistemas de fecundación *in vitro* (FIV) donde la concentración espermática supera ampliamente las concentraciones fisiológicas *in vivo*. En orden de determinar una concentración espermática adecuada para FIV en caninos, que logre el mejor equilibrio entre los porcentajes de penetración con una menor incidencia de poliespermia, se probaron diferentes concentraciones de espermatozoides obtenidos de eyaculados frescos de perros, los que se co-incubaron *in vitro* por 24 h con ovocitos inmaduros obtenidos desde los ovarios de perras ovariectomizadas. Los resultados mostraron que el aumento de la concentración espermática de 1, 2, 3 a 4 millones de espermatozoides por mililitro, aumentó el porcentaje de poliespermia de 0%; 5,8%; 11,2% a 25% respectivamente, con tasas de penetración total de 17,4%; 35,6%; 44,1% a 54,25 % para cada concentración respectivamente. Dentro de los porcentajes de penetración total obtenidos con todas las concentraciones evaluadas, sobre el 70% correspondió a espermatozoides encontrados a nivel del citoplasma ovular; el resto del porcentaje fueron espermatozoides ubicados en el espacio perivitelino o zona pelúcida. La reducción de la concentración espermática a 1×10^6 esp/mL no produjo poliespermia, pero afectó severamente los porcentajes de penetración. El aumento de la concentración de 2 a 3×10^6 esp/mL, aumentó el porcentaje de poliespermia aunque no en forma excesiva, logrando un mayor porcentaje de penetración total dentro de los rangos reportados *in vitro* para esta especie.

Proyecto FONDECYT 1080618.

¿EXISTEN SUB-POBLACIONES DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS QUE EXPRESAN DIFERENCIALMENTE INTEGRINAS Y EL RECEPTOR DE PROGESTERONA? (Are there sub-populations of human sperm that differentially express integrins and the progesterone receptor?)

Pozo P., Martínez E., Morales P., Díaz E.S.

Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Previamente, demostramos que espermatozoides humanos incubados en presencia de progesterona y fibronectina estimulan de manera sinérgica la reacción acrosómica. El objetivo de este trabajo fue determinar si en una muestra seminal normal, existen subpoblaciones de espermatozoides que expresen diferencialmente integrinas y el receptor de progesterona. Para ello, espermatozoides móviles, seleccionados por Percoll, fueron capacitados durante 18 hr. Luego, los espermatozoides fueron tratados con: 1) anticuerpo anti- $\alpha 6$ (subunidad de la integrina que reconoce laminina) conjugado con PE; 2) anticuerpo anti-receptor de progesterona (rP) y un anticuerpo anti IgG (anticuerpo secundario) conjugado con Cy5; o 3) con el péptido RGD (que reconoce todas las integrinas que unen fibronectina) conjugado a FAM5. Adicionalmente, los espermatozoides fueron tratados con una combinación de los mismos. Los resultados fueron analizados por citometría de flujo y microscopía confocal.

Tabla 1. Porcentaje de espermatozoides humanos que exhiben marca:

RGD	$\alpha 6$	rP	RDG+ $\alpha 6$	RGD+rP	$\alpha 6$ +rP	$\alpha 6$ +RGD+rP
82%	30%	20%	16%	20%	18%	6%

Los resultados muestran que existen subpoblaciones de espermatozoides humanos que expresan de manera diferencial receptores para fibronectina, laminina y el receptor de progesterona. Además, los datos sugieren que todos los espermatozoides que expresan el rP coexpresan el receptor de laminina y fibronectina. No todos los espermatozoides que expresan el receptor de laminina y fibronectina coexpresan el rP.

Fondecyt 11070051, 1080028.

POSTERS



EFFECTO DEL GLUTATIÓN EN LA LOCALIZACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS TRANSPORTADORES DE VITAMINA C EN EL EPITELIO SEMINÍFERO DE RATA (Effect of glutathione on the localization and expression of vitamin C transporters in rat seminiferous epithelium).

¹Mancilla, H., ¹Maldonado R., ¹Villarroel, F., ¹Pulgar E., ¹Yañez A.E., ¹Slebe J.C., ³Vera J.C., ¹Castro M.A., ^{1,2}Angulo C., ¹Concha I.I.

¹Instituto de Bioquímica, ²Instituto de Química, Universidad Austral de Chile, ³Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción.

El desarrollo y la supervivencia de las células germinales dependen del contacto con las células de Sertoli en el epitelio seminífero de rata. Vitamina C y glutatión son los antioxidantes solubles más importantes en la fisiología celular, siendo ambos fundamentales en el desarrollo de la línea germinal masculina y en la defensa contra agentes químicos y radiaciones. Para estudiar el comportamiento molecular y funcional de los transportadores de vitamina C, se utilizaron cortes de testículo de rata y la línea celular de Sertoli 42GPA9. Análisis de RT-PCR, inmucitoquímica y Western blot revelaron que las células de Sertoli expresan ambas isoformas de transportadores de vitamina C (SVCT 1 y 2) y por ensayos de transporte se determinó su funcionalidad. En experimentos *in vivo* con ratas tratadas con L-Butionina-Sulfoximina (BSO), inhibidor de la gama-glutamilcisteína sintetasa, se observaron diferencias en los niveles de SVCTs en cortes de testículos de rata después de 24 y 48h post-tratamiento. Resultados similares se obtuvieron cuando se trataron cultivos de células Sertoli con este inhibidor. Estos datos sugieren que existe una estrecha relación entre los niveles intracelulares de glutatión y la expresión de SVCTs. La interrupción del metabolismo normal del glutatión afectaría la expresión de los SVCTs en epitelio seminífero de rata.

(FONDECYT 1060135, DID-UACH).

LOCALIZACIÓN DE LA HISTONA 3 MONOMETILADA (H3K4Me1) DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS DE HÍBRIDOS ROBERTSONIANOS *Mus domesticus* 2n32. (H3K4me1 localization during spermatogenesis of mice 2n32 Robertsonian hybrids).

¹Manieu C., ¹Manterola M., ¹Berríos S., ²Page J., ³Vasco C., ¹Ayarza E., ¹Marchant L., ³Garagna S., ¹Fernández-Donoso R.

¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Universidad Autónoma de Madrid, ³Università degli Studi di Pavia.

Metilaciones en residuos específicos de las histonas son modificaciones fundamentales en la regulación epigenética de la cromatina. Un ejemplo es la monometilación en la lisina 4 de la histona H3, situación que induce, en la mayoría de los casos, una inactivación transcripcional. Ésta modificación persiste normalmente sólo en la cromatina de los cromosomas X e Y después de la condensación y silenciamiento que éstos sufren durante la profase I meiótica. En este trabajo hemos investigado si en la cromatina en asinapsis de los trivalentes Robertsonianos (Rbs) de *Mus domesticus* 2n=32, se produce también ésta modificación, indagando también la dinámica de aparición-desaparición de esta condición durante la meiosis y espermiogénesis. Encontramos que, durante la Profase I de la meiosis, la cromatina en asinapsis tanto de los cromosomas sexuales como en la de los trivalentes Rbs se monometila en la H3K4Me1. Ello ocurre a partir del paquiteno medio-tardío, permaneciendo en dicha condición a través de las divisiones meióticas, encontrándose aún presente en las espermátidas redondas descendientes. Éstos resultados sugieren fuertemente que las asinapsis persistentes en los trivalentes durante la profase I inducirían modificaciones epigenéticas en los autosomas involucrados, las que, a semejanza de lo que ocurre en los cromosomas sexuales, perdurarían durante la espermiogénesis. La ocurrencia de este fenómeno impactaría en la organización y expresión génica de la cromatina silenciada, alterando la viabilidad de las células germinales afectadas así como la fertilidad y capacidad reproductiva de los individuos portadores.

Proyecto FONDECYT # 1080090.

DISTRIBUCIÓN DE LA HISTONA H2A.X Y SU FORMA FOSFORILADA γ H2A.X DURANTE LA PROFASE I DE ESPERMATOCITOS DE *Mus domesticus* 2N=40 y en 2N=32 HETEROCIGOTOS ROBERTSONIANOS. (H2A.X and γ H2A.X distribution in prophase I spermatocytes of *Mus domesticus* 2n=40 and 2n=32 Robertsonian Heterocytotes).

¹Marchant L., ¹Berríos S., ¹Manterola M., ²Page J., ¹Ayarza E., ¹Manieu C., ³Garagna S., ¹Fernández-Donoso R.

¹Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Universidad Autónoma de Madrid, ³Università degli Studi di Pavia.

El silenciamiento meiótico de la cromatina en asinapsis (MSUC) que se produce en paquiteno es fundamental para que los espermatocitos portadores de alteraciones cromosómicas puedan progresar durante la profase I y evadir la muerte celular en este estadio. La fosforilación de la histona H2A.X a γ H2A.X es esencial para el MSUC. Se desconoce, sin embargo, si la γ H2A.X que se produce en respuesta a cortes de DNA durante leptoteno-zigoteno (mediada por ATM) persiste hasta el paquiteno o si ocurre *di nuovo* durante el establecimiento del MSUC (probablemente mediada por ATR). Con el objetivo de establecer variaciones en la presencia de γ H2A.X durante la profase I, estudiamos morfológica y cuantitativamente la distribución temporal de γ H2A.X respecto a H2A.X en espermatocitos de *Mus domesticus* 2n40 y 2n32. En ambas razas cromosómicas, γ H2A.X y H2AX se localizan en todo el núcleo durante leptoteno-zigoteno. En paquiteno del 2n=40, la relación de γ H2A.X/H2AX-total, disminuye hacia paquiteno tardío y en diploteno se incrementa nuevamente. No observamos nunca valores cercanos a 0 en la relación γ H2A.X/H2AX-total durante profase I. En cambio en espermatocitos 2n32, esta relación aumenta significativamente durante paquiteno-diploteno, dada la mayor cantidad de cromatina en asinapsis por espermatocito. Estudiamos además la temporalidad de aparición de ATM y ATR, encontrando coincidencia temporal de ambas proteínas respecto a la de γ H2A.X, en espermatocitos 2n40 y 2n32. Estos resultados sugieren que: 1.- Tanto ATR como ATM podrían mediar en la fosforilación de H2A.X. 2.- γ H2A.X no desaparece ni reaparece durante paquiteno. 3.- H2A.X está siempre fosforilada en la cromatina en asinapsis durante la profase I.

Proyecto FONDECYT # 1080090.

DISMINUCION DE PROTEINAS INVOLUCRADAS EN LA APOPTOSIS DE CELULAS GERMINALES EN EL HOMBRE MAYOR.

(Age-dependent decrease in apoptosis related proteins in germ cells of aging men)

¹Baeza K., ¹Rivera J., ¹Jeria F., ¹Chaucón M.E., ¹Folch C., ²Gabler F., ¹Castro A., ¹Smith R.

¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, ²Depto Anatomía Patológica-Centro, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En el testículo la apoptosis tiene como función asegurar la homeostasis tisular y controlar la calidad seminal eliminando células en exceso o que no completan la meiosis. Para determinar si existe una relación entre la edad del varón y los niveles de expresión de proteínas claves implicadas en la apoptosis de las células germinales en testículo humano, se evaluó la expresión proteica de caspasas 2L, 8, 3 activa y PARP-1. Para esto, se utilizó tejido testicular de 12 pacientes (edad promedio 60.2 años) sometidos a orquidectomía por patología prostática y 9 pacientes (edad promedio 38.4 años) con azoospermia obstructiva y espermatogénesis normal (controles). Se determinó la localización y niveles de expresión de las proteínas mediante inmunohistoquímica (IHQ) y Western blot (WB). Los análisis de WB demostraron una disminución significativa ($p < 0.05$) en los niveles de caspasas 2L, 8 (43kD) y 3 en hombres mayores. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el contenido de la forma clivada de PARP-1. Los estudios de IHQ revelaron una inmunotinción menor de caspasa 3 (espermatoцитos I/espermátidas redondas) y caspasa 2L (espermátidas redondas) en sujetos mayores, mientras que los niveles de caspasa 8 (núcleo de espermatoцитos I/espermátidas redondas) en ambos grupos fueron similares (10kD). Nuestros resultados demuestran que la mayor edad paterna se asocia a una disminución en los niveles de proteínas (caspasas 2L, 8 y 3) involucradas en la regulación de la apoptosis testicular, mientras que, no se observaron cambios en los niveles de PARP-1 principal blanco de caspasa 3 en el núcleo.

Proyecto Fondecyt 1070756.

NIVELES PROTEICOS DE FACTORES MITOCONDRIALES RELACIONADOS CON LA APOPTOSIS TESTICULAR. (Mitochondria-associated apoptotic factors in the human testes).

¹Rivera J., ¹Chaucón M.E., ¹Baeza K., ¹Jeria F., ¹Folch C., ²Gabler F., ¹Madariaga M., ¹Castro A., ¹Smith R.

¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, ²Depto Anatomía Patológica-Centro Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La edad paterna ha sido implicada en alteraciones reproductivas y genéticas asociadas a un aumento de fragmentación del DNA espermático. El mecanismo por el cual se genera este daño en espermatozoides de hombres mayores no está claramente establecido, se sugiere a la apoptosis defectuosa como una posible causa. Para determinar si existe una relación entre la edad del varón y los niveles de proteínas claves implicadas en la vía mitocondrial de señalización apoptótica, se evaluó la expresión proteica de Bcl-2, citocromo c y caspasa-9 activa en células germinales de testículo humano. Adicionalmente, se determinó la localización del factor apoptogénico AIF. Se utilizó tejido testicular de 12 pacientes (edad promedio 60.2 años) sometidos a orquidectomía por patología prostática y 9 pacientes (edad promedio: 38.4 años) con azoospermia obstructiva y espermatogénesis normal (controles). Se determinó la localización y niveles proteicos mediante inmunohistoquímica (IHQ) y Western blot (WB). Bcl-2 se detectó en todos los tipos celulares, observándose una disminución significativa ($p=0.008$) de esta proteína en hombres mayores (IHQ/WB). El análisis por WB demostró que en pacientes mayores existe un aumento significativo de citocromo c ($p=0.002$), mientras que los niveles de caspasa 9 no mostraron diferencias en ambos grupos estudiados. Los niveles de AIF fueron similares en ambos grupos, mostrando un patrón granular citoplasmático que sugiere una localización mitocondrial. El incremento de citocromo c, sin un aumento de caspasa 9, sugiere su participación en funciones no asociadas a apoptosis. AIF, no jugaría un papel determinante en la ejecución de la apoptosis testicular.

Proyecto Fondecyt 1070756.

EFFECTO DE LOS OVIDUCTOS Y SUS SECRECIONES SOBRE LA INTEGRIDAD DEL ADN ESPERMÁTICO DE BOVINOS. (Effect of oviducts and their secretions on DNA integrity of bovine sperm).

^{1,2}Navarrete P.A., ³Morató R, ⁴Mateu E., ²Paramio M.T., ²Mogas T., ¹Sánchez R.

¹Centro de Excelencia de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR), Departamento de Ciencias Preclínicas, Universidad de La Frontera, ²Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Becaria CONICYT, ³Departamento de Ciencia Animal y de los Animales, Universidad Autónoma de Barcelona, ⁴Departamento de Ciencia Animal y Anatomía, Centro de Investigación en Salud Animal (CReSA), Universidad Autónoma de Barcelona.

La integridad del genoma espermático es relevante en el inicio y mantención de un embarazo viable. Esta es protegida por el plasma seminal, sin embargo, este efecto desaparece una vez que los espermatozoides entran al tracto genital de la hembra. El oviducto cumple una función protectora contra el daño espermático inducido por las especies reactivas de oxígeno. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los oviductos de bovino y sus secreciones sobre el daño del ADN espermático. Espermatozoides de bovino descongelados fueron expuestos a tres grupos: n(1) Explantes oviductales; (2) Secreciones de los explantes oviductales; y (3) Grupo control (medio TALP). La fragmentación del ADN espermático fue medida utilizando la técnica de TUNEL y analizada por citometría de flujo a las 0 y 4 horas (h) de incubación. En seis experimentos independientes, la exposición de espermatozoides de bovino a explantes oviductales y sus secreciones durante 4 h, resultó en un incremento estadísticamente significativo de los niveles de fragmentación del ADN espermático comparados a los observados en el control de 0 h. Mientras que en cinco experimentos dependientes, la exposición de espermatozoides de bovino a las secreciones oviductales durante 4 h resultó en un incremento estadísticamente significativo de los niveles de fragmentación del ADN espermático comparados al control de 0 y 4 h. Sin embargo, la exposición de espermatozoides de bovino a explantes oviductales durante 4 h no mostró un efecto significativo. En conclusión, los oviductos y sus secreciones no parecen proteger de la fragmentación del ADN de espermatozoides de bovinos.

PARTICIPACIÓN DEL PROTEOSOMA ESPERMÁTICO EN LA FECUNDACIÓN IN VITRO EN BOVINO. (Participation of the sperm proteasome during in vitro fertilization in cattle).

¹⁻²Sánchez R., ¹⁻³Deppe M., ¹Schulz M., ¹Bravo P., ⁴Morales P., ¹⁻³Risopatrón J.

¹Centro de Biotecnología en Reproducción, ²Depto. de Ciencias Preclínicas, ³Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, ⁴Depto. de Biomedicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Entre las actividades enzimáticas del espermatozoide, las proteásicas pertenecientes al proteosoma serían importantes durante el proceso de fecundación. El objetivo del presente estudio fue investigar la participación del proteosoma espermático en la fecundación in vitro en bovino. Espermatozoides móviles seleccionados por swim-up en medio Sperm-Talp y capacitados in vitro, fueron incubados con y sin epoxomicina (inhibidor específico del proteosoma) por 30 y 60 minutos. Posteriormente se realizó la FIV con ovocitos madurados in vitro. Después de 48 hrs post-inseminación se evaluó la división celular, siendo esta significativamente menor en la FIV que se realizó con espermatozoides incubados con epoxomicina por 30 y 60 min ($P < 0.001$), respecto a la FIV con espermatozoides incubados sin inhibidor (control). La FIV fue inhibida en más de un 60% cuando los espermatozoides fueron preincubados por 30 min con el inhibidor y en un 85% con la preincubación por 60 min. Los resultados obtenidos demuestran que el inhibidor de proteosoma fue eficaz en bloquear la FIV en bovino, sugiriendo la participación del proteosoma espermático en este proceso.

Proyecto DIUFRO 120636, de la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera, Chile. Fondecyt 1080028 (PM).

DESARROLLO NUCLEAR Y CITOPASMÁTICO DE GRÁNULOS CORTICALES DURANTE 48 HORAS DE CULTIVO EN OVOCITOS DE PERRA (nuclear and cytoplasmic cortical granules development during 48 hour of culture in bitch oocytes).

Luna D., Palomino J., De los Reyes M.

Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Durante la maduración del ovocito en el folículo y en el caso de los caninos, también a nivel oviductal, ocurren cambios citoplasmáticos y nucleares, que pueden afectarse en los sistemas de maduración *in vitro*. Este estudio evaluó la localización de los gránulos corticales (GCs) a nivel citoplasmático y su relación con el desarrollo meiótico en ovocitos de perras madurados *in vitro* por 48 horas. Se utilizaron 120 ovocitos obtenidos desde ovarios de perras ovariectomizadas. Los ovocitos se desnudaron y se tiñeron con la lectina LCA-Fitc para la evaluación de los GCs y con DAPI para la evaluación del núcleo. Los patrones de distribución de GCs encontrados a las 48 h de cultivo fueron: 1) Homogéneo granuloso en el citoplasma y 2) Granuloso adyacente a la membrana plasmática. El 69% de los ovocitos presentó el patrón 2 y el 29% el patrón 1. En el resto (2 %), no fue posible distinguir un patrón característico. De los ovocitos que presentaron el patrón 2, 37 % presentó reinicio meiótico (GVBD), 46% y 14 % progresaron a metafase 1 y 2 (MI; MII) respectivamente. Un 46 % de los ovocitos con patrón 1 presentó GVBD, 33% MI, 4% anafase 1 y 13 % M2. Estos resultados indicarían que 48 horas de maduración *in vitro*, provoca la migración de los GCs y la reanudación de la meiosis en la mayoría de los ovocitos. Sin embargo, este período de cultivo no sería suficiente para completar la maduración meiótica, dado el bajo porcentaje de MII obtenido.

Proyecto FONDECYT 1080618.

N, N'-DITHIOBISPHTHALIMIDE, COMPUESTO AROMÁTICO DISULFURADO, ES UN POTENTE AGENTE ESPERMIOSTÁTICO EN HUMANOS. (N, N' -Dithiobisphthalimide, a disulphide aromatic compound, is a potent spermicide agent in humans.)

Flórez M., Díaz E.S., Brito I., Morales P.

Laboratorio Biología de la Reproducción, Universidad de Antofagasta.

Diversos estudios demuestran que los usuarios de preparaciones vaginales que contienen Nonoxinol 9 (N-9) están en alto riesgo de contraer enfermedades de transmisión sexual, entre ellas el VIH (OMS/CONRAD, 2001). Por lo tanto, existe gran interés en identificar compuestos que inhiban de manera específica los espermatozoides sin dañar la mucosa vaginal y gran necesidad de identificar un compuesto con potente acción espermicida que pueda ser utilizado en preparaciones vaginales como anticonceptivo y reemplace el N-9. Se ha descubierto una nueva serie de ésteres de disulfuros, no-detergentes, con actividad espermicida. Diversos estudios documentan que los grupos sulfidril y disulfuro participan en la movilidad y viabilidad espermática, manteniendo la fluidez de la membrana. Probablemente, los ésteres de disulfuros actúen sobre los grupos sulfidril, afectando la movilidad y viabilidad de los espermatozoides. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto espermiostático y/o espermicida de N,N'-Dithiobisphthalimide, un compuesto con enlace disulfuro, no detergente, sobre espermatozoides humanos, células HeLa y *Lactobacillus acidophilus*. Para ello, se evaluó la movilidad y viabilidad de espermatozoides humanos en semen utilizando diferentes concentraciones del compuesto disulfurado (2.5 - 100 μM). Además, evaluamos el efecto tóxico sobre células HeLa y sobre *Lactobacillus acidophilus*. Se identificó el EC_{50} (8 μM) y la concentración mínima que inhibe en 20 segundos el 100% de la movilidad espermática (24 μM). A estas concentraciones, el compuesto no afecta la viabilidad de los espermatozoides. Los resultados indican que N, N'-dithiobisphthalimide tiene un efecto espermiostático irreversible y no tiene efecto tóxico sobre células HeLa y *Lactobacillus acidophilus*.

Fondecyt 1080028 y Fundación Minera Escondida.

LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR FIBRONECTINA ES MEDIADA POR TIROSINA QUINASAS, PKA Y MAPK EN ESPERMATOZOIDEOS HUMANOS. (The fibronectin-induced acrosome reaction is mediated by tyrosine quinase, PKA and MAPK in human sperm).

Díaz E.S., Yañez A., Pérez B., Pozo P., Morales P.

Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Previamente, demostramos que fibronectina, una proteína de la matriz extracelular presente en el cúmulo oóforo del ovocito, induce la RA en espermatozoides humanos y que este efecto es mediado por el proteosoma. El objetivo de este trabajo es determinar la vía de señalización intracelular involucrada en la inducción de la RA y en la activación del proteosoma por fibronectina. Para ello, alícuotas de espermatozoides móviles, seleccionados por Percoll, fueron capacitados durante 18 hr. En los últimos 45 minutos los espermatozoides fueron incubados con genistéina (50 μ M, inhibidor de tirosina quinasas), H89 (100 μ M, inhibidor de PKA), PD 98059 (inhibidor de las MEK) o solvente. Después de 15 min se agregó fibronectina (100 μ g/ml) o su solvente. Finalmente, las suspensiones espermáticas fueron analizadas para determinar: 1) el porcentaje de espermatozoides reaccionados usando PSA-FITC y Hoechst 33258; 2) la actividad tipo quimotripsina del proteosoma con un sustrato fluorogénico (Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC); 3) el grado de fosforilación en tirosina del proteosoma; en 4) el grado de fosforilación de las proteínas ERK 1/2. En otro experimento, espermatozoides capacitados por 18 hr fueron incubados durante los últimos 30 minutos en presencia o ausencia de fibronectina (100 μ g/ml) y se determinó el nivel de AMPc. Los resultados indican que tanto la RA como el aumento en la actividad del proteosoma inducidos por fibronectina son mediados por tirosina quinasas, PKA y MAPK. Resultados preliminares sugieren que existe un "crosstalk" entre la vía de PKA y las MAPK.

Fondecyt 11070051, 1080028.

LA INDUCCIÓN DE LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) POR LAMININA (LN) ES MEDIADA POR EL PROTEOSOMA EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS. (The laminin-induced acrosome reaction (AR) is mediated by the proteasome in human sperm).

Tapia S., Rojas M., Pizarro E., Morales P., Díaz E.S.

Laboratorio Reproducción Animal, Universidad de Antofagasta.

El proteasoma espermático cumple una importante función durante la fecundación en mamíferos. En nuestro laboratorio se demostró que fibronectina, una glicoproteína de la matriz extracelular (MEC) induce RA y aumenta la actividad enzimática y el grado de fosforilación en residuos de tirosina de algunas subunidades del proteasoma espermático. El objetivo de este trabajo fue estudiar, si laminina, otra glicoproteína de la MEC del cúmulo oóforo, podría tener el mismo efecto que fibronectina. Para ello, espermatozoides humanos recién obtenidos (T0) o capacitados durante 18 hr (T18) fueron incubados en presencia o ausencia de Ln (0-20 $\mu\text{g/ml}$) por 30 min. El porcentaje de espermatozoides reaccionados se evaluó usando PSA-FITC y Hoechst 33258. Espermatozoides incubados con 7 μM progesterona fueron usados como control positivo. Además, a T0 y T18 se determinó la actividad tipo quimotripsina del proteasoma con un sustrato fluorogénico. Para evaluar la participación del proteasoma en la RA inducida por Ln, alícuotas de espermatozoides a T18 fueron incubadas con el inhibidor del proteosoma epoxomicina (10 μM) y luego tratadas con diferentes concentraciones de Ln (5-20 $\mu\text{g/ml}$). Posteriormente, se evaluó el porcentaje de espermatozoides reaccionados. La fosforilación del proteasoma en residuos tirosina fue evaluada por inmunoprecipitación e inmunoblot. Los resultados sugieren que Ln estimula la RA del espermatozoide humano de manera dosis y tiempo dependiente y que este efecto es mediado por el proteasoma. Además, Ln estimula la actividad enzimática tipo quimotripsina y aumenta el grado de fosforilación en residuos de tirosina del proteasoma a ambos tiempos estudiados.

Fondecyt 11070051, 1080028.

FIBRONECTINA Y PROGESTERONA TIENEN UN EFECTO SINÉRGICO SOBRE LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS, EL CUAL ES MEDIADO POR PKA.

(Fibronectin and progesterone have a synergic effect on the acrosome reaction (AR) in human sperm, which is mediated by PKA).

Pérez B., Pozo P., Morales P., Díaz E.S.

Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Previamente, demostramos que fibronectina (Fn), una proteína de la matriz extracelular presente en el cúmulo oóforo del ovocito, induce la RA en espermatozoides humanos. Además, está descrito que progesterona (P), esteroide presente en el cúmulo oóforo, induce la RA en espermatozoides humanos. El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de Fn y P sobre la RA y la participación de PKA en dicho efecto. Para ello, alícuotas de espermatozoides móviles, seleccionados por Percoll, fueron capacitados durante 18 hr. En los últimos 45 minutos los espermatozoides fueron incubados con 100 μ M H89 (inhibidor de PKA), 150 μ M genisteína (inhibidor de tirosina quinasas) o solvente. Después de 15 min se agregó 100 μ g/ml Fn y/o 7 μ M P. En una alícuota se evaluó el porcentaje de espermatozoides reaccionados usando PSA-FITC y Hoechst 33258; en otra alícuota, se determinó por Western-blot el grado de fosforilación de proteínas en residuos de tirosina. En otro experimento, espermatozoides capacitados fueron incubados en presencia o ausencia de genisteína y/o Fn o P y se midió la actividad de PKA. Los resultados indican que existe un efecto sinérgico entre Fn y P sobre la RA. Este efecto sinérgico sería mediado por PKA.

Porcentaje espermatozoide reaccionados

Control	P	Fn	Fn + P	H89	Fn + P+ H89
11	32	34	46	12	14

Además, Fn y P aumentan la actividad de PKA, efecto mediado por tirosina quinasas. Resultados preliminares sugieren que la vía de las MAPK también podría estar involucrada en el aumento sinérgico de la RA inducida por Fn y P.

Fondecyt 11070051, 1080028.

INMUNODETECCIÓN DE ACROSINA DURANTE LA CAPACITACIÓN IN VITRO DE ESPERMATOZOIDES CANINOS CRIOPRESERVADOS (Immunodetection of acrosin during the in vitro capacitation of criopreserved canine spermatozoa)

Palomino J., De los Reyes M.

Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Se ha descrito que la criopreservación provoca alteraciones en los espermatozoides las que serían similares a las que ocurren durante la capacitación y reacción acrosómica, con la consecuente liberación de acrosina. En este trabajo se estudió la liberación de esta enzima en espermatozoides caninos frescos y criopreservados (refrigerados y congelados), durante diferentes períodos (1, 2 y 3 horas) de incubación en medio Fert-Talp. Acrosina se inmunolocalizó mediante el anticuerpo anti acrosina C5F10 y un segundo anticuerpo conjugado a oro coloidal. En los tres tipos de espermatozoides, se encontraron 4 patrones de marcación: 1) espermatozoides no marcados, con acrosoma intacto; 2) marca en el borde del acrosoma; 3) en todo el acrosoma y 4) sin marca, con acrosoma reaccionado. Al inicio de la incubación, el porcentaje de espermatozoides frescos intactos fue mayor (70%) que en refrigerados y congelados (50 y 20%). El patrón 2, no varió en los espermatozoides criopreservados y aumentó en los frescos después de una hora de incubación. Además, al aumentar el tiempo de capacitación, los espermatozoides congelados con patrón 3 disminuyeron, lo que no se observó en los otros espermatozoides. Finalmente, en los tres tipos de espermatozoides disminuyó el patrón 4 a través del tiempo, pero ésta fue mayor en los espermatozoides congelados. Estos resultados sugieren que en los espermatozoides congelados se adelantan los procesos que llevan al espermatozoide a experimentar la RA, con una consecuente prematura liberación de acrosina, lo cual podría disminuir la capacidad fértil de estos espermatozoides, en comparación a los frescos y refrigerados.

Proyecto FONDECYT 1080618.

EXPRESIÓN ESTADÍO-DEPENDIENTE DE PROTEÍNAS DE LA FAMILIA ADAM EN TESTÍCULO DE RATA. (ADAM family protein stage-dependent expression in rat testis).

Urriola P.A., Moreno R.D.

Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La espermatogénesis es el proceso de formación de espermatozoides a partir de células troncales diploides (espermatogonias), que es regulada por señales endocrinas, paracrinas y yuxtacrinas. En este trabajo proponemos que esta señalización está modulada por metaloproteasas de transmembrana de la familia ADAM. Durante la espermatogénesis, las células germinales se asocian entre sí en agrupaciones celulares denominadas estadíos, los cuales dan cuenta de la diferenciación y apoptosis que ocurren en este proceso. Nuestro objetivo fue estudiar la expresión de ADAM9, 10 y 17, en los estadíos del túbulo seminífero. Para ello, aislamos túbulos seminíferos de ratas adultas y mediante transiluminación separamos los diferentes segmentos, los cuales se utilizaron para determinar los niveles proteicos por Western blot y de mRNA por RT-PCR. Nuestros resultados indican que los niveles de los transcritos de las tres ADAMs fueron similares en todos los segmentos analizados. Sin embargo, encontramos diferencias a nivel de las proteínas. Los niveles de ADAM9 y ADAM17 tuvieron el mismo comportamiento en todos los segmentos, con variaciones estadío-específico. Los niveles de ADAM10 también fueron estadío-específico, aunque el patrón observado fue distinto al de ADAM9 y 17. El receptor tirosina quinasa c-kit, que es sustrato de ADAM10 y 17, se procesa en forma estadío-dependiente, y esto se correlaciona con los niveles del receptor Fas, un indicador de apoptosis. En conclusión, nuestros resultados sugieren una regulación estadío-específico a nivel traduccional de las ADAMs, lo cual podría explicar el procesamiento de c-kit y apoptosis estadío-dependiente observada durante la espermatogénesis.

Fondecyt 1070360.

TESTICULAR ACTIVITY IN YOUNG AND OLD AGE MALE RHESUS MONKEYS EXPOSED TO DIETARY CALORIC RESTRICTION (CR).

^{1,2}Brown D.I., ²Downs J., ²Garyfallou V.T., ²Urbanski H.F.

¹Departamento de Biología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile. ²Division of Neuroscience, Oregon National Primate Research Center (ONPRC), Oregon, USA.

Dietary CR slows aging, reduce age-related illnesses, and increase longevity in short-lived species. Such effects are less clear in long-lived species as primates. Furthermore, it is unknown if long-term CR negatively impacts the neuroendocrine-reproductive axis – a potential concern if CR is to be used therapeutically in humans. On this study we examine testicular function in young adult and in old monkeys (*Macaca mulatta*), subjected to *ad libitum* (AL) feeding or CR (70% of AL) for 4 years. Serial blood samples were collected across a 24-hour period and testosterone (T) was measured. Testicular tissues were processed for histology. The tubule diameter (TD) and seminiferous epithelium height (EH) were determined. Each section was classified in one of six stages as with complete germ line (CGL) and with depleted germ line (DGL). T in young and the old animals had a robust circadian pattern, with a peak occurring at night and a nadir occurring at midday. However, in the old animals, the peak, nadir, and overall mean testosterone levels were all markedly lower; no CR effect was observed, except peak T levels were higher in the old CR animals than in the controls. As expected, TD and EH had lower values in the older animals, with a significant decrease in CGL and a reciprocal increase of DGL tubules; no CR effect was observed. In summary, the data show an age-related decline in T levels and a decrease in spermatogenetic activity, but no obvious negative impact of CR on any of these reproductive parameters.

NIH Grants: RR-00163, HD-29186 and AG-19914.

PRENATAL EXPOSURE TO TESTOSTERONE EXCESS MODIFIES SERTOLI CELLS CHARACTERISTIC IN RAMS.

¹Rojas-García P.P., ¹Recabarren M.P., ²Sarabia L., ³Schön J., ³Gabler G., ³Einspanier R., ⁴Maliqueo M., ⁴Sir-Petermann T., ⁵Rey R., ¹Recabarren S.E.

¹Laboratory of Animal Physiology and Endocrinology, Faculty of Veterinary Sciences, University of Concepción, Chillán, Chile, ²Institute of Biomedical Sciences, University of Chile, Santiago, Chile. ³Institute of Veterinary Biochemistry Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Germany, ⁴Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile, ⁵Centro de Investigaciones Endocrinológicas (R.A.R.), Hospital de Niños "R. Gutiérrez," C1425EFD Buenos Aires, Argentina; and Departamento de Histología, Biología Celular, Embriología, y Universidad de Buenos Aires, 1428 Buenos Aires, Argentina.

The reprogramming effects of the exposure to testosterone excess during the fetal life on male hypothalamic pituitary gonad axis are yet unknown. We evaluated the male gonad disruption by histological analysis of the seminiferous tubule and by the mRNA expression of the FSH receptor (FSHR) and members of the TGF β superfamily: TGF β -1, -2, -3 and antimüllerian hormone (AMH). At 42 weeks of age males born to mothers treated with 30 mg testosterone propionate, in cottonseed oil, twice weekly from days 30 to 90 and with 40 mg testosterone propionate from day 90 to 120 of pregnancy (T-males) showed a higher number of Sertoli cells per tubule ($P < 0.05$) and a higher expression of the FSHR mRNA ($P < 0.05$) compared to control male (C-male), which were born to mothers that received only the vehicle. In the T-male the Sertoli cell number correlated inversely with the number of spermatogonia per tubule, with the diameter and height of the epithelium of the seminiferous tubule, and with the expression of TGF β -3. The expression of the FSHR was positively correlated with the expression of TGF β -3 in the T-males. Moreover, in the T-males, AMH expression level correlated negatively with the expression level of TGF β -1 and -3, and positively with the expression level of TGF β -2. These results suggest that the prenatal exposure to an excess testosterone has a negative impact on the normal development of the male gonad which produces an immature testicle and disrupt its local paracrine and/or autocrine regulation.

Fondecyt 1050915 (SER); DFG GZ 444 113/7/0-1 (PPR-G and MPR).

EXPRESIÓN DE ENZIMAS ESTEROIDOGÉNICAS EN CULTIVOS DE CÉLULAS DE LEYDIG DE MACHOS OVINOS EXPUESTOS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA. (Expression of steroidogenic enzymes in Leydig cell cultures from male sheep prenataly exposed to testosterone).

¹Palma S., ¹Tobar H., ¹Rojas-García P.P., ¹Recabarren M.P., ²Sir-Petermann T., ¹Recabarren S.E.

¹ Laboratorio de Fisiología Animal y Endocrinología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile y ²Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La expresión de las enzimas esteroiogénicas se puede reprogramar durante el desarrollo fetal y pueden ser altamente sensibles al ambiente hormonal materno durante la gestación, afectando la esteroiogénesis y la gametogénesis. Probamos esta hipótesis al someter a madres ovinas gestantes a un tratamiento con testosterona propionato (TP) disuelta en aceite de maravilla. Estudiamos en los machos nacidos de esas madres (machos-T, n=3), a la edad de 40 meses, la expresión de diferentes enzimas responsables de la biosíntesis de esteroides sexuales, en cultivo primario de células de Leydig, identificadas por tinción contra 3 β HSD e inmunoreactividad contra CYP17, y la comparamos con la expresión en machos nacidos de madres tratadas sólo con aceite de maravilla (machos-C, n=5). El tratamiento con TP fue de 30 mg. entre los 30-90 días de gestación, seguido de 40 mg. entre los 90-120 días de gestación (parto a los 154 días). La expresión de StAR, 3 β HSD, 17 β HSD, CYP11 y CYP17 fue determinada mediante RT-PCR. La expresión se determinó antes y 24 horas después de la estimulación de las células en cultivo con 1UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) por ml de medio. Encontramos que el nivel de expresión de las enzimas ya mencionadas en las células de Leydig provenientes de machos-T, antes y después de la estimulación con hCG fue similar a la de machos-C. Estos resultados sugieren que los efectos deletéreos postnatales observados en machos nacidos de madres expuestas a testosterona durante la preñez estarían primariamente dirigidos hacia la gametogénesis y no sobre la esteroiogénesis.

Fondecyt 1050915 (SER).

ANÁLISIS DE DOS POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO SIMPLE (SNP) EN LA SECUENCIA GÉNICA DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS EN HOMBRES CHILENOS CON FALLA ESPERMATOGÉNICA PRIMARIA. (Analysis of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the androgen receptor gene sequence from Chilean men with primary spermatogenic failure).

¹Parada-Bustamante A., ¹Madariaga M., ¹Lardone M.C., ⁴Piottante A.
²Valdebenito R, ³Ebensperger M., ³Estrugo A., ¹Pommer R, ¹Castro A.

¹Laboratorio de Andrología Molecular y Reproductiva; Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Hospital Clínico Universidad de Chile. ³Hospital Clínico San Borja-Arriarán ⁴Universidad Andrés Bello, Chile.

Un alto porcentaje de pacientes con falla espermatogénica primaria presentan una etiología desconocida. El receptor de andrógenos (RA) es crítico para el mantenimiento y diferenciación de los órganos reproductivos masculinos y la espermatogénesis. Estudios previos mostraron una asociación entre un haplotipo formado por seis polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en la secuencia génica del RA e infertilidad masculina. En este trabajo determinamos la frecuencia de dos de estos polimorfismos; rs1204038 (C/T) y rs1337082 (G/A) en pacientes infértiles con falla espermatogénica primaria (casos) sin historia de alteraciones andrológicas (idiopáticos, N=82) y ex-criptorquídicos (N=16) comparado con sujetos controles con espermatogénesis conservada (51 azoospermicos obstructivos y 70 normozoospermicos). Los pacientes infértiles tenían indicación de biopsia testicular para diagnóstico histopatológico y recuperación de espermatozoides para reproducción asistida. Para el análisis de SNPs se utilizó la técnica de PCR alelo específico a partir de DNA genómico obtenido de sangre periférica. Todos los individuos firmaron un consentimiento informado y fueron sometidos a un examen urológico, estudios hormonales y cariotipo. Se excluyeron hombres con hipogonadismo hipogonadotrofo, varicocele clínico, enfermedades crónicas, microdeleciones del cromosoma Y, infecciones de la vía seminal y cáncer testicular. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia entre casos y controles de ambos polimorfismos (rs1204038= alelo T: 4,1% versus 5,6% y rs1337082= alelo G: 11,6% versus 12,3%, respectivamente). Estos resultados sugieren que estos polimorfismos del RA no se asocian con falla espermatogénica severa; sin embargo, el análisis combinado de otros SNPs es necesario para obtener conclusiones definitivas.

Fondecyt#1060081 y Conicyt/PBCT PSD 51.

ETOPOSIDE, UNA DROGA ANTICANCERÍGENA, INDUCE ACTIVACIÓN DE METALOPROTEASAS EXTRACELULARES EN LÍNEAS CELULARES DERIVADAS DE CÉLULAS GERMINALES.

(Etoposide, an anti-cancer drug, induces extracellular metalloproteases activation in pre-pubertal rat testis).

¹Lizama C., ²Antonelli M., ³Reyes J.G., ¹Moreno R.D.

¹Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

La espermatogénesis es un proceso altamente regulado por señales endocrinas, paracrinas y autocrinas, esenciales para el control de la sobrevivencia, diferenciación y muerte celular. Las ADAMs son una familia de metaloproteasas de membranas involucradas en la escisión de ligandos y receptores extracelulares, y son centrales en las interacciones celulares antes mencionadas. El objetivo de este trabajo fue determinar estímulos que modulen la activación de las ADAM10 y ADAM17 en líneas celulares derivadas de células germinales. Etoposide, un inhibidor de la topoisomerasa II, incrementa el número de células apoptóticas en las líneas celulares CG1 y CG2. Etoposide induce un aumento en los niveles de ADAM10 y 17, evaluadas por inmunohistoquímica, western blot y RT-PCR. Por otra parte la inhibición farmacológica de ADAM17 previene la muerte celular en estas líneas celulares. Estos resultados sugieren que ADAM10 y ADAM17 pueden ser reguladas por etoposide y ADAM17 es importante en la apoptosis inducida por etoposide.

Fondecyt 1070360.

COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN MIELES Y PLANTAS NATIVAS CHILENAS AFECTAN LA VIABILIDAD DE CÉLULAS CANCERÍGENAS HUMANAS. (Phenolic compounds present in honey and native chilean plant affect the viability of human cancer cells)

¹Urzúa N., ²Moreno R.D., ¹Montenegro G.

¹Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, ² Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Una de las familias de metabolitos secundarios vegetales de mayor importancia para la salud humana son los compuestos fenólicos. Durante los últimos años se han realizado numerosos estudios para evaluar el efecto de estos compuestos en la salud humana, ya sea los que son ingeridos en la dieta (frutas, verduras, miel, vino tinto) o los presentes en plantas medicinales. Debido a la gran biodiversidad de especies vegetales presente en Chile, en este trabajo se analizan algunas especies nativas con la finalidad de evaluar el posible rol anticancerígeno de los compuestos fenólicos presentes en éstas, además en el caso de las mieles, se piensa que éstas heredan las características de la planta de la cual fueron originadas por lo que también se analizarán los compuestos presentes en ellas. Se realizó la extracción de compuestos fenólicos tanto de mieles como de plantas nativas, mediante columnas de afinidad y en el caso de las plantas mediante extracciones con acetato de etilo y éter, los que posteriormente fueron concentrados y resuspendidos en agua destilada, finalmente células cancerígenas de próstata (LnCap) y mama (Zr-75) fueron incubadas con estos extractos en distintas concentraciones y al cabo de 24 horas se evaluó su viabilidad. Se pudo observar que algunos extractos (mieles y plantas) disminuyeron la viabilidad celular significativamente e indujeron muerte celular. Al incubar células normales (no cancerígenas) con estos extractos, no se observaron tales efectos, lo que haría suponer un efecto específico de estos extractos en células cancerígenas.

Proyecto COPEC-UC QC008.

EFFECTO DEL INHIBIDOR GW 441756 EN LA SÍNTESIS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR (VEGF) EN UNA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER OVÁRICO. (Effect of inhibitor GW 441756 in the synthesis of vascular epithelial growth factor (VEGF) in an ovarian cancer cell line).

Tapia V., Vega M., Romero C.

Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

La angiogénesis es un proceso fundamental en la progresión del cáncer. Una de las moléculas angiogénicas más conocidas es el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). En nuestro laboratorio se ha demostrado previamente que el factor de crecimiento nervioso (NGF) aumenta significativamente la expresión génica y proteica de VEGF en explantes de cáncer ovárico epitelial y en células de granulosa humana. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la acción de un inhibidor selectivo para el receptor de alta afinidad de NGF (trkA), en la síntesis de VEGF. Se utilizó una línea celular de cáncer ovárico A2780 (donada gentilmente por el Dr. Gareth Owen), la cual fue estimulada con NGF (50 ng/mL), con el inhibidor GW 441756 (2 nM) y con la combinación de ambos por 18 horas. Al término de la incubación, en el medio de cultivo (medio condicionado) se determinó la concentración de VEGF por ELISA. El estímulo de NGF aumentó significativamente los niveles de VEGF (27%, $p < 0,05$) con respecto al control; al usar NGF en presencia del inhibidor, el aumento de VEGF fue revertido significativamente (51%, $p < 0,05$). Además, al incubar las células sólo en presencia del inhibidor selectivo GW 441756, se encontró una disminución de 24% en los niveles de VEGF respecto al control ($p < 0,05$). Estos datos sugieren una acción autocrina de NGF en la expresión de VEGF en esta línea celular, efecto que es específicamente revertido con el uso de este nuevo inhibidor del receptor trkA.

Fondecyt 1071036 (CR).

EXPRESIÓN DE CALRETICULINA HUMANA Y SU LOCALIZACIÓN EN OVARIO NORMAL Y CÁNCER DE OVARIO EPITELIAL.

(Calreticulin expression and cellular distribution in normal ovary and epithelial ovarian cancer).

¹Espinoza J., ¹Rosas C., ¹Piquer B., ²Gabler F., ³Ferreira A., ⁴Selman A., ^{1,4}Vega M., ^{1,4}Romero C.

¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile, ²Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ³Programa de Inmunología del ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ⁴Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La calreticulina (CRT), proteína localizada en el retículo endoplásmico, posee múltiples funciones, entre ellas: regular la homeostasis del Ca^{++} y actuar como chaperona. Estudios recientes han demostrado la participación de CRT en el proceso de eliminación de células cancerígenas por el sistema inmune, así como, en la proliferación, progresión de células neoplásicas y angiogénesis. Dado que la angiogénesis es importante en la función ovárica y no existiendo estudios que demuestren la presencia de esta proteína, el objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión proteica de CRT en ovario normal y cáncer ovárico epitelial (COE). En 21 muestras de ovario normal funcionales e inactivos y COE se evaluó la localización de CRT por inmunohistoquímica (IHQ) y los niveles proteicos de CRT se determinaron por western blot. En ovarios normales funcionales, CRT se localizó principalmente en las células epiteliales de la superficie ovárica, en células epiteliales de quistes de inclusión y en células de granulosa. En ovarios normales inactivos, CRT se localizó principalmente en las células epiteliales de la superficie ovárica y en células epiteliales de quistes de inclusión. En COE, CRT se localizó en células epiteliales transformadas. Los niveles de CRT en COE, fueron mayores que los observados en ovarios funcionales e inactivos ($p < 0.05$). Este estudio demuestra que CRT se expresa en ovario normal y COE; interesantemente, su localización es similar a la de NGF y VEGF, como hemos demostrado anteriormente, sugiriendo que CRT podría estar involucrada en algunas funciones de angiogénesis, como se ha reportado en otros tejidos.

Fondecyt N° 1071036.

INCIDENCIA DEL ESTRÉS CRÓNICO POR FRÍO PRENATAL SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR DEL OVARIO DURANTE LA ETAPA ADULTA. (Incidence of chronic-intermittent cold stress on prenatal ovarian follicular development during the adult stage).

^{1,2}González D., ²Araya C., ²Lara H.E., ²Paredes A.

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de las Américas, ²Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

En el ovario de rata el estrés crónico por frío incrementa la actividad simpática, modificando el desarrollo folicular y la esteroidogénesis. La descendencia es sensible a los estímulos estresantes que puedan incidir sobre la madre, provocando una reprogramación celular que se manifiesta en la etapa adulta. Estudios preliminares de nuestro laboratorio, han encontrado que el estrés por frío crónico (3h/día a 4°C de L-V) aplicado a ratas gestantes Sprague-Dawley durante los 21 días de preñez, disminuyó la actividad nerviosa simpática y la producción de esteroides ováricos de las hijas cuando adultas. En este trabajo se estudió el impacto que tiene estos cambios sobre el desarrollo folicular de las hembras y su relación con los cambios en la actividad nerviosa del ovario. Se realizó un estudio morfométrico del ovario para clasificar, medir y cuantificar estructuras foliculares normales y anómalas. Al correlacionar los datos morfométricos completos de las poblaciones foliculares, no mostraron un cambio significativo, salvo una tendencia al aumento en el número de folículos preantrales, pero no en otros estadios de maduración folicular, en cuerpos lúteos y estructuras anómalas (Folículo Tipo 3, Folículo Luteinizado, Pre-Quiste y Quistes) en que no se observan diferencias. Los esteroides plasmáticos tienden a disminuir. Este comportamiento del ovario se manifiesta también en una clara disminución hipotalámica, catecolaminérgica y noradrenérgica, lo que sugiere probables mecanismos compensatorios y/o de adaptación que subyacen en las etapas anteriores a la madurez sexual de importancia fisiológica (ensamblaje folicular, factores de crecimiento, entre otros), para evitar efectos nocivos que modifiquen la normal función reproductiva.

Proyecto Fondecyt 1090036.

EL AUMENTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO DISMINUYE LA POBLACIÓN FOLICULAR EN OVARIO DE RATONES DE DIFERENTES EDADES. (Increase of the nervous growth factor decreases the follicle pool in mice ovaries of different ages).

¹Vega-Villarroel C., ²Dissen G.A., ²Ojeda S.R., ¹Lara H.E., ¹Paredes A.H.

¹Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Chile. ²Division of Neuroscience, Oregon National Primate Research Center, Oregon Health and Science University, Beaverton, USA.

Las neurotrofinas son necesarias para el control de la función ovárica. El factor de crecimiento nervioso (NGF), facilita el desarrollo folicular y la ovulación. Un exceso de NGF en el ovario de roedores reduce la capacidad ovulatoria y favorece la formación de quistes, asociado a un aumento en la actividad simpática del ovario. Asimismo, en ovario de rata, se ha observado que al final del periodo reproductivo existe un aumento en el tono simpático y en el número de quistes. En este trabajo se propone que NGF participa en el proceso de envejecimiento ovárico favoreciendo la aparición de algunas de estas características. El objetivo del trabajo fue evaluar morfológicamente el desarrollo folicular al final del periodo reproductivo en ratones transgénicos que sobreexpresan NGF (TSNGF). Para ello, se evaluó la morfología de ovarios de ratones TSNGF de 6, 8, 10 y 12 meses de edad. Los ovarios fueron fijados en Kahle, cortados en secciones de 6 µm y teñidos con H-E. Los resultados indican que en ovario de ratones TSNGF disminuye la población de folículos preantrales y antrales en todas las edades analizadas. En los animales silvestres aumenta progresivamente la atresia preantral con la edad. En cambio, disminuye en ovario de ratón TSNGF, disminución que no varía con la edad. La población de folículos antrales atrésicos aumentó significativamente de tamaño en todas las edades analizadas. Estos resultados sugieren que NGF intraovárico disminuye el reclutamiento folicular probablemente por una disminución en la reserva folicular.

Fondecyt 1090159.

CONTRIBUCIÓN DE LAS VARIANTES MOLECULARES DE FSH AL DESARROLLO Y FUNCIÓN ENDOCRINA DEL FOLÍCULO OVÁRICO.

(Contribution of FSH molecular variants to the endocrine function and development of the ovarian follicle).

^{1,2}Velásquez E.V., ³Ortiz M.E., ^{2,3}Croxatto H.B., ¹Owen G.I.

¹Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, ²Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile, ³Instituto Chileno de Medicina Reproductiva (ICMER) Santiago, Chile.

La Hormona Folículo Estimulante (FSH), principal responsable del desarrollo y actividad endocrina de folículos antrales, circula como una familia de variantes moleculares que difieren en la composición y estructura de los carbohidratos unidos a la proteína. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de variantes glicosiladas de FSH sobre la actividad endocrina y el destino celular de células de la granulosa (CG) y sobre el desarrollo de folículos intactos de rata en cultivo. Se obtuvo variantes de FSH por fraccionamiento de una preparación comercial de FSH recombinante humana de uso clínico. Se examinó el efecto de variantes moleculares de FSH sobre cultivos primarios de CG y cultivos de folículos antrales tempranos. En CG aisladas, las variantes de FSH presentaron un efecto diferencial sobre la producción de estradiol y la proliferación celular, sugiriendo que estas respuestas pueden desencadenarse independientemente utilizando vías de señalización diferentes. Sorprendentemente, una variante produjo la muerte de las CG en cultivo, efecto totalmente contrario a la función trófica ampliamente conocida para FSH. En concordancia, variantes de FSH afectan también el crecimiento y destino de folículos en cultivo, confirmando que la acción directa de variantes de FSH sobre las CG puede tener relevancia fisiológica sobre el desarrollo y el destino del folículo. Estos resultados implican enorme potencial en fisiología y medicina, mostrando por primera vez que el patrón de glicosilación puede determinar cambios radicales en la función biológica, como es modificar el destino celular. Variantes de FSH pueden ser parte del mecanismo de selección folicular.

Financiado por CONICYT y FONDECYT # 3090066; MIFAB, Proyecto P04-071-F.

PRESENCIA DEL RECEPTOR DE LH/hCG EN CÉLULAS DEL CÚMULO HUMANAS. (Presence of the LH/hCG receptor in human cumulus cells).

Arriagada C., Pustovrh C., Castro O., Villarroel C., Kohen P., Arguello B., Devoto L.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Hospital San Borja-Arriarán (IDIMI-HCSBA), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La hormona luteinizante (LH) es esencial en el proceso ovulatorio. En humanos se desconoce si la vía de señalización de LH es directa o indirecta, en la regulación de la expansión del cúmulo y la maduración ovocitaria. El objetivo de este trabajo fue determinar si el receptor de LH/hCG se encuentra presente en las células del cúmulo humano (CC), y si su activación induce cambios en los marcadores de ovulación. Para esto se analizaron CC provenientes de mujeres normales participantes en programas de IVF. La expresión del RLH/hCG se determinó mediante inmunocitoquímica. Las CC en cultivo fueron estimuladas con hCG (8 horas) para evaluar los niveles de expresión de la proteína StAR y las enzimas P450scc, 3 β -HSD, HAS2, COX2, receptor de progesterona (RP), AREG, EREG, BTC (RT-qPCR) y la producción de P4 (RIA). Los datos indican que las CC expresan RLH/hCG y que su activación por hCG es capaz de inducir la expresión de P450scc, 3 β -HSD y la producción de P4. Por otra parte, hCG también estimuló los niveles de mRNA de COX2, HAS2, EREG, AREG y de PR. Estos datos sugieren que las células del cúmulo humano a diferencia del modelo murino, censan de manera directa la señal ovulatoria de LH. La activación de su receptor en los cultivos de CC es capaz de inducir la producción de progesterona, molécula esencial en el proceso de fertilización natural y además promover aumentos en la expresión de enzimas y factores determinantes en el proceso de expansión del cúmulo.

FONDAP 15010006; Fogarty Grant RFA-TW-05-002.

DETECCIÓN DE LA MUTACIÓN PROGINS PARA EL RECEPTOR DE PROGESTERONA EN MUJERES INFÉRTILES CON FALLA DE IMPLANTACIÓN (Detection of the PROGINS mutation for progesterone receptor in infertile women with implantation failure).

^{1,3}Tapia A., ¹Figuroa P., ¹Brito J., ^{1,2}Marín J.C.

¹Facultad de Medicina, Universidad Mayor, ²Facultad de Ciencias, Universidad del Bío Bío. ³Dirección actual: Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La expresión disminuida de al menos 11 genes en el endometrio humano durante el período de receptividad se asocia a un fenotipo endometrial refractario a la implantación. La presencia de la mutación PROGINS para el receptor de progesterona (PR) se correlaciona con infertilidad por causa desconocida, sugiriendo que determina una falla endometrial. El objetivo de este trabajo es determinar la presencia de la mutación PROGINS en mujeres con falla de implantación y evaluar la presencia del PR en cortes de tejido endometrial de estas mujeres en fase receptiva. Se reclutaron dos grupos de mujeres que participaron como receptoras en ciclos de ovodonación: Grupo A=mujeres sin implantación embrionaria en 2 o más intentos (n=5), Grupo B=mujeres con implantación (n=6). Además se reclutó un tercer Grupo C=mujeres con 3 o más hijos concebidos en forma natural (n=6). En todas las mujeres se determinó por PCR la presencia de la mutación PROGINS en ADN de sangre periférica. También se evaluó por inmunohistoquímica la presencia del PR en tejido endometrial en fase receptiva. Se encontraron sólo 4 mujeres heterocigotas para la mutación, las cuales pertenecían a los grupos B y C. La expresión del PR total y el PR tipo B no mostró diferencias significativas entre los 3 grupos. La falla de implantación no se explica por la presencia de la mutación PROGINS ni por una expresión aberrante del PR. Estos resultados sugieren una alteración río abajo de la señalización de progesterona en el fenotipo endometrial refractario a la implantación.

FONDECYT 3090075 (AT) y FID U. Mayor (JCM y AT).

METFORMINA AUMENTA LA EXPRESIÓN Y ACTIVACIÓN DEL FACTOR TRANSCRIPCIONAL MEF2A EN ENDOMETRIOS DE PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO INSULINO RESISTENTES (SOP-IR). (Metformin increases the expression and activity of the transcription factor MEF2A in endometria from patients with Polycystic Ovary Syndrome).

¹Carvajal R., ¹Kohan K., ¹Rosas C., ²Gabler F., ^{1,3} Vantman D., ^{1,3}Romero C., ^{1,3}Vega M.

¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Anatomía Patológica-Centro, ³Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los endometrios de pacientes-SOP presentan menor expresión del transportador de glucosa dependiente de insulina, GLUT4. El insulino sensibilizador Metformina, a través de la mayor expresión y activación del factor transcripcional MEF2A, aumentaría la expresión génica de GLUT4 en tejidos reconocidamente insulino-resistentes, como adiposo y muscular. El objetivo fue evaluar la expresión de MEF2A total (MEF2At) y fosforilado en Treonina 312 (pMEF2AT³¹²) en endometrios de pacientes-SOP Insulino-Resistentes (SOP-IR) y en SOP usuarias de Metformina (SOP-MTF). La expresión de MEF2At y pMEF2AT³¹² se semicuantificó mediante inmunohistoquímica (IHQ) y western blot (WB) en 32 biopsias endometriales de mujeres controles en fases proliferativa (ENp, n=8) y secretora (ENS, n=8), SOP-IR (ESOPp-IR, n=8) y SOP-MTF (n=8). MEF2At se inmunodetectó en epitelio y estroma en todos los grupos estudiados, de localización nuclear y citoplasmática, siendo mayor el porcentaje de núcleos positivos en epitelio SOP-MTF vs ESOPp-IR (p=0,035). Al semicuantificar el estroma, tanto a nivel citoplasmático como nuclear, existe menor expresión de MEF2At en el grupo ESOP-IR vs ENp (p<0,008) y SOP-MTF (p<0,002). La expresión proteica también fue evaluada por WB en todos los grupos de estudio. Además, se inmunodetectó pMEF2AT³¹² en todos los grupos, siendo mayor la expresión nuclear del grupo SOP-MTF vs ESOP-IR, tanto en epitelio como estroma (p=0,01 y 0,04, respectivamente). pMEF2AT³¹² también se detectó por WB en todos los grupos estudiados. En consecuencia, las pacientes-SOP presentan menor expresión endometrial de MEF2At y pMEF2AT³¹² y Metformina revertiría esta alteración, aumentando la expresión endometrial de GLUT4 y mejorando potencialmente la función reproductiva de estas pacientes.

FONDECYT #1050098 y #1095127.

TERAPÉUTICA ANTI-ANGIOGÉNICA APLICADA A UN MODELO MURINO DE ENDOMETRIOSIS (EDT). (Antiangiogenic therapy in a murine model of endometriosis (EDT)).

Ricci A.G., Olivares C.N., Bilotas M.A., Meresman G.F., Barañao R.I.

Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Uno de los principales factores involucrados en la neovascularización del tejido endometrial ectópico en la EDT es el Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular (VEGF). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un tratamiento antiangiogénico con bevacizumab, un anticuerpo anti-VEGF humanizado que se utiliza para el tratamiento de diversos tumores, sobre el desarrollo de lesiones endometriósicas ya establecidas, inducidas experimentalmente en ratones. Para ello, a hembras BALB/c se les indujo quirúrgicamente EDT. A los 15 días post-cirugía se comenzó con el tratamiento. El grupo tratado recibió una inyección intraperitoneal de 5mg/kg de bevacizumab cada 3 días, y el grupo control recibió inyecciones de solución fisiológica. Luego de 2 semanas los animales fueron sacrificados, se localizaron las lesiones, se determinó su volumen y se fijaron para realizar cortes histológicos. Sobre ellos se evaluó proliferación celular por inmunohistoquímica para PCNA, densidad vascular por inmunohistoquímica para CD34, y apoptosis por TUNEL. Además, se recolectó el líquido peritoneal para medir los niveles de VEGF por ELISA. El bevacizumab disminuyó el tamaño de las lesiones desarrolladas por ratón. Consistentemente, observamos un aumento de la apoptosis en las lesiones endometriósicas, así como una disminución de la proliferación celular. Además, el tratamiento con bevacizumab redujo la densidad vascular en las lesiones, al igual que los niveles de VEGF del líquido peritoneal. Nuestros resultados sugieren un efecto directo del bevacizumab sobre la inhibición del crecimiento de las lesiones endometriósicas y avalan seguir investigando la inhibición del VEGF como una estrategia novedosa para tratar la endometriosis.

EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE CELECOXIB Y ROSIGLITAZONA COMO NUEVAS ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS PARA LA ENDOMETRIOSIS. (Experimental evaluation of Celecoxib and Rosiglitazone as novel therapeutic alternatives for endometriosis).

Olivares C., Ricci A., Bilotas M., Baraño R., Meresman G.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires, Argentina.

Los inhibidores de ciclooxigenasa-2 y los agonistas del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR γ) han demostrado poseer efectos antiproliferativos y proapoptóticos en modelos de cáncer tanto *in-vivo* como *in-vitro*. Basándonos en estos antecedentes, nos propusimos evaluar el efecto de celecoxib y rosiglitazona en un modelo de endometriosis en ratón. A ratones hembra BALB/c de 8 semanas se les indujo quirúrgicamente endometriosis. Se trató a los animales por 4 semanas a partir del día 1 post-cirugía de acuerdo al siguiente esquema: Control (agua con 0,5% de carboximetilcelulosa), Celecoxib (200mg/kg por vía oral, disuelto en agua con 0,5% de carboximetilcelulosa), Rosiglitazona (0,16mg/kg por vía oral, disuelto en agua) y Celecoxib + Rosiglitazona (tratamiento conjunto). Luego del tratamiento, los animales fueron sacrificados, se localizaron las lesiones endometriósicas, se determinó su volumen, y se extrajeron y fijaron para realizar cortes histológicos. Sobre los cortes se evaluó proliferación celular por inmunohistoquímica de PCNA y apoptosis por TUNEL. Nuestros resultados revelaron que si bien solamente celecoxib fue eficiente en disminuir el número de lesiones desarrolladas por ratón, ambos tratamientos fueron efectivos en reducir el volumen de las lesiones respecto al control y en disminuir los índices de proliferación celular. Asimismo los resultados preliminares advierten sobre una tendencia hacia la inducción de la apoptosis por parte de ambas drogas. Estos datos sugieren que tanto celecoxib como rosiglitazona inhibirían el crecimiento de las lesiones endometriósicas y además celecoxib inhibiría su establecimiento. Nuestras observaciones son promisorias y avalan continuar estudiando a estas drogas como nuevas alternativas terapéuticas para la endometriosis.

EXPRESIÓN DEL RE α , LAS DISTINTAS ISOFORMAS DEL RE β Y DE GPR30 EN ENDOMETRIO EUTÓPICO DE MUJERES CON Y SIN ENDOMETRIOSIS. (ER α , ER β isoforms and GPR30 expression in eutopic endometrium from women with and without endometriosis).

¹Araya G., ¹Torres M., ¹Pino M., ¹Boric M.A., ¹Sovino H., ²Gabler F., ¹Fuentes A., ¹Johnson M.C.

¹Instituto de Investigaciones Materno-Infantil (IDIMI), ²Dpto. Anatomía Patológica, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán, Santiago, Chile.

Normalmente los tejidos blanco a estradiol presentan patrones diferenciales de expresión de los receptores de estrógeno (RE) con distinta distribución celular e incluso acción opuesta de sus isoformas. En endometrio se ha observado un predominio de RE α sobre RE β (RE β 1), pero se desconoce la expresión de otras isoformas del RE β (RE β 2, RE β 4, RE β 5) y de GPR30, receptor acoplado a proteína G que une estradiol y que activa vías no-genómicas. Siendo la endometriosis una enfermedad ginecológica estrógeno-dependiente, el objetivo fue determinar la expresión de RE α , RE β 1, RE β 2, RE β 4, RE β 5 y GPR30. En endometrios eutópicos de mujeres con (n=21) y sin (control, n=20) endometriosis se realizó RT-PCR e inmunohistoquímica previo fechaje de las muestras en fases proliferativa y secretora del ciclo menstrual (aprobado por el comité de ética institucional). Estadística t-student. RE α se detectó en núcleos de células epiteliales y estromales principalmente en fase proliferativa; contrariamente, RE β se localizó en el compartimiento citoplasmático de las células endometriales. En endometriosis se observó un aumento de la expresión del mRNA de RE α (170%), RE β 1 (100%), RE β 2 (44%), RE β 4 (180%) y GPR30 (70%) en fase proliferativa y de RE β 1 (73%), RE β 2 (160%) y RE β 4 (135%) en fase secretora tardía respecto al control (p<0,05). Estos datos sugieren que en tejido endometrial eutópico de mujeres con endometriosis la acción del estradiol sería distinta e incluso involucraría vías de señalización alternativas debido a la expresión aumentada de RE α , RE β 1, RE β 2, RE β 4 y GPR30, hallazgos que contribuirían a su fisiopatología.

Fondecyt 1080229.

LA EXPOSICION DE LÍNEA CELULAR DE CORIOCARCINOMA HUMANO (JEG-3) A CADMIO INDUCE UNA ALTERACIÓN EN LA EXPRESIÓN DEL GEN *HSD11B2* POR MECANISMOS EPIGENÉTICOS. (Human choriocarcinoma cells exposed to cadmium induced altered expression of *HSD11B2* by epigenetic mechanisms).

Castillo P., Llaguno E., Epuñan M.J., Llanos M., Ronco A.M.

Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA, Universidad de Chile.

La exposición a cadmio (Cd^{2+}), importante componente del humo de cigarro, puede inducir bajo peso de nacimiento (PN). El bajo PN se asocia a un aumento fetal de glucocorticoides (GC) por una alteración en la expresión de la enzima placentaria 11β -hidroxiesteroide deshidrogenasa 2 (11β -HSD2). El objetivo de este estudio fue demostrar que la exposición de células placentarias a bajas concentraciones de Cd^{2+} regula la expresión de la enzima 11β -HSD2 por mecanismos epigenéticos que involucran, una modificación en el patrón de metilación de la región promotora del gen *HSD11B2*. Células de coriocarcinoma humano (JEG-3, pasajes 3-6)) fueron incubadas en presencia de distintas concentraciones de Cd^{2+} (0,5; 0,75 y 1 μM) por 24h. Posteriormente, se determinó la viabilidad celular (tinción con MTT), la actividad (radioensayo) y expresión de la enzima 11β -HSD2 (mRNA por qRT-PCR) y la razón metilado/no metilado del gen *HSD11B2* después del tratamiento del DNA con bisulfito. Adicionalmente, se determinó las concentraciones de cortisol (EIA) en el medio de incubación. El Cd^{2+} ($\geq 0,75 \mu\text{M}$) indujo un aumento en la actividad y expresión (mRNA) de la enzima inhibiendo la producción de cortisol. La expresión aumentada se correlacionó con una disminución en el % de metilación sin afectar la viabilidad celular. Se concluye que los efectos tóxicos del Cd^{2+} pueden estar mediados por mecanismos epigenéticos, principalmente asociados a alteraciones en la metilación del DNA. Sin embargo, la respuesta *in vitro* de células JEG-3 es diferente a la observada en placentas de animales expuestos a Cd^{2+} durante la preñez.

Fondecyt N° 1071110.

EL ESTRÉS DURANTE LA LACTANCIA INDUCE CAMBIOS EN EL SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y FACTORES LIPOGÉNICOS ASOCIADOS EN HÍGADO DE RATÓN ADULTO. (Stress during lactation induces changes in the liver endocannabinoid system and related lipogenic factors in adult mice).

Castillo V.A., Valenzuela C.A., Aguirre C.A., Orellana O.A., Ronco A.M., Llanos M.N.

Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Casilla 138-11, Santiago, Chile

En modelos animales se ha demostrado que el estrés nociceptivo durante la lactancia induce alteraciones metabólicas en el estado adulto, que podrían estar mediadas por disfunciones del sistema endocanabinoide (SEC). Dicho sistema incluye los endocannabinoides anandamida (ADA) y 2-araquidonilglicerol (2-AG), sus receptores (CB₁R/CB₂R) y enzimas sintetizadoras e hidrolíticas como la amido hidrolasa de ácidos grasos (FAAH). Este estudio evalúa el efecto del estrés temprano sobre la expresión hepática de CB₁R, FAAH y factores lipogénicos como SREBP-1c, FAS y ACC1 en ratones CD-1 adultos. Las crías fueron estresadas durante la lactancia con una inyección subcutánea de suero fisiológico (grupo control sin estímulo). Animales adultos (130d) se sacrificaron y se extrajo el hígado para evaluar la expresión de CB₁R, FAAH, FAS y ACC1 por RT-PCR y qPCR. Adicionalmente, la proteína de RCB₁ y FAAH fue analizada mediante Western blot. La expresión de los genes fue similar en ambos grupos, con excepción de ACC1 que fue mayor en ratones estresados. El Western blot reveló que no existen diferencias para RCB₁, mientras que FAAH disminuye en un 40% en el estrés, concordando con la actividad enzimática disminuida. Esto sugiere que la expresión y actividad de FAAH se vería disminuida por el estrés temprano, aumentando la disponibilidad de ADA para estimular CB₁R. La expresión de ACC1 podría ser dependiente/independiente de la vía RCB₁/SREBP-1c. En ambos casos este podría ser el primer paso para la síntesis *de novo* de ácidos grasos y triglicéridos en el hígado, aumentando la trigliceridemia y la acumulación de tejido adiposo adulto.

FONDECYT 1070663 (MLI).

ROL DE LA MONOAMINOOXIDASA A (MAO A) DURANTE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA. (Role of Monoaminoxidase A (MAO-A) during embryo implantation).

Díaz P., Luz P., Cárdenas H., Orihuela P., Velásquez L.

Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La implantación es un proceso altamente especializado en el cual el embrión establece contacto con el tejido uterino durante un periodo conocido como "ventana de implantación". La coordinación de este evento involucra una exquisita regulación en la producción de factores de crecimiento, citoquinas, hormonas y otras moléculas poco estudiadas como las monoaminas. Las monoaminas han sido detectadas en fluido oviductal, oviducto, útero y en embriones preimplantacionales (EBPI). MAO-A es la enzima encargada de oxidar a las monoaminas y anteriormente reportamos la disminución en la expresión de MAO-A en mujeres con problemas de fertilidad por lo que proponemos que MAO-A podría estar involucrada en la regulación de la implantación y/o en el desarrollo embrionario. Por ello estandarizamos un modelo heterólogo de implantación in vitro con células ECC1 y EBPI de ratón y realizamos cultivos de 6 grupos de EBPI con 1, 10 y 20 μM de epinefrina (EPI) o serotonina (SER) y un grupo control. Las células ECC1 fueron transfectadas con el vector pCMV6-XL4 para sobreexpresar MAO-A, lo cual fue verificado por western-blot y PCR en tiempo real. Luego se determinó el porcentaje de embriones adheridos a la monocapa de células de 4 diferentes grupos de tratamiento: ECC1, ECC1-MAO-A + inhibidor-MAO-A, ECC1-MAO-A + EPI, ECC1-MAO-A + inhibidor-MAO-A +EPI. Se encontró una disminución en el porcentaje de embriones adheridos en los grupos tratados con el inhibidor y que los EBPI tratados con EPI y SER disminuyeron significativamente en el porcentaje de blastocistos, número de células por embrión y número de embriones viables. Esto evidencia que MAO-A estaría implicada tanto en la regulación de la implantación como en el desarrollo embrionario.

FONDECYT 1080523, 1090589, Proyecto BASAL FBO-07.

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE GLIFOSATO SOBRE EL DESARROLLO UTILIZANDO CULTIVO DE EMBRIONES DE RATA POST IMPLANTACIÓN. (Developmental toxicity evaluation of glyphosate using the whole embryo culture assay).

¹Campos C., ¹Flores S., ²Díaz H., ¹Cavieres M.F.

¹Laboratorio de Toxicología, Facultad de Farmacia y ²Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

Glifosato es un plaguicida de alto uso en Chile. Es un herbicida selectivo, que se aplica al follaje de malezas y se lo clasifica como débilmente tóxico. Diversos estudios en animales han demostrado alteraciones sobre el desarrollo que incluyen bajo peso y talla al nacer, retraso en el desarrollo esquelético fetal e inducción de apoptosis y necrosis en células umbilicales, embrionarias y placentarias cultivadas en presencia del herbicida. En este estudio se utilizó el ensayo cultivo de embriones de rata post-implantación con el fin de contribuir al conocimiento de la toxicidad de glifosato sobre el desarrollo. Con este objetivo, se recolectaron embriones de ratas Sprague Dawley de 9,5 días de gestación, los que fueron cultivados en un medio compuesto por suero de rata, solución salina de Hank's, penicilina/estreptomicina y glifosato en concentraciones de 18, 36 y 72 µg/mL, por 48 horas a 37 °C y con oxigenación 2 veces por día. Adicionalmente se comparó el efecto del pesticida puro versus su formulación comercial. Al término del cultivo, los embriones fueron evaluados con medidas macroscópicas de viabilidad embrionaria que incluyeron parámetros de crecimiento, funcionales y morfológicos. Los resultados muestran que glifosato no disminuye la viabilidad de los embriones aún cuando afecta, de manera estadísticamente significativa, su crecimiento, su morfología y su funcionalidad de una manera dosis-dependiente y diferenciada según su forma pura o formulada.

Proyecto DIPUV 43/2006.

ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRIBUTILESTAÑO (TBT) EN EL SISTEMA UROGENITAL DE EMBRIONES DE RATÓN. (Study of the effect of tributyltin (TBT) in the urogenital system of mouse embryos).

¹Díaz H., ¹Carvajal D., ¹Carrasco R., ²Soler M., ³Cavieres M.F., ⁴Aguilera F., ⁵Esponda P.

¹Depto. de Biología & Cs. Ambientales, Facultad de Ciencias; ²Depto. de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias; ³Facultad de Farmacia; ⁴Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso. ⁵Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid, España.

El biocida tributilestaño (TBT) es un compuesto químico utilizado como antiincrustante contra una amplia gama de organismos acuáticos y se ha evidenciado que podría estar provocando disrupciones endocrinas en la especie humana. Sin embargo, no se han reportado estudios sobre el efecto de este químico durante las primeras semanas de gestación, etapa crítica para la organogénesis. Teniendo en cuenta que el tejido epitelial es susceptible de modificarse frente a agentes tóxicos, la morfología del sistema urogenital de embriones de ratón podría estar siendo alterada por el efecto del TBT. Por lo tanto, en esta investigación se pretende detectar modificaciones a nivel del epitelio de los conductos urogenitales por acción de este agente biocida. Metodológicamente se emplearon fetos de ratón de 11 días de gestación, provenientes de hembras de 12 semanas de edad de la Cepa CD1, las cuales fueron inoculadas peritonealmente con una dosis de 1,6 ul/ 40g de TBT al 96%. Posteriormente, se extrajeron los fetos y se procesaron para su análisis, empleándose el método corriente para la detección de cambios histológicos a M.O. Resultados preliminares indicarían que se estarían generando alteraciones relacionadas con el desarrollo de los conductos mesonéfrico y paramesonéfrico, lo que podría incidir en la formación de estructuras importantes tanto del tracto genital masculino como del femenino.

DIPUV-REG 16/2006.

EVALUACION MORFOLÓGICA Y MORFOMÉTRICA DEL EFECTO DE LA EXPOSICIÓN MATERNA AL ETANOL SOBRE EL DESARROLLO MANDIBULAR EN RATAS. (Morphological and morphometric evaluation of ethanol exposure on mandible development in rats).

¹Araneda J., ¹Bazo Y., ²Díaz H., ¹Cavieres M.F.

¹Laboratorio de Toxicología, Facultad de Farmacia y ²Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

El alcohol es un conocido tóxico del desarrollo que puede inducir una serie de defectos incluyendo malformaciones craneofaciales y retraso físico y mental. Dentro de las manifestaciones craneofaciales se encuentra la hipoplasia mandibular, inducida posiblemente por efectos del etanol sobre la migración y/o diferenciación de células de la cresta neural. Entonces, en este estudio se evaluó el efecto de la exposición materna al etanol durante el período de organogénesis sobre la morfología y morfometría del proceso mandibular en fetos de ratas utilizándose un modelo *in vivo* de exposición al etanol de ratas adultas Sprague Dawley preñadas y expuestas a dos dosis de etanol (2,5 y 5,0 g/kg/d) durante los días 6, 7 y 8 de gestación. En el día de gestación 20, las hembras fueron eutanizadas y los fetos recolectados por cesárea, eutanizados por hipotermia y separados al azar en dos grupos. Un grupo fue procesado con una técnica para tinción de hueso con rojo alizarina y cartílago con azul alciano. El segundo grupo fue preparado para tinción con eosina-hematoxilina y arteta. Los tejidos así preparados fueron analizados morfométrica e histológicamente. Las observaciones realizadas permiten concluir que el etanol en dosis de 5,0 g/Kg/d induce alteraciones morfológicas a nivel del cartílago de Meckel aún cuando no induce alteraciones morfométricas. De acuerdo a los hallazgos histológicos, se propone que esta dosis de etanol aceleraría el proceso de mineralización de la matriz extracelular, lo que podría interferir con un desarrollo mandibular normal.

ÍNDICE DE AUTORES



Aguilera F.	100
Aguirre C.A.	97
Aisenberg J.	24
Allende M.	29
Alvarez A.	44
Amweg A.	56
Angulo C.	58, 65
Antonelli M.	83
Araneda J.	101
Araya C.	87
Araya G.	95
Argandoña F.	55
Arguello B.	90
Arredondo L.	60
Arriagada C.	90
Ayarza E.	47, 48, 66, 67
Baeza K.	68, 69
Baraño R.	93, 94
Barros D.	36, 40
Bazo Y.	101
Berríos S.	47, 48, 66, 67
Billi S.	24
Bilotas M.	93, 94
Bley C.	36
Boric K.	28
Boric M.A.	53, 95
Bravo P.	71
Brito I.	73
Brito J.	91
Brown D.I.	46, 79
Bustamante-Marin X.	59
Bustos-Obregón E.	49
Campos C.	99
Cárdenas H.	98
Carrasco R.	100
Carvajal D.	100
Carvajal R.	26, 52, 92
Cassorla F.	55
Castellón E.	33
Castillo P.	96
Castillo V.A.	97
Castillo V.M.	46

Castro A.	68, 69, 82
Castro J.	53
Castro M.A.	58, 65
Castro O.	90
Cavieres M.F.	99, 100, 101
Cella M.	24
Cisterna M.	44
Clementi M.	33
Codelia V.A.	44
Concha I.I.	58, 65
Contreras H.R.	33
Croxatto H.B.	32, 54, 89
Cruz G.	51
Cuello M.	31
Chaucón M.E.	68, 69
De los Reyes M.	61, 62, 72, 77
Deppe M.	71
Devoto L.	36, 38, 40, 90
Díaz A.	57
Díaz E.S.	60, 63, 73, 74, 75, 76
Díaz H.	99, 100, 101
Díaz P.	98
Dissen G.A.	88
Downs J.	79
Ebensperger M.	82
Einspanier R.	80
Epuñan M.J.	96
Espinoza J.	86
Esponda P.	100
Estrugo A.	82
Farias J.G.	42
Farina M.	24
Fernández-Donoso R.	47, 48, 66, 67
Ferreira A.	86
Figueroa P.	91
Flores S.	99
Flórez M.	73
Folch C.	68, 69
Franchi A.	24
Fuentes A.	53, 95

Gabler F.	26,37,50,52,53,68,69,86,92,95
Gabler G.	80
Garagna S.	47, 66, 67
Garyfallou V.T.	79
González D.	87
González-Ramos R.	38
Harden M. V.	28
Hartley R.	49
Huidobro C.	33
Iñiguez G.	55
Jara C.	36
Jeria F.	68, 69
Johnson M.C.	53, 55, 95
Kohan K.	26, 52, 92
Kohen P.	36, 40, 90
Lara H.E.	51, 56, 57, 87, 88
Lardone M.C.	82
Lavanderos S.	59
Lessey B.	40
Leverton R.	49
Lizama C.	45, 83
Luna D.	72
Luz P.	98
Llaguno E.	96
Llanos M.	96, 97
Madariaga M.	69, 82
Maldonado, R.	58, 65
Maliqueo M.	80
Mancilla, H.	58, 65
Manieu C.	47, 48, 66, 67
Manterola M.	47, 48, 66, 67
Marchant L.	47, 48, 66, 67
Marín J.C.	91
Mateu E.	70
Maturana C.	28
McKenzie M. G.	28
Meresman G.	93, 94

Mogas T.....	70
Montenegro G.	84
Morales P.	60, 63, 71, 73, 74, 75, 76
Morató R.	70
Moreno R.D.	44, 45, 59, 78, 83, 84
Martínez E.	63
Naretto J.A.	46
Navarrete P.A.	70
Ojeda M.E.	30
Ojeda S.R.	88
Olivares C.	93, 94
Orellana O.A.	97
Orihuela P. A.	54, 98
Oróstica M.L.	54
Ortega H.	56
Ortiz M.E.	32, 89
Owen G.I.	32, 89
Page J.	47, 48, 66, 67
Palma S.	81
Palomino J.	61, 62, 72, 77
Palomino W.A.	36, 40
Parada-Bustamante A.	82
Paramio M.T.	70
Paredes A.	56, 57, 87, 88
Pérez B.	74, 76
Pino M.	53, 95
Piottante A.	82
Piquer B.	86
Pizarro E.	75
Plaza F.	50
Poch A.	36
Pommer R.	82
Pozo P.	63, 74, 76
Pulgar E.	65
Pustovrh C.	90
Quiroga C.	59
Ramírez A.	41
Recabarren M.P.	80, 81
Recabarren S.E.	80, 81

Rey F.	56
Rey R.	80
Reyes J.G.	59, 83
Ricci A.	93, 94
Risopatrón J.	71
Rivera J.	55, 68, 69
Rojas M.	75
Rojas-Benítez D.	45
Rojas-García P.P.	80, 81
Romero C.	26, 37, 50, 52, 85, 86, 92
Ronco A.M.	96, 97
Rosas C.	26, 52, 86, 92
Salvetti N.	56
Sánchez R.	33, 70, 71
Sarabia L.	80
Schön J.	80
Schulz M.	71
Selman A.	86
Signorelli J.	60
Sir-Petermann T.	80, 81
Slebe, J.C.	58, 65
Smith R.	68, 69
Soler M.	100
Sovino H.	53, 95
Tapia A.	34, 91
Tapia S.	75
Tapia V.	85
Tobar H.	81
Torres M.	53, 95
Urbanski H.	22, 79
Urriola P.A.	78
Urzúa N.	84
Valdebenito R.	82
Valenzuela C.A.	97
Valladares L.	37,50
Vantman D.	37, 92
Vargas A.	49
Vasco C.	47, 66
Vega M.	26, 37, 50, 52, 85, 86, 92
Vega-Villarroel C.	88

Velásquez E.V.	32, 89
Velásquez L.	35, 54, 98
Vera J.C.	65
Vercelli C.	24
Vergara Javiera	61
Vergara Jorge	33
Villarroel C.	90
Villarroel F.	58, 65
Whitlock K. E.	28
Wolfson M.	24
Yañez A.	74
Yañez A.E.	65
Zelinski M.	23
Zúñiga L.M.	54