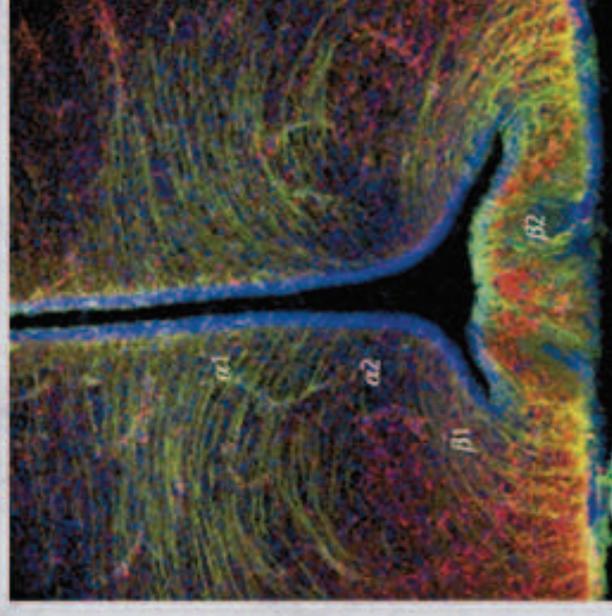


*Libro de Resúmenes*

# XXIII Reunión Anual Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo



Glial-gonadotrophin hormone (GnRH) neurone interactions  
in the median eminence and the control of GnRH secretion  
Ojeda SR et al.

Journal of Neuroendocrinology **20**, 732-742

**Viña de Mar, Chile**  
**5 - 8 de Septiembre 2012**





XXIII Reunión Anual de la Sociedad  
Chilena de Reproducción y Desarrollo

---



**HOTEL SAN MARTIN**

**VIÑA DEL MAR, CHILE**

---

5 – 8 de Septiembre 2012



### ***Comité Organizador***

Dra. Carmen Romero O  
Dr. Hernán Lara P.  
Dra. M. Cecilia Johnson P.  
Dra. Dolores Busso P.

### ***Comité Científico***

Dra. Margarita Vega B.  
Dr. Ilona Concha G.  
Dr. Enrique Castellón V.  
Dr. Ricardo Moreno M.  
Dr. Hernán Lara P.  
Dr. Luis Valladares B.

### ***Comité Editorial***

Dra. M. Cecilia Johnson P.  
Dra. Verónica Tapia P.  
Dra. Dolores Busso P.

### ***Encargadas Página Web***

Dra. Ethel Velásquez O.  
Dra. Dolores Busso P.



## ***DIRECTORIO 2012***

Presidenta	:	Carmen Romero O.
Vice-Presidenta	:	Ilona Concha G.
Past- President	:	Donald Brown G.
Secretaria	:	M. Cecilia Johnson P.
Tesorera	:	Verónica Tapia P.
Directora	:	E. Silvina Díaz L.
Directora	:	Jennie Risopatrón G.
Directora	:	Dolores Busso P.
Encargada Web	:	Ethel Velásquez O.



### ***PATROCINADORES***

Universidad de Chile  
Pontificia Universidad Católica de Chile  
Universidad Austral  
Universidad de Antofagasta  
Sociedad de Biología de Chile

### ***AUSPICIADORES***

Facultad de Ciencias Químicas, UNIVERSIDAD DE CHILE – MECESUP

FERMELO

GENEXPRESS

GENESYS

GRUPOBIOS

LONCOTEC

ARQUIMED

# ***PROGRAMA DETALLADO***

### **Miércoles 5 de Septiembre**

14:00 – 15:00 Recepción e Inscripciones

15:00 – 15:15 **Ceremonia Inaugural**  
Dra. Carmen Romero Osses, Presidenta de SCHRD

15:15 – 15:45 **Mini conferencia**  
**Premio Sociedad año 2011**  
Coordina: Dr. Patricio Morales

**MUSCLE GLYCOGEN SYNTHASE ISOFORM IS RESPONSIBLE FOR TESTICULAR GLYCOGEN SYNTHESIS: GLYCOGEN OVERPRODUCTION INDUCES APOPTOSIS IN MALE GERM CELLS**

**Dr. Franz Villarroel-Espíndola**  
Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

15:45 – 17:15 **Presentaciones de Trabajos Libres 1**  
Coordina: Dr. Víctor Domingo Ramírez

15:45 – 16:00 **CAMBIOS TEMPRANOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN NEONATAL A ESTRADIOL. POSIBLE ROL DE FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA DISRUPCIÓN PRODUCIDA POR ESTRADIOL**  
**Cruz G**<sup>1,2</sup>, Barra R<sup>1</sup>, Martínez J<sup>1</sup>, Mayerhofer A<sup>3</sup> and Lara HE<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago-Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso-Chile. <sup>3</sup>Institute for Cell Biology, Anatomy and Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM), Ludwig Maximilian University, Munich, Germany

16:00 – 16:15 **NUEVOS EFECTOS DE LA REPROGRAMACIÓN FETAL EN OVINOS: ALTERACIONES HISTOLÓGICAS Y MOLECULARES DE APARICIÓN JUVENIL EN TESTÍCULOS DE MACHOS OVINOS EXPUESTOS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA**  
**Rojas-García PP**<sup>1</sup>, Recabarren MP<sup>1</sup>, Carrasco A<sup>1</sup>, Vorphal A<sup>1</sup>, Sandoval D<sup>1</sup>, Sir-Petermann T<sup>2</sup>, Recabarren SE<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile, <sup>2</sup>Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

16:15 – 16:30 **EXPOSICIÓN A CADMIO Y ÁCIDO FÓLICO DURANTE LA PREÑEZ Y SU EFECTO EN LA METILACIÓN Y EXPRESIÓN DE *HSD11B2* EN PLACENTA DE RATA**  
**Peñailillo R**, Guajardo A, Llanos M, Ronco AM.

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

16:30 – 16:45 **RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO EN UN MODELO DE RATÓN CON HIPERCOLESTEROLEMIA GESTACIONAL**

**Mascareño L**<sup>1</sup>, Santander N<sup>1</sup>, Corthorn J<sup>2</sup>, Valdés G<sup>2</sup>, Rigotti A<sup>1,3</sup> y Busso D<sup>1</sup>.  
Departamentos de <sup>1</sup>Nutrición, Diabetes y Metabolismo, <sup>2</sup>Nefrología y <sup>3</sup>Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

16:45 – 17:00 **XENOESTROGENS BISPHENOL-A (BPA) AND NONYLPHENOL (NP) INDUCE MALE GERM CELL APOPTOSIS THROUGH ACTIVATION OF ADAM17**

**Moreno RD** y Lagos-Cabré L.  
Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

17:00 – 17:15 **EMBARAZOS OBTENIDOS TRAS LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN EL DÍA 5 DE DESARROLLO EN PAREJAS INFERTILES**

**Jeria F**<sup>1</sup>, Vantman D<sup>1,2</sup>, Miranda C<sup>2</sup>, Carvajal A<sup>2</sup>, Alba JF<sup>1</sup>, Cortínez A<sup>1,2</sup>, Carvajal R<sup>1,2</sup>, Ballesteros R<sup>1</sup>, Vantman D<sup>3</sup>, Veis H<sup>3</sup>, Sepúlveda S<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Unidad de Medicina Reproductiva del Centro de Estudios Reproductivos. <sup>2</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. <sup>3</sup> Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

17:15 – 17:45 Café

17:45 – 18:15 **Homenaje al Dr. Sergio Ojeda**  
Presenta: Dr. Hernán Lara P.

18:15 – 19:15 **Conferencia 1**  
Coordina: Dr. Hernán Lara P.

**CONTROL EPIGENETICO DE LA PUBERTAD**

**Dr. Sergio Ojeda**  
Oregon National Primates Research Center  
Oregon Health Science University, Oregon, USA

20:00 Cóctel de Bienvenida

**Jueves 6 de Septiembre**

9:00 - 10:30 **Simposio 1**  
**EL HIPOTÁLAMO COMO SENSOR DE SEÑALES PERIFÉRICAS**  
Coordina: Dr. Esteban Rodríguez

9:00 - 9:30 **TANICITOS HIPOTALAMICOS Y SISTEMA SENSOR DE GLUCOSA**  
**Francisco Nualart**, María de los Angeles García.

Depto. de Biología celular, Centro de Microscopía Avanzada CMA Bio Bio, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

- 9:30 - 10:00 **ROL DE LOS TANICITOS Y LOS PLEXOS COROIDEOS EN EL ACCESO DE PÉPTIDOS PERIFERICOS A BLANCOS CENTRALES**  
**Esteban Rodríguez**, Montserrat Guerra  
Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. Depto. Anatomía Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca, España.
- 10:00-10:30 **EFEECTO CENTRAL Y PERIFERICO DE UN FACTOR PEPTIDO INDUCTOR DE OVULACIÓN.**  
Berland M<sup>1</sup>, Guerra M<sup>2</sup>, Vio K<sup>2</sup>, Rodríguez E<sup>2</sup>, Adams GP<sup>3</sup>, **Marcelo H Ratto**<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile, Instituto de <sup>2</sup>Anatomía y Patología Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. Veterinary Biomedical Sciences, <sup>3</sup>University of Saskatchewan, Canadá.
- 10:30 - 11:00 Café
- 11:00 - 12:30 **Presentación Trabajos Libres 2**  
Coordina: Dr. Donald Brown G.
- 11:00 - 11:15 **ASOCIACIONES ENTRE LOS CROMOSOMAS SEXUALES Y LOS TRIVALENTES EN ESPERMATOCITOS DE *Mus domesticus* HETEROCIGOTOS ROBERTSONIANOS (Rbs).**  
Berríos S<sup>1</sup>, Ayarza E<sup>1</sup>, Manieu C<sup>1</sup>, González M<sup>1</sup>, Manterola M<sup>2</sup>, Page J<sup>3</sup>, **Fernández-Donoso R**<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Programa Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center. <sup>3</sup>Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid
- 11:15-11:30 **IMPAIRED FREQUENCIES OF SEMINIFEROUS TUBULES STAGES IN DIABETIC RAT: A POSSIBLE EXPLANATION FOR INFERTILITY IN DIABETES**  
**Aguirre-Arias MV**, Velarde V, Moreno RD.  
Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 11:30-11:45 **LA APERTURA DE LARGA DURACIÓN DEL PORO DE TRANSICIÓN DE PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL (PTPm) SE ASOCIA CON PERMEABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL EXTERNA (MME) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.**  
**Treulen F**<sup>1,2</sup>, Villegas J<sup>2,3</sup>  
<sup>1</sup>Programa Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, <sup>2</sup>Centro de Excelencia de Biotecnología de Reproducción-BIOREN, <sup>3</sup>Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

- 11:45-12:00 **PARTICIPACIÓN DE ADENILIL CICLASA DE MEMBRANA (mAC) Y PKA, EN LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR FIBRONECTINA (Fn) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.** (Participation of adenylyl cyclase membrane and PKA in the acrosome reaction induced by fibronectina in human sperm)  
**Pérez B**, Morales P y Díaz ES  
Laboratorio Biología de la Reproducción, Depto. Biomédico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
- 12:00-12:15 **EFFECTO DE PEROXINITRITO SOBRE TIOLES Y SU ASOCIACIÓN CON LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA**  
Cabrillana ME<sup>4</sup>, **Uribe P**<sup>1,2</sup>, Fornés MW<sup>4</sup>, Alvarez J<sup>5</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Villegas, J<sup>1,3</sup>.  
<sup>1</sup>Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), <sup>2</sup>Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada <sup>3</sup>Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco-Chile. <sup>4</sup>Laboratorio de Investigaciones Andrológicas, Instituto de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Consejo de Investigación de Universidad del Aconcagua (CIUDA), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad del Aconcagua, Mendoza-Argentina. <sup>5</sup>Androgen, La Coruña, España.
- 12:15 - 12:30 **EFFECTO DE HIDROXIESTRADIOLES Y METOXIESTRADIOLES SOBRE LA VIABILIDAD DE CELULAS DE SERTOLI EN CULTIVO**  
**Molina C**, Vargas C, Tapia-Pizarro A, Castro A, Parada-Bustamante A.  
Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile
- 12:30 - 13:30 **Conferencia 2**  
Coordina: Dr. Hernán Lara P.  
  
**NOVEL INSIGHTS INTO HUMAN TESTICULAR PERITUBULAR CELLS**  
**Dr. Artur Mayerhofer**  
Universidad de Munich. Alemania
- 13:30 - 15:00 Almuerzo
- 15:00 - 16:00 **Conferencia 3**  
Coordina: Dr. Sergio Recabarren  
  
**HYPOTHALAMIC HAMARTOMA AND PRECOCIOUS PUBERTY**  
**Dra. Heike Jung**  
Frankfurt, Alemania
- 16:00 - 17:00 **Trabajos de Incorporación**  
Coordina: Dra. Margarita Vega

- 16:00 - 16:30 **ESTRÉS POR FRÍO SOBRE LA RATA GESTANTE. CAMBIOS EN LA FUNCIÓN OVÁRICA DE LA PROGENIE.**  
**Barra R<sup>1</sup>**, Cruz G<sup>2</sup>, Paredes A<sup>1</sup>, Mayerhofer H<sup>3</sup>, Lara H<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Neuro-bioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y farmacéuticas. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso-Chile. <sup>3</sup>Institute for Cell Biology, Anatomy and Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM), Ludwig Maximilian University, Munich, Germany
- 16:30 - 17:00 **INTRAPERITONEAL GERM CELL TRANSPLANTATION IN THE NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus***  
**Farlora R.**, Takeuchi Y, Yoshizaki G.
- 17:00 - 18:00 **Conferencia 4**  
 Coordina: Dra. Leticia Luna
- USING VIRAL VECTORS AS DELIVERY VEHICLES FOR GENE THERAPY**  
**Dr. Gregory Disson**  
 Oregon National Primates Research Center  
 Oregon Health Science University, Oregon, USA
- 18:30 - 20:30 **Sesión de Posters y café**  
 Coordina: Dr. Ricardo Moreno
- POSTER 1 EFECTO DEL MÉTODO DE PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES (ICSI vs. FIV) SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO, CALIDAD Y EXPRESIÓN GÉNICA EN LA ESPECIE BOVINA.**  
**Arias ME<sup>1</sup>**, Sánchez R<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>1</sup> y Felmer R<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.
- POSTER 2 DESARROLLO *IN VITRO* DE EMBRIONES BOVINOS GENERADOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZIDES (ICSI), ACTIVADOS POR DISTINTOS TRATAMIENTOS DE ACTIVACIÓN QUÍMICA.**  
**Arias ME<sup>1</sup>**, Sánchez R<sup>1</sup>, Pérez L<sup>1</sup>, Vargas T<sup>1</sup> y Felmer R<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera
- POSTER 3 EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD Y CALIDAD EMBRIONARIA DESPUÉS DE LA BIPARTICIÓN DE BLASTOCISTOS BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*.**  
 Velásquez AE, Castro FO and **Rodríguez-Alvarez LI.**  
 Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción

- POSTER 4 MELATONINA EN LA FECUNDACIÓN *IN VITRO*: EFECTO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y LA FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA EN BOVINOS.**  
**Cheuquemán C<sup>1</sup>**, Arias M<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>2</sup>, FelmerR<sup>3</sup>, Sánchez R<sup>4</sup>.  
 Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-UFRO)<sup>1</sup>, Departamento de ciencias básicas<sup>2</sup>, Departamento de ciencias agronómicas y recursos naturales<sup>3</sup>. Departamento de ciencias preclínicas<sup>4</sup>, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
- POSTER 5 EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN LA APARICIÓN DE PIGMENTOS PROTECTORES EN EL ENCÉFALO DE *Xenopus laevis***  
**Pedemonte C<sup>1</sup>**, Díaz Murillo H<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>Universidad de Paya Ancha, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, UPLA. <sup>2</sup>Depto. de Biología y Cs. Ambientales, Fac. de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Valparaíso-Chile
- POSTER 6 MODELO *in vitro* DE LA ACCIÓN DEL TBT EN HEMBRAS GESTANTES DE ROEDORES Y SU ROL COMO AGENTE GENERADOR DE ERO**  
**Zapata A<sup>1</sup>**, Hidalgo M.E.<sup>1</sup>, Díaz Murillo H.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Laboratorio de Radicales Libres en Biomedicina, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso, <sup>2</sup> Depto. de Biología y Cs. Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Valparaíso-Chile
- POSTER 7 LITIO MODIFICA EL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO DE ESPERMATOZOIDES**  
**Burgos J**, Salazar E, Covarrubias AA, Villarroel-Espíndola F, Maldonado R, Castro MA, Angulo C, Slebe JC, Ramírez A, Concha II  
 Instituto de Bioquímica y Microbiología, Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile
- POSTER 8 IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CONTENIDOS EN PLASMA SEMINAL CANINO**  
**Díaz R<sup>1</sup>**, Inostroza K<sup>1</sup>, Sepúlveda N<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Producción Animal, Instituto de Agroindustrias, Universidad de La Frontera, <sup>2</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera
- POSTER 9 ROL DE LA SEÑALIZACIÓN WNT EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA DE PORCINO DURANTE LA CAPACITACIÓN *IN VITRO***  
**Covarrubias AA<sup>1</sup>**, Mancilla H<sup>1</sup>, Burgos J<sup>1</sup>, Villarroel F<sup>1</sup>, Angulo C<sup>1</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Ramírez A<sup>2</sup>, Yeste M<sup>3</sup>, Estrada E<sup>3</sup>, Rocha LG<sup>3</sup>, Rodríguez-Gil JE<sup>3</sup>, Concha II<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio Metabolismo Molecular, Instituto de Bioquímica y Microbiología, <sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España.

- POSTER 10 REGULATION OF MOUSE SPERM CAPACITATION/ACROSOME REACTION BY SERINE/THREONINE PHOSPHATASE PP2A AND XENOESTROGENS**  
**Gallardo LM<sup>1,2</sup>**, Morales P<sup>2</sup>, Moreno RD<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, y <sup>2</sup>Universidad de Antofagasta
- POSTER 11 REGULACIÓN FUNCIONAL DEL PROTEASOMA POR LA PROTEÍNA SERINA/TREONINA FOSFATASA PP2B EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS DURANTE LA CAPACITACIÓN**  
**Fara K<sup>1</sup>**, Baron L<sup>1</sup>, Pizarro E<sup>1</sup>, Diaz ES<sup>1</sup>, Morales P<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio de Biología de la Reproducción, Departamento Biomédico. Facultad de Ciencias de la Salud, <sup>1,2</sup>Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile
- POSTER 12 INHIBICIÓN DE LAS SERINA/TREONINA FOSFATASAS, PP1, PP2A Y PP2B: UN REQUISITO PARA EL ÉXITO DEL PROCESO DE CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS**  
**Signorelli J<sup>1,2</sup>**, Diaz ES<sup>1</sup>, Perez P<sup>1</sup>, y Morales P<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento Biomédico. <sup>2</sup>Instituto Antofagasta. Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile.
- POSTER 13 ROL DE LAS PROTEÍNAS QUINASAS DURANTE LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR PROGESTERONA (P) Y EL AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO INTRACELULAR [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> EN EL ESPERMATOZOIDE HUMANO**  
**Barón L<sup>1</sup>**, Fara K<sup>1</sup>, Díaz ES<sup>1</sup>, Patricio Morales<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio de Biología de la Reproducción. Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile.
- POSTER 14 ESTUDIOS PRELIMINARES DE CONGELACIÓN ESPERMÁTICA EN SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*): EFECTOS EN LA MOTILIDAD Y CAPACIDAD FECUNDANTE**  
**Figueroa E<sup>1</sup>**, Ubilla A<sup>1</sup> Valdebenito M<sup>1</sup>, Risso N<sup>1</sup>, Effer B<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>2</sup>, Merino O<sup>2</sup>, Valdebenito I<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Escuela de Acuicultura, BIOACUI, Universidad Católica de Temuco-Chile. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.
- POSTER 15 SEGUIMIENTO DEL PROCESO METASTÁSICO MEDIANTE IMÁGENES EN VIVO UTILIZANDO UN MODELO ORTOTÓPICO DE CÁNCER PROSTÁTICO**  
**Cifuentes F**, Valenzuela R, Contreras HR. Castellón EA.  
Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

- POSTER 16 EFECTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) Y ADAM17 EN LA PROLIFERACION DE LAS LÍNEAS CELULARES DE EPITELIO SUPERFICIAL OVÁRICO (HOSE) Y CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL (A2780)**  
Cuevas P<sup>1</sup>, Vallejos C<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Paredes A<sup>2</sup> Vega M<sup>1,3</sup>, Romero C<sup>1,2,3</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 17 EFECTO DE DIHIDROTESTOSTERONA (DHT) SOBRE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE TGF- $\beta$ 1 EN LA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE OVARIO EPITELIAL A2780**  
Kohan K<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>, Jara L<sup>3</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Hospital Clínico Universidad de Chile, <sup>2</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, <sup>3</sup>ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 18 LA EXPRESIÓN DE P75 SE ASOCIA CON EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN EN CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL**  
Vallejos C<sup>1</sup>, Paredes A<sup>2</sup>, Gabler F<sup>3</sup>, Selman A<sup>4</sup>, Vega M<sup>1,4</sup>, Romero C<sup>1,2,4</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Hospital Clínico Universidad de Chile; <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; <sup>3</sup>Departamento de Anatomía Patología, Facultad de Medicina Universidad de Chile; <sup>4</sup>Depto de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina Universidad de Chile.
- POSTER 19 RELACIÓN ENTRE MARCADORES DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES Y EL RECEPTOR TRKA EN CÁNCER PROSTÁTICO Y OVÁRICO**  
Poblete CE<sup>1</sup>, Hurtado I<sup>1</sup>, Gallegos I<sup>2</sup>, Gabler F<sup>1</sup>, Contreras HR<sup>2</sup>, Vega M<sup>1</sup>, Romero C<sup>1</sup>, Castellón EA<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 20 RELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE TRANSICIÓN EPITELIO-MESENQUIMAL Y LA CAPACIDAD TUMORIGÉNICA EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER OVÁRICO Y PROSTÁTICO**  
Poblete CE<sup>1</sup>, Seguel V<sup>2</sup>, Castellón EA.<sup>2</sup>, Vega M<sup>1</sup>, Romero C<sup>1</sup> y Contreras HR.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 21 EFECTO DE SIMVASTATINA SOBRE LA VIABILIDAD DE ESFERAS DERIVADAS DE LA LÍNEA CELULAR DE CARCINOMA MAMARIO CANINO CF41**  
Torres CG, Olivares A, Store C

Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andres Bello, Santiago

- POSTER 22 DETERMINACIÓN DE NIVELES PROTEICOS DE p27 EN LA LÍNEA CELULAR DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO (T-HESC) ESTIMULADAS CON ESTEROIDES**  
Astorga I<sup>1</sup>, Plaza F<sup>1</sup>, Kohan K<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Poblete C<sup>1</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>, Valladares L<sup>3</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, <sup>2</sup>Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, <sup>3</sup>INTA, Universidad de Chile.
- POSTER 23 EFECTO DE LA ENDOMETRIOSIS SOBRE LA PREÑEZ Y LA LIBERACIÓN DE CITOQUINAS TH1 Y TH2 EN UN MODELO MURINO**  
Bilotas M<sup>1</sup>, Olivares C<sup>1</sup>, Ricci A<sup>1</sup>, Baston JI<sup>1</sup>, Meresman G<sup>1</sup>, Barañao RI<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (Ibyme-CONICET), Buenos Aires, Argentina
- POSTER 24 EXPRESIÓN DE HGF, c-Met, NGF, TrkA Y p75NTR EN ENDOMETRIO EUTOPICO EX VIVO DE MUJERES CON ENDOMETRIOSIS**  
Parada E, Venegas S, Torres M, Hidalgo P, Castro J, Sovino H, Boric MA, Johnson MC  
Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán.
- POSTER 25 INTERACCIÓN ENTRE NFκB Y RECEPTOR DE ESTRADIOL EN CÉLULAS ESTROMALES ENDOMETRIALES HUMANAS AISLADAS**  
Hidalgo P, Torres M, Boric MA, Castro J, Zavala JC, Gabler F, Johnson MC  
Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán.
- POSTER 26 EFECTO DE ESTRADIOL Y AGONISTAS DE ESTRADIOL EN LA EXPRESION DE USF-2 EN CÉLULAS DE ENDOMETRIO**  
Castro J, Hidalgo P, Jessam C, Fuentes A, Escalona J, Boric MA, Johnson MC  
Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán.
- POSTER 27 LA SELECCIÓN DE OVOCITOS BOVINOS CON CRESILO AZUL BRILLANTE OPTIMIZA LA MADURACIÓN CITOPASMÁTICA Y NUCLEAR *IN VITRO***  
Carrasco R, Grüzmacher A, Letelier C, Berland M, Ratto M  
Laboratorio de Reproducción Animal, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile
- POSTER 28 LA MORTALIDAD DE LOS OVOCITOS EN RATONES DEFICIENTES PARA EL RECEPTOR DE HDL SR-BI NO SE ASOCIA A APOPTOSIS OVÁRICA NI AL AUMENTO DE ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO**  
Santander N<sup>1,3</sup>, Quilaqueo L<sup>1</sup>, Rossi SP<sup>3</sup>, Rigotti A<sup>1,2</sup>, Parborell F<sup>3</sup> y Busso D<sup>1</sup>

Departamentos de <sup>1</sup>Nutrición, Diabetes y Metabolismo y <sup>2</sup>Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires. Argentina.

**POSTER 29 DETECCIÓN DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO GDF-9 Y BMP-15 EN OVOCITOS PREVITELOGÉNICOS DEL PEZ DORADO *Seriola lalandi***

**Palomino J**<sup>1,2</sup>, De los Reyes M<sup>2</sup>, Martínez V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio INBIOGEN y <sup>2</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

**POSTER 30 LA AROMATIZACIÓN POTENCIA LA PROTECCIÓN CELULAR MEDIADA POR TRPV1**

**Córdova C**, Vega C, Ramírez R, Cuevas P, Olivero P

Centro de Investigación Médica Translacional (CIMT), Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

**POSTER 31 PÉRDIDA SELECTIVA DE CÉLULAS GERMINALES EN MACHOS *Mus domesticus* HETEROCIGOTOS PARA MÚLTIPLES METACÉNTRICOS ROBERTSONIANOS (Rbs)**

**González M**<sup>1</sup>, Berríos S<sup>1</sup>, Ayarza E<sup>1</sup>, Manieu C<sup>1</sup>, Manterola M<sup>2</sup>, Page J<sup>3</sup>, Fernández-Donoso R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup> Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center. <sup>3</sup> Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid.

**POSTER 32 ADVERSE EFFECTS OF HEAT STRESS AND XENOESTROGENS IN RAT SEMINIFEROUS EPITHELIUM INTEGRITY**

**Henríquez-Olavarrieta S**, Moreno RD

Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

**POSTER 33 LA ACTIVACIÓN DE LA GLUCÓGENO SINTASA MODULA SU LOCALIZACIÓN E INTERACCION CON AGO-2 EN CÉLULAS DE SERTOLI.**

**López C**<sup>1</sup>, Maldonado R<sup>1</sup>, Burgos J<sup>1</sup>, Villarroel-Espíndola F<sup>1</sup>, Mancilla H<sup>1</sup>, Cereceda K<sup>1</sup>, Vander Stelt K<sup>1</sup>, Salazar E<sup>1</sup>, Covarrubias AA<sup>1</sup>, Angulo C<sup>1</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Slebe JC<sup>1</sup>, Méndez R<sup>2</sup>, Concha I<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología. Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Institute for Research in Biomedicine, IRB Barcelona.

**POSTER 34 REGULACIÓN DEL METABOLISMO DE GLUCÓGENO TESTICULAR: COMPLEJO MALINA-LAFORINA INTERACCIONA CON GLUCÓGENO SINTASA MUSCULAR Y PTG**

**Vander Stelt K**, Villarroel-Espíndola F, Maldonado R, López C, Angulo C, Castro MA, Slebe JC, Concha I

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.

**POSTER 35 MODELOS DE INTERRELACIONES, BASADOS EN ECUACIONES ESTRUCTURALES, DE MARCADORES MOLECULARES, APOPTOSIS, VASCULARIZACIÓN Y TEMPERATURA, EN TESTÍCULOS DE RATAS SOMETIDAS A HIPOXIA HIPOBÁRICA**

Barrios L<sup>3</sup>, Reyes JG<sup>5</sup>, Nolasco J<sup>4</sup>, Zepeda AB<sup>1,2</sup>, Figueroa CA<sup>1,2</sup>, **Farías JG**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada (LIBBA). Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de La Frontera. Casilla 54-D, Temuco, Chile. <sup>2</sup>Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. <sup>3</sup>Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile. <sup>4</sup>Depto. de Enfermería comunitaria, Medicina preventiva y Salud Pública. Universidad de Alicante, Alicante, España. <sup>5</sup>Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

**POSTER 36 VARIACIONES DE LOS FENOTIPOS DE SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP) DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE ROTTERDAM: ¿UNA CONDICIÓN PERMANENTE O VARIABLE?**

**Echiburú B**, Pérez C, Michael P, Ladrón de Guevara A, Vásquez F, Pereira C, Crisosto N, Sir-Petermann T

Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

**POSTER 37 NUEVO ROL DEL PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) EN LA DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA**

**Pascuali N**<sup>1</sup>, Scotti L<sup>1</sup>, Abramovich D<sup>1</sup>, Pazos C<sup>1</sup>; Sobral, F<sup>2</sup>; Oubiña A<sup>2</sup>; Tesone M<sup>1</sup> y Parborell F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Buenos Aires, Argentina;<sup>2</sup> PREGNA Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina.

**POSTER 38 CARACTERIZACION Y EFECTO *IN VITRO* DE 2-METOXIESTRADIOL Y 2-METOXI ESTRONA EN CELULAS LUTEAS HUMANAS DE DIFERENTES EDADES**

**Kohen P**, Henríquez S, Rojas C, \*Strauss JF y Devoto L.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán. \*Dept. of Pharmaceutics, Commonwealth University. Richmond. VA. USA

**POSTER 39 RESPUESTA ANGIOGÉNICA A LA HIPOXIA EN EL CUERPO LÚTEO DE LA OVEJA: EFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A LA ALTURA Y DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ANTIOXIDANTES**

Parraguez VH<sup>1,2</sup>, Bravo L<sup>1</sup>, Pérez C<sup>1</sup>, Díaz F<sup>1</sup>, Pérez L<sup>3</sup>, Raggi L<sup>1,2</sup>, **Urquieta B**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, <sup>2</sup>Centro Internacional de Estudios Andinos (INCAS) y <sup>3</sup>Programa de Magister en Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

## **Viernes 2 de Septiembre**

- 9:00 – 10:30 **Presentación Trabajos Libres 3**  
Coordina: Dr. Pedro Orihuela
- 9:00 - 9:15 **CONCENTRACIÓN SÉRICA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF) EN HIJAS PUBERALES DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP)**  
Abramovich D<sup>1</sup>, **Echiburú B**<sup>2</sup>, Ladrón de Guevara A, Pereira C, Crisosto N, Tesone M<sup>1</sup> y Sir Petermann T<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Buenos Aires, Argentina.  
<sup>2</sup>Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.
- 9:15 - 9:30 **EFFECTO DE 2-METOXIESTRADIOL (2-ME) SOBRE LA ANGIOGENESIS DE CÉLULAS DE LA GRANULOSA HUMANAS LUTEINIZADAS ESTIMULADAS CON LH Y HCG**  
**Henríquez S**, Kohen P, Rojas C, Castro O, Godoy A, Devoto L  
Laboratorio de Endocrinología Clínico-Molecular de la Reproducción, Instituto de Investigación Materno Infantil (IDIMI), Universidad de Chile, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico San Borja-Arriaran.
- 9:30 - 9:45 **LA ANGIOGÉNESIS EN EL SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA (OHSS): ROL DE LA ANGIOPOYETINA-1 EN LA INTEGRIDAD VASCULAR**  
**Scotti L**<sup>1</sup>, Abramovich D<sup>1</sup>, Haro Durand L<sup>1</sup>; Pascuali N<sup>1</sup>, Kopcow, L<sup>2</sup>; Horton M<sup>2</sup>; de Zúñiga I<sup>2</sup>, Tesone M<sup>1</sup> y Parborell F<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Buenos Aires, Argentina;  
<sup>2</sup>PREGNA Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina
- 9:45 - 10:00 **SIMPATECTOMÍA DE RATAS INFANTILES MEDIANTE GUANETIDINA Y SU EFECTO EN LA RESERVA FOLICULAR Y LA APARICIÓN DE QUISTES EN LA ETAPA DE SUBFERTILIDAD**  
**Garrido MP**, Lara HE y Paredes A  
Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- 10:00 - 10:15 **COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE MEDICIÓN CUANTITATIVA DE PROGESTERONA SÉRICA (P<sub>4</sub>) Y SU RELACIÓN CON UN MÉTODO SEMICUANTITATIVO EN EL SEGUIMIENTO DEL CICLO DE LA PERRA**  
**Villarreal A**<sup>1</sup>, Robles N<sup>2</sup>, De los Reyes M<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Escuela de Ciencias Veterinarias, Universidad Viña del Mar.
- 10:15 - 10:30 **GALECTINA-1 PROMUEVE LA VASCULARIZACIÓN DE LAS LESIONES ENDOMETRIÓICAS EN UN MODELO EXPERIMENTAL MURINO**

**Bastón JI**<sup>1</sup>, Barañao RI<sup>1</sup>, Ricci A<sup>1</sup>, Bilotas M<sup>1</sup>, Olivares C<sup>1</sup>, Croci D<sup>2</sup>, Rabinovich GA<sup>2</sup>, Meresman G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción y <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunopatología, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

10:30 – 12:30 **Sesión de Posters y café**  
Coordina: Dra. Silvina Díaz

**POSTER 40 EFECTO DE EGF, FGF-2 E IGF-I EN EL MEDIO DE MADURACION Y CULTIVO DE EMBRIONES BOVINOS GENERADOS POR FECUNDACION *IN VITRO***

**Vargas T**<sup>1</sup>, Arias ME<sup>1</sup>, Pérez L<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Felmer R<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

**POSTER 41 EFECTO DE N-ACETIL-L-CISTEINA EN ESPERMATOZOIDES BOVINOS Y EN EL DESARROLLO Y CALIDAD DE EMBRIONES GENERADOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI)**

**Pérez L**<sup>1</sup>, Arias ME<sup>1</sup>, Vargas T<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Felmer R<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

**POSTER 42 AISLAMIENTO Y DIFERENCIACION ADIPOGÉNICA DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES OBTENIDAS DESDE MEDULA ÓSEA FETAL BOVINA**

**Araya DB** y Peralta OA

Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

**POSTER 43 CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE INVASIÓN TROFOBLÁSTICA Y REMODELACIÓN VASCULAR UTERINA DURANTE LA GESTACIÓN EN RATAS**

**Pizarro M**<sup>1</sup>, Saez T<sup>1</sup>, Párraga M<sup>1</sup>, Weber M<sup>2</sup>, Fitzgerald J<sup>2</sup>, Markert U<sup>2</sup>, San Martín S<sup>1</sup>.

1) Biomedical Research Centre, School of Medicine, Universidad de Valparaiso, Chile. 2) Placenta Lab, Friedrich Schiller Universität, Jena, Alemania.

**POSTER 44 EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN MATERNA EN LA NITROSILACIÓN DE PROTEÍNAS DE LA PLACENTA DE RATA**

**Sáez T**<sup>1</sup>, Heredia A<sup>1</sup>, Casanello P<sup>2</sup>, Sobrevía L<sup>2</sup>, San Martín S<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Biomedical Research Centre, School of Medicine, Universidad de Valparaiso, Chile. <sup>2</sup>Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

- POSTER 45 DETERMINACIÓN DE ROS EN ESPERMATOZOIDES DE CANINO CONGELADOS-DESCONGELADOS: EFECTO DEL MÉTODO DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA**  
 Risopatrón J<sup>1,2</sup>, Merino O<sup>1</sup>, Ferrada P<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), <sup>2</sup>Dpto. Cs. Básicas <sup>3</sup>Depto. Cs. Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
- POSTER 46 EFECTO DE EXTRACTOS DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN ESPERMATOZOIDES DE CANINO**  
 Deppe M<sup>1,2</sup>, Merino O<sup>1</sup>, Reyes-Díaz M<sup>3</sup>, Risopatrón R<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), <sup>2</sup>Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>3</sup>Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology–BIOREN. Depto. Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad de la Frontera
- POSTER 47 ANÁLISIS DE PUTATIVOS MARCADORES DE CAPACITACIÓN Y CRIOCAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES EQUINOS CONGELADOS CON UN DILUYENTE EXPERIMENTAL Y CON EL DILUYENTE COMERCIAL BOTUCRÍO**  
Valenzuela P, Córdoba A, Strobel P, Ramírez A  
 Laboratorio de Criobiología y Análisis de Funcionalidad espermática, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile
- POSTER 48 EFECTO DE LOS METODOS DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA SOBRE LA FUNCIÓN DEL ESPERMATOZOIDE EN SEMEN CONGELADO/DESCONGELADO DE EQUINO**  
Cabrera P<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile, <sup>2</sup>Depto. Cs. Básicas, Facultad de Medicina Universidad de la Frontera, Chile.
- POSTER 49 EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE EXTENSORES DE CONGELACIÓN DE SEMEN SOBRE LA CAPACIDAD DE UNIÓN DE ESPERMATOZOIDES EQUINOS A ZONA PELÚCIDA DE OVOCITOS BOVINOS**  
Mosqueira T<sup>1,2</sup>, Ratto M<sup>1</sup>, Ramírez A<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, <sup>2</sup>Laboratorio de Criobiología, <sup>1,2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- POSTER 50 VIABILIDAD E INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN ESPERMATOZOIDES DE TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*) ALMACENADOS A 4°C POR 14 DÍAS**  
Trigo P<sup>1</sup>, Merino O<sup>1</sup>, Valdebenito I<sup>3</sup>, Risopatrón J<sup>1,2</sup>.  
 Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile<sup>1</sup>, Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina

Universidad de la Frontera, Chile<sup>2</sup>. Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica Temuco<sup>3</sup>

- POSTER 51 MICROENCAPSULACIÓN DE ESPERMATOZOIDES EN TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*): RESULTADOS PRELIMINARES**  
**Lozano C**<sup>1</sup>, Merino O<sup>1</sup>, Valdevenito I<sup>3</sup>, Sánchez R<sup>1,2</sup>, Risopatrón J<sup>1,2</sup>.  
Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile<sup>1</sup>, Depto. Cs. Básicas, Facultad de Medicina Universidad de la Frontera, Chile<sup>2</sup>. Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica Temuco<sup>3</sup>.
- POSTER 52 LA INSEMINACIÓN INTRAUTERINA CON ESPERMATOZOIDES REGULA LA EXPRESIÓN DE COMT Y SUS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN EN EL OVIDUCTO Y LA ACTIVIDAD DE ERK EN LA HIPOFISIS DE RATA**  
**Curotto C**<sup>1</sup>, Orostica ML<sup>1</sup>, Reuquén P<sup>1,2</sup>, Orihuela PA<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Universidad de Santiago de Chile y <sup>2</sup>Escuela de Bioquímica, Universidad Andrés Bello.
- POSTER 53 INTERACCION ENTRE EL SISTEMA NOTCH Y LOS CAMINOS INTRACELULARES PI3K/AKT Y MAPK EN UNA LINEA OVARICA TUMORAL DE GRANULOSA HUMANA**  
**Pazos C**, Pascuali N, Tesone M, Irusta G  
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET). Buenos Aires, Argentina.
- POSTER 54 LA EXPRESIÓN DE SNAIL Y MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR SE ASOCIA CON LA CAPACIDAD TUMORIGÉNICA EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO**  
**Seguel V**, Muñoz D, Ochoa N, Castellón EA, Contreras HR  
Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 55 SINDECANO-2 PARTICIPA EN LA PROLIFERACIÓN, INVASIÓN Y ANGIÓGENESIS EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA**  
Gallardo M, **Farfán N**, Poblete C, Castellón EA y Contreras HR  
Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
- POSTER 56 EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR ABCG2 EN CÁNCER PROSTÁTICO Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA A DROGAS**  
**Castillo V**, Sánchez C, Contreras HR, Huidobro C, Castellón EA  
Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

- POSTER 57 CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES EN ESFEROIDES DERIVADOS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON CARCINOMA PROSTÁTICO**  
Valenzuela R, Castillo V, Poblete C, Tobar E, Contreras HR, Huidobro C, Castellón EA  
 Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 58 INMUNODETECCION DE RECEPTORES DE ADIPONECTINA, ADIPOR1 Y ADIPOR2, EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO**  
García V<sup>1,3</sup>, Rosas C<sup>1</sup>, Poblete C<sup>1</sup>, Cuevas F<sup>1</sup>, Carvajal R., Romero C<sup>1,2</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, <sup>2</sup>Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Hospital Padre Hurtado, Santiago, Chile.
- POSTER 59 EVALUACIÓN DE NIVELES PROTEICOS DE CICLINA D1 EN UN MODELO *IN-VITRO* DE CÉLULAS ENDOMETRIALES EXPUESTAS A ESTÍMULOS CON ESTEROIDES**  
Plaza F<sup>1</sup>, Astorga I<sup>1</sup>, Kohan K<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Poblete C<sup>1</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>, Valladares L<sup>3</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, <sup>2</sup>Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, <sup>3</sup>INTA, Universidad de Chile.
- POSTER 60 EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA MATRIZ EXTRACELULAR (EMAP), DURANTE EL CICLO MENTRUAL E TROMPAS DE FALOPIO HUMANAS**  
Solar P<sup>1,2</sup>, Juica N<sup>1,2</sup>, Velasquez L<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Center of Integrative Medicine and Innovative Sciences (CIMIS), Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y Nanotecnología CEDENNA
- POSTER 61 LA ESTIMULACION CERVICO-VAGINAL BLOQUEA EL EFECTO DEL ESTRADIOL SOBRE LOS NIVELES DE ERK1/2 FOSFORILADA EN HIPOFISIS DE RATA**  
Reuquén P<sup>1,2</sup>, Curotto C<sup>1</sup>, Guajardo E<sup>1</sup>, Orihuela PA<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Universidad de Santiago de Chile y <sup>2</sup>Escuela de Bioquímica, Universidad Andrés Bello
- POSTER 62 DISTRIBUCION DEL APARATO DE GOLGI DURANTE LA MADURACION *IN VITRO* E *IN VIVO* DE OVOCITOS DE PERRA Y SU RELACION CON EL DESARROLLO MEIOTICO**  
Jofré M<sup>1</sup>, Palomino J<sup>1</sup>, Moreno R<sup>2</sup>, De los Reyes M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción. Departamento de Fomento de la Producción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Reproducción. Pontificia Universidad Católica de Chile.

**POSTER 63 ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMO EN EL GEN DE LA PROTEINA MORFOGÉNICA OSEA 15 (BMP-15) Y EL RECEPTOR 1B DE LA PROTEÍNA MORFOGÉNICA OSEA (BMPR-1B) EN EL OVINO CRIOLLO ARAUCANO**

**Paz E<sup>1</sup>**, Quiñones J<sup>1</sup>, Sepúlveda N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Producción Animal, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Departamento de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

**POSTER 64 DETECCIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DIFERENCIAL (GDF9) MEDIANTE WESTERN BLOT EN OVOCITOS DE PERRA EN DIFERENTES ESTADOS DE MADURACIÓN *IN VITRO***

**Rojas C**, Palomino J, De los Reyes M

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

**POSTER 65 MODULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE GLUCÓGENO EN CÉLULAS GERMINALES MASCULINAS TRATADAS CON LITIO**

**Salazar E**, Villarroel-Espíndola F, Maldonado R, Angulo C, Castro MA, Slebe JC, Concha II

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.

**POSTER 66 AUTOFAGIA EN CÉLULAS GERMINALES: RESPUESTA ADAPTATIVA FRENTE A SEVERAS DEFICIENCIAS DE GLUTATIÓN**

**Mancilla H<sup>1</sup>**, Cereceda K<sup>1</sup>, Maldonado R<sup>1</sup>, Burgos J<sup>1</sup>, Lopez C<sup>1</sup>, Montesdeoca M<sup>1</sup>, Villarroel-Espíndola F<sup>1</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Slebe JC<sup>1</sup>, Lavandero S<sup>2</sup>, Concha II<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, <sup>2</sup>NEMESIS, Centro Estudios Moleculares de la Célula (CEMC), Universidad de Chile.

**POSTER 67 CLORURO DE LITIO INDUCE AUTOFAGIA VÍA INOSITOL MONOFOSFATASA EN CÉLULAS DEL TÚBULO SEMINIFERO**

**Cereceda K**, Mancilla H, Burgos. J, López C, Maldonado R, Montesdeoca M, Villarroel-Espíndola F, Angulo C, Castro MA, Concha II

Laboratorio Metabolismo Molecular, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.

**POSTER 68 EXPRESION DE LAS ENZIMAS CYP1A1, CYP1B1 Y COMT EN TEJIDO TESTICULAR HUMANO CON ESPERMATOGENESIS CONSERVADA**

**Vargas C<sup>1</sup>**, Molina C<sup>1</sup>, Ebensperger M<sup>2</sup>, Valdevenito R<sup>3</sup>, Lardone MC<sup>1</sup>, Piottante A<sup>4</sup>, Florez M<sup>1</sup>, Castro A<sup>1</sup>, Parada-Bustamante A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, <sup>2</sup>Departamento de Urología Hospital Clínico San Borja Arriarán, <sup>3</sup>Departamento de Urología Hospital Clínico U. de Chile, <sup>4</sup>Escuela de Medicina, Universidad Andrés Bello.

**POSTER 69 ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES TESTICULARES Y HEPÁTICAS EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS, Y SU REVERSIÓN POR LA ADICIÓN DE ACEITE DE OLIVA A LA DIETA**

**Simón L**<sup>1</sup>, Boarelli P<sup>1,2</sup>, Romero A<sup>1</sup>, Funes A<sup>1</sup>, Práctici C<sup>1</sup>, Martínez V<sup>2</sup>, Pietrobon E<sup>1</sup>, Vincenti A<sup>1</sup>, Saez Lancellotti T<sup>1,2</sup> y Fornés M<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza (LIAM) del Instituto de Histología y Embriología (IHEM, Fac. Cs. Médicas, Univ. Nac. de Cuyo y CCT-Mendoza, CONICET,) Mendoza. Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones (ID), Fac. Cs. Médicas, Univ. del Aconcagua), Mendoza. Argentina.

**POSTER 70 SEGREGACIÓN ALTERNA V/S SEGREGACIÓN ADYACENTE: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS EN LAS ESPERMÁTIDAS DE *Mus Domesticus* HETEROCIGOTOS ROBERTSONIANOS (Rbs)**

**Manieu C**<sup>1</sup>, Berrios S<sup>1</sup>, Ayarza E<sup>1</sup>, González M<sup>1</sup>, Manterola M<sup>2</sup>, Page .<sup>3</sup>, Fernández-Donoso R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup> Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center. <sup>3</sup> Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid.

**POSTER 71 LA EXPOSICIÓN NEONATAL A ESTRADIOL INDUCE DISMINUCIÓN DE EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE ANDROGENOS Y SOBREEXPRESIÓN DE AMH EN OVARIO DE RATA**

**Martínez J**, Lara HE

Laboratorio de Neurobioquímica. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

**POSTER 72 FACTOR INDUCTOR DE OVULACIÓN EN LLAMAS: ESTUDIO DE SU EFECTO OVULATORIO Y LUTEOTRÓFICO**

**Ulloa-Leal C**<sup>1</sup>, Berland M<sup>1</sup>, Guerra M<sup>2</sup>, Vio K<sup>2</sup> y Ratto M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, <sup>2</sup>Laboratorio de Histología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

**POSTER 73 LA LECTINA CONCAVALINA-A PROMUEVE LA MUERTE DE LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA E IMPIDE LA MADURACIÓN FOLICULAR**

**Velásquez EV**, Ríos M, Ortiz ME, Villalón M, Owen GI

Unidad de Endocrinología y Reproducción, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

**POSTER 74 KISSPEPTINA EN EL EJE GANGLIO CELÍACO-OVARIO ES ACTIVADA POR EL SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO Y SE REQUIERE PARA UNA CORRECTA CICLICIDAD ESTRAL**

**Ricu M<sup>1</sup>**, Paredes A<sup>1</sup>, Ramirez V<sup>1,2</sup>, Lara H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de Illinois en Urbana-Champaign, Urbana, USA.

**POSTER 75 ROL DE LA CONVERSIÓN A ESTRADIOL (E<sub>2</sub>) EN LOS EFECTOS OVÁRICOS TEMPRANOS PRODUCIDOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE TESTOSTERONA PROPIONATO (TP) EN RATAS NEONATAS**

**Tiszavari M<sup>1</sup>**, Cruz G<sup>1,2</sup>, Lara H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago-Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso-Chile.

**POSTER 76 EFECTO DE LA ACTIVACIÓN  $\beta$ -ADRENÉRGICA EN OVARIO DE RATA DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD**

**Vega-Villaruel C**, Fernandois D, Lara HE, Paredes A

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

12:30 – 13:30 **Conferencia 5**

Coordina: Dr. Alfonso Paredes

**SEMAPHORIN 3A/NEUROFILIN-1 SIGNALING MEDIATES GNRH SYSTEM DEVELOPMENT AND PLASTICITY**

**Dr. Vincent Prevot**

Inserm U837, Development and Plasticity of the Postnatal Brain, Lille, France

13:00 – 15:00 **Almuerzo**

15:00 – 17:00 **Simposio 2**

**IMPLICANCIA DE LIPIDOS DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y FETAL**

Coordina: Dra. Dolores Busso

15:00 – 15:30 **DISLIPIDEMIA GESTACIONAL Y PROGRAMACIÓN FETAL DE ATEROESCLEROSIS**

**Attilio Rigotti**

Departamentos de Nutrición, Diabetes y Metabolismo y Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica. Santiago, Chile

15:30 - 16:00 **MATERNAL SUPRAPHYSIOLOGICAL HYPERCHOLESTEROLEMIA IN PREGNANCY AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION OF THE PLACENTA**

**Andrea Leiva**, Diez de Medina C, Guzmán-Gutiérrez E, Abarzua E, Pardo F, Sobrevia L.

Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

16:00 - 16:30 **HIPERTRIGLICERIDEMIA MATERNAL PRECOZ Y MACROSOMÍA FETAL EN MADRES OBESAS CON DIABETES MELLITUS GESTACIONAL**

**Pablo Olmos**, Attilio Rigotti, Dolores Busso, Cristián Belmar, Denisse Goldenberg, Bárbara Samith, Manuel Escalona, Thomas Quezada, Jorge Faúndez, Ian Nicklitschek.

Departamentos de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Gastroenterología y Obstetricia-Ginecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

16:30 - 17:00 **DEFECTOS EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN UN MODELO DE RATÓN DEFICIENTE EN EL RECEPTOR DE LIPOPROTEÍNAS HDL SR-BI**

Nicolás Santander, Susana Contreras, Fernanda Awad, Carlos Lizama, Isabella Passalacqua, María José Parga, Attilio Rigotti, **Dolores Busso**

Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile.

17:00 - 17:30 Café

17:00 – 18:30 **Conferencia 6**

Coordina: Dr. Luis Valladares

**SALUD SEXUAL Y REPRODUCTIVA EN LA ADOLESCENCIA**

**Ramiro Molina**

Centro de Medicina Reproductiva y Desarrollo Integral del Adolescente (CEMERA). Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

18:30 - 19:30 Votación de Vicepresidente de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo (2013-2014)

Resultados de las premiaciones e incorporaciones.

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

**Sábado 8 de Septiembre**

9:30 - 11:30 Reunión de Socios de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo.

# ***CONFERENCIAS***

## **EPIGENETIC CONTROL OF FEMALE PUBERTY**

**Dr. Sergio R. Ojeda**

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

Puberty is a major developmental milestone controlled by the interaction of genetic factors and environmental cues of mostly metabolic and circadian nature. An increased pulsatile release of the decapeptide gonadotropin releasing hormone (GnRH) from hypothalamic neurosecretory neurons is required for both the initiation and progression of the pubertal process. This increase is brought about by coordinated changes that occur in neuronal and glial networks associated to GnRH neurons. These changes ultimately result in increased neuronal and glial stimulatory inputs to the GnRH neuronal network and a reduction of transsynaptic inhibitory influences. While some of the major players controlling pubertal GnRH secretion have been identified using gene-centric approaches, much less is known about the system-wide control of the overall process. Because the pubertal activation of GnRH release involves a diversity of cellular phenotypes, and a myriad of intracellular and cell-to-cell signaling molecules, it appears that the overall process is controlled by a highly coordinated and interactive regulatory system involving hundreds, if not thousands, of gene products. In this presentation we will discuss emerging evidence suggesting that these genes are arranged as functionally connected networks organized in a hierarchical fashion, and that the integrative response of these networks to external inputs is coordinated by epigenetic mechanisms. The concept will be elaborated that the core of these genetic networks is composed of transcriptional regulators that, by directing expression of downstream subordinate genes, provide both stability and coordination to the cellular subsets involved in initiating the pubertal process.

## **NOVEL INSIGHTS INTO HUMAN TESTICULAR PERITUBULAR CELLS**

### **Dr. Artur Mayerhofer**

Professor of Molecular Anatomy, Anatomy and Cell Biology, LMU, Munich, Biedersteiner Strasse 29; D-80802 Munich, Germany; email: Mayerhofer@lrz.uni-muenchen.de.

The human ovary and the human testis contain smooth-muscle-like cells. In the testis they form the wall of the seminiferous tubules. Studies in rodents indicated that these peritubular cells produce paracrine factors and that their contractile abilities are necessary to transport immotile sperm. In men with impaired spermatogenesis this compartment typically is remodeled, implying altered functions of these cells. To be able to study human peritubular cells in health and disease, we established a culture method based on small biopsies of patients with obstructive azoospermia but normal spermatogenesis (human testicular peritubular cells, HTPCs) and non-obstructive azoospermia, impaired spermatogenesis and testicular fibrosis (HTPCFs). Studies performed, including proteomic analysis of secreted factors, provide insights into the repertoire of secretion products, plasticity and contractile properties of these human testicular cells and their regulation. For example, their “secretome” includes the extracellular matrix proteoglycan decorin. Because HTPCFs produce more decorin than HTPCs and because decorin interferes with growth factor signaling, it could contribute to male infertility. Several neurotrophic factors are also secreted, including NGF and GDNF. Peritubular cells may thus influence neighboring spermatogonial stem cells, which depend on GDNF and express the receptor GFR $\alpha$ -1. Other factors identified (e.g. IL-6 and MCP-1) may be involved in the inflammation-like events often associated with male infertility. These examples illustrate that peritubular cells are important cells of the human testis in health and disease.

Supported by DFG

## HYPOTHALAMIC HAMARTOMA AND PRECOCIOUS PUBERTY

**Dra. Heike Jung**

Frankfurt, Germany

A Hypothalamic hamartoma (HH) is a rare non-neoplastic formation of normal central nervous tissue in a heterotopic location. These hypothalamic lesions are usually benign and only diagnosed if resulting in clinical pathology, such as gelastic seizures and/ or central precocious puberty (cPP).

Although a HH is one of the most frequently identified causes of organic cPP, the pathogenesis of premature pubertal development is controversial. Potential mechanisms by which a HH may result in cPP are reviewed.

It has been hypothesized that HHs prematurely initiate and accelerate the pubertal process by containing and/or releasing neuronal or astroglial factors known to be involved in the cascade of events of normal puberty, or by interference with inhibitory pathways.

Factors known to be involved in normal sexual maturation, such as gonadotropin releasing hormone (GnRH), GnRH receptor and transforming growth factor alpha (TGF- $\alpha$ ) were investigated, and were described in HHs with and without cPP after surgical removal due to intractable epilepsy. Expression of the gene encoding the cell-to-cell interaction molecule Glutamate receptor metabotropic 1  $\alpha$  (*mGluR1A*), shown to increase during puberty in female rhesus monkey hypothalamus, tended to be higher in some, but not all HHs with cPP compared to HHs without cPP. Therefore, to date no correlation between stimulatory factors in HHs, involved in normal pubertal development, and clinical pathology of cPP has been confirmed.

Clinical series of HHs suggested the concept that morphology and localization are important determinants of clinical pathology. Involvement of the 3rd ventricle was shown to be more predictive for cPP than diameter or shape of the lesion. Although anatomical and morphological features of HHs per se seem to be important characteristics, HHs' intrinsic activities in the close vicinity and functional connection to critical hypothalamic structures, such as tuber cinereum or infundibulum, are likely to result in clinical pathology of pubertal precocity.

While cPP is usually sufficiently controlled by long-acting GnRH analog treatment, investigation of HHs, if surgically removed for intractable seizure activity, could further extend our knowledge of mechanisms underlying normal pubertal development.

## USING VIRAL VECTORS AS DELIVERY VEHICLES FOR GENE THERAPY

**Dr. Gregory A. Dissen**

Division of Neuroscience, Oregon National Primate Research Center-Oregon Health & Science University, Beaverton, OR 97006-3448, USA [disseng@ohsu.edu](mailto:disseng@ohsu.edu)

Viral vector-based gene therapy is a powerful tool that allows experimental study of cells, tissues, or living animals that previously were not amenable to genetic manipulation. Viral vector mediated gene therapy offers the possibility of genetic manipulation by infecting and transducing dividing or nondividing cells. The currently available vectors are able to achieve this genetic modification with minimum immune system activation. One can choose vectors that permanently integrate into the genome of host cells, and are able to maintain long-term expression; or a vector system that does not integrate into the genome avoiding the complication of insertional mutagenesis. In this presentation I will describe the use of viral vectors by our lab to either express transgenes or suppress expression of endogenous genes via RNA interference (RNAi). We have used both the lentiviral and adeno-associated viral vector systems. Studies utilizing these systems will be described as examples of the experimental versatility of viral vectors. In addition, I will describe current production protocols in use, and the safety features of both vector systems.

## SEMAPHORIN 3A/NEUROFILIN-1 SIGNALING MEDIATES GNRH SYSTEM DEVELOPMENT AND PLASTICITY

### Dr. Vincent Prevot

Inserm U837, Development and Plasticity of the Postnatal Brain, Lille, France

Neuropilin-1 (Nrp1) guides the development of the olfactory, nervous and vascular systems. Here, we show that *Nrp1<sup>sema/sema</sup>* mutant mice, which are defective for the semaphorin-binding domain of Nrp-1, harbor GnRH deficiency due to GnRH neuronal migratory defects during early embryonic development, and we provide genetic evidence that insufficient semaphorin-3A (Sema3A) signaling can contribute to the Kallmann syndrome phenotype in man. In the adult brain, Sema3A is selectively expressed in the capillary zone within the median eminence, the projection site of GnRH neurons. We show that endothelial cells of the median eminence secrete this class 3 secreted semaphorin during a discrete window of the ovarian cycle and that Sema3A/Nrp1 signaling is required for the advancement of GnRH nerve terminals towards the vascular wall on the day of the preovulatory surge. We also show that temporary and local *in vivo* infusion of antibodies that neutralizes Nrp1 function disrupts the ovarian cycle, which requires a pulsatile, coordinated delivery of GnRH into the hypothalamo-hypophyseal portal system. These data thus suggest that endothelium-to-neuron communication processes involving Sema3A/Nrp1 signaling are functionally and physiologically relevant to the adult reproductive brain. Altogether our results raise the intriguing possibility that signaling pathways that play critical roles during GnRH system development may also be involved in the control of adult reproductive physiology.

## **SALUD SEXUAL Y REPRODUCTIVA EN LA ADOLESCENCIA**

(Sexual and reproductive health in the adolescence)

### **Dr. Ramiro Molina Cartes**

Centro de Medicina Reproductiva y Desarrollo Integral del Adolescente (CEMERA).  
Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La Salud Sexual y Reproductiva es un concepto evolutivo que ha integrado en forma progresiva una serie de derechos y deberes tanto de la mujer como del hombre. Esta evolución abarca áreas biológicas, sociales y psicológicas, incluyendo el análisis de las ciencias sociales, de la Conducta y del Derecho.

Se inicia como prestaciones en el campo de Seguridad Social como actos curativos a principios del Siglo XIX. En Chile se inicia en 1924 con la introducción de la Seguridad Social y evoluciona con rapidez a partir de la creación del Servicio Nacional de Salud en 1952.

Desde 1995 se desarrollan fuertes resistencias en materias de Sexualidad y Fecundidad. Aun quedan 12 hitos de la Salud sexual y reproductiva que Chile que no se han desarrollado y urge la discusión Parlamentaria de la Ley sobre Derechos en Salud Sexual y Reproductiva.

Las definiciones de SSR son variadas y la de mayor consenso es la acuñada por la Reunión de población en el Cairo, 1994. Esto ha dado origen a la profundización de los conceptos de los Derechos en Salud Sexual y Reproductiva, que se consideran como parte de los Derechos Humanos. Hoy existen 8 documentos Internacionales que avalan estos derechos y todas las Agencias de NN.UU. La Salud Sexual y Reproductiva en Adolescentes, se incluye en estos estudios, dándole énfasis a ciertas áreas en esta edad. Se analiza la realidad en Chile y la incongruencia de los programas elaborados por el Ministerio de Salud y la realidad clínica en terreno.

# ***MINICONFERENCIA***

***PREMIO***

***SOCIEDAD CHILENA DE  
REPRODUCCION Y DESARROLLO***

***2011***

**¿LA SOBREPDUCCIÓN DE GLUCÓGENO PUEDE SER UNA SEÑAL DE DEGENERACIÓN EN EL TÚBULO SEMINÍFERO?** (Is glycogen overproduction a degenerative signal in the seminiferous tubule?)

**Villarroel-Espíndola F<sup>1</sup>**, Mancilla H<sup>1</sup>, Maldonado R<sup>1</sup>, Acuña AI<sup>1</sup>, Durán J.<sup>2</sup>, García-Rocha M<sup>2</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Angulo C,<sup>1</sup> Slebe JC<sup>1</sup>, Guinovart JJ<sup>2</sup>, and Concha II<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Bioquímica Y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile; <sup>2</sup>Instituto de Investigación en Biomedicina (IRB) de Barcelona, España. [franz.villarroel@postgrado.uach.cl](mailto:franz.villarroel@postgrado.uach.cl)

Altos niveles de energía son requeridos para sostener todos los cambios metabólicos y morfológicos durante espermatogénesis. El glucógeno es un polímero de glucosa altamente ramificado y considerado la principal reserva energética. Sin embargo, en algunos casos la pérdida en la homeostasis del glucógeno o alteración de su conformación estructural puede promover procesos de apoptosis, sugiriendo un nuevo rol para esta molécula. Previamente, demostramos la expresión de glucógeno sintasa muscular (MGS) en células del epitelio germinal masculino, siendo responsable de la síntesis del glucógeno testicular. Usando dos modelos transgénicos de MGS, *Knock-out* (KO) y *Knock-in* (Kin), hemos evaluado la participación del glucógeno durante espermatogénesis. Ambos modelos fueron generados como un transgénico CRE bajo el promotor de nestina. El modelo KO no presentó alteraciones morfológicas del epitelio germinal, exhibiendo una espermatogénesis aparentemente normal, dada la presencia de espermatozoides dentro del lumen tubular. Por otro lado, el modelo Kin, el cual expresa una MGS superactiva no regulable por fosforilación y sintetiza altos niveles de glucógeno, mostró, mediante histoquímica con tricrómico de Massón y ácido periódico-Schiff (PAS) e inmunodetección de caspasa3 activa, que la sobreproducción de este polímero indujo degeneración del túbulo seminífero y apoptosis de células germinales. Además, la acumulación de glucógeno en la línea celular GC-1, transfectadas con *Protein Targeting Glycogen* (PTG)/MGS, gatilló también la activación de caspasa3. Nuestros resultados sugieren que el glucógeno no sería esencial para sostener la espermatogénesis; sin embargo, su sobresíntesis y eventual acumulación sería capaz de promover degeneración y muerte de las células del epitelio germinal masculino e infertilidad

Financiamiento: FONDECYT-1110508 (IIC), 1090740 (JCS); FVE: Becario Doctorado CONICYT-2008 y AT-24100011 (FVE); MECESUP AUS-0704 (FVE) y UCO-0606 (FVE); Escuela de Graduados-UACH, DID-UACH]

# ***SIMPOSIOS***

## **Simposio 1: EL HIPOTÁLAMO COMO SENSOR DE SEÑALES PERIFÉRICAS**

### **TANICITOS HIPOTALÁMICOS Y SISTEMA SENSOR DE GLUCOSA** (Hypothalamic tanocytes and glucose sensing mechanism)

**Nualart Francisco**, García-Robles MA.

Departamento de Biología Celular, Centro de Microscopía Avanzada CMA Bio Bio, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Diferentes funciones del sistema nervioso central han sido asociadas a la interacción entre la glia y la neurona. Esta interacción permite reciclar neurotransmisores y vitamina C, como también sintetizar glutatión. A nivel del hipotálamo, hemos propuesto que la interacción glia-neurona permite detectar los cambios en la concentración de glucosa a nivel sistémico. En esta presentación se entregarán los conceptos teóricos del sistema sensor de glucosa cerebral, además de las aproximaciones experimentales a nivel celular y bioquímico que permiten proponer que la glia hipotalámica, llamada tanicito, es una célula clave en este sistema. Hemos demostrado que el tanicito presenta la expresión y función de diferentes transportadores (GLUT2, GLUT1, MCTs), enzimas (GK) y receptores utilizados en células sensoras periféricas (beta-pancreática). Los tanicitos detectarían los cambios en la concentración de glucosa en el LCR y responderían generando una señal metabólica que activa a las neuronas hipotalámicas involucradas en este proceso. En este estudio, los análisis *in situ* se han complementado con métodos bioquímicos utilizando células aisladas para definir la función de transportadores de glucosa de baja afinidad y de transportadores de monocarboxilatos. Además, se han utilizado diferentes tecnologías (microdissección láser, confocalidad espectral y microscopía electrónica) para analizar los transportadores previamente indicados a nivel de tanicitos y neuronas del hipotálamo. Finalmente, se presentarán las bases conceptuales y experimentales que nos permiten postular un sistema de entrada rápida de glucosa a la cavidad ventricular del hipotálamo, para estimular a las células gliales involucradas en el mecanismo sensor de glucosa.

Financiado por Proyectos FONDECYT 1100396 (FN), 1100705 (MGR).

**ROL DE LOS TANICITOS Y LOS PLEXOS COROIDEOS EN EL ACCESO DE PÉPTIDOS PERIFERICOS A BLANCOS CENTRALES.** (Role of tanycytes and choroid plexus in the transport of peripheral peptides to central targets)

**Rodríguez Esteban**, Guerra Monserrat.

Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Juan Luis Blasquez, Departamento de Anatomía Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca, España.

La barrera hematoencefálica (BHE) es una barrera única e ininterrumpida que en los capilares cerebrales está localizada en las células endoteliales y en los órganos circumventriculares, tales como la eminencia media (EM) y los plexos coroideos (PC), está desplazada hacia células endoteliales especializadas. ¿Cómo las hormonas hipotálamicas alcanzan la circulación portal sin interrumpir la BHE? El medio íntimo de la EM está abierto a los vasos portales pero está cerrado al líquido cefalorraquídeo (LCR) y al núcleo arcuato (NA). El cuerpo celular y la mayor parte del axón de las neuronas que proyectan a la EM están localizados en áreas protegidas por la BHE, mientras que sus terminales axónicas están localizadas en el área libre de BHE de la EM. Este diseño implica una organización compleja del espacio intercelular del hipotálamo medio basal. La privacidad del *milieu* de EM implica que las neuronas que proyectan a esta área no están bajo la influencia de compuestos que escapan de los capilares portales. Sorprendentemente, el NA también tiene su *milieu* privado que está cerrado a todas las estructuras neurales vecinas y está abierto al LCR del receso infundibular del tercer ventrículo. La ausencia de células multiciliadas en este receso resulta en un flujo lento de LCR a este nivel. Toda esta organización facilita el arribo de señales al NA via LCR. ¿Cómo hormonas periféricas pueden alcanzar blancos en el SNC, el hipotálamo en particular, sin interrumpir la unidad funcional de la BHE? Existen sistemas de transportes específicos localizados en las células endoteliales de los capilares cerebrales y, especialmente, en las células endoteliales de los PC. Estos poseen transportadores específicos para numerosos péptidos presentes en la sangre, tales como la hormona de crecimiento, prolactina, insulina, factor de crecimiento tipo insulina (IGF I y II), leptina, hormonas tiroideas. Estos compuestos llegan al LCR y desde allí alcanzan sus blancos específicos, i.e., IGF I a los tanicitos beta, T4 a los tanicitos alfa, prolactina a neuronas dopaminérgicas del NA, leptina a neuronas peptidérgicas del NA. Los plexos coroideos y el LCR son parte de la vía que posibilita la llegada de señales periféricas a blancos centrales sin que se interrumpa la BHE.

Financiamiento: Fondecyt N° 1111018

### ***Simposio 1: EL HIPOTÁLAMO COMO SENSOR DE SEÑALES PERIFÉRICAS***

#### **EFFECTO CENTRAL Y PERIFÉRICO DE UN FACTOR INDUCTOR DE OVULACIÓN EN LLAMAS. (Central and Peripheral effect of an ovulation inducing factor in llamas)**

Berland M<sup>1</sup>, Guerra M<sup>2</sup>, Vio K<sup>2</sup>, Rodriguez E<sup>2</sup>, Adams GP<sup>3</sup>, **Ratto Marcelo H<sup>1</sup>**

Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile<sup>1</sup>, Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Área Neurociencias, Facultad de Medicina Universidad Austral de Chile<sup>2</sup>, Veterinary Biomedical Sciences, University of Saskatchewan, Canada<sup>3</sup>.

En las especies de ovulación inducida o refleja tales como los Camélidos Sudamericanos, la copula es el estímulo necesario para producir la liberación de GnRH seguido de la descarga preovulatoria de LH y finalizando con la ovulación de un folículo maduro. Sin embargo, estudios realizados en alpacas y llamas han documentado la presencia de un factor inductor de la ovulación en el eyaculado de estas especies. Estudios recientes han documentado que este factor es una molécula proteica capaz de estimular el peak preovulatorio de LH con subsiguiente ovulación y formación de un cuerpo luteo funcional. La administración de OIF en llamas tratadas con antagonistas de GnRH (cetorelix) indica que el factor estimula la secreción de LH mediante activación directa o indirecta de las neuronas GnRH. Con el fin de determinar si OIF atraviesa la barrera hematoencefalica, se procedió a biotinilar OIF purificado en sus terminales amino y carboxilo y posteriormente administrarlos en forma intravenosa a conejas adultas. Una muestra de 50 µl de líquido cefalorraquídeo fue colectada desde la cisterna magna en las hembras de todos los grupos bajo anestesia general al tiempo 0 y a los 10, 20, 30 y 45 minutos posterior al tratamiento. Biotinilado OIF, tanto en sus terminales amino y carboxilo fueron detectadas en las muestras de líquido cefalorraquídeo a los 10, 20, 30 y 45 min post-administración intravenosa. Basado en los resultados de este estudio, concluimos que OIF atraviesa la barrera hematoencefalica y alcanza el líquido cefalorraquídeo en conejos.

Financiado por FONDECYT 1120518

**Simposio 2: IMPLICANCIA DE LÍPIDOS DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y FETAL**

**DISLIPIDEMIA GESTACIONAL Y PROGRAMACIÓN FETAL DE ATEROESCLEROSIS** (Gestational dyslipidemia and fetal programming of atherosclerosis)

**Rigotti Attilio**

Departamentos de Nutrición, Diabetes y Metabolismo y Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica. Santiago, Chile

La enfermedad cardiovascular isquémica de origen ateroesclerótico es la principal causa de morbimortalidad en la población mundial. En los últimos años, el aumento de su prevalencia ha ocurrido principalmente en los países subdesarrollados y en vías de desarrollo debido a la transición epidemiológica de estas regiones hacia la presencia creciente de factores de riesgo para enfermedades crónicas no transmisibles. Si bien esta enfermedad se manifiesta clínicamente en el adulto mayor, su patogenia ocurre desde edades muy precoces incluyendo la infancia y la adolescencia. La hipercolesterolemia es el principal factor de riesgo para aterosclerosis, incluyendo su desarrollo en edades precoces de la vida. De hecho, estudios recientes en humanos y modelos animales indican que la hipercolesterolemia gestacional, aunque sea transitoria durante el embarazo, se asocia a la presencia de ateromatosis en el feto en desarrollo y a una progresión acelerada de esta condición patológica durante la infancia. Aún más, el tratamiento de la hipercolesterolemia materna durante el embarazo con agentes reductores de los niveles séricos de colesterol reduce en gran medida la aterogénesis fetal y postnatal en modelos animales. Los experimentos realizados en un modelo murino de hipercolesterolemia gestacional demostraron cambios en la expresión génica en la pared arterial de los hijos de madres hiper- versus normocolesterolemicas que persisten después del nacimiento. Este conjunto de hallazgos ha llevado a plantear la hipótesis de la programación fetal de la aterosclerosis inducida por hipercolesterolemia materna del embarazo, incluyendo un efecto significativo en la aterogénesis postnatal. Una mejor comprensión de los mecanismos involucrados en esta programación fetal de la aterosclerosis podría llevar al diseño de nuevas estrategias preventivas para esta enfermedad de prevalencia creciente en el mundo.

Financiamiento FONDECYT #1110712

## MATERNAL SUPRAPHYSIOLOGICAL HYPERCHOLESTEROLEMIA IN PREGNANCY AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION OF THE PLACENTA

Leiva Andrea, Diez de Medina C, Guzmán-Gutiérrez E, Abarzua E, Pardo F, Sobrevia L

Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC), P.O. Box 114-D, Santiago, Chile.

Maternal physiological hypercholesterolemia (MPH) occurs in pregnancy assuring fetal growth and development but maternal supraphysiological hypercholesterolemia (MSPH) leads to aortic atherosclerosis in the fetus and children. Since endothelial function is altered by hypercholesterolemia, we hypothesize that MSPH alters L-arginine/NO pathway in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) leading to altered vascular reactivity.

MSPH (maternal total cholesterol >280 mg/dl at term (n=69)) was associated with reduced endothelium-dependent (calcitonin gene-related peptide, CGRP,  $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M) vasodilation ( $IC_{50}$   $3.2 \pm 0.3$  nM) compared with MPH ( $IC_{50}$   $0.15 \pm 0.002$  nM); however, SNP-vasodilatation (endothelium-independent) was unaltered in MSPH. NOS activity (L-[ $^3$ H]citrulline formation from L-[ $^3$ H]arginine (9  $\mu$ Ci/ml, 60 minutes, 37°C) in absence or presence of L-NAME, (100  $\mu$ M)) was lower (29%) in MSPH compared with MPH without changes in eNOS expression. L-Arginine transport (30-500  $\mu$ M, 3  $\mu$ Ci/ml, 37°C, 1 minute) maximal velocity was higher in MSPH compared with MPH ( $V_{max}$   $12 \pm 3$  and  $5 \pm 1$  pmol/ $\mu$ g protein/minute respectively) without significant changes in apparent  $K_m$  or human cationic aminoacid transporter 1 protein expression. Arginase II activity (urea formation from L-arginine (50  $\mu$ M, 60 minutes, 37°C)) and expression was increased in MSPH cells ( $1.27 \pm 0.08$  and  $2.37 \pm 0.64$  folds referent to MPH, respectively). In umbilical veins from MSPH the intimal-medial ratio (hematoxyline-eosin and Verhoeff stain) was higher and associated with increased number of smooth muscle cells (Heidenhain stain).

We propose that MSPH associates with altered L-arginine bioavailability for NOS in HUVEC leading to reduced umbilical vein reactivity and changes in its structural conformation, a likely key phenomenon in MSPH-associated adult cardiovascular disease.

Support: CONICYT (ACT-73 PIA), FONDECYT (1110977, 11110059), Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. EG-G holds CONICYT-PhD fellowship

**Simposio 2: IMPLICANCIA DE LÍPIDOS DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y FETAL**

**HIPERTRIGLICERIDEMIA MATERNAL PRECOZ Y MACROSOMÍA FETAL EN MADRES OBESAS CON DIABETES MELLITUS GESTACIONAL.**

**Olmos Pablo**, Rigotti A, Busso D, Belmar C, Goldenberg D, Samith B, Escalona M, Quezada T, Faúndez J, Nicklitschek I.

Departamentos de Nutrición-Diabetes-Metabolismo, Gastroenterología y Obstetricia-Ginecología, Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago, Fono 56-2-3543863; FAX; 56-2-6338298. [polmos@med.puc.cl](mailto:polmos@med.puc.cl)

El objetivo de este trabajo fue determinar si los triglicéridos maternos pudiesen estar relacionados con crecimiento fetal excesivo en diabetes mellitus gestacional (GDM) en condiciones de control glicémico óptimo. Reclutamos 215 embarazos, clasificándolos en 2 grupos de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC) materno pregestacional: No-SobrePeso (NOSP;  $20 \leq \text{IMC} \leq 24.9 \text{ Kg/m}^2$ ;  $n = 107$ ), y Sobrepeso u Obesa (SPO;  $\text{IMC} \geq 25 \text{ Kg/m}^2$ ;  $n = 108$ ). Comparamos, con  $\chi^2$ , T-Student y regresión de Pearsons: Los z-scores medios, ZSM, (percentil 50 obtenido de Fahraeus L., Obstet Gynecol 1985) de perfiles lipídicos repetidos, la HbA1c media, y los z-scores de peso de recién nacido (ZSPRN). Respectivamente, para los grupos NOSP y SPO: número de perfiles lipídicos por paciente=  $1.85 \pm 1.0$  &  $1.87 \pm 1.1$  ( $p=0.94$ ); HbA1c media= $5.4 \pm 0.4$  &  $5.6 \pm 0.6$  ( $p=0.000$ ); ZSM de triglicéridos =  $0.6 \pm 1.2$  &  $0.94 \pm 1.3$  ( $p=0.008$ ), triglicéridos > percentil 90= 37/198 & 75/198 ( $p < 0,001$ ); ZSM de VLDL-Colesterol= $2.20 \pm 1.4$  &  $3.02 \pm 2.3$  ( $p=0,000$ ) y VLDL-C > percentil 90= 88/179 & 189/202 ( $p < 0,001$ ). Correlaciones entre HbA1c y ZSPRN:  $r=0.317$  [ $p=0,017$ ] &  $r= 0,252$  [ $p=0,05$ ]; Correlaciones entre ZSM de VLDL-C y ZSPRN:  $r=0,273$  [ $p=0,103$ ] &  $r=0,427$  [ $p=0.008$ ]; Correlaciones entre ZSM de triglicéridos maternos y ZSPRN:  $r=0,167$  [ $p=0,211$ ] &  $r=0,476$  [ $p=0,000$ ]. En conclusión, [a] Solo en DMG con sobrepeso/obesidad pregestacional (y nó en madres normopeso) los triglicéridos y las VLDL-C se correlacionaron significativamente con el peso normalizado de recién nacido. [b] Fuera de la glucosa, los triglicéridos maternos constituyen un segundo nutriente capaz de causar crecimiento fetal excesivo en DMG con sobrepeso u obesidad maternos.

Financiamiento: FONDECYT N° 1120682

**DEFECTOS EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN UN MODELO DE RATÓN DEFICIENTE EN EL RECEPTOR DE LIPOPROTEÍNAS HDL SR-BI.**  
(Developmental defects in mice deficient for High Density Lipoprotein (HDL) receptor SR-BI)

Santander N, Contreras S, Awad F, Lizama C, Passalacqua I, Parga MJ, Rigotti A, **Busso Dolores**

Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile.

El receptor *scavenger* clase B tipo I (SR-BI) es un receptor de lipoproteínas de alta densidad (HDL) que media el transporte bidireccional de colesterol y otras moléculas hacia/desde la célula. Durante la generación de los ratones *knock out* para SR-BI se observó al destete una menor proporción de ratones SR-BI<sup>-/-</sup> que la esperada según la distribución Mendeliana, postulándose durante años que SR-BI podía ser importante para el desarrollo intrauterino. Recientemente determinamos que 35% de los fetos con SR-BI<sup>-/-</sup> presentaban exencefalia, una anomalía incompatible con la vida extrauterina producida por defectos en el cierre del tubo neural (DTN). Efectivamente, observamos que aproximadamente 35% de embriones SR-BI<sup>-/-</sup> tempranos presentaban tubo neural abierto. La exencefalia se vio acompañada por defectos en la fusión de los párpados y la arquitectura de las fibras miogénicas de la lengua. Determinamos el género de los embriones SR-BI<sup>-/-</sup> con NTD mediante PCR para los alelos *smcx/y*: 27% eran machos y 72% eran hembras, lo cual resultó consistente con evidencias en humano y modelos experimentales indicando una mayor frecuencia de DTN en género femenino. Si bien hasta el momento no hemos determinado el mecanismo que explica el DTN en embriones SR-BI<sup>-/-</sup>, estudios de inmunodetección indicaron que SR-BI no está presente en el embrión sino en tejidos extraembrionarios mediadores del transporte materno-fetal de nutrientes: células gigantes del trofoblasto en etapas tempranas de la gestación y sincitiotrofoblasto del laberinto coriónico en placenta madura. Teniendo en cuenta el rol de SR-BI como transportador de colesterol, determinamos que los embriones SR-BI<sup>-/-</sup> contienen menos colesterol corporal total que los embriones SR-BI<sup>+/+</sup>. Nuestros estudios en ratones permiten concluir que la expresión de SR-BI en las membranas extraembrionarias es importante para el cierre del tubo neural, y sugieren que este receptor participaría en el transporte materno-fetal de colesterol u otros lípidos.

Financiamiento: CONICYT Inserción Investigadores en Academia 79090028 y FONDECYT 11090064 (D.B.). Proyecto de Inmersión Verano 2012 DI Escuela de medicina UC (I.P.)

# ***INCORPORACIONES***

**ESTRÉS POR FRÍO SOBRE LA RATA GESTANTE. CAMBIOS EN LA FUNCIÓN OVÁRICA DE LA PROGENIE.** (Cold stress on pregnant rats. Ovarian function changes in the progeny)

**Barra R**<sup>1</sup>, Cruz G<sup>2</sup>, Paredes A<sup>1</sup>, Mayerhofer H<sup>3</sup>, Lara H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Neuro-bioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y farmacéuticas. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso-Chile. <sup>3</sup>Institute for Cell Biology, Anatomy and Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM), Ludwig Maximilian University, Munich, Germany

En la actualidad se encuentra establecido que la aplicación de diferentes modelos de estrés temprano puede generar cambios en el desarrollo o funcionamiento de los sistemas biológicos. Particularmente, existe muy poca evidencia sobre posibles efectos sobre el normal funcionamiento y desarrollo del ovario. En este contexto aplicamos un modelo de estrés específico para la activación del sistema nervioso simpático durante la gestación y estudiamos posibles efectos sobre los procesos de ensamblaje y desarrollo folicular temprano, además de estudiar la respuesta a la gonadotropina FSH, logrando establecer, a los 4 días de edad neonatal, una clara disminución del “pool” de reserva folicular, y de las poblaciones de folículos primarios y secundarios. También se demostró una disminución en los niveles de mRNA de la neurotrofina NGFb y del receptor de FSH. Además de demostrar una disminución en la sensibilidad a FSH. También destaco, luego de la aplicación del modelo de estrés prenatal, un aumento en el número de crías, y una disminución en el número de días de gestación. Consideramos que existe una relación funcional entre la disminución de los niveles de NGFb y la disminución de los niveles del receptor de FSH, esto explicaría, al menos en parte la disminución en sensibilidad a FSH, demostrando un daño en el desarrollo folicular temprano y probablemente en el ensamblaje folicular.

Financiamiento: FONDECYT 1090036. MECESUP Programa de Doctorado en Farmacología de la Universidad de Chile. Hacia un Claustro Académico Nacional”, UCH-0704. BECA APOYO TESIS 24110061. BECA FINANCIAMIENTO DOCTORADO NACIONAL.

## **INTRAPERITONEAL GERM CELL TRANSPLANTATION IN THE NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus***

**FARLORA R**<sup>1,2</sup>, TAKEUCHI Y<sup>1</sup>, YOSHIZAKI G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Marine Biosciences, Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo, Japan. <sup>2</sup>Departamento de Oceanografía, Laboratorio de Genética y Biotecnología Acuícola, Universidad de Concepción.

In this work we report the establishment of an intraperitoneal germ cell transplantation procedure in the Nile tilapia. To determine the optimum stage at which exogenous germ cells would be transplanted into the recipients, we analyzed the early gonad development in Nile tilapia by histology. For the transplantation, donor testes from a transgenic Nile tilapia strain carrying the medaka  $\beta$ -actin/EGFP gene were subjected to enzymatic dissociation; the testicular cells were stained with PKH26 and were microinjected into the peritoneal cavity of the recipients. To confirm the colonization of the donor derived germ cells, recipient gonads were observed under the fluorescent microscope. DAPI nuclear staining was used for detailed observation under the confocal microscope. Long-term survival of transgenic donor-derived germ cells was further evaluated by means of PCR using EGFP-specific primers. Endogenous primordial germ cells (PGCs) started to colonize the imminent genital ridges by 6 days post fertilization (dpf), and they quickly become in contact with few scarce gonadal somatic cells. In 7-8 dpf fish, the genital ridges become a more conspicuous structure. By 11 dpf, gonadal somatic cells form a single layer surrounding the PGCs. According with these results, we selected 6, 7 & 8 dpf recipients for the transplantation experiments. PKH26-labelled cells showing the typical morphology of spermatogonia were incorporated in the recipient gonads and were not rejected within 21 days post transplantation. Moreover, donor-derived EGFP gene was detected in gonads from 5 mo recipients. These results imply the maintenance and long-term survival of donor-derived germ cells in the recipient gonads.

RF: Doctoral scholarship recipient from MEXT (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology) of Japan.

## ***COMUNICACIONES LIBRES***

## SESION 1

**CAMBIOS TEMPRANOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN NEONATAL A ESTRADIOL. POSIBLE ROL DE FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA DISRUPCIÓN PRODUCIDA POR ESTRADIOL** (Early gene expression after neonatal estradiol exposure: Possible role of growth factors in the disruption produced by estradiol)

**Cruz G**<sup>1,2</sup>, Barra R<sup>1</sup>, Martínez J<sup>1</sup>, Mayerhofer A<sup>3</sup> and Lara HE<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago-Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso-Chile. <sup>3</sup>Institute for Cell Biology, Anatomy and Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM), Ludwig Maximilian University, Munich, Germany

La exposición temprana a estradiol produce alteraciones irreversibles en la función reproductiva, siendo hasta los 14 días de vida la etapa más vulnerable en la rata. En los primeros 3 días de vida ocurre el ensamblaje folicular y el reclutamiento inicial de los folículos, procesos que se retrasan por estradiol, posiblemente debido a alteraciones en la proliferación y diferenciación celular. Como estos procesos son independientes de gonadotrofinas creemos que estradiol altera la expresión de neurotrofinas u otros factores de crecimiento que regulan de forma paracrina el desarrollo folicular temprano. Para confirmar esta hipótesis ratas Sprague Dawley se inyectaron con valerato de estradiol en las primeras 12h de vida. Luego, a las 24h, 48h y 60 días se eutanasiaron y los ovarios fueron extraídos para realizar extracción de ARNm, inmunohistoquímica o tinción con H-E. A las 24 hrs incrementó la expresión de *stat3* y a las 48h disminuyó la expresión de *tgfa*, *stat3* y *ncoa-1*. A los 60 días de vida disminuyó la expresión de *tgfa*, *stat3* y *ncoa-1*. Además, existe un aumento en la marca para PCNA (antígeno de proliferación nuclear) y menor número de folículos primarios a las 24h post EV. El incremento de los niveles de Stat3 se relaciona con una mayor proliferación de células que rodean a los nidos foliculares lo que concuerda con un retraso en el ensamblaje folicular. La disminución en la expresión de *tgfa*, *stat 3*, y *ncoa-1* se relaciona con la disminución en el desarrollo folicular que permanece hasta la vida adulta.

Financiado por: Fondecyt 1090036 (H.L.), Beca de apoyo a la realización de tesis doctoral N° 20491032 (G.C.)

## SESION 1

**NUEVOS EFECTOS DE LA REPROGRAMACIÓN FETAL EN OVINOS: ALTERACIONES HISTOLÓGICAS Y MOLECULARES DE APARICIÓN JUVENIL EN TESTÍCULOS DE MACHOS OVINOS EXPUESTOS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA** (New effects of fetal programming in sheep: Histologic and molecular alterations of juvenile onset in male sheep prenatally exposed to testosterone)

**Rojas-García PP<sup>1</sup>**, Recabarren MP<sup>1</sup>, Carrasco A<sup>1</sup>, Vorphal A<sup>1</sup>, Sandoval D<sup>1</sup>, Sir-Petermann T<sup>2</sup>, Recabarren SE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile, <sup>2</sup> Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Hemos demostrado en el modelo ovino adulto, que la exposición prenatal a testosterona (EPT) produce alteraciones testiculares como menor producción de semen, menor número de células germinales, aumento del número de células de Sertoli. A nivel molecular, aumento en la expresión del ARNm del receptor de FSH (FSHR) y mayor secreción de FSH estimulada. Indagamos si estas alteraciones comienzan en la prepubertad ovina (24 semanas de edad aprox.) estudiando la histología testicular y la expresión del ARNm de FSHR, AMH, y receptor de andrógenos. Estudiamos machos cuyas madres fueron tratadas 2 veces/semana con 30 mg de testosterona propionato entre días 30-90 de gestación y 40 mg entre 90-120 días de gestación (machos-T). Machos nacidos de madres no tratadas con T fueron control (machos-C). A las 24 semanas, el peso corporal de machos-T fue menor, lo mismo que el peso de los testículos. Los machos-T mostraron mayor número de células de Sertoli y menor cantidad de células germinales al igual que en la etapa adulta. La expresión del ARNm de FSHR fue similar entre grupos a diferencia del adulto. Sin embargo, la expresión de ARNm de AMH fue mayor en machos-T. Factores estrechamente ligados a la integridad de la barrera Sertoli-Sertoli, como la N-cadherina y la conexina 43, disminuyeron y aumentaron su expresión, respectivamente. La EPT produce alteraciones testiculares manifiestas ya en la pubertad ovina y con similar testosterona basal, lo que sugiere una reprogramación prenatal.

Financiado por proyecto Fondecyt 1090031.

## SESION 1

### **EXPOSICIÓN A CADMIO Y ÁCIDO FÓLICO DURANTE LA PREÑEZ Y SU EFECTO EN LA METILACIÓN Y EXPRESIÓN DE *HSD11B2* EN PLACENTA DE RATA** (Cadmium and folic acid exposure during pregnancy and it's effect on the methylation and expression of *HSD11B2* in placenta of rat)

**Peñailillo R**, Guajardo A, Llanos M, Ronco AM.

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

El cadmio y ácido fólico (AF), un metal tóxico y un nutriente respectivamente, ejercen acciones biológicas mediadas en parte, por reacciones de metilación del DNA, uno de los mecanismos epigenéticos involucrado en el desarrollo fetal. El objetivo de este trabajo fue estudiar si una exposición a ambos factores ambientales durante la gestación puede alterar la metilación y expresión del gen *HSD11B2* en placenta de rata. Una menor expresión de la 11 $\beta$ HSD2 placentaria aumenta la exposición fetal a glucocorticoides (GC) afectando el peso de nacimiento (PN) y favoreciendo el riesgo de contraer enfermedades crónicas a largo plazo. Ratas Wistar preñadas (n=24) fueron tratadas con cadmio y un suplemento dietario de AF (8 mg/Kg) vs sus controles respectivos sin cadmio y bajos niveles de AF (1 mg/Kg). Se determinó el crecimiento fetal y la metilación y expresión de la 11 $\beta$ HSD2 placentaria por clonación bacteriana y secuenciación génica y real time PCR respectivamente. Los resultados demuestran que la exposición a cadmio indujo un menor PN el que se mantuvo con el suplemento con AF. Esta disminución del PN se correlaciona con una menor expresión de la 11 $\beta$ HSD2 placentaria que a su vez está asociado con una mayor metilación de la isla CpG 2 del promotor del gen *HSD11B2* sólo en hembras. En conclusión, la exposición a cadmio y un exceso de AF durante la gestación aumentan la exposición fetal a GC a través de una disminución de la enzima 11 $\beta$ HSD2 placentaria lo que explicaría en parte el menor PN de las crías.

Financiado por FONDECYT # 1100168

## SESION 1

### **RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO EN UN MODELO DE RATÓN CON HIPERCOLESTEROLEMIA GESTACIONAL.** (Intrauterine growth restriction in a mouse model with gestational hypercholesterolemia)

**Mascareño L<sup>1</sup>**, Santander N<sup>1</sup>, Corthorn J<sup>2</sup>, Valdés G<sup>2</sup>, Rigotti A<sup>1,3</sup> y Busso D<sup>1</sup>.

Departamentos de <sup>1</sup>Nutrición, Diabetes y Metabolismo, <sup>2</sup>Nefrología y <sup>3</sup>Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La hipercolesterolemia gestacional genera susceptibilidad a enfermedades cardiovasculares y metabólicas en la descendencia. Para comprender los mecanismos y períodos críticos involucrados en esta programación fetal, utilizamos ratones deficientes en el receptor de LDL alimentados con dieta rica en colesterol por 15-25 días pre-concepción (E0) y ya sea durante toda la gestación (grupo hipercolesterolemia gestacional [GHG]) o entre los días E0-E5 (grupo hipercolesterolemia temprana [GHT]), y analizamos los niveles de colesterol plasmático materno y fetal, y el desarrollo fetal y placentario en E15 y E18 en comparación con los de hembras alimentadas con dieta control (grupo control [GC]). En el GHG, las madres presentaron acumulación de colesterol plasmático en lipoproteínas LDL y VLDL y placas ateroscleróticas en aortas, mientras que los fetos presentaron niveles de colesterol plasmático normales. En el GHT, los niveles plasmáticos de colesterol maternos se revirtieron a valores similares a los del GC. Los fetos desarrollados en hembras del GHG presentaron pesos significativamente menores a los de fetos del GC (E15:  $0,31 \pm 0,01$  g vs  $0,36 \pm 0,01$  g, E18:  $0,84 \pm 0,3$  g vs  $1,07 \pm 0,03$  g, para GHG vs GC respectivamente;  $n \geq 11$ ;  $p < 0,01$ ) mientras que las placentas no mostraron defectos en el peso ni en sus características morfológicas o histológicas. En el GHT, no se observó restricción de crecimiento intrauterino (RCIU). En conjunto, nuestros resultados indican que la exposición a hipercolesterolemia materna a lo largo de la gestación produce RCIU sin cambios estructurales en la placenta, y sugieren que la prevención en la gestación temprana de esta condición materna podría ser beneficiosa para la salud fetal.

Financiamiento: CONICYT Inserción Investigadores en Academia 79090028 y FONDECYT 11090064 (D.B.); FONDECYT 1110712 (A.R.); Concurso Ayudante-Alumno DI Escuela Medicina PUC 2012 (L.M.)

## SESION 1

### **XENOESTROGENS BISPHENOL-A (BPA) AND NONYLPHENOL (NP) INDUCE MALE GERM CELL APOPTOSIS THROUGH ACTIVATION OF ADAM17**

**Moreno RD**, Lagos-Cabré R

Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

There is increasing information recognizing that xenoestrogens like BPA or NP adversely affect male fertility by increasing germ cell apoptosis and disrupting spermatogenesis. We have previously shown that the extracellular metalloprotease ADAM17 promotes physiological germ cell apoptosis and those induced by DNA damage. The aims of this study was two fold 1) To elucidate whether the effect of NP is similar to BPA in germ cells and 2) The role of ADAM17 in the induction of apoptosis induced by BPA and NP. To this end, pubertal male rats (21 day old) were intraperitoneally injected with NP and BPA and then germ cell apoptosis was evaluated at different times after treatment. Results showed that a dosis of 50 mg/kg of BPA or NP (low dosis) significantly induced an increased in germ cell apoptosis evaluated by active caspase-3 activation and flow cytometry. Interestingly BPA induced an increase in caspase-3 positive in spermatocytes whereas NP in spermatogonia (stem cells). A pharmacological inhibitor of ADAM17, but not ADAM10, prevented the increased in germ cell apoptosis after BPA or NP treatment. Both xenoestrogens increased the surface localization of ADAM17, which was prevented by its pharmacological inhibitor only in the animals treated with BPA. Therefore, these results suggest that BPA and NP induce apoptosis in different cell types and probably activation of ADAM17 by different pathways. In addition these results pose ADAM17 as new player in the apoptosis induced by xenoestrogens in the male.

Financiamiento: FONDECYT 1110778

## SESION 1

### **EMBARAZOS OBTENIDOS TRAS LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN EL DÍA 5 DE DESARROLLO EN PAREJAS INFERTILES.** (Pregnancies achieved after embryo transfer on day 5 of development in infertile couples)

**Jeria F<sup>1</sup>**, Vantman D<sup>1,2,3</sup>, Miranda C<sup>2</sup>, Carvajal A<sup>2</sup>, Alba JF<sup>1</sup>, Cortínez A<sup>1,2</sup>, Carvajal R<sup>1,2</sup>, Ballesteros R<sup>1</sup>, Veis H<sup>3</sup>, Sepúlveda S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Medicina Reproductiva del Centro de Estudios Reproductivos.

<sup>2</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. <sup>3</sup> Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los avances en materia de medios de cultivo embrionario, realizados en los últimos años, han permitido extender el cultivo de embriones hasta el día 5 del desarrollo, lo que ha llevado a un cambio en la práctica de muchos laboratorios de reproducción asistida, desde la transferencia embrionaria en etapa de clivaje a la transferencia en etapa de blastocisto. Entre las principales ventajas de la transferencia embrionaria en el estadio de blastocisto, tenemos una mejor capacidad de selección de los embriones a ser transferidos a la paciente, permitiendo la obtención de mejores tasas de embarazo e implantación. En el presente trabajo, revisamos los resultados clínicos de 43 transferencias realizadas en el día 5 de desarrollo, en las cuales se transfirió al menos un blastocisto, desde el año 2010 hasta el primer semestre del año 2012, en el laboratorio de Reproducción Asistida del Centro de Estudios Reproductivos, con funcionamiento en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Las pacientes tuvieron un promedio de edad de 35,2 años, y el promedio de embriones transferidos fue de 1,95. La tasa global de embarazo clínico alcanzada fue de un 60,4% y la tasa global de implantación fue de un 33,3%. En las pacientes menores de 35 años, la tasas de embarazo e implantación fueron mayores, alcanzando un 77,8% y un 45,7%, respectivamente. Los resultados globales y por grupo etario, obtenidos después de transferencia embrionaria en día 5, superan aquellos obtenidos por las transferencias en etapa de clivaje, realizadas en el mismo período de tiempo.

Financiamiento: Laboratorio de Reproducción Asistida del Centro de Estudios Reproductivos, Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

## SESION 2

### ASOCIACIONES ENTRE LOS CROMOSOMAS SEXUALES Y LOS TRIVALENTES EN ESPERMATOCITOS DE *Mus domesticus* HETEROCIGOTOS ROBERTSONIANOS (Rbs). (Associations between sex chromosomes and trivalents in spermatocytes of *Mus domesticus* Robertsonian (RBs) heterozygotes)

Berríos S<sup>1</sup>, Ayarza E<sup>1</sup>, Manieu C<sup>1</sup>, González M<sup>1</sup>, Manterola M<sup>2</sup>, Page J.<sup>3</sup>, **Fernández-Donoso R<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Programa Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup> Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center. <sup>3</sup> Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid.

En los heterocigotos Rbs se produce la formación de trivalentes en los cuales participan dos cromosomas telocéntricos (ancestrales) y un neo-cromosoma metacéntrico (derivado). Los sectores heterólogos asinápticos de los trivalentes se sitúan en la periferia del núcleo de los espermatozoides, espacio en el cual compiten por apareamiento y se asocian entre sí o con el bivalente XY. Tales asociaciones, modifican la Arquitectura Nuclear, alteran el desarrollo de la meiosis e inducirían anomalías de segregación cromosómica, produciendo sub-fertilidad o esterilidad en los heterocigotos. En espermatozoides de heterocigotos de *Mus domesticus* 2n=32, con ocho trivalentes independientes, se investigó -en microesparcidos y "squash" de núcleos por medio de FISH e inmunocitoquímica- la organización sináptica del bivalente XY y sus asociaciones con los trivalentes durante la Iª profase meiótica, teniendo la meiosis de los homocigotos parentales -2n=40 y 2n=24- como controles. Los resultados obtenidos revelan la presencia de 1.- asociaciones por contigüidad o coalescencia de la cromatina de los sectores cromosómicos involucrados; 2.- la formación de Complejo Sinaptonémico entre el sector proximal del eje del cromosoma X del bivalente XY y los sectores asinápticos de los trivalentes; 3.- variadas anomalías de apareamiento entre los cromosomas sexuales; 4.- fenómenos todos coincidentes temporal y estructuralmente con la "inactivación meiótica de los cromosomas sexuales" (MSCI) y con el "silenciamiento meiótico de la cromatina asináptica" (MSUC). En este complejo escenario, se altera la organización del epitelio germinal y se reduce drásticamente el número de espermátidas resultantes por espermatozoides, las que se diferencian en espermatozoides aparentemente normales y viables.

Financiamiento: FONDECYT # 1120160

## SESION 2

### IMPAIRED FREQUENCIES OF SEMINIFEROUS TUBULES STAGES IN DIABETIC RAT: A POSSIBLE EXPLANATION FOR INFERTILITY IN DIABETES

**Aquirre-Arias MV**, Velarde V, Moreno RD.

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Diabetes mellitus is a metabolic disease that influences negatively male fertility in human and animal models. We propose that there is an impairment of spermatogenesis in diabetic males that leads to the production of fewer spermatozoa. In order to test this hypothesis we worked with adult Sprague Dawley rats from 180-200g where diabetes was induced after two months of a single dose of STZ (45mg/kg). Then, testes were fixed in Bouin's solution, embedded in paraffin. Frequencies of stages were characterized using 5-8 $\mu$ m sections stained with Periodic Acid – Schiff Haematoxylin. Results showed that in nondiabetic rats the frequencies of the different stages of spermatogenesis were: I-IV (15,4%), V-VI (30,8%), VII-VIII (23%), IX-XII (19,2%), XIII-XIV (11,6%); meanwhile, frequencies of stages of seminiferous cycle in diabetic rat were: I-IV (15%), V-VI (15%), VII-VIII (2%), IX-XI (5%), and XII-XIV (1%). In addition, many tubules (about 60%) showed a great degree of apoptosis and germ cell sloughing. In particular, apoptotic index and vacuoles in diabetic rats were significantly increased compared to controls ( $2.07\pm 0.7$  vs  $0.09\pm 0.04$ ,  $p<0.05$ ;  $n=3$ ) and ( $10\%\pm 0,8$  vs  $7.5\%\pm 0.5$   $p<0.05$ ;  $n=3$ ) respectively. Tubules diameter in diabetic rats were decreased ( $395\pm 3.9\mu\text{m}$  vs  $436.9\pm 4,5\mu\text{m}$   $p<0,001$ ;  $n=4$ ) as much as epithelium thickness ( $48.3\pm 5.2\mu\text{m}$  vs  $68,0\pm 6,5\mu\text{m}$   $p<0.02$ ,  $n=3$ ). Also, desquamation of germ cells was more frequent in diabetic rats (8%) than in healthy rats (4.5%). Our results suggest a severe impairment of spermatogenesis in diabetic rats, which could account for the decreased fertility observed in this pathology.

Supported by Fondecyt 1110778 and FONDEF D0711086

## SESION 2

**LA APERTURA DE LARGA DURACIÓN DEL PORO DE TRANSICIÓN DE PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL (PTPm) SE ASOCIA CON PERMEABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL EXTERNA (MME) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.** (The long term opening of mitochondrial permeability transition pore is associated with permeabilization of the outer mitochondrial membrane in human sperm).

**Treulen F**<sup>1,2</sup>, Villegas J<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Programa Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, <sup>2</sup>Centro de Excelencia de Biotecnología de Reproducción-BIOREN, <sup>3</sup>Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

En células somáticas, el PTPm es un importante regulador de la mitocondria durante la muerte celular y su apertura sostenida produce alteración del potencial de membrana ( $\Delta\Psi_m$ ), edema de la matriz y subsecuente ruptura de la MME. La permeabilización de la MME conduce a la liberación inespecífica de proteínas desde el espacio intermembrana al citosol, lo que se asocia con activación de cascadas proteolíticas y fragmentación del DNA. Los espermatozoides de hombres infértiles presentan altos índices de fragmentación del DNA, sin embargo, se desconoce si este proceso se relaciona con la apertura del PTPm y con la apertura de la MME. El objetivo de este trabajo fue evaluar si espermatozoides humanos sometidos a condiciones de apertura del PTPm, experimentan permeabilización de la MME. Para esto, espermatozoides de donantes con espermiograma normal fueron tratados con ionomicina durante 4 horas a 37°C. Para evaluar la apertura sostenida del PTPm se analizó el  $\Delta\Psi_m$  con el reactivo fluorescente JC-1 por citometría de flujo y para evaluar la permeabilización de la MME se analizó la relocalización de citocromo c con Calbiochem® innocyte™ Flow cytometric cytochrome C release kit mediante microscopía láser confocal. Los espermatozoides tratados con ionomicina evidenciaron alteración del  $\Delta\Psi_m$  demostrando una apertura de larga duración del PTPm. Esto se acompañó de la relocalización de citocromo c evidenciando la permeabilización de la MME. Se concluye que la apertura del PTPm de larga duración se asocia con permeabilización de la MME en los espermatozoides humanos, similar a lo observado en células somáticas. Será de interés determinar si este fenómeno se relaciona además con la fragmentación del DNA espermático.

Financiado por proyecto DI12-102, dirección de investigación, Universidad de la Frontera.

## SESION 2

### **PARTICIPACIÓN DE ADENILIL CICLASA DE MEMBRANA (mAC) Y PKA, EN LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR FIBRONECTINA (Fn) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.** (Participation of adenylyl cyclase membrane and PKA in the acrosome reaction induced by fibronectina in human sperm)

**Pérez B**, Morales P y Díaz ES.

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

Previamente, demostramos que Fn, a través de la integrina  $\alpha 5\beta 1$ , es capaz de inducir la RA de forma dosis dependiente, siendo el proteasoma espermático el mediador de este efecto. Considerando que las integrinas son capaces de activar diversas vías de señalización, observamos que Fn induce aumento en la concentración de AMPc, por lo que el objetivo de este trabajo es determinar el mecanismo por el cual Fn induce RA a través del sistema AMPc-PKA.

Para ello, alícuotas de espermatozoides móviles, seleccionados a través de un gradiente de Percoll, fueron capacitados durante 18 hr. En los últimos 45 min fueron incubados en presencia o ausencia de diferentes inhibidores: 50 nM KT5720 (PKA), 100  $\mu$ M 2',5'-dideoxyadenosina (mAC), 50  $\mu$ M KH7 (adenilil ciclase soluble, SACY) y 10  $\mu$ M Herbamicina (Tyr-quinasas no receptoras). Luego de 30 min se agregó Fn (100  $\mu$ g/ml) y se determinó: a) el porcentaje de RA (PSA-FITC/Hoechst 33258); b) Actividad de PKA (Kit comercial); b) grado de fosforilación de proteínas en residuos tirosina y treonina (Western-blot); y c) la actividad tipo quimotripsina del proteasoma (fluorometría). Otra forma de evaluar la participación de SACY fue: en los últimos 40 min los espermatozoides fueron cambiados de medio Tyroides tradicional a un Medio sin bicarbonato.

Los resultados indican que el efecto inductor de Fn sobre la RA es mediado por el sistema mAC/AMPc/PKA y no por el sistema SACY/AMPc/PKA. Estos efectos se aprecian de igual forma en el patrón de fosforilación de proteínas a nivel de residuos tirosina, treonina y median la activación y fosforilación del proteasoma espermático.

Financiamiento: CODEI 2010, FONDECYT 11070051 (E.S.D.), FONDECYT: 1120056 (P.M) BP: Becario Doctorado CONICYT

## SESION 2

### **EFFECTO DE PEROXINITRITO SOBRE TIOLES Y SU ASOCIACIÓN CON LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA.** (Effect of peroxinitrite on thiols and its association with sperm motility)

Cabrillana ME<sup>4</sup>, **Uribe P**<sup>1,2</sup>, Fornés MW<sup>4</sup>, Alvarez J<sup>5</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Villegas, J<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), <sup>2</sup>Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada <sup>3</sup>Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco-Chile. <sup>4</sup>Laboratorio de Investigaciones Andrológicas, Instituto de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Consejo de Investigación de Universidad del Aconcagua (CIUDA), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad del Aconcagua, Mendoza-Argentina. <sup>5</sup>Androgen, La Coruña, España.

El anión peroxinitrito es un oxidante altamente reactivo producido por la reacción entre óxido nítrico y anión superóxido. Espermatozoides de pacientes astenozoospermicos poseen altos niveles de 3-nitrotirosina, un marcador específico de daño por peroxinitrito. Asimismo, cuando se bloquean tioles disponibles en espermatozoides móviles progresivos, éstos rápidamente pierden la capacidad de desplazarse, permaneciendo móviles *in situ*. Actualmente se desconoce si la oxidación de tioles por peroxinitrito contribuye a la disminución de la movilidad espermática. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de peroxinitrito sobre los tioles y su asociación con la movilidad espermática. Para ello espermatozoides de donantes con espermiograma normal fueron expuestos a 3-morpholinosydnimine (SIN-1), molécula generadora de peroxinitrito. Luego de la incubación con SIN-1 se evaluó la movilidad mediante sistema ISAS<sup>®</sup> y utilizando microscopía láser confocal se confirmó la producción de peroxinitrito con dihidrorodamina 123 y se determinó el estado de los tioles totales con monobromobimane (agente fluorescente que detecta sulfhidrilos sólo en estado reducido). Los resultados obtenidos muestran que la exposición a SIN-1 redujo la movilidad progresiva de manera dependiente de la concentración y el tiempo. También, se observó una disminución en la afinidad por monobromobimane a medida que aumentó la concentración y el tiempo de exposición a peroxinitrito. En conclusión, la exposición a peroxinitrito ocasiona disminución de la movilidad y aumento de la oxidación de tioles. Esto último podría ser una de las causas de disminución de la movilidad de espermatozoides humanos.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 110449. CIUDA-Universidad del Aconcagua.

## SESION 2

### **EFFECTO DE HIDROXIESTRADIOLES Y METOXIESTRADIOLES SOBRE LA VIABILIDAD DE CELULAS DE SERTOLI EN CULTIVO** (Effects of Hydroxyestradiols and Methoxyestradiols on viability of cultured Sertoli cells)

**Molina C**, Vargas C, Tapia-Pizarro A, Castro A, Parada-Bustamante A.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile

El estradiol ( $E_2$ ) es producido normalmente en el testículo de mamíferos.  $E_2$  puede ser metabolizado a 2-hidroxiestradiol ( $2OHE_2$ ) o 4-hidroxiestradiol ( $4OHE_2$ ) y luego a 2-metoxiestradiol ( $2ME_2$ ) y 4-metoxiestradiol ( $4ME_2$ ). Se ha demostrado que un aumento en los niveles locales de algunos de estos metabolitos tiene efectos deletéreos en distintos sistemas biológicos. Recientemente determinamos que las enzimas que generan estos metabolitos se expresan en el testículo humano; sin embargo, el efecto directo que ejercen sobre las células somáticas testiculares no ha sido explorado.

En este trabajo evaluamos el efecto de  $2OHE_2$ ,  $4OHE_2$ ,  $2ME_2$  y  $4ME_2$  sobre la viabilidad de células de Sertoli en cultivo. Para esto, células TM4 (generadas de células de Sertoli de ratón) se incubaron con distintas concentraciones de estos metabolitos de  $E_2$  ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) y 24 horas después se evaluó su viabilidad a través del ensayo de MTS.

Sólo  $2OHE_2$  y  $2ME_2$  disminuyeron significativamente la viabilidad celular a altas concentraciones ( $10^{-5}$  M). Este efecto no fue bloqueado por un antagonista del receptor de estrógeno (RE), mientras que el antioxidante N-AcetilCisteína sólo revirtió el efecto de  $2OHE_2$ .

Concluimos que  $2OHE_2$  y  $2ME_2$  a altas concentraciones disminuyen la viabilidad de las células TM4 a través de un mecanismo independiente de RE, mientras que un aumento de especies reactivas de oxígeno mediaría el efecto de  $2OHE_2$ , pero no de  $2ME_2$ . Postulamos que un aumento de los niveles de  $2OHE_2$  o  $2ME_2$  a nivel testicular podría alterar la fertilidad masculina, afectando al menos a las células de Sertoli.

Financiamiento: FONDECYT Iniciación 11110457 (A.P.B), FONDECYT regular 1120176 (A.C)

### SESION 3

#### **CONCENTRACIÓN SÉRICA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF) EN HIJAS PUBERALES DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP).** (Serum concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF) in daughters of women with polycystic ovary syndrome (PCOS))

Abramovich D<sup>1</sup>, **Echiburú B**<sup>2</sup>, Ladrón de Guevara A, Pereira C, Crisosto N, Tesone M<sup>1</sup> y Sir Petermann T<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

El VEGF, es una proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis y angiogénesis. Se la ha relacionado con la regulación de la angiogénesis del ovario y del tejido graso. Además, en mujeres adultas con SOP se han descrito altas concentraciones de este factor. No obstante, no existen estudios en etapas más tempranas del desarrollo sexual. Nuestro objetivo fue determinar la concentración sérica de VEGF en niñas puberales, hijas de mujeres controles (HC) y con SOP (HSOP). Se evaluaron 30 HC y 47 HSOP distribuidas entre las etapas II a IV de Tanner. Se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral, con determinación sérica de glucosa e insulina. En la muestra basal se midieron: gonadotrofinas, andrógenos, lípidos, hormona anti-Mülleriana (AMH) y VEGF. Además se evaluó el volumen ovárico mediante ecotomografía. Los resultados muestran que las HSOP y HC fueron comparables en edad y peso corporal en cada estadio. Pudimos observar que la concentración de VEGF está aumentada en las HSOP en comparación a las HC en todos los estadios de Tanner. Lo cual es concordante con una mayor concentración de AMH y una tendencia a un mayor volumen ovárico. No encontramos asociación de VEGF con los otros parámetros estudiados. Este estudio preliminar demuestra que el VEGF está aumentado durante desarrollo puberal y muestra un paralelismo con el aumento de la AMH y del volumen ovárico. Faltan futuros estudios para profundizar en el papel de este factor en la fisiología del SOP.

Financiamiento: FONDECYT 1071007 y 1110864, UBACyT 2012-2012 - 20020090300061

### SESION 3

#### **EFFECTO DE 2-METOXIESTRADIOL (2-ME) SOBRE LA ANGIOGENESIS DE CÉLULAS DE LA GRANULOSA HUMANAS LUTEINIZADAS ESTIMULADAS CON LH Y HCG.** (2-methoxyestradiol effect on angiogenic potential of luteinized human granulosa cells stimulated by LH and HCG)

**Henríquez S**, Kohen P, Rojas C, Castro O, Godoy A, Devoto L.

Laboratorio de Endocrinología Clínico-Molecular de la Reproducción, Instituto de Investigación Materno Infantil (IDIMI), Universidad de Chile, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico San Borja-Arriaran.

El 2-metoxiestradiol (2-ME) es un metabolito del estradiol, con efectos antiproliferativos, pro-apoptóticos y antiangiogénicos. La angiogénesis es un proceso fundamental en la formación y función del cuerpo lúteo (CL), sin embargo las vías de señalización intracelular involucradas, no han sido bien establecidas. Resultados de nuestro laboratorio muestran niveles aumentados de 2-ME en tejido humano de CL tardío, pero se desconoce su participación sobre la angiogénesis lútea. Nuestro objetivo es determinar el efecto de 2-ME sobre las vías de señalización activadas por LH y hCG en el proceso de angiogénesis de células de granulosa luteinizadas (CG).

Las CG luteinizadas provienen de pacientes participantes del programa de fertilización *in vitro* debido a factor masculino (n=20). Las células fueron mantenidas en cultivo, deprivadas y luego estimuladas por 24 horas con LH recombinante 10 U/mL, hCG 10 U/mL y 2-methoxyestradiol 0,05 uM, en ausencia y presencia de inhibidores específicos de las vías PKA, PI3K, ERK1/2, PKC. Se realizó, ensayos de angiogénesis *in vitro* y determinación de los niveles de VEGF por ELISA en los medios condicionados y se analizó por western blot las vías de señalización involucradas en el proceso angiogénico.

Se determinó vías de señalización LH y HCG dependientes que participan en la angiogénesis lútea. El potencial angiogénico aumentado por LH en las CG es reducido por 2-ME, a través de la inhibición de la fosforilación de PI3K y ERK1/2, sin embargo no se inhibió el potencial angiogénico estimulado por hCG. Nuestros resultados apoyan la participación de 2-ME en la regresión fisiológica del cuerpo lúteo, inhibiendo la acción de LH pero no de hCG.

Financiamiento: Programa Fogarty RFA TW 05-002, Proyecto FONDAP 15010006

### SESION 3

#### **LA ANGIOGÉNESIS EN EL SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA (OHSS): ROL DE LA ANGIOPOYETINA-1 EN LA INTEGRIDAD VASCULAR.** (Angiogenesis in Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS): Role of angiopoietin-1 in vascular integrity)

**Scotti L**<sup>1</sup>, Abramovich D<sup>1</sup>, Haro Durand L<sup>1</sup>, Pascuali N<sup>1</sup>, Kopcow, L<sup>2</sup>, Horton M<sup>2</sup>, de Zúñiga I<sup>2</sup>, Tesone M<sup>1</sup> y Parborell F<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>PREGNA Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina

OHSS es una complicación iatrogénica en tratamientos de infertilidad. Se caracteriza por una angiogénesis alterada, una alta permeabilidad vascular y niveles elevados de VEGF en suero y fluido folicular (FF). Junto al VEGF, participan otros sistemas como el de angiopoyetinas (ANGPTs) en el desarrollo de la vasculatura. Previamente, demostramos un aumento en los niveles de ANGPT1 en FF de pacientes con OHSS. En base a esto, se analizó el efecto que produce inhibir ANGPT1 en FF de pacientes normales y con OHSS sobre la migración celular, la expresión de claudina-5 y  $\beta$ -catenina en una línea de células endoteliales (EA.hy926). Además, se evaluó el efecto de estos FF sobre un modelo de angiogénesis in vivo (membrana corioalantoidea de embrión de codorniz, CAM). La migración en presencia de FF de OHSS fue mayor comparada a FF controles ( $p < 0,001$ ). El bloqueo de ANGPT1 en FF de OHSS disminuyó este parámetro ( $p < 0,05$ ). Se observó un aumento de claudina-5 (proteína de uniones estrechas) y una disminución de  $\beta$ -catenina endotelial en los cultivos incubados con FF de OHSS ( $p < 0,001$ ). La inhibición de ANGPT1 revirtió estos efectos ( $p < 0,01$ ). Los FF de OHSS causan un aumento en las ramificaciones y el calibre vascular, analizado mediante el ensayo de CAM. La inhibición de ANGPT1 lo revirtió. Estos resultados se correlacionan con la expresión de la integrina  $\alpha v \beta 3$  en CAM.

Sugerimos que la inhibición de ANGPT1 en los FF de pacientes con OHSS afecta la angiogénesis y disminuye la permeabilidad vascular a través de proteínas claves de uniones intercelulares endoteliales.

Financiamiento proveniente de ANPCyT (PICT 2008/747) y Fundación Roemmers.

### SESION 3

**SIMPATECTOMÍA DE RATAS INFANTILES MEDIANTE GUANETIDINA Y SU EFECTO EN LA RESERVA FOLICULAR Y LA APARICIÓN DE QUISTES EN LA ETAPA DE SUBFERTILIDAD.** (Guanethidine-induced sympathectomy to infantile rats and its effect on follicular development and the appearance of cysts during subfertility stage)

**Garrido MP**, Lara HE y Paredes A

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

La creciente inserción laboral y el desarrollo profesional de la mujer han llevado a postergar la maternidad hasta edades más tardías, cuando la fertilidad disminuye y se establece el periodo de subfertilidad. Los mecanismos que regulan la función ovárica en este periodo son aún desconocidos. El sistema nervioso simpático (SNS) regula la función del ovario, promueve el desarrollo folicular y la esteroidogénesis. El tono simpático en ovario de rata aumenta espontáneamente al final del periodo reproductivo, produciendo la aparición de estructuras quísticas y estableciendo el cese de la función ovárica. Con el objetivo de determinar el rol del SNS en el desarrollo folicular y evitar la formación de quistes durante el periodo de subfertilidad, se desnervaron ratas infantiles con guanetidina y se observó el efecto en la etapa de subfertilidad (8 y 10 meses de edad) comparado con los controles de 6 meses de edad. Los resultados mostraron que la simpatectomía produjo un retraso en la llegada de la pubertad de las ratas, un aumento del contenido de NE adrenal y una disminución en el contenido de ARNm de TH y nNOS en el ganglio celiaco. Además, afectó la funcionalidad ovárica ya que aumentó el número de quistes pequeños en ratas de 10 meses de edad. Esta alteración en el desarrollo folicular se acompañó de una disminución en la respuesta secretora del ovario inducida por hCG e isoprotteronol a medida que la rata envejece. Contrario a lo esperado, el contenido de NE intraovárica se recupera, sugiriendo un mecanismo de adaptación a la simpatectomía. En conclusión, la simpatectomía prolongada acelera la pérdida de folículos antrales saludables y de la función secretora, y favorece la formación de estructuras quísticas, indicando un deterioro de la función ovárica en el periodo de subfertilidad.

Financiamiento: FONDECYT 1120147

### SESION 3

#### COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE MEDICIÓN CUANTITATIVA DE PROGESTERONA SÉRICA (P<sub>4</sub>) Y SU RELACIÓN CON UN MÉTODO SEMICUANTITATIVO EN EL SEGUIMIENTO DEL CICLO DE LA PERRA

(Comparison of quantitative measurement test for serum Progesterone (P<sub>4</sub>) and its relationship with a semiquantitative method for canine oestrus cycle evaluation)

**Villarroel A<sup>1</sup>**, Robles N<sup>2</sup>, De los Reyes M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Escuela de Ciencias Veterinarias, Universidad Viña del Mar.

Una característica del ciclo estral canino es la luteinización preovulatoria de los folículos, pudiendo relacionar los niveles de P<sub>4</sub> con el ciclo y la ovulación. El objetivo fue evaluar P<sub>4</sub> mediante dos métodos cuantitativos: Radioinmunoensayo (RIA), Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima (ELISA), y su relación con un método ELISA semicuantitativo comercial: Ovulation Test® (OT). Se obtuvieron muestras de suero a perras adultas (n=5) clínicamente sanas. Se realizó un seguimiento del ciclo a cada una, comenzando aproximadamente el día 5 hasta el día 16 del inicio del proestro. De 38 muestras evaluadas por OT, se mostraron concentraciones de P<sub>4</sub> <0,1 ng/mL al inicio del seguimiento, hasta niveles máximos de detección, >8 ng/mL aproximadamente al día 11 del seguimiento. Con RIA, 27 muestras tuvieron desde un mínimo de 0,8 ng/mL en la perra 3 y un máximo de 35,4 ng/mL en la perra 1, en los días 3 y 13 del seguimiento, respectivamente. ELISA, con 17 muestras detectó niveles superiores de P<sub>4</sub> a través del ciclo reproductivo. Se obtuvieron diferencias (p<0,05) en valores de P<sub>4</sub> entre RIA y ELISA evaluados en las mismas muestras con una mayor relación de RIA con OT. El OT es un método rápido de medición de la P<sub>4</sub>, sin embargo sólo otorga rangos y no permite medir valores >8 ng/ml. Es importante contar con un método cuantitativo que permita medir con precisión y rapidez los niveles de P<sub>4</sub> sérica para realizar un adecuado seguimiento del ciclo estral.

Financiamiento proyecto FONDECYT 1110265

### SESION 3

**GALECTINA-1 PROMUEVE LA VASCULARIZACIÓN DE LAS LESIONES ENDOMETRIÓICAS EN UN MODELO EXPERIMENTAL MURINO.** (Galectin-1 promotes vascular development of endometriotic-like lesions in a mouse model of endometriosis)

**Bastón JI<sup>1</sup>**, Barañao RI<sup>1</sup>, Ricci A<sup>1</sup>, Bilotas M<sup>1</sup>, Olivares C<sup>1</sup>, Croci D<sup>2</sup>, Rabinovich GA<sup>2</sup>, Meresman G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción y <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunopatología, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

La endometriosis se caracteriza por la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina, y la vascularización es un proceso vital para desarrollo de las lesiones ectópicas. Galectina-1 (Gal-1) se une al disacárido N-acetil-lactosamina dispuesto en las glicoproteínas de la superficie celular, y desempeña un rol esencial como factor inmunoregulatorio y proangiogénico en el desarrollo tumoral. En vista de que no se ha reportado aún la participación de Gal-1 en la fisiopatología de la endometriosis, nos planteamos como objetivo estudiar el rol de Gal-1 en la vascularización de las lesiones. Se indujeron lesiones endometrióticas trasplantando tejido endometrial autólogo o heterólogo a ratones hembras C57BL/6 wild-type y knock-out para Gal-1 (*Lgals1<sup>-/-</sup>*). También se inyectó vía i.p. un anticuerpo bloqueante de Gal-1 a un grupo de ratones wild-type con endometriosis. Luego de cuatro semanas se determinó el número y volumen de las lesiones desarrolladas, los niveles de vascularización por inmunohistoquímica para el factor de Von Willebrand (vWF), y la expresión del receptor-2 del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR-2) por inmunohistoquímica. Se observó una reducción significativa del tamaño de las lesiones en los ratones *Lgals1<sup>-/-</sup>* tanto en el modelo autólogo como heterólogo, y en los tratados con el anticuerpo bloqueante. Asimismo, el área vascular relativa y número de vasos inmunomarcados para vWF fue significativamente menor en las lesiones de ratones *Lgals1<sup>-/-</sup>*, pero no se observaron cambios en la expresión de VEGFR-2. Estos resultados sugieren que Gal-1 juega un rol crucial en el crecimiento de las lesiones endometrióticas promoviendo su vascularización.

Financiamiento: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica -ANPCYT- (PICT 2007- 01632) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - CONICET- (PIP 2009-2011 N° 1223), Argentina.

# ***POSTERS***

## Poster 1

**EFFECTO DEL MÉTODO DE PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES (ICSI vs. FIV) SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO, CALIDAD Y EXPRESIÓN GÉNICA EN LA ESPECIE BOVINA** (Effect of the *in vitro* embryo production method (ICSI vs. IVF) on the embryonic development, quality and gene expression in the bovine specie)

**Arias ME**<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>1</sup> y Felmer R<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. \*[rfelmer@ufro.cl](mailto:rfelmer@ufro.cl)

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) evita muchos de los pasos presentes en la fecundación *in vivo* e *in vitro*, incluyendo la reacción acrosómica, unión del espermatozoide a la zona pelúcida, penetración y fusión con la membrana plasmática del ovocito, y activación del ovocito. El objetivo del presente estudio fue examinar el efecto de la fecundación mediante ICSI y fecundación *in vitro* (FIV) convencional sobre el desarrollo, calidad y expresión génica de embriones bovinos. Las tasas de desarrollo embrionario a las 72 horas mostró diferencias ( $p < 0,05$ ) entre ambas técnicas (65 y 90% para ICSI y FIV, respectivamente), al igual que la tasa de formación de blastocitos (22 y 31%, respectivamente). Sin embargo, la calidad embrionaria medida por el número total de células, MCI y TE no mostró diferencias entre ambas técnicas. Un análisis de expresión génica de 19 genes relacionados con la calidad embrionaria mostró que los embriones generados mediante ICSI poseen una elevada expresión de CAT, SOD2, BAX, OCT4, IFN $\gamma$  y HDAC3, y una baja expresión de IGF2, en relación a los embriones producidos por FIV. En conclusión, en bovinos la técnica ICSI es menos eficiente en términos del potencial de desarrollo y formación de blastocistos que la técnica de FIV y aunque la calidad de los embriones medida por el número de células es similar, el procedimiento ICSI afecta la expresión de genes relevantes en el desarrollo embrionario lo que explicaría el menor potencial de desarrollo de estos embriones.

Financiamiento: FONDECYT 1100449. CONICYT, Chile.

## Póster 2

**DESARROLLO *IN VITRO* DE EMBRIONES BOVINOS GENERADOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI), ACTIVADOS POR DISTINTOS TRATAMIENTOS DE ACTIVACIÓN QUÍMICA** (*In vitro* development of bovine embryos generated by intracytoplasmic sperm injection (ICSI), activated by different chemical activation treatments)

**Arias ME**<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Pérez L<sup>1</sup>, Vargas T<sup>1</sup> y Felmer R<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. \*[rfelmer@ufro.cl](mailto:rfelmer@ufro.cl)

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se ha utilizado con éxito en distintas especies animales, sin embargo su eficiencia está lejos de ser óptima, particularmente en bovinos. Una de las etapas claves de esta técnica es la activación del ovocito, proceso que se realiza mediante el tratamiento con agentes químicos o físicos y que en forma natural lo realiza el espermatozoide al momento de la fecundación. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de 4 compuestos químicos 6-dimetilaminopurina (DMAP), cicloheximida (CHX), etanol (ETOH) y un inhibidor de la síntesis de proteínas (ISP) sobre el desarrollo y calidad de embriones bovinos generados por ICSI. Los resultados preliminares de un total de 320 ovocitos inyectados con espermatozoides, mostraron que la tasa de desarrollo a las 72 horas fue superior ( $p < 0,05$ ) cuando se empleó DMAP, CHX e ISP (65, 65 y 66%, respectivamente), en relación a ETOH (31%). De igual forma, la tasa de generación de blastocistos a las 192 horas fue superior con DMAP, CHX e ISP (22, 22 y 20%, respectivamente), en relación a ETOH (0%). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la calidad embrionaria medida por el número total de células, MCI y TE. En conclusión, se determinaron 3 tratamientos de activación de ovocitos bovinos que permiten generar una alta tasa de desarrollo y calidad de embriones generados por ICSI. El estudio del efecto de estos compuestos químicos sobre la ploidía de los embriones permitirá mejorar su potencial de desarrollo post-implantación.

Financiamiento: FONDECYT 1120241. CONICYT, Chile.

### Póster 3

#### **EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD Y CALIDAD EMBRIONARIA DESPUÉS DE LA BIPARTICIÓN DE BLASTOCISTOS BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*** (Assessment of viability and quality after splitting of bovine blastocysts produced *in vitro*)

Velásquez AE, Castro FO and **Rodríguez-Alvarez LI**

Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Ciencias Veterinarias,  
Universidad de Concepción. e-mail: [lrodriguez@udec.cl](mailto:lrodriguez@udec.cl)

Los métodos de producción *in vitro* de embriones provocan cambios morfológicos y moleculares que afectan su calidad y capacidad de desarrollo a término. Existen sistemas que permiten la selección de embriones de mejor calidad siendo el morfológico el único no invasivo. Sin embargo, embriones morfológicamente normales presentan patrones de expresión génica desregulados como consecuencia del método de producción *in vitro*. El objetivo de este trabajo fue establecer un sistema que permita la selección de blastocistos bovinos con patrones de expresión génica compatibles con el desarrollo normal *in vivo*. Para ello se bipartieron manualmente blastocistos producidos por fecundación *in vitro*. Una mitad fue utilizada para la evaluación pre-implantatoria molecular de la calidad embrionaria mientras que la segunda podrá ser transferida a una hembra receptora sin deterioro de su capacidad de desarrollo. Inicialmente se determinó la capacidad de sobrevivencia de ambas mitades después de la bipartición y se correlacionó con la calidad morfológica y el estado de desarrollo original de los embriones. Adicionalmente se determinó la calidad y semejanza de ambas mitades mediante características morfológicas como re-expansión, número total de células (NTC) y homogeneidad en la expresión génica. Los resultados muestran que los embriones grado I eclosionados al Día-8 tienen el mayor porcentaje de sobrevivencia. El NTC y la expresión de OCT4, SOX2, NANOG, CDX2, ACTB y GAPDH fue similar en ambas mitades ( $P < 0,05$ ). Estos resultados demuestran que es posible generar embriones bipartidos con características similares, permitiendo el estudio pre-implantatorio de embriones bovinos sin comprometer la continuidad del desarrollo de este embrión.

Financiamiento: FONDECYT de iniciación No. 11100082 del Ministerio de Educación de Chile

#### Póster 4

### MELATONINA EN LA FECUNDACIÓN *IN VITRO*: EFECTO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y LA FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA EN BOVINOS (Melatonin in *in vitro* fertilization: effect on embryo development and sperm function in cattle)

**Cheuquemán C<sup>1</sup>**, Arias M<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>2</sup>, Felmer R<sup>3</sup>, Sánchez R<sup>4</sup>

Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-UFRO)<sup>1</sup>, Departamento de ciencias básicas<sup>2</sup>, Departamento de ciencias agronómicas y recursos naturales<sup>3</sup>. Departamento de ciencias preclínicas<sup>4</sup>, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. E-mail:rsanchez@ufro.cl

Melatonina es una neurohormona con acción antioxidante y de posible efecto protector del desarrollo embrionario al disminuir el estrés oxidativo que se genera durante los procedimientos de asistencia reproductiva en mamíferos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de melatonina en la IVF y sobre la funcionalidad espermática en bovinos. Se realizaron las IVF control y con melatonina 0.01µM, 0.1µM y 1µM (n=6). Los embriones fueron cultivados, evaluando la división a las 72 horas y el porcentaje de blastocistos al día 7. Se incubaron los espermatozoides por 18-22 horas, control (C) y con melatonina 0.01µM, 0.1µM y 1µM. Posteriormente se analizó mediante citometría de flujo la integridad de la membrana plasmática (SYRB-14/PI), integridad del acrosoma (PSA-FITC/PI), potencial de membrana mitocondrial (Rodamina 123/PI) y las especies reactivas de oxígeno (ROS) (CH<sub>2</sub>DFFDA/PI). No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de división embrionaria (C: 76,9%; 0.01µM: 74%; 0,1µM:68%; 1µM:77%), ni en el desarrollo de los blastocistos (C: 24,2%; 0.01µM: 22,6%; 0,1µM:17,1%; 1µM:17,1%). La funcionalidad espermática disminuye significativamente luego de las 18 horas de incubación y no hay diferencias entre tratamientos: vivos con membrana intacta (C0:72,2%; C18:18,1%; 0.01µM:18,4%; 0,1µM:20,4%; 1µM:18,7%), vivos con acrosoma intacto (C0:38,3%; C18:17,3%; 0.01µM:16,3%; 0,1µM:15,4%; 1µM:14,2%), vivos con alto potencial de membrana mitocondrial (C0:77,1%; C18: 23,7%; 0.01µM:27,9%; 0,1µM:24,4%; 1µM:26,8%). El porcentaje de ROS en espermatozoides vivos en C0 es significativamente mayor que C18 y 0.01µM (1,4% vs. 0.46%; 0.48%), y en los espermatozoides muertos el % de ROS es significativamente menor en C0 que en C18 y 1µM (0,16% vs. 1,1%; 1,3%). Melatonina en las concentraciones evaluadas, no tiene efecto sobre la división embrionaria ni sobre el porcentaje de blastocistos ni sobre la funcionalidad espermática. Sin embargo, modula las especies reactivas de oxígeno en los espermatozoides bovinos.

Financiamiento: FONDECYT1100449. CCH: Becaria Doctorado Nacional CONICYT.

## Póster 5

### **EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN LA APARICIÓN DE PIGMENTOS PROTECTORES EN EL ENCÉFALO DE *Xenopus laevis*** (Effect of ultraviolet radiation on the emergence of protective pigments on the brain of *Xenopus laevis*)

**Pedemonte C**<sup>1</sup>, Díaz Murillo H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Playa Ancha, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, UPLA. <sup>2</sup> Depto. de Biología y Cs. Ambientales, Fac. de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Valparaíso-Chile

Como es sabido, la pigmentación se desarrolla con el fin de proteger al organismo de condiciones estresantes, tales como cambios de osmolaridad y de temperatura, además de actuar como pantalla protectora ante los rayos ultravioleta (UV). Se ha observado que ciertos anfibios han desarrollado pigmentación en su encéfalo como una posible protección ante el aumento de la UV, causado por el daño atmosférico, alterando así al ecosistema. El presente trabajo pretendió establecer si existe una relación entre el incremento de la UV y del desarrollo del pigmento protector presente en el encéfalo de individuos de la especie *Xenopus laevis* durante su desarrollo en el agua. Para ello, se recolectaron individuos de diferentes estados larvarios, los que fueron obtenidos de distintas localidades de la región de Valparaíso (V región), para ser procesados con las técnicas histológicas H-E y Lillie. Los análisis evidenciaron que la pigmentación correspondería a eumelanina, la cual se encontraría en la membrana que recubre el encéfalo denominada leptomeninge, la cual estaría actuando como un filtro protector para evitar daños en el desarrollo de estos anuros, ya que su encéfalo es una estructura que se encuentra expuesta directamente a los rayos solares. En suma, estos efectos deletéreos podrían estar estimulando la producción de eumelanina en la leptomeninge, para proteger a los individuos de posibles alteraciones teratogénicas y/o mutagénicas.

## Póster 6

### **MODELO *in vitro* DE LA ACCIÓN DEL TBT EN HEMBRAS GESTANTES DE ROEDORES Y SU ROL COMO AGENTE GENERADOR DE ERO** (*Model in vitro of TBT action in pregnant rodents and their role as agent of ROS generator*)

**Zapata A**<sup>1</sup>, Hidalgo M.E.<sup>1</sup>, Díaz Murillo H<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Radicales Libres en Biomedicina, Facultad De Medicina, Universidad de Valparaíso, <sup>2</sup> Depto. de Biología y Cs. Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Valparaíso-Chile

Las especies reactivas del oxígeno (ERO) participan en procesos biológicos normales, pero también lo hacen en procesos que obedecen a efectos toxicológicos. Dentro de éstos se pueden mencionar a los procesos mutagénicos, carcinogénicos, inflamatorios y envejecimiento prematuro. En relación a resultados teratogénicos, el efecto del TBT, sólo se ha evidenciado en el desarrollo embrio-fetal en roedores, no ha así en el tejido materno. Por lo tanto, en esta investigación, se pretende detectar si el TBT genera estrés oxidativo al ser suministrado tanto a ratas núbiles como gestantes. Para esto, se utilizaron 18 hembras jóvenes de la Cepa Sprague–Dawley, inoculadas vía intraperitoneal con TBT con una dosis de 10 µl/ 250gr por 7 días. Posteriormente, se obtuvo 5 ml de sangre del tronco arterial de los animales en estudio para determinar los parámetros de estrés oxidativo: actividad de catalasa (CAT) y daño a lípidos (TBARS). Los resultados fueron analizados estadísticamente por ANOVA y MANOVA. Esto estaría indicando que el efecto deletéreo del TBT genera estrés oxidativo en las hembras gestantes en un 75% por sobre las núbiles, ya que se evidencia una disminución de la actividad de catalasa, aumentando las ERO. En resumen, existen posibles evidencias de lipoperoxidación que estarían generando alteraciones a tejidos susceptibles a metabolización.

Financiamiento: DIPUV 2006

## Póster 7

### LITIO MODIFICA EL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO DE ESPERMATOZOIDES (Lithium modifies glycogen metabolism in spermatozoa)

**Burgos J**, Salazar E, Covarrubias AA, Villarroel-Espíndola F, Maldonado R, Castro MA, Angulo C, Slebe JC, Ramírez A, Concha I

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile. [johannalizburgos@gmail.com](mailto:johannalizburgos@gmail.com); [e.salazar.petres@gmail.com](mailto:e.salazar.petres@gmail.com)

La motilidad es uno de los parámetros más importantes de la funcionalidad espermática. Se ha demostrado que las sales de litio, normalmente utilizadas como tratamiento de trastornos bipolares, reducen la motilidad del espermatozoide, sin embargo se desconocen los mecanismos específicos que explican tal efecto. Se sabe que el litio inhibe directamente a la glucógeno sintasa quinasa  $3\beta$  (GSK3 $\beta$ ) en diferentes tejidos, enzima que a su vez regula vía fosforilación a la enzima responsable de la síntesis de glucógeno, la glucógeno sintasa (GS). En este trabajo se evaluó el efecto de cloruro de litio sobre la motilidad espermática y sobre cambios en los estados de fosforilación en GSK3 $\beta$  en espermatozoides capacitados y sin capacitar. Mediante el sistema CASA se observó que espermatozoides equinos tratados con concentraciones crecientes de sales de litio (100nM-30mM), presentaron una motilidad disminuida sin cambios aparentes en la viabilidad. En estas mismas condiciones se determinó mediante *Western blot*, un aumento aparente de GSK3 $\beta$  fosforilada, sin observarse cambios a nivel total de esta enzima. Además observamos un aumento en la cantidad de glucógeno sólo en espermatozoides no capacitados y un aumento en la inmunodetección de GS por efecto de la capacitación, lo que fue revertido por sales de litio. Estos resultados indican que el litio vía inhibición de GSK3 $\beta$  y activación de GS, altera el metabolismo del glucógeno en espermatozoides, sugiriendo un posible mecanismo metabólico que explique la reducción de la motilidad espermática.

Financiamiento: FONDECYT-1110508, 1110571, JB: Becario Doctorado UACH

## Póster 8

### **IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CONTENIDOS EN PLASMA SEMINAL CANINO** (Identification of fatty acids contained in canine seminal plasma)

**Díaz R<sup>1</sup>**, Inostroza K<sup>1</sup>, Sepúlveda N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Producción Animal, Instituto de Agroindustrias, Universidad de La Frontera, <sup>2</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

El plasma seminal contiene una variedad de componentes bioquímicos que se asocian con la función espermática. Aparentemente, la composición de ácidos grasos sería un factor importante que explicaría la calidad espermática en general, y la habilidad para congelarse en particular. Sin embargo, hay relativamente poca información disponible sobre la composición de ácidos grasos y el papel que tendrían como agentes protectores del espermatozoide. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar los ácidos grasos que contiene el plasma seminal canino utilizando la técnica de cromatografía de gases. Los ácidos grasos se identificaron y se expresaron como porcentaje de área de acuerdo con los ácidos grasos totales identificados en cada muestra. Un 85,02% de los ácidos grasos correspondió a ácidos grasos saturados siendo el ácido mirístico (5,27%), ácido palmítico (30,44%), y ácido esteárico (23,41%) los que se encontraron en mayor proporción. Los ácidos grasos insaturados se encontraron en un 14,98% siendo el ácido oleico (9,04%) y ácido heptadecenoico (1,11%) los con mayor porcentaje. Los ácidos grasos poliinsaturados se encontraron en muy baja proporción (1%). Estos resultados sugieren que la baja proporción de ácidos grasos poliinsaturados en el plasma seminal canino podrían otorgarle al semen una mayor criotolerancia comparado con otras especies sensibles, como carnero y verraco. Sin embargo, es necesario evaluar el efecto específico sobre las células espermáticas en el proceso de congelación-descongelación. Esto podría ayudar en la formulación de mejores diluyentes y mejora de los protocolos de criopreservación.

Estudio realizado con financiamiento del Laboratorio de Producción Animal.  
RD: Becaria Doctorado CONICYT

## Póster 9

### **ROL DE LA SEÑALIZACIÓN WNT EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA DE PORCINO DURANTE LA CAPACITACIÓN *IN VITRO*** (Role of Wnt signaling on porcine sperm motility during *in vitro* capacitation)

**Covarrubias AA**<sup>1</sup>, Mancilla H<sup>1</sup>, Burgos J<sup>1</sup>, Villarroel F<sup>1</sup>, Angulo C<sup>1</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Ramírez A<sup>2</sup>, Yeste M<sup>3</sup>, Estrada E<sup>3</sup>, Rocha LG<sup>3</sup>, Rodríguez-Gil JE<sup>3</sup>, Concha II<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio Metabolismo Molecular, Instituto de Bioquímica y Microbiología, <sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España.

El proceso de capacitación consiste de una serie de modificaciones funcionales biofísicas y bioquímicas que le permite al espermatozoide eyaculado ser competente para fecundar al ovocito. Este proceso toma lugar en el tracto femenino de la hembra, sin embargo este fenómeno puede ser reproducido *in vitro*. En los últimos años se han realizados trabajos donde se vincula la vía de transducción de señal Wnt/ $\beta$ -catenina en la maduración y desarrollo del tejido testicular. El objetivo de este estudio fue establecer si esta vía se encuentra presente en células germinales masculinas y qué efectos podría tener su activación sobre la motilidad de los espermatozoides durante la capacitación. La presencia de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina se demostró a través de *Western blot* e inmunofluorescencia, detectando el receptor Frizzled 3,  $\beta$ -catenina y GSK-3 $\beta$  en las líneas celulares germinales GC-1 y GC-2 y en espermatozoides de cerdo. Para estudiar la motilidad espermática se realizó un ensayo de capacitación *in vitro* tratando los espermatozoides con 10ng/ml y 50ng/ml de cada ligando (Wnt1 y Wnt3a); este parámetro fue analizado a través del sistema CASA. Se comprobó que la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina está presente y es activa, estableciéndose diferencias en la motilidad de los espermatozoides tratados con los ligandos. Con estos resultados se puede sugerir que la vía puede tener implicancias fisiológicas durante el proceso de capacitación espermática.

Financiamiento: FONDECYT-1110508, AGL2008-01792/GAN, AC: Becario Doctorado CONICYT

## Póster 10

### REGULATION OF MOUSE SPERM CAPACITATION/ACROSOME REACTION BY SERINE/THREONINE PHOSPHATASE PP2A AND XENOESTROGENS

**Gallardo LM**<sup>1,2</sup>, Morales P<sup>2</sup>, Moreno RD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, y <sup>2</sup>Universidad de Antofagasta

Capacitation is a molecular and physiological process that enables mammalian spermatozoa to fertilize the oocyte, and finish with the acrosomal reaction (AR). It has been proposed that during capacitation the balance between protein kinase and phosphatase activities is crucial to achieve capacitation and AR. The phosphoprotein phosphatase 2A (PP2A) is a member of the serine/threonine phosphatases family present in mammalian sperm that might participate in a signaling pathway, different from the traditionally initiated by protein Kinase A (PKA). Capacitation and/or AR could be induced or inhibited by different hormones like progesterone or estradiol, respectively. In this context, estrogen mimetics such as xenoestrogens (e. g. octylphenol) modulate capacitation and AR. Our hypothesis states that PP2A inhibits mouse sperm capacitation and might be opposed to regulation by xenoestrogens, like Bysphenol A and nonylphenol. To this end, we will use several assays to evaluate mouse sperm capacitation and AR. First, we evaluated the effect of PP2A (Endothal) inhibitors on capacitation, through AR determination by Comassie blue dye. Our preliminary results suggest that Endothal 90 nM increases significantly the spontaneous AR as compared to control; meanwhile, progesterone also increased AR related to control. Finally, both Endothal and Progesterone enforced this effect. These results suggest an additive effect between Progesterone and Endothal in the induction of AR.

Financiamiento: FONDECYT 1110778 to RDM and 110056 to PM

## Póster 11

### **REGULACIÓN FUNCIONAL DEL PROTEASOMA POR LA PROTEÍNA SERINA/TREONINA FOSFATASA PP2B EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS DURANTE LA CAPACITACIÓN** (Functional regulation of the human sperm proteasome by the serine/threonine phosphatase, PP2B, during capacitation)

**Fara K**<sup>1</sup>, Baron L<sup>1</sup>, Pizarro E<sup>1</sup>, Diaz ES<sup>1</sup>, Morales P<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología de la Reproducción, Departamento Biomédico. Facultad de Ciencias de la Salud, <sup>2</sup>Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

En los espermatozoides existe una proteasa multienzimática llamado proteasoma. Un mecanismo importante en la regulación funcional del proteasoma es la fosforilación / defosforilación de sus subunidades, especialmente en residuos de serina y tirosina. El objetivo del trabajo es estudiar la actividad enzimática tipo quimotripsina del proteasoma y su regulación por la proteína serina/treonina fosfatasa PP2B en espermatozoides humanos durante la capacitación. Espermatozoides móviles, obtenidos con una gradiente de Percoll, se incubaron en medio Tyrode modificado, libre de albúmina y bicarbonato (Medio no capacitante, MnC). Alícuotas de espermatozoides fueron capacitados por 0, 15, 30, 60 y 300 min en MnC reconstituido con 2.6% BSA y 25 mM Bicarbonato (MCR), a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> y 10x10<sup>6</sup> células/ml. Para evaluar la actividad tipo quimotripsina del proteasoma se usó el sustrato fluorogénico Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-amido-4-Methyl-Coumarin. Para evaluar el efecto de inhibidores de PP2B sobre el patrón de fosforilación del proteasoma, alícuotas de espermatozoides fueron incubadas por 5 horas con 0.1 nM Deltametrina, 10 nM Ciclosporina o 0.1% DMSO (control) en MCR. Luego, el proteasoma fue inmunoprecipitado y la fosforilación de sus subunidades evaluada por Western blot. Los resultados indican que la actividad tipo quimotripsina del proteasoma aumenta durante la capacitación y que los inhibidores de PP2B aumentan la fosforilación de sus subunidades. Se concluye que PP2B regula la actividad del proteasoma espermático.

Financiamiento: FONDECYT 1120056

## Póster 12

**INHIBICIÓN DE LAS SERINA/TREONINA FOSFATASAS, PP1, PP2A Y PP2B: UN REQUISITO PARA EL ÉXITO DEL PROCESO DE CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS** (Inhibition of the serine/threonine phosphatases PP1, PP2A and PP2B: a new requirement for the success of capacitation in human sperm)

**Signorelli J**<sup>1,2</sup>, Diaz ES<sup>1</sup>, Perez P<sup>1</sup>, y Morales P<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento Biomédico. <sup>2</sup>Instituto Antofagasta. Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile.

La capacitación es un proceso complejo que involucra cambios en el patrón de movilidad, hiperactivación, fluidez y potencial de la membrana, apertura de canales de Ca<sup>2+</sup>, activación de la vía AMPc/PKA, aumento en la fosforilación en residuos de Tyr, Ser/Thr y, por ende, activación de proteínas quinasas (PKs). Debido a que existe un balance entre la actividad de las PKs y proteínas fosfatasa (PPs), es probable que las PPs tengan una participación importante en este complejo proceso. Las Ser/Thr PPs se dividen en 4 grupos principales: PP1, PP2A, PP2B y PP2C. De ellas, PP1, PP2A y PP2B están presentes en testículo y espermatozoides de diversas especies, pero su función fisiológica durante la capacitación se desconoce. Basados en nuestros antecedentes previos, nuestra hipótesis propone que la inhibición de PP1, PP2A y PP2B es un evento necesario para la progresión de la capacitación en espermatozoides humanos.

Para ello seleccionamos espermatozoides humanos móviles a través de un gradiente de Percoll. La actividad de las PPs durante la capacitación fue evaluada utilizando un kit de Invitrogen y la expresión mediante Western blot. Además, evaluamos cambios en el patrón de fosforilación en residuos de Thr durante la capacitación.

Los resultados indican que durante la capacitación se observa una disminución de la actividad de estas PPs y cambios en el patrón de fosforilación en Thr. No observamos cambios en la expresión de las PPs.

Estos resultados sugieren que la inhibición de PP1, PP2A y PP2B es un evento necesario en la regulación de la capacitación en espermatozoides humanos.

Financiamiento: FONDECYT 1120056.

### Póster 13

**ROL DE LAS PROTEÍNAS QUINASAS DURANTE LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR PROGESTERONA (P) Y EL AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO INTRACELULAR  $[Ca^{2+}]_i$  EN EL ESPERMATOZOIDE HUMANO** (Role of protein kinases during the acrosome reaction (AR) induced by progesterone (P) and the increase of the concentration of intracellular calcium  $[Ca^{2+}]_i$  in human sperm)

**Barón L**<sup>1</sup>, Fara K<sup>1</sup>, Díaz ES<sup>1</sup>, Patricio Morales<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología de la Reproducción. Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile.

La RA es un proceso exocítico del espermatozoide y un absoluto requerimiento para la fecundación. La RA depende de  $Ca^{2+}$  y se requieren concentraciones milimolares en el ambiente extracelular para una máxima respuesta. Inductores fisiológicos de la RA, tal como la P, pueden incrementar la  $[Ca^{2+}]_i$  y la fosforilación de proteínas en tirosina en espermatozoides humanos. El objetivo de este trabajo es estudiar el papel de las proteínas quinasas durante la RA inducida por P y sobre el incremento de la  $[Ca^{2+}]_i$ , usando inhibidores específicos. Espermatozoides humanos móviles se obtuvieron a través de un gradiente de Percoll y se incubaron en medio Tyrode (2,6% BSA, 37° C, 5%  $CO_2$ ) por 18 horas. Luego, alícuotas de espermatozoides fueron incubados con el solvente o inhibidores de PKC: Calyculina A y Bisindolilmaleimida; y PKA: H89 y KT5720 por 30 min. Después de 15 min se agregó 7  $\mu M$  P. El estado acrosomal y la viabilidad se evaluó mediante PSA-FITC y Hoechst 33258, respectivamente. El efecto de los inhibidores sobre la  $[Ca^{2+}]_i$  fue evaluado usando fura 2AM. El influjo de calcio fue estimulado con 7  $\mu M$  P. La fluorescencia se evaluó con un espectrofluorómetro a una longitud de onda de excitación de 340/380 nm y una longitud de onda de emisión de 510 nm. Los resultados indican que los inhibidores de PKC y PKA bloquean la RA inducida por P; sin embargo, sólo los inhibidores de PKA están involucrados en el influjo de  $[Ca^{2+}]_i$  inducido por P.

Financiamiento: FONDECYT 1120056.

## Póster 14

### **ESTUDIOS PRELIMINARES DE CONGELACIÓN ESPERMÁTICA EN SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*): EFECTOS EN LA MOTILIDAD Y CAPACIDAD FECUNDANTE** (Preliminary studies of sperm frozen in Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects on motility and fertilizing capacity)

**Figueroa E<sup>1</sup>**, Ubilla A<sup>1</sup> Valdebenito M<sup>1</sup>, Risso N<sup>1</sup>, Effer B<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>2</sup>, Merino O<sup>2</sup>, Valdebenito I<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Acuicultura, BIOACUI, Universidad Católica de Temuco-Chile. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

La criopreservación espermática es una herramienta biotecnológica útil para afrontar las problemáticas actuales de la salmonicultura en Chile. Actualmente, se aplican diferentes protocolos en salmónidos con resultados variables de motilidad y tasa de fecundación, producto de los diferentes volúmenes de semen criopreservado en relación al número de ovocitos utilizados y complejidad del proceso. Esto tampoco ha sido estandarizado para espermatozoides de salmón del Atlántico. El objetivo de esta investigación es estandarizar un protocolo de congelación y evaluar los efectos en la motilidad y capacidad fecundante del espermatozoide de *S. salar*. Los espermatozoides fueron congelados en medio Stopmilt® suplementado con glucosa, dimetil sulfóxido (DMSO) y yema de huevo. Pajuelas de 0,5mL de suspensión espermática ( $2 \times 10^9 \pm 2,2$ ) fueron congeladas a 4cm del N<sub>2</sub>L. La descongelación se realizó en baño termoregulado a 35°C. Se evaluó post-descongelación el porcentaje de espermatozoides móviles y tasa de fecundación. La fecundación del grupo control se realizó con semen fresco y cada tratamiento con una pajuela de semen criopreservado a diferente número de ovocitos (T<sub>1</sub>: 30, T<sub>2</sub>: 60, T<sub>3</sub>: 120 ovocitos). La fertilidad se evaluó después de 16h de incubación a 10°C determinando la presencia de los primeros clivajes. Los resultados post-descongelación arrojaron una tasa de motilidad promedio de  $58 \pm 2,1\%$  y tasa de fecundación del  $80 \pm 4,3\%$  al fecundar 120 ovocitos (T<sub>3</sub>;  $16 \times 10^6 \pm 2,3$  espermatozoides/ovocito), no presentando diferencias con el control ( $P > 0,05$ ). Además, se correlacionó el porcentaje de motilidad espermática y concentración de espermatozoides/ovocito con la tasa de fecundación, presentando diferencias estadísticamente significativas ( $r=0,79$ ;  $r=-0,93$ ;  $P < 0,05$ , respectivamente). Se debe continuar investigando para optimizar la capacidad fecundante del semen criopreservado.

Financiamiento: FONDEF D10I1064 Chile.

## Póster 15

### **SEGUIMIENTO DEL PROCESO METASTÁSICO MEDIANTE IMÁGENES EN VIVO UTILIZANDO UN MODELO ORTOTÓPICO DE CÁNCER PROSTÁTICO** (Monitoring of metastasis process through in vivo imaging using an orthotopic model of prostate cancer).

**Cifuentes F**, Valenzuela R, Contreras HR. Castellón EA

Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La mayoría de las muertes que ocurren en pacientes con cáncer de próstata (CaP) son debidas al desarrollo de metástasis. Para el estudio de este proceso es necesaria la generación de modelos ortotópicos, los que suelen consistir en la inyección de células tumorales humanas en la próstata ventral o dorsal de ratones inmunodeprimidos. El objetivo de este trabajo fue estudiar, mediante imágenes en vivo, la dinámica del proceso metastásico utilizando un modelo de inyección ortotópica en la próstata anterior murina. Debido a su localización anatómica, el desarrollo tumoral en este lóbulo prostático tiene la ventaja de permitir ensayos quirúrgicos. Se utilizaron ratones de la cepa NOD/SCIDy inyectados en la próstata anterior con  $1 \times 10^6$  células de la línea celular de CaP PC3, previamente transducidas con el gen para la enzima luciferasa. El desarrollo de los tumores fue controlado con un equipo IVIS Lumina II que permite la visualización y seguimiento in vivo de la actividad bioluminiscente emitida por las células tumorales inyectadas. A los 5 días post inyección se detectó un tumor en la próstata. A los 30 días se desarrollaron micrometástasis pulmonares y a los 50 días se evidenciaron macrometástasis en hígado, pulmones y riñones. Esto fue confirmado mediante bioluminiscencia y posterior necropsia e histopatología. Finalmente, se realizó la descripción histológica de los tumores confirmando su origen mediante un marcador mitocondrial humano. Los resultados apoyan la aplicación de este modelo para estudio del proceso metastásico, con la ventaja de facilitar ensayos quirúrgicos aplicables para el estudio de la recidiva.

Financiamiento: FONDECYT 1100183 y U-Moderniza U-MOD-02, VID, U. de Chile.  
Becarios CONICYT (FC y RV)

## Póster 16

**EFFECTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) Y ADAM17 EN LA PROLIFERACION DE LAS LÍNEAS CELULARES DE EPITELIO SUPERFICIAL OVÁRICO (HOSE) Y CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL (A2780)** (Effect of nerve growth factor (NGF) and ADAM17 in human ovarian surface epithelium (HOSE) and epithelial ovarian cancer (A2780) cell lines proliferation)

**Cuevas P<sup>1</sup>**, Vallejos C<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Paredes A<sup>2</sup>, Vega M<sup>1,3</sup>, Romero C<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, facultad de Medicina, Universidad de Chile.

ADAM17 (metaloproteasa) involucrada en el corte proteolítico de proteínas de membrana, se expresa en cáncer ovárico. Uno de sus posibles blancos; el receptor TRKA presente en cáncer ovárico, experimentaría un clivaje proteolítico por efecto de ADAM17, liberando el ectodominio y produciendo una activación constitutiva de TRKA, aumentando la proliferación celular. El objetivo fue evaluar la expresión de ADAM17 en líneas celulares HOSE y A2780 estimuladas con NGF y el efecto de un inhibidor específico de ADAM17 (TAPI-0) en la proliferación celular. ADAM17 se evaluó por RT-PCR, qPCR e ICQ. Al estimular estas células con NGF (0, 10, 50 y 100ng/mL), los niveles de mRNA de ADAM17 se cuantificaron por qPCR. También, se evaluó la proliferación celular por Ki67 en presencia de NGF (50ng/mL) y TAPI-0 por 24 h. Los resultados señalan que los niveles del transcrito y proteína de ADAM17 son mayores en células A2780 respecto a células HOSE, con un 52% ( $p < 0,05$ ) y un 63,2% ( $p < 0,001$ ), respectivamente. NGF (50ng/ml) aumentó la proliferación celular en 44,3% en células HOSE respecto al control y un 21,5% en A2780. Con TAPI-0, la proliferación de células HOSE disminuyó un 48% ( $p < 0,001$ ) y en células A2780 un 29% ( $p < 0,001$ ) respecto al control. Resultados preliminares indican que concentraciones crecientes de NGF generan niveles crecientes del transcrito de ADAM17 en ambos tipos celulares. En conclusión, NGF y ADAM17 favorecerían la proliferación de las líneas celulares HOSE y A2780, eventualmente a través de la activación del receptor TRKA.

Financiamiento: FONDECYT 1110372 (CR)

**Póster 17**

**EFECTO DE DIHIDROTESTOSTERONA (DHT) SOBRE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE TGF- $\beta$ 1 EN LA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE OVARIO EPITELIAL A2780** (Effect of dihydrotestosterone (DHT) on the signaling pathway of TGF- $\beta$ 1 in the cell line of epithelial ovarian cancer A2780)

**Kohan K**<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>, Jara L<sup>3</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Hospital Clínico Universidad de Chile, <sup>2</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, <sup>3</sup>ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El factor de crecimiento transformante- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) es un potente inhibidor del crecimiento celular y está involucrado en procesos de migración y apoptosis. Existen estudios que demuestran que la vía de señalización de TGF- $\beta$ 1 podría ser alterada por efecto de los andrógenos. Nuestro grupo ha observado en cáncer de ovario epitelial un aumento de la expresión del receptor de andrógenos (RA) en comparación con células no neoplásicas, sugiriendo una importante participación de los andrógenos en los procesos de proliferación celular en esta patología.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la participación de DHT en la expresión de los receptores de TGF- $\beta$ 1 en una línea celular de cáncer de ovario epitelial. Para evaluar el efecto de DHT en la vía de TGF- $\beta$ 1; las células A2780 fueron estimuladas con 0, 10 y 100 nM de DHT durante 72 h. Posteriormente se determinaron los niveles proteicos y del mRNA de TGF- $\beta$ 1R1 y TGF- $\beta$ 1R2 por RT-PCR y western blot respectivamente, así como también su localización celular por inmunocitoquímica. Los resultados mostraron una inmunodetección positiva para TGF- $\beta$ 1 y sus receptores en células A2780. Posteriormente, al estimular estas células con DHT, los niveles de TGF- $\beta$ 1 no cambiaron, sin embargo, los niveles proteicos de los receptores TGF- $\beta$ 1R1 y TGF- $\beta$ 1R2 disminuyeron en un 20% y un 30% respectivamente comparado con el control. Esta disminución en los niveles de los receptores de TGF- $\beta$ 1 por efecto de DHT sugiere que los andrógenos alterarían la vía de señalización de TGF- $\beta$ 1, con el aumento concomitante de la proliferación celular en A2780.

Financiamiento: FONDECYT 1110372

## Póster 18

### **LA EXPRESIÓN DE P75 SE ASOCIA CON EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN EN CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL** (The expression of p75 is associated with the differentiation degree in epithelial ovarian cancer)

**Vallejos C<sup>1</sup>**, Paredes A<sup>2</sup>, Gabler F<sup>3</sup>, Selman A<sup>4</sup>, Vega M<sup>1,4</sup>, Romero C<sup>1,2,4</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Hospital Clínico Universidad de Chile; <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; <sup>3</sup>Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina Universidad de Chile; <sup>4</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

En cáncer ovárico epitelial [COE] se ha encontrado un aumento progresivo de NGF y de su receptor TRKA y p-TRKA la cual fue relacionado con los diferentes grados de des-diferenciación celular. La activación de TRKA por NGF produce un aumento en la proliferación celular en COE. El receptor de baja afinidad de NGF (p75) tiene una acción directa sobre la supervivencia celular al estar como homodímero controlando la apoptosis celular, pero al estar como heterodímero con el receptor TRKA aumenta la supervivencia de las células. Este receptor puede ser modulado por ADAM17 y  $\beta$ -secretasa, produciendo una disminución de este receptor a nivel de membrana plasmática y un aumento a nivel nuclear en tejido neuronal. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de mRNA y proteína del receptor p75 en COE en distintos grados de diferenciación celular. Se obtuvieron 33 muestras de ovario normal inactivo [Ov-I] (n=11), COE bien diferenciado [COE I] (n=5); moderadamente diferenciado [COE II] (n=9) y pobremente diferenciado [COE III] (n=8). Los niveles de RNA se evaluaron por qPCR y los niveles proteicos por inmunohistoquímica. Los datos obtenidos se analizaron con el programa GraphPadPrism 5. Los niveles de mRNA de p75 no mostraron diferencias significativas en los tejidos estudiados. Los niveles proteicos de p75 fueron mayores estadísticamente significativo en Ov-I v/s COE I, COE II y COE III, con un 42%, 60% y 89% respectivamente. La ausencia del receptor p75 podría tener relación con la des-diferenciación celular que ocurre en COE.

Financiado por FONDECYT 1110372

## Póster 19

### **RELACIÓN ENTRE MARCADORES DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES Y EL RECEPTOR TRKA EN CÁNCER PROSTÁTICO Y OVÁRICO** (Relationship between cancer stem cells markers and TRKA receptor in prostate and ovarian cancer)

**Poblete CE**<sup>1</sup>, Hurtado I<sup>1</sup>, Gallegos I<sup>2</sup>, Gabler F<sup>1</sup>, Contreras HR<sup>2</sup>, Vega M<sup>1</sup>, Romero C<sup>1</sup>, Castellón EA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El cáncer prostático (CaP) es el tumor maligno más frecuente en varones sobre 50 años y la segunda causa de muerte oncológica masculina en Chile. Por su parte, el cáncer ovárico epitelial (COE) es la segunda causa de muerte por neoplasias ginecológicas en nuestro país. Los métodos de detección, diagnóstico y tratamiento para ambos tipos de cáncer son poco efectivos y su incidencia y prevalencia van en aumento. La presencia de células troncales tumorales (CSCs) podría estar relacionada tanto con su origen como con la ineficacia de los tratamientos actuales. Se evaluó mediante inmunohistoquímica la expresión de los marcadores de CSCs CD133 y ALDH y del receptor de neurotrofinas TRKA, tanto en muestras de CaP como COE. Se utilizaron 10 muestras de Hiperplasia Prostática Benigna (HPB), como control no maligno, 25 de CaP de diferentes grados histológicos, 8 de ovario normal, 5 de *borderline* y 35 de COE de distintos grados de diferenciación. Los resultados muestran que tanto los marcadores de troncalidad como el receptor TRKA presentan mayor expresión en las muestras tumorales que en las normales, presentando este último una correlación positiva con el grado de malignidad tumoral. Se postula que podría existir una relación entre estos marcadores de troncalidad y el aumento TRKA durante la progresión tumoral en ambos tipos de cáncer, por lo que las moléculas estudiadas podrían ser buenos marcadores pronóstico/diagnóstico en cáncer prostático y ovárico.

Financiamiento: FONDECYT N° 1100183 (EC) y FONDECYT N° 1110372 (CR)

## Póster 20

### **RELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE TRANSICIÓN EPITELIO-MESENQUIMAL Y LA CAPACIDAD TUMORIGÉNICA EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER OVÁRICO Y PROSTÁTICO** (Relationship between Epithelial-Mesenchymal Transition markers and tumorigenic capacity in cell lines from ovarian and prostate cancer)

**Poblete CE**<sup>1</sup>, Seguel V<sup>2</sup>, Castellón EA<sup>2</sup>, Vega M<sup>1</sup>, Romero C<sup>1</sup> y Contreras HR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile.

<sup>2</sup>Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El cáncer ovárico epitelial (COE) y el cáncer prostático (CaP) constituyen la segunda causa de muerte por neoplasias ginecológicas y la segunda causa de muerte oncológica masculina, respectivamente en Chile. La transformación celular que ocurre en el cáncer implica cambios tanto en la morfología como en la función celular, proceso denominado transición epitelio-mesenquimal (TEM). En la TEM se modifica la expresión de genes que codifican para proteínas que podrían ser utilizados como marcadores celulares de progresión tumoral. En este estudio se evaluó, mediante inmunocitoquímica, western blot y RT-PCR, la expresión de moléculas de adhesión (E-cadherina, N-cadherina, Sindecano-1 y Sindecano-2), receptor de membrana de neurotrofinas (TRKA), factores de transcripción (Snail, Slug y Twist). Para este análisis se utilizaron líneas celulares ováricas epiteliales normales (HOSE), de COE (A2780) y de CaP: LNCaP y PC3 con baja y alta capacidad tumorigénica respectivamente. Los resultados inmunocitoquímicos indican que existe una expresión diferencial de las distintas moléculas de adhesión estudiadas. Destaca un aumento en la expresión de TRKA, Sindecano-1 y N-cadherina y una disminución de la expresión de E-cadherina en las líneas A2780 y PC3. Estos resultados son coincidentes con los obtenidos a través de western blot y RT-PCR. Además, los marcadores de TEM y los factores transcripcionales estudiados cambian su distribución intracelular y expresión, respectivamente, de acuerdo al potencial tumorigénico de las células y podrían ser utilizados como marcadores pronóstico/diagnóstico en el cáncer de ovario y próstata.

Fondecyt 1110372 (CR) Y Fondecyt 1110269 (HC)

## Póster 21

### **EFFECTO DE SIMVASTATINA SOBRE LA VIABILIDAD DE ESFERAS DERIVADAS DE LA LÍNEA CELULAR DE CARCINOMA MAMARIO CANINO CF41 (Effects of simvastatin on the viability of spheres derived from CF41 canine mammary carcinoma cell line)**

**Torres CG**, Olivares A, Stoor C

Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andres Bello, Santiago

La neoplasia mamaria es una enfermedad de alta frecuencia de presentación en la hembra canina. El tratamiento de elección es la cirugía, sin embargo su utilidad es limitada en casos de tumores muy invasivos y metastásicos. Dentro de tumores mamarios, se ha descrito la presencia de células neoplásicas con características de "stem cells" (CSC), las cuales pueden resistir terapias antineoplásicas convencionales y explicar en parte la progresión y recurrencia tumoral. Estas CSC tienen la capacidad de formar esferas, estructuras que crecen bajo condiciones de cultivo muy restringidas. Las estatinas son drogas que han mostrado amplios efectos antitumorales sobre células de cáncer mamario humano, no obstante no se han evaluado estos efectos sobre la enfermedad canina ni tampoco sobre CSC mamarias. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de simvastatina sobre la viabilidad de esferas derivadas de células CF41. Se aislaron esferas derivadas de células CF41 en placas de ultra baja adherencia, las cuales se cultivaron en DMEM/F12 sin suero suplementado con EGF, bFGF, insulina, B27 y heparina. En presencia de diferentes concentraciones de simvastatina (1-20  $\mu$ M), se evaluó la eficiencia de formación de esferas, viabilidad celular (reducción de MTS) y apoptosis (activación de caspasas 3/7). Simvastatina indujo una reducción en la viabilidad celular y eficiencia de formación de esferas dependiente de la concentración ( $p < 0,05$ ). La activación de caspasas 3/7 se incrementó en respuesta a simvastatina. Este estudio sustenta el potencial uso de simvastatina como un nuevo agente preventivo y/o terapéutico en perros con carcinoma mamario de alta malignidad.

Financiamiento: FONDECYT Iniciación 11110148

## Póster 22

### **DETERMINACIÓN DE NIVELES PROTEICOS DE p27 EN LA LÍNEA CELULAR DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO (T-HESC) ESTIMULADAS CON ESTEROIDES** (Determination of p27 protein levels in Human Endometrial Stromal Cell line (T-HESC) stimulated with steroids)

**Astorga I**<sup>1</sup>, Plaza F<sup>1</sup>, Kohan K<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Poblete C<sup>1</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>, Valladares L<sup>3</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, <sup>2</sup>Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, <sup>3</sup>INTA, Universidad de Chile.

El tejido endometrial de mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico (ESOP) posee una alta sensibilidad a hormonas esteroidales, niveles alterados de estos pueden causar desequilibrios en la proliferación celular, desarrollando así hiperplasia, cáncer e infertilidad. Dentro de los represores del ciclo celular se encuentra p27. Una disminución de p27 puede alterar el ciclo celular causando excesiva proliferación. Se ha observado que en epitelio de ESOP con hiperplasia, existe una disminución de p27 nuclear. La estimulación con esteroides puede ser clave en el desequilibrio de p27, la homeostasis celular y generación de posibles patologías. En este trabajo, se evaluaron los niveles proteicos de p27 en células T-HESC, estimuladas con estradiol, testosterona y androstenediol. Niveles proteicos se evaluaron por western blot, y se cuantificaron con el programa UN-SCAN-IT. Todos estos datos fueron normalizados con  $\beta$ -actina. Se utilizó la línea celular de estroma endometrial humano T-HESC estimuladas con 10, 100 y 1000nMde estradiol, testosterona y androstenediol. Los niveles proteicos de p27 disminuyeron con los estímulos de 10, 100 y 1000 nM de androstenediol comparados con los basales. De manera similar, se obtuvo una disminución de p27 con estímulos de estradiol con respecto al basal. No se observaron cambios significativos en células T-HESC estimuladas con testosterona. La estimulación con esteroides con actividad estrogénica (estradiol y androstenediol) en células T-HESC, modula los niveles proteicos de p27, lo cual favorecería los procesos de proliferación celular, mecanismo que podría estar involucrado en la desregulación celular descrita en ESOP.

Financiamiento: FONDECYT#1095127(MV) y #1100299 (LV). Beca de Apoyo de Tesis Doctoral CONICYT #24121153(FP). Beca CONICYT Doctorado Nacional #21100275(FP)

## Póster 23

### **EFFECTO DE LA ENDOMETRIOSIS SOBRE LA PREÑEZ Y LA LIBERACIÓN DE CITOQUINAS TH1 Y TH2 EN UN MODELO MURINO** (Effect of endometriosis on pregnancy and the release of Th1 and Th2 cytokines in a mouse model)

**Bilotas M<sup>1</sup>**, Olivares C<sup>1</sup>, Ricci A<sup>1</sup>, Baston JI<sup>1</sup>, Meresman G<sup>1</sup>, Barañao RI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (Ibyme-CONICET), Buenos Aires, Argentina

Aunque existen controversias, el embarazo es considerado beneficioso para la endometriosis. Durante la preñez predominan las citoquinas Th2 y el aumento de citoquinas Th1 es considerado desfavorable. Las citoquinas Th2 son predominantes en endometriosis aunque también existen altos niveles de IFN-g en el líquido peritoneal (LP). Nos propusimos evaluar la relación entre la endometriosis, la preñez y la liberación de citoquinas Th1 y Th2 en el LP. En un modelo murino de endometriosis se evaluaron distintos parámetros en el día 18 de la preñez. La tasa de preñez fue menor en el grupo endometriosis vs el sham ( $p < 0,05$ ). El volumen de las lesiones fue mayor en las hembras preñadas con endometriosis (HP-EDT) versus las no preñadas (HNP-EDT,  $p < 0,05$ ), sin diferencias en el número. IL-4, IL-10, e IL-2 estaban aumentadas en las HNP-EDT versus las HP-EDT ( $p < 0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias entre las hembras preñadas Sham (HP-Sham) y las no preñadas (HNP-Sham). IFN-g estaba aumentado en las HNP-Sham versus las HP-Sham ( $p < 0,05$ ), mientras que en el grupo endometriosis no se observaron diferencias. Sin embargo, la concentración de IFN-g fue mayor en las HP-EDT versus las HP-Sham ( $p < 0,05$ ). La relación IL-2/IL-10 fue mayor en HNP-EDT versus HP-EDT ( $p < 0,05$ ), mientras que IFN-g/IL-4 estaba aumentada en HNP-Sham versus HP-Sham ( $p < 0,05$ ). Asimismo, las relaciones IFN-g/IL-4 e IFN-g/IL-10 fueron mayores en HP-EDT versus HP-Sham ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$ ). La preñez no tendría un efecto beneficioso sobre el crecimiento de las lesiones y la alteración en los niveles de citoquinas Th1 y Th2 en endometriosis interferiría con la fertilidad.

Financiamiento: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica -ANPCYT- (PICT 2007- 01632) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - CONICET- (PIP 2009-2011 N° 1223).

## Póster 24

**EXPRESIÓN DE HGF, c-Met, NGF, TrkA Y p75NTR EN ENDOMETRIO EUTOPICO EX VIVO DE MUJERES CON ENDOMETRIOSIS.** (HGF, c-Met, NGF, TrkA and p75NTR expression in *ex vivo* eutopic endometrium of women with endometriosis)

**Parada E**, Venegas S, Torres M, Hidalgo P, Castro J, Sovino H, Boric MA, Johnson MC

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

La endometriosis es una patología invasiva y dolorosa estrógeno-dependiente, con presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina. Dado que el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), mitógeno que participa en la reconstrucción y crecimiento endometrial a través de su receptor c-Met, y el factor de crecimiento neural (NGF), involucrado en la proliferación y reparación de fibras nerviosas, son regulados por estradiol, ambos podrían estar alterados en esta patología. Se determinaron los niveles de mRNA (RT-PCR) y la presencia proteica (inmunohistoquímica) de HGF, c-Met, NGF y sus receptores TrkA y p75NTR en endometrio eutópico *ex vivo* de mujeres con (n=21) y sin (n=25) endometriosis durante el ciclo menstrual. Aprobado por Comités de Ética Institucional. Análisis estadístico Mann Whitney test. En el grupo control se observó disminución del nivel de mRNA de HGF (33%) y aumento de c-Met (84%) y TrkA (170%) en la fase secretora respecto a la fase proliferativa. En endometriosis se detectó un aumento de NGF (33%) y TrkA (55%) en la fase secretora respecto al proliferativo y una disminución de HGF (25%) en la fase proliferativa y de c-Met (33%) en la fase secretora respecto al control. La inmuno-localización de las proteínas estudiadas fue predominante en el compartimento glandular endometrial en los dos grupos de mujeres. Estos datos muestran niveles de mRNA de NGF, TrkA, HGF y c-Met diferentes en los endometrios eutópicos de mujeres con endometriosis respecto a los controles durante el ciclo menstrual, hallazgos que deben ser confirmados con los análisis de las proteínas.

Financiamiento: FONDECYT 1120074

## Póster 25

### **INTERACCIÓN ENTRE NFκB Y RECEPTOR DE ESTRADIOL EN CÉLULAS ESTROMALES ENDOMETRIALES HUMANAS AISLADAS.** (Interaction between NFκB and estradiol receptor in isolated human endometrial stromal cells)

**Hidalgo P**, Torres M, Boric MA, Castro J, Zavala JC, Gabler F, Johnson MC

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

El estradiol mediante sus receptores (RE) ejerce una función reguladora sobre la actividad transcripcional de NFκB, factor de transcripción clave en la respuesta inflamatoria. Dado que la endometriosis es una patología inflamatoria dependiente de estrógenos, el objetivo de este trabajo fue determinar la interacción entre RE y NFκB en células endometriales. Células estromales aisladas de endometrios eutópicos de mujeres sin (control) y con endometriosis fueron tratadas 15-30 min con TNFα (10ng/mL), E<sub>2</sub> (10<sup>-8</sup>mol/L), ICI 182,780 [antagonista RE (10<sup>-6</sup>mol/L)] o Bay 11-7085 [inhibidor de NFκB (2x10<sup>-6</sup> mol/L)]. Se estudió la unión de NFκB al DNA (EMSA, n=8), su actividad (NFκB-luciferasa, n=4) y la interacción con REβ en la región promotora de COX2, gen blanco de NFκB, inducido en endometriosis, (ChIP, n=3). Estadística test de Kruskal Wallis o Mann Whitney. Aprobado por Comités de Ética Institucionales. En células de endometriosis, la unión de NFκB al DNA aumentó con TNFα, aunque significativamente sólo en presencia de E<sub>2</sub> (47% y 84% respecto al basal y al control respectivamente), no siendo alterado por Bay; la actividad de NFκB aumentó con TNFα (53%) y TNFα+E<sub>2</sub> (38%), incremento bloqueado por ICI; la interacción de NFκB con REβ en el promotor de COX2 fue favorecida únicamente por TNFα. Estos resultados no fueron encontrados en controles. Estos resultados muestran una interacción positiva entre NFκB y RE, estando el REβ involucrado en la regulación del promotor de COX-2. La diferente respuesta de las células de endometriosis sugiere una mayor sensibilidad a la acción de estas moléculas.

Financiamiento: FONDECYT 1120074

## Póster 26

### **EFFECTO DE ESTRADIOL Y AGONISTAS DE ESTRADIOL EN LA EXPRESION DE USF-2 EN CÉLULAS DE ENDOMETRIO** (Effect of estradiol and estradiol agonists on USF-2 expression in endometrial cells).

**Castro J**, Hidalgo P, Jessam C, Fuentes A, Escalona J, Boric MA, Johnson MC

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

En endometrio eutópico de mujeres con endometriosis, P450Arom (síntesis estrógenos) y SF-1 presentan expresión anómala. USF-2, regulador positivo de SF-1, posee elementos de respuesta a estradiol. Objetivo: determinar el efecto de estradiol (E<sub>2</sub>), PPT, DPN y G1 (agonistas selectivos de RE $\alpha$ , RE $\beta$  y GPER1, respectivamente) sobre la expresión de USF-2. Células epiteliales aisladas de endometrios eutópicos de mujeres sin (control, n=3) y con endometriosis (n=3) fueron tratadas 24h con E<sub>2</sub>, PPT, DPN (10<sup>-9</sup>-10<sup>-8</sup>mol/L) o G1 (10<sup>-8</sup>-10<sup>-6</sup>mol/L) para estudiar los niveles de mRNA (RT-PCR) de USF-2, rRNA18S,  $\beta$ actina y GAPDH. Estadística: test de t-Student, ANOVA. Aprobado por Comité Ética de Institucional. El mRNA de USF-2 y  $\beta$ actina presentaron una mayor expresión basal en células de endometriosis respecto a las controles (90% y 30%, respectivamente). El mRNA de rRNA18S y  $\beta$ actina en células controles aumentó con PPT, DPN y G1; en las de endometriosis, las variaciones fueron menores. El mRNA de GAPDH no varió con los tratamientos en control ni endometriosis. USF-2 normalizado con GAPDH en células controles incrementó su expresión con E<sub>2</sub>, PPT, DPN y G1 en relación al basal. Para nuestros estudios, GAPDH sería un buen normalizador, no así rRNA18S o  $\beta$ actina. La expresión aumentada de USF-2 en células controles con los diferentes tratamientos sugiere la participación de E<sub>2</sub> por sus distintos receptores. La reducida respuesta a E<sub>2</sub> en endometriosis muestra un sistema ya gatillado. USF-2 podría ser uno de los genes involucrados en la mantención del microambiente estrogénico en endometriosis.

Financiamiento: FONDECYT 1120074

## Póster 27

### **LA SELECCIÓN DE OVOCITOS BOVINOS CON CRESILO AZUL BRILLANTE OPTIMIZA LA MADURACIÓN CITOPASMÁTICA Y NUCLEAR *IN VITRO*** (Bovine oocyte selection with brilliant cresyl blue enhances cytoplasmic and nuclear *in vitro* maturation)

**Carrasco R**, Grüzmacher A, Letelier C, Berland M, Ratto M.

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

Existe evidencia sugiriendo que los métodos de selección son ineficaces en identificar ovocitos de calidad, para esto se ha usado la prueba de Cresilo azul brillante (BCB) con buenos resultados en términos de producción de embriones en distintas especies. Sin embargo, se desconocen las características de maduración de estos ovocitos. En este trabajo se evaluó la capacidad de maduración de ovocitos bovinos seleccionados por BCB, para esto los ovocitos se expusieron por 90 minutos a un medio con BCB al 26  $\mu$ M y fueron clasificados en función de la coloración citoplasmática; pudiendo ser positivos al poseer el citoplasma azul (BCB+; n=168) o negativos a poseer el citoplasma incoloro (BCB-; n=165). Adicionalmente un grupo de ovocitos que no fue expuesto a BCB se usó como grupo control (n=166). Después de 24 horas de cultivo se usó una tinción con Orceina para evaluar la maduración nuclear y una tinción de gránulos corticales con una lectina de *Lens culinaris* conjugada con FITC para evaluar la maduración citoplasmática. El grupo BCB+ mostro una proporción significativamente mayor de ovocitos maduros nuclearmente (81,3%,  $P < 0,05$ ) en comparación con los grupos BCB- (53,4%) y control (72,6%). Con respecto a la maduración citoplasmática el grupo BCB+ presentó una mayor proporción de ovocitos con migración total de gránulos corticales (50%,  $P < 0,05$ ) versus el BCB- (35,3%) y el control (44,1%). Considerando nuestros resultados concluimos que el uso de BCB para seleccionar ovocitos antes de la maduración *in vitro* incrementa las tasas de maduración citoplasmática y nuclear.

Financiamiento: Dirección de Postgrado, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

## Póster 28

**LA MORTALIDAD DE LOS OVOCITOS EN RATONES DEFICIENTES PARA EL RECEPTOR DE HDL SR-BI NO SE ASOCIA A APOPTOSIS OVÁRICA NI AL AUMENTO DE ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO** (Female infertility in SR-BI deficient mice is not associated with ovarian apoptosis or with an increase in reactive oxygen species)

**Santander N**<sup>1,3</sup>, Quilaqueo L<sup>1</sup>, Rossi SP<sup>3</sup>, Rigotti A<sup>1,2</sup>, Parborell F<sup>3</sup> y Busso D<sup>1</sup>.

Departamentos de <sup>1</sup>Nutrición, Diabetes y Metabolismo y <sup>2</sup>Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires. Argentina.

La deficiencia de SR-BI produce infertilidad femenina en ratón, asociada a muerte prematura de ovocitos ovulados. En este estudio, evaluamos la relación entre la deficiencia de SR-BI y dos procesos que podrían explicar dicha muerte: apoptosis y estrés oxidativo. Dado que previamente no detectamos apoptosis en ovocitos ovulados de ratonas SR-BI <sup>-/-</sup>, en este estudio analizamos la posible presencia de apoptosis en tejido ovárico. Los niveles de caspasa-3 activa (inmunohistoquímica) y fragmentación apoptótica del ADN (por TUNEL) fueron similares en células foliculares de ratonas silvestres y SR-BI <sup>-/-</sup>. Adicionalmente, estudiamos los niveles de proteínas pro- y anti-apoptóticas mediante Western blot en extractos proteicos ováricos totales, sin encontrar diferencias significativas en las relaciones Bcl-2:Bax o Bcl-xL:Bcl-xS. Para analizar la posible inducción específica de apoptosis en ovocitos y/o células de granulosa (CG) de folículos antrales, estos tejidos fueron obtenidos de cortes de ovarios silvestres y SR-BI <sup>-/-</sup> mediante microdissección láser, determinándose los niveles de mRNA para p53 usando RT-PCR cuantitativo. No se detectaron diferencias significativas en la expresión de p53 en ovocitos o CG de ambos genotipos. Por otro lado, considerando que la ovulación es un proceso generador de especies reactivas de oxígeno (ROS), analizamos si ovocitos ovulados de ratonas SR-BI <sup>-/-</sup> presentaban niveles anormales de ROS. Los ovocitos fueron incubados con diclorofluoresceína-diacetato, agente fluorescente indicador de ROS, en paralelo con ovocitos silvestres. Los niveles de fluorescencia fueron similares en ambos tipos de ovocitos e inferiores a los detectados en un control positivo (ovocitos tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). En conjunto, estos resultados sugieren que la letalidad prematura de los ovocitos de ratones SR-BI <sup>-/-</sup> no se asocia a un aumento de la apoptosis ovárica ni tampoco a un incremento en los niveles de ROS en ovocitos ovulados.

Financiamiento: FONDECYT 11090064 (D.B.); FONDECYT 1110712 (A.R.); PLISSER PLC-008/2011 (N.S.).

## Póster 29

### **DETECCIÓN DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO GDF-9 Y BMP-15 EN OVOCITOS PREVITELOGÉNICOS DEL PEZ DORADO *Seriola lalandi*** (Detection of GDF-9 and BMP-15 growth factors in previtellogenic oocytes of yellow-tail kingfish *Seriola lalandi*)

**Palomino J**<sup>1,2</sup>, De los Reyes M<sup>2</sup>, Martínez V<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio INBIOGEN y <sup>2</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

El desconocimiento de las bases moleculares que dirigen los procesos de maduración ovocitaria ha limitado el manejo en la producción en cautiverio del pez dorado *S. lalandi*. Investigaciones realizadas en distintos grupos de animales, incluyendo los peces, han evidenciado un rol activo del ovocito en la foliculogénesis a través de la producción de factores de crecimiento como los miembros de la superfamilia TGF- $\beta$ ; GDF-9 y BMP-15. Por lo tanto, dada la importancia de estas proteínas en el crecimiento y desarrollo folicular de otras especies, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de estos factores de crecimiento en ovocitos previtelogénicos de *S. lalandi*. Para esto, se realizaron ensayos de inmunofluorescencia indirecta sobre ovocitos obtenidos de biopsias de ovarios de individuos maduros antes de la vitelogénesis. Se utilizaron los anticuerpos policlonales anti-GDF-9 y anti-BMP-15 humano y un segundo anticuerpo conjugado con FITC. La intensidad de la fluorescencia se determinó con el programa Gel-Pro Analyzer V3.1 y se evaluó un total de 108 y 99 ovocitos con cada anticuerpo. Ambos anticuerpos se localizaron en el citoplasma ovocitario, sin embargo la intensidad fue mayor con anti-GDF-9 en comparación con BMP-15. En los ovocitos tratados con anti-GDF-9 predominó la fluorescencia alta (81%), en cambio con anti-BMP-15 predominó una inmunomarca de baja intensidad (93%). Estos resultados indicarían que estos factores de crecimiento se encuentran en ovocitos de *S. lalandi*, en donde GDF-9 tendría una mayor presencia que BMP-15 en estadios tempranos del desarrollo ovocitario.

Financiamiento: FONDECYT Postdoctorado 3120211

**Póster 30**

**LA AROMATIZACIÓN POTENCIA LA PROTECCIÓN CELULAR MEDIADA POR TRPV1 (Aromatization increases TRPV1-mediated cell protection)**

**Córdova C**, Vega C, Ramírez R, Cuevas P, Olivero P

Centro de Investigación Médica Translacional (CIMT), Facultad de medicina, Universidad de Valparaíso.

Las gónadas bajo estrés oxidativo presentan alteraciones en la gametogénesis y esteroidogénesis, sin embargo la producción local de esteroides como 17 $\beta$ -estradiol favorece la función óptima. Existe evidencia que vincula la modulación esteroidea de la actividad de canales iónicos de la familia TRP con la resistencia al estrés oxidativo. Específicamente TRPV1, un canal catiónico no selectivo y sensor de calor, es un determinante mayor en la protección del tejido y es antagónicamente regulado por estrógenos y testosterona. En este contexto, postulamos que la aromatización de andrógenos a estrógenos constituye un mecanismo protector frente al ambiente oxidativo a través de la función regulada de TRPV1. Nuestro objetivo es vincular el mecanismo de protección celular mediado por esteroides sexuales con la capacidad esteroidogénica y de aromatización en líneas celulares de origen testicular *in vitro*. TRPV1 abunda hacia el lumen del túbulo seminífero principalmente en las células de Sertoli y los espermatozoides. Bajas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disminuye la expresión de StAR y ARO en células Leydig, sin embargo, aumenta la abundancia de ARO en las líneas no esteroidogénicas. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induce muerte celular por falla mitocondrial masiva, sin embargo, 17 $\beta$ -estradiol y no testosterona mantiene la función mitocondrial intacta. La inhibición farmacológica de TRPV1 disminuye el efecto protector de 17 $\beta$ -estradiol y del complejo 17 $\beta$ -estradiol-BSA. Nuestros datos sugieren que el ambiente oxidativo aumenta la capacidad de aromatización en células no esteroidogénicas y es un determinante mayor en la resistencia inducida por estrógenos y mediada por TRPV1.

Financiamiento: FONDECYT 11100047; DIPUV 21/2008

## Póster 31

### **PÉRDIDA SELECTIVA DE CÉLULAS GERMINALES EN MACHOS *Mus domesticus* HETEROCIGOTOS PARA MÚLTIPLES METACÉNTRICOS ROBERTSONIANOS (Rbs)** (Selective loss of male germ cells in *Mus domesticus* heterozygotes for multiple Robertsonian (Rbs) metacentrics)

**González M**<sup>1</sup>, Berríos S<sup>1</sup>, Ayarza E<sup>1</sup>, Manieu C<sup>1</sup>, Manterola M<sup>2</sup>, Page J<sup>3</sup>, Fernández-Donoso R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

<sup>2</sup>Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center.

<sup>3</sup>Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid.

*Mus domesticus* es una especie que se caracteriza por poseer un número diploide de  $2n=40$ , todos ellos acrocéntricos. En las poblaciones naturales de *Mus* se producen translocaciones Robertsonianas (Rbs) con una alta frecuencia, En los heterocigotos para estos cambios cromosómicos, se alteran la sinapsis en la I<sup>a</sup> Profase meiótica así como la segregación y distribución de los cromosomas, lo que activaría los puntos de control de la meiosis ("checkpoints"). Hemos postulado que, en la línea germinal de machos de *Mus domesticus* heterocigotos para múltiples cromosomas Rbs, se produce una eliminación selectiva de espermatocitos por apoptosis. Se estudió la proporción numérica entre espermatocitos y espermatidas (1:4) y la organización del epitelio seminífero en *Mus* con distintas dotaciones cromosómica:  $2n=40$ ,  $2n=24$  y los Híbridos  $2n=32$  con 8 metacéntricos Rbs. La determinación de las células en apoptosis fue realizada por inmunocitoquímica para Caspasa 3. En los híbridos  $2n=32$  encontramos una significativa disminución del número total de espermatocitos I y de espermatidas (66,6 % menos) respecto de los parentales. También estaba alterada la proporción de espermatocitos:espermatidas llegando a 1:1,7. Por otra parte, el número de células germinales positivas para la caspasa 3 en los Híbridos, fundamentalmente concentrado en el Estadio XII del epitelio seminífero, fue considerablemente mayor que el observado en los parentales. La disminución relativa en el número de espermatocitos y espermatidas, en los híbridos, posiblemente se debería a la eliminación selectiva de células portadoras de alteraciones cromosómicas debida a la acción contralora de los checkpoints meióticos, lo que explicaría la sub-fertilidad de estos individuos.

Financiamiento: FONDECYT # 1120160

**Póster 32**

**ADVERSE EFFECTS OF HEAT STRESS AND XENOESTROGENS IN RAT SEMINIFEROUS EPITHELIUM INTEGRITY**

**Henríquez-Olavarrieta S,** Moreno RD.

Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

There is increasing information recognizing that environmental factors such as high temperature or environmental pollutants (e.g xenoestrogens) adversely affect male fertility by increasing germ cell apoptosis and disrupting spermatogenesis. Heat stress and xenoestrogen exposure induce oxidative stress and germ cell apoptosis in animal models. Our hypothesis was that heat stress and xenoestrogens exposure (e.g. Bisphenol A (BPA) or nonylphenol (NP)) could share a similar pathway in order to disrupt spermatogenesis. To this end, adult rats exposed to heat stress (43°C for 30 min), or 21 day old rats intraperitoneally injected with 50mg/Kg of BPA or NP, were sacrificed 24 hrs after treatment and different cell interaction proteins such as N- and E-cadherin, pannexin1, 2 and 3 and connexin 43, were evaluated by immunohistochemistry and/or western blot. Results showed that BPA decreased N-cadherin while NP increased N-, E- cadherin protein levels. BPA and NP treatment increased pannexin2 protein levels, whereas NP decreased pannexin3 levels. Temperature treatment seems to redistribute pannexins (1, 2 and 3) and connexin43 subcellular localization. In addition, temperature increased the number of tubules that present cell sloughing, vacuolization and/or obliteration in all stages specially VII-VIII, the number of non-identifiable tubules, and decreased the relative number of tubules in IX, X, XI stages compared to control rats. These results suggest BPA and NP produce different alteration in adhesion proteins, but similar effects in pannexin levels. It is possible that that germ cells sloughing and vacuolization of seminiferous epithelium produced by temperature are related to alteration in adhesion protein levels.

Financiamiento: FONDECYT 1110778, Proyecto COPEC UC 7C004  
SH: Becario Doctorado Universidad de Antofagasta.

### Póster 33

#### **LA ACTIVACIÓN DE LA GLUCÓGENO SINTASA MODULA SU LOCALIZACIÓN E INTERACCIÓN CON AGO-2 EN CÉLULAS DE SERTOLI.** (Glycogen Synthase activation modulates its localization and interaction with Ago-2 in Sertoli cells)

**López C**<sup>1</sup>, Maldonado R<sup>1</sup>, Burgos J<sup>1</sup>, Villarroel-Espíndola F<sup>1</sup>, Mancilla H<sup>1</sup>, Cereceda K<sup>1</sup>, Vander Stelt K<sup>1</sup>, Salazar E<sup>1</sup>, Covarrubias AA<sup>1</sup>, Angulo C<sup>1</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Slebe JC<sup>1</sup>, Méndez R<sup>2</sup>, Concha II<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología. Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Institute for Research in Biomedicine, IRB Barcelona. [rmaldonadoaguila@gmail.com](mailto:rmaldonadoaguila@gmail.com), [camila\\_clm@hotmail.com](mailto:camila_clm@hotmail.com).

Las células de Sertoli convierten cerca del 80% de la glucosa incorporada a lactato y solamente entre un 1-3% es utilizada para la síntesis de lípidos y glucógeno. Sin embargo, los niveles de glucógeno sintasa muscular (MGS) no se relacionan con los niveles de glucógeno presentes en estas células, sugiriendo otra función para esta enzima. En este estudio se evaluaron las interacciones proteicas de MGS y su localización celular en condiciones estándar de cultivo, donde MGS produce bajos niveles de glucógeno, y en condiciones inductoras de la síntesis de glucógeno, donde las células fueron tratadas con LiCl o infectadas con adenovirus que codifican para PTG (Protein Targeting Glycogen), estimulando la síntesis de glucógeno. Al contrario de lo descrito, los tratamientos con LiCl no indujeron un aumento de glucógeno, mientras que al infectar con PTG se estimuló potentemente la síntesis de glucógeno. En células no tratadas, MGS está distribuida por todo el citoplasma co-localizando con Ago-2, proteína que une RNA. Al contrario, cuando se activa MGS forzándola a sintetizar glucógeno, se produce un cambio en la localización de la enzima. En estas condiciones, MGS se encuentra en gránulos de glucógeno pero no co-localizando con Ago-2. Para corroborar este efecto, realizamos ensayos de co-inmunoprecipitación. MGS co-inmunoprecipitó junto a Ago-2 en células con bajos niveles de glucógeno, pero al tratar con cloruro LiCl o infectar con PTG, no se observó co-inmunoprecipitación. Las interacciones de MGS con proteínas RBPs (RNA binding proteins) sugiere una nueva función para esta enzima.

Fondecyt-1110508, 1110571, Beca Conicyt RM, DID D-2011-09, Escuela de Graduados UACH, Becas Chile RM, Beca MECESUP RM

#### Póster 34

**REGULACIÓN DEL METABOLISMO DE GLUCÓGENO TESTICULAR: COMPLEJO MALINA-LAFORINA INTERACCIONA CON GLUCÓGENO SINTASA MUSCULAR Y PTG** (Regulation of testicular glycogen metabolism: malin-laforin complex interacts with muscle glycogen synthase and PTG)

**Vander Stelt K**, Villarroel-Espíndola F, Maldonado R, López C, Angulo C, Castro MA, Slebe JC, Concha II.

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.  
[karenvanderstelt@gmail.com](mailto:karenvanderstelt@gmail.com)

Las células de Sertoli son las encargadas de proveer el soporte estructural y nutricional al proceso espermatogénico, y son capaces de sintetizar glucógeno, principal almacén energético para las células. El objetivo de este trabajo fue demostrar que la síntesis de glucógeno testicular es regulada por el complejo malina-laforina, descrito como un mecanismo que poliubiquitina y envía a degradación a MGS (*muscle glycogen synthase*) y PTG (*protein targeting to glycogen*). Hemos demostrado la presencia de MGS en testículo y la expresión de malina y laforina. En base a estos hallazgos se analizó la interacción de estas proteínas en las líneas de células germinales GC-1 y de Sertoli 42GPA9. Por microscopía confocal se observó que malina y laforina colocalizan tanto con MGS y con PP1 (*protein phosphatase 1*) en ambos modelos celulares. Mediante *GST-pull down* se demostró la interacción de laforina, MGS y PP1 con el dominio RING de malina mientras que ensayos de *amilosa-pull down* demostraron la interacción de MGS y PP1 con este carbohidrato. Estos resultados indican que en las células que conforman el epitelio seminífero, malina y laforina forman un complejo, que sería capaz de regular la disponibilidad de enzimas que participan en la síntesis de glucógeno, sugiriendo que este mecanismo es una estrategia utilizada para mantener la homeostasis del glucógeno testicular.

Financiamiento: FONDECYT-1110508, 1110571

## Póster 35

**MODELOS DE INTERRELACIONES, BASADOS EN ECUACIONES ESTRUCTURALES, DE MARCADORES MOLECULARES, APOPTOSIS, VASCULARIZACIÓN Y TEMPERATURA, EN TESTÍCULOS DE RATAS SOMETIDAS A HIPOXIA HIPOBÁRICA.** (Interrelationships models based on structural equations of molecular markers, apoptosis, vascularization and temperature in rat testis subjected to hypobaric hypoxia)

Barrios L<sup>3</sup>, Reyes JG<sup>5</sup>, Nolasco J<sup>4</sup>, Zepeda AB<sup>1,2</sup>, Figueroa CA<sup>1,2</sup>, **Farías JG<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada (LIBBA). Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de La Frontera. Casilla 54-D, Temuco, Chile. <sup>2</sup>Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. <sup>3</sup>Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile. <sup>4</sup>Depto. de Enfermería comunitaria, Medicina preventiva y Salud Pública. Universidad de Alicante, Alicante, España. <sup>5</sup>Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile

Es conocido que la exposición a hipoxia hipobárica (HH) constituye una condición que afecta al aparato reproductor masculino. En trabajos previos en nuestro laboratorio hemos estudiado la expresión de diferentes marcadores como: HIF-1, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2, HSF-1, HSP-70 y HSP-90. Además, se ha encontrado que HH induce un aumento de temperatura local, neovascularización y apoptosis. El objetivo de este trabajo fue establecer las interrelaciones que se producen entre marcadores moleculares de vascularización y shock térmico, apoptosis y temperatura testicular, en ratas sometidas a HH, a través de tres modelos (uno por cada tipo de célula del tejido espermatogénico), basados en los Modelos de Ecuaciones Estructurales y del tipo Diagrama de Senderos. Ratas machos Wistar (tres meses de edad), con un ciclo de luz/oscuridad correspondiente a 12h/12h, fueron expuestas a una altura simulada de 4.600m en una cámara hipobárica (428 torr; PO<sub>2</sub>: 89,6 mmHg) por un periodo de 5, 15 y 30 días. La expresión de los marcadores moleculares fue determinada por inmunohistoquímica, apoptosis por método ISOL, la temperatura fue medida con un sensor a nivel local y la neovascularización por morfometría. De los resultados obtenidos se pudo establecer modelos de respuesta a hipoxia hipobárica por parte del tejido espermatogénico. En conclusión la construcción de modelos de interrelaciones, basados en ecuaciones estructurales, nos permiten un comprender los efectos de la exposición a hipoxia hipobárica sobre la espermatogénesis y establecer posibles blancos farmacológicos con fines terapéuticos.

Financiamiento: DIUFRO DI12-2007 e Innova-CORFO 06FCO11BC-118.

## Póster 36

**VARIACIONES DE LOS FENOTIPOS DE SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP) DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE ROTTERDAM: ¿UNA CONDICIÓN PERMANENTE O VARIABLE?** (Changes in polycystic ovary syndrome (PCOS) phenotype according to the Rotterdam classification: a permanent or variable condition?)

**Echiburú B**, Pérez C, Michael P, Ladrón de Guevara A, Vásquez F, Pereira C, Crisosto N, Sir-Petermann T

Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

El SOP es un trastorno endocrino-metabólico frecuente que afecta al 5-7% de las mujeres en edad reproductiva. Sus manifestaciones clínicas son heterogéneas y variables de acuerdo a la edad. La definición más reciente (Consenso de Rotterdam 2003), considera 2 ó 3 de las siguientes características para el diagnóstico: hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico (HA), oligo/anovulación (O) y ovarios de morfología poliquística (OMP). Dando origen a 4 fenotipos: HA+O+OMP (fenotipo A), HA+O (fenotipo B), HA+OMP (fenotipo C) y O+OMP (fenotipo D). No se ha establecido si estos fenotipos son permanentes o variables. Nos propusimos evaluar si el embarazo o el cambio de peso corporal modifican el fenotipo. Se incluyeron 98 pacientes (17 a 35 años) portadoras de SOP diagnosticadas y clasificadas en nuestro policlínico docente. Posteriormente se reclasificaron después de un embarazo o una variación mayor al 5% del peso corporal. Los resultados muestran que el fenotipo A fue el más prevalente (50%), los fenotipos B, C y D tuvieron frecuencias de 20%, 20% y 10%, respectivamente. Considerando las condiciones mencionadas pudimos constatar una variación en el fenotipo en la mitad de las pacientes. La disminución del peso corporal y el embarazo se asociaron con una variación desde el fenotipo A (el más afectado metabólicamente) hacia un fenotipo menos severo. Los resultados sugieren que la clasificación de un fenotipo de SOP según Rotterdam no es estática y se modifica por condiciones fisiológicas. Lo que enfatiza la importancia de mantener un peso adecuado para disminuir la severidad del SOP.

Financiamiento: FONDECYT 1071007 y 1110864.

## Póster 37

### **NUEVO ROL DEL PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) EN LA DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA** (New role of PDGF in ovarian follicular dynamic)

**Pascuali N<sup>1</sup>**, Scotti L<sup>1</sup>, Abramovich D<sup>1</sup>, Pazos C<sup>1</sup>, Sobral F<sup>2</sup>, Oubiña A<sup>2</sup>, Tesone M<sup>1</sup> y Parborell F<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>PREGNA Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina.

En el ovario, la angiogénesis cumple un rol esencial en la foliculogénesis y la formación del cuerpo lúteo. Junto al VEGF, participan otros sistemas como el de PDGF en el desarrollo de la vasculatura. Previamente, demostramos en ovario de rata que la inhibición de PDGF alteraba la foliculogénesis. El objetivo fue estudiar en ovario el rol del PDGF sobre la apoptosis, la proliferación y el desarrollo vascular. Ratas prepúberes tratadas con eCG fueron inyectadas en forma intraovárica con un inhibidor del receptor de PDGF (AG1295, 20 µg/ovario) en un ovario y el contralateral con vehículo (C). A las 24hs, los ovarios fueron aislados para extracción de ADN apoptótico, para proteínas para western, y para cortes histológicos (IHQ para VW y  $\alpha$ -actina). El AG1295 causó un incremento en la fragmentación apoptótica del ADN respecto al C ( $p < 0,001$ ). El AG1295 aumentó los niveles de caspasa-8 activa ( $p < 0,05$ ) sin alterar los niveles de FAS ni de FASL. El AG1295 aumentó los niveles de BAX (proapoptótica) sin cambios en BCL-2 (anti-apoptótica). Con respecto a la proliferación, el AG1295 disminuyó los niveles de pAKT y de pBAD (inactivo). Por IHQ observamos que el AG1295 disminuye el área vascular en células endoteliales y peri-endoteliales ( $p < 0,001$ ). En conclusión, en el ovario, el sistema de PDGF cumpliría un rol fundamental como factor de supervivencia en la selección del folículo dominante, no solo por participar en la regulación de la angiogénesis folicular, sino también por participar en la regulación de la proliferación y la apoptosis de las células ováricas.

Financiamiento proveniente de CONICET (PIP 2009), ANPCyT (2008/747) y Fundación Roemmers.

**Póster 38**

**CARACTERIZACION Y EFECTO *IN VITRO* DE 2-METOXIESTRADIOL Y 2-METOXI ESTRONA EN CELULAS LUTEAS HUMANAS DE DIFERENTES EDADES.** (Characterization and *in vitro* effect of 2-methoxyestradiol and 2-methoxyestrone in human luteal cells of different stages)

**Kohen P**, Henríquez S, Rojas C, \*Strauss JF y Devoto L.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja Arriarán. \*Dept. of Pharmaceutics, Commonwealth University. Richmond. VA. USA

La función de los estrógenos en la fisiología lútea no ha sido completamente determinada, sin embargo algunos estudios indican un efecto luteolítico indirecto del estradiol, modificando la secreción de gonadotrofinas o un efecto autocrino en el cuerpo lúteo (CL) inhibiendo la 3- $\beta$ -hidroxiesteroidehidrogenasa, sin embargo la función de sus metabolitos en el cuerpo lúteo permanece desconocida. Objetivo: Determinar los niveles de estradiol, estrona y sus metabolitos en tejido de CL de diferentes edades y su efecto sobre el potencial angiogénico. Los CL se obtuvieron por mini lap debido a procesos ginecológicos benignos. Procedimiento con consentimiento informado aprobado por Comité de Ética HCLSBA. Se determinaron las concentraciones de diferentes metoxiestrogenos (ME) por HPLC acoplado a espectrometría de masa y se evaluó el efecto de los ME sobre el potencial angiogénico en los medios condicionados de CL de diferentes edades. Nuestros resultados indican que la razón de estrona o estradiol versus sus metabolitos (2-ME1, 3-ME1, 4ME1, 2-ME2 y 4-ME2) se reduce en tejido de CL tardío, relacionándose en forma directa con el aumento de estos ME. Interesantemente no se observa una variación significativa en los niveles de COMT en los CL de diferentes edades. Concomitantemente se observa una reducción significativa en el potencial angiogénico de CL tardío. Experimentalmente 2-ME1 y 2-ME2 en dosis fisiológicas inhiben parcialmente el potencial angiogénico incrementado por hCG pero no la síntesis esteroideogénica. Esto indica la relevancia de hCG en el rescate del CL.

Financiamiento: FONDAP 15010006

## Póster 39

### **RESPUESTA ANGIOGÉNICA A LA HIPOXA EN EL CUERPO LÚTEO DE LA OVEJA: EFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A LA ALTURA Y DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ANTIOXIDANTES** (Angiogenic response to hypoxia in the sheep corpus luteum: effect of exposure time to altitude and antioxidant supplementation)

Parraguez VH<sup>1,2</sup>, Bravo L<sup>1</sup>, Pérez C<sup>1</sup>, Díaz F<sup>1</sup>, Pérez L<sup>3</sup>, Raggi L<sup>1,2</sup>, **Urquieta B<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, <sup>2</sup>Centro Internacional de Estudios Andinos (INCAS) y <sup>3</sup>Programa de Magister en Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La eficiencia reproductiva es disminuida en la altura debido a la hipoxia y al estrés oxidativo. En hembras esto se asocia a alteraciones de la dinámica y función esteroidogénica luteal. Puesto que el crecimiento y la función luteal están asociados al proceso de angiogénesis, se estudió el efecto del tiempo de exposición a la altura y de la suplementación con antioxidantes sobre la angiogénesis luteal. Se utilizaron ovejas nativas de altura (HH; n=12) y del nivel del mar (LL; n=24). Doce de estas últimas se llevaron a 3600 msnm (LH), juntándolas con las HH. Las restantes LL permanecieron a 500 msnm. La mitad de las ovejas se suplementaron diariamente con vitamina C 500 mg y E 350 UI (HHV, LHV y LLV). Cinco días después de la tercera ovulación pos-sincronización con PGF<sub>2α</sub>, los ovarios con el cuerpo lúteo se extrajeron, fijaron e incluyeron. Cortes alternados para estudio histológico (hematoxilina-eosina) e inmunohistoquímica (HIF-1α/VEGF) se fotografiaron a 400X. Las imágenes de los cuerpos lúteos fueron analizadas para área vascular y densidad de la inmunotinción HIF-1α y VEGF. El área vascular fue mayor en ovejas HHV, seguidas de las HH. No se detectó efecto de la exposición aguda a la altura ni de los antioxidantes en ovejas LH y LHV. La exposición aguda y crónica a la altura incrementó HIF-1α y VEGF, sin embargo los antioxidantes disminuyeron ambos péptidos. Se concluye que, en ovejas, la respuesta angiogénica luteal a la hipoxia es influenciada principalmente por el tiempo de exposición a la altura.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1100189

## Póster 40

**EFFECTO DE EGF, FGF-2 E IGF-I EN EL MEDIO DE MADURACION Y CULTIVO DE EMBRIONES BOVINOS GENERADOS POR FECUNDACION *IN VITRO*** (Effect of EGF, FGF-2 and IGF-I in the maturation and culture medium of bovine embryos produced by *in vitro* fertilization)

**Vargas T**<sup>1</sup>, Arias ME<sup>1</sup>, Pérez L<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Felmer R<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. [\\*rfelmer@ufro.cl](mailto:rfelmer@ufro.cl)

La optimización de los medios de cultivo es una etapa clave en la producción *in vitro* de embriones. Para mejorar su eficiencia son regularmente suplementados con una variedad de antioxidantes, factores de crecimiento y macromoléculas. Dentro de estas últimas, la más utilizada es el suero fetal bovino (SFB), cuya constitución puede variar de lote a lote o según su procedencia, constituyendo la principal fuente de variación en los programas de fecundación *in vitro*. En este trabajo se evaluó el efecto de la sustitución del SFB por factores de crecimiento como el EGF, IGF-I y FGF-2 en el medio de maduración y en el medio de cultivo de embriones bovinos generados por fecundación *in vitro*. Los ovocitos fueron obtenidos por aspiración de ovarios de vacas de matadero. Se maduraron por 24 horas en medio TCM-199 (Sigma) suplementado con hormonas en presencia de SFB o los distintos factores de crecimiento. Para la fecundación. Los ovocitos fueron incubados con espermatozoides ( $1 \times 10^6/\text{ml}$ ), durante 18 horas en medio de fertilización (Fert-TALP). Los presuntos cigotos fueron cultivados hasta el estadio de blastocistos (día 7) en medio KSOM (Millipore) a 38,5°C en mezcla de gases y humedad a saturación. En el primer experimento los tratamientos presentaron una tasa similar de maduración con respecto al medio indefinido (SFB), confirmando la factibilidad de reemplazar el SFB en el medio de maduración. Los resultados preliminares de estos factores en el medio de cultivo, muestran que es factible obtener altas tasas de blastocistos en un medio conteniendo IGF-I.

Financiamiento proyecto FONDECYT 1120241, CONICYT, Chile. Frigorífico Temuco S.A. por la disposición de ovarios.

## Póster 41

**EFFECTO DE N-ACETIL-L-CISTEINA EN ESPERMATOZOIDES BOVINOS Y EN EL DESARROLLO Y CALIDAD DE EMBRIONES GENERADOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI)** (Effect of N-Acetil-L-cysteine on bovine sperm, and quality and developmental potential of bovine embryos generated by intracytoplasmic sperm injection (ICSI))

**Pérez L<sup>1</sup>**, Arias ME<sup>1</sup>, Vargas T<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1</sup>, Felmer R<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. \*[rfelmer@ufro.cl](mailto:rfelmer@ufro.cl)

La utilización de semen criopreservado en la producción *in vitro* de embriones bovinos, influye negativamente en la calidad y desarrollo embrionario, debido al aumento en la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y a la mayor fragmentación del ADN que se ha observado. Este efecto es especialmente relevante en la técnica ICSI, en donde no existe una selección natural de espermatozoides competentes, y un espermatozoide con daños en su ADN puede ser inadvertidamente utilizado y fecundar un ovocito, reflejándose un efecto deletéreo en las posteriores etapas del desarrollo embrionario o en la implantación del embrión. En el presente estudio se determinó, mediante citometría de flujo, las propiedades antioxidantes de cuatro concentraciones (10, 1, 0,1 y 0,01mM) de N-acetil-L-cisteína (NAC) en espermatozoides bovinos, para lo cual se evaluó la formación de ROS. Adicionalmente, se evaluó el efecto del tratamiento de espermatozoides con 1 y 10mM de NAC en el desarrollo y calidad de embriones bovinos generados mediante ICSI. El tratamiento con NAC disminuyó significativamente la producción de ROS de forma dosis-dependiente, mientras que los embriones generados presentaron un mayor número de células totales y una mayor tasa de desarrollo a la etapa de blastocisto (día 8), aunque este efecto no fue significativo. En conclusión, el tratamiento de espermatozoides bovinos por 1 hora con concentraciones de NAC de 1 y 10 mM disminuye la formación de ROS, y su utilización en ICSI mejora el desarrollo y la calidad de los embriones.

Financiamiento: FONDECYT 1100449, CONICYT, Chile.

## Póster 42

### **AISLAMIENTO Y DIFERENCIACION ADIPOGÉNICA DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES OBTENIDAS DESDE MEDULA ÓSEA FETAL BOVINA** (Isolation and adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells collected from bovine fetuses)

**Araya DB** y Peralta OA

Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

Las células madre mesenquimales (CMM) poseen potencial de diferenciación hacia linajes osteogénico, condrogénico y adipogénico. A pesar del potencial uso en medicina regenerativa, existen escasos reportes sobre la biología de estas células en la especie bovina. El objetivo del presente estudio fue el de aislar CMM desde medula ósea bovina e inducir su diferenciación adipogénica bajo condiciones in vitro. La medula ósea fue obtenida por aspiración desde fetos derivados de matadero (8-9 meses; n=3). Las células fueron cultivadas y separadas en base a adherencia al plástico en medio base consistente en DMEM, SFB 10% y penicilina/estreptomicina. El medio de diferenciación consistió en medio base suplementado con 1  $\mu$ M dexametasona, 0.5 mM indometacina, 10  $\mu$ g/ml insulina, 100 mM 3-isobutil-1-metilxantina. La expresión de los genes de adipogénesis AP2, PPAR $\gamma$ , de pluripotencia NANOG y control endógeno GAPDH fue cuantificada mediante PCR cuantitativo utilizando el método  $\Delta\Delta$ CT. La expresión de PPAR $\gamma$  fue inmunodetectada utilizando anticuerpo anti-PPAR $\gamma$  e IgG anti-ratón conjugado con FITC. La adherencia al plástico permitió seleccionar CMM de aspecto fibroblástico desde extractos de medula ósea. La expresión de NANOG fue detectada en las CMM seleccionadas. Los niveles de AP2 aumentaron los días 12 y 18 de diferenciación ( $P < 0,05$ ; 16,4 y 17 veces expresión del día 0). PPAR $\gamma$  no aumento su expresión ( $P > 0,05$ ) en CMM diferenciadas; sin embargo, fue inmunodetectada en el núcleo celular el día 18 de diferenciación. Estos resultados sugieren que las CMM bovinas poseen potencial pluripotente y capacidad de diferenciación hacia linaje adipogénico.

Financiamiento: FONDECYT 11100205

### Póster 43

#### **CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE INVASIÓN TROFOBLÁSTICA Y REMODELACIÓN VASCULAR UTERINA DURANTE LA GESTACIÓN EN RATAS** (Characterization of trophoblast invasion process and uterine vascular remodeling during the pregnancy in rats)

**Pizarro M<sup>1</sup>**, Saez T<sup>1</sup>, Párraga M<sup>1</sup>, Weber M<sup>2</sup>, Fisztgerald J<sup>2</sup>, Markert U<sup>2</sup>, San Martín S<sup>1</sup>

1) Biomedical Research Centre, School of Medicine, Universidad de Valparaíso, Chile. 2) Placenta Lab, Friedrich Schiller Universität, Jena, Alemania.

La invasión del trofoblasto es un evento esencial para la gestación. En humanos, la invasión involucra dos patrones: intersticial y endovascular; y éste último implica cambios morfológicos y fisiológicos de las arterias espirales uterinas (AE). Los roedores son un modelo útil de estudio dada la similitud en la interacción del trofoblasto con la red vascular arterial de la pared del útero. No obstante, se desconocen en detalle las características del proceso de invasión trofoblástica y remodelación vascular en ésta especie. Para determinar las características morfológicas de estos procesos, se utilizaron úteros de ratas de la cepa Wistar de 8.5, 11 y 14 días de gestación. Mediante técnicas morfológicas e inmunohistoquímicas, para la determinación de *ADAM12* y *Proliferina* aplicada a cortes seriados de los sitios de implantación y las placentas, se caracterizaron los procesos de invasión trofoblástica y remodelación vascular uterina. Los resultados mostraron la presencia de *ADAM12* y *Proliferina* en células trofoblásticas que se relacionan estrechamente con las arterias uterinas desde la proyección del cono ectoplacentario, pasando por la decidua mesometrial y llegando a las porciones central y lateral del triángulo metrial. Desde el día 11 de gestación en adelante, las células trofoblásticas se localizan a nivel subendotelial e intraluminal de las arterias uterinas. La invasión del trofoblasto en el útero de rata corresponde a ambos procesos, intersticial y endovascular, acompañado de la expresión de proteínas de migración celular y remodelación vascular lo que sugiere una similitud de éste modelo con la invasión del trofoblasto en humanos.

**Acknowledgment:** Dipuv 07/2008; CI 05/2006 (Universidad de Valparaíso, Chile). Programa de Cooperación Científica Internacional CONICYT/DAAD (190-2009) and CONICYT (ACT-73), Chile.

#### **Póster 44**

### **EFEECTO DE LA DESNUTRICIÓN MATERNA EN LA NITROSILACIÓN DE PROTEÍNAS DE LA PLACENTA DE RATA (Effect of maternal malnutrition in rat placenta proteína nitrosylation)**

**Sáez T<sup>1</sup>**, Heredia A<sup>1</sup>, Casanello P<sup>2</sup>, Sobrevia L<sup>2</sup>, San Martín S<sup>1</sup>

1) Biomedical Research Centre, School of Medicine, Universidad de Valparaíso, Chile. 2) Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Diferentes estudios han demostrado que la desnutrición materna causa desórdenes homeostáticos en la vida fetal que pueden afectar la vida adulta de este individuo, los cuales pueden estar asociados al efecto del estrés oxidativo durante la gestación. Ratas de la cepa Wistar fueron sometidas a desnutrición durante la gestación. Se obtuvieron placentas de los días 14, 17 y 20 de gestación (dg). Se evaluó la presencia y distribución de residuos de nitrotirosina, como indicador de daño asociado a estrés oxidativo placentario, a través de inmunohistoquímica. Se observó una acumulación de residuos de nitrotirosina en las células gigantes de trofoblasto desde el día 14 dg, con un leve aumento en las células del espongiotrofoblasto hacia el día 20 dg en placentas de ratas control. Sin embargo, en las placentas del grupo de ratas desnutridas, se observó una mayor presencia de residuos de nitrotirosina en el día 17 dg. En estas placentas los residuos de nitrotirosina fueron identificados tanto en las células gigantes del trofoblasto como del espongiotrofoblasto así como en el laberinto placentario. Nuestros resultados indican que la condición de desnutrición materna promueve cambios en la presencia y acumulación de residuos de nitrotirosina que no solamente afecta a las células gigantes del trofoblasto o del espongiotrofoblasto, sino que también a las células del laberinto responsables del intercambio materno-fetal, lo cual podría estar relacionado con los efectos de esta condición patológica en la placenta y el feto durante la gestación.

Financiamiento: Dipuv 07/2008; CI 05/2006 (Universidad de Valparaíso, Chile), FONDECYT 1110977 and CONICYT (ACT-73), Chile.

## Póster 45

### **DETERMINACIÓN DE ROS EN ESPERMATOZOIDES DE CANINO CONGELADOS-DESCONGELADOS: EFECTO DEL MÉTODO DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA** (Determination of ROS in frozen-thawed canine sperm: effect of sperm selection method).

Risopatrón J<sup>1,2</sup>, **Merino O**<sup>1</sup>, Ferrada P<sup>1</sup>, Sánchez R<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), <sup>2</sup>Dpto. Cs. Básicas  
<sup>3</sup>Depto. Cs. Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Los espermatozoides congelados-descongelados presentan mayores niveles de ROS comparados con los del semen fresco en canino, induciendo daños en las membranas y ADN de los espermatozoides. Sin embargo, no ha sido investigado la aplicación simultánea de Swim up (SU) y Gradiente de Percoll (GP) en espermatozoides de caninos descongelados. Se comparó la eficacia de Swim up y Gradiente de Percoll en la recuperación de espermatozoides altamente funcionales, con bajos niveles de ROS y fragmentación del ADN en semen de canino descongelado. Semen descongelado fue dividido en alícuotas similares que fueron procesadas por: I. Lavado por centrifugación (control: C); II. Swim up y III. Gradiente de Percoll. En los espermatozoides de cada grupo se determinó: la viabilidad (SYRB-14/PI), fragmentación del ADN (TUNEL) y el nivel de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracelular (CM-H<sub>2</sub>DCFDA) por citometría de flujo. La viabilidad fue significativamente menor ( $p > 0,005$ ) en SU ( $33,24 \pm 9,4$ ) comparado con C y GP ( $40,86 \pm 9,2$ ;  $39,59 \pm 6,7$ ). La fragmentación del ADN fue significativamente mayor en SU ( $0,38 \pm 0,39$ ) comparado con C y GP ( $0,066 \pm 0,09$ ;  $0,020 \pm 0,04$ ). Los porcentajes de células viables con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracelular fueron similares entre los grupos ( $x = 5,65 \pm 2,5$ ). Los resultados sugieren que, la aplicación de GP en semen congelado-descongelado de canino permite recuperar espermatozoides con mayores porcentajes de viabilidad y baja fragmentación de ADN. Sin embargo, los procedimientos de selección aplicados no disminuyen el porcentaje de espermatozoides con ROS intracelular.

Financiamiento: DIUFRO D112-0089. Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera.

## Póster 46

### **EFECTO DE EXTRACTOS DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN ESPERMATOZOIDES DE CANINO REFRIGERADOS** (Effect of Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts on chilled canine sperm)

Deppe M<sup>1,2</sup>, **Merino O**<sup>1</sup>, Reyes-Díaz M<sup>3</sup>, Risopatrón R<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), <sup>2</sup>Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. <sup>3</sup>Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology–BIOREN. Depto. Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad de la Frontera.

La refrigeración (4°C), en el proceso de crioconservación permite la adaptación de las células reduciendo su metabolismo. Se ha demostrado que la adición de antioxidantes en esta etapa mejoraría la calidad espermática. Al respecto es conocida la riqueza en antioxidantes que poseen los “berries”, entre ellos, el arándano alto *Vaccinium corymbosum* L. Sin embargo, su efecto en los espermatozoides de caninos no ha sido investigado. El presente estudio evalúa el efecto de la adición de extractos de hojas de arándano (EHA), al medio de refrigeración sobre la motilidad y viabilidad espermática en canino. Previamente se evaluó la capacidad antioxidante (CA) de los EHA utilizados a través del método del radical libre 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Espermatozoides desprovistos del plasma seminal fueron diluidos ( $400 \times 10^6$  células/ml) en los siguientes medios de refrigeración: A) Tris-Yema de Huevo (TYH; control), B) TYH con 25% EHA y C) TYH con 50% EHA. Después de 1 hora de refrigeración se evaluó la motilidad y viabilidad e integridad de la membrana plasmática (SYBR-14/PI). La CA de los EHA utilizados fue de 0.42  $\mu\text{g}$  equivalentes Trolox/ $\mu\text{l}$ . La adición de EHA produjo un efecto positivo y significativo ( $P < 0.05$ ) respecto al control, sobre la viabilidad de los espermatozoides independiente de la concentración del extracto. No obstante no produjo el mismo efecto sobre la motilidad, donde no fueron observadas diferencias significativas respecto al control sin EHA. Estos resultados preliminares sugieren que la adición de EHA mejoraría la viabilidad espermática bajo condiciones de refrigeración. Además estos antecedentes previos nos permitirán evaluar en la próxima etapa, el efecto antioxidante del arándano en los procedimientos de crioconservación espermática.

Financiamiento: FONDECYT 1120917.

## Póster 47

**ANÁLISIS DE PUTATIVOS MARCADORES DE CAPACITACIÓN Y CRIOCAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES EQUINOS CONGELADOS CON UN DILUYENTE EXPERIMENTAL Y CON EL DILUYENTE COMERCIAL BOTUCRÍO** (Analysis of new capacitation and criocapacitation marker in cryopreserved equine sperm with a new experimental extender and other commercial extender, Botucrío)

**Valenzuela P**, Córdoba A, Strobel P, Ramírez A

Laboratorio de Criobiología y Análisis de Funcionalidad espermática, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile

El término criocapacitación se acuñó para representar las similitudes existentes entre los cambios experimentados durante la capacitación y la criopreservación espermática. Algunos de estos cambios son, aumentos tempranos de AMPc y tardíos incrementos de Ca<sup>2+</sup> y fosfotirosinas totales. En este trabajo se evaluó la presencia y localización de fosfoproteínas mediante western blot e inmunocitoquímica fluorescente. Se evaluó p-DARPP32 como sensor de AMPc, p-CaMKIV como sensor de Ca<sup>2+</sup>, adicionalmente fosfotirosinas totales. Asumiendo la capacitación como un modelo de señalización secuencial se espera que la fosforilación de estas proteínas aumente a medida que los espermatozoides son capacitados, siendo el AMPc un evento temprano, los influxos de Ca<sup>2+</sup> un evento intermedio y la fosforilación en tirosinas un evento tardío. Adicionalmente, se evaluó motilidad y viabilidad espermática mediante el sistema CASA. Para inducir la capacitación se utilizó el medio Wittens Modificado suplementado. Los tiempos de incubación usados fueron de 6 horas (espermatozoides frescos) y 2 horas (espermatozoides criopreservados con el diluyente experimental HM-0 y con Botucrío). La evaluación de las fosfoproteínas de los espermatozoides frescos y capacitados indican los niveles esperables, es decir, una alta fosforilación temprana de p-DARPP32 y una alta fosforilación de p-CaMKIV y fosfotirosinas luego de 1,5 horas de capacitación. Los espermatozoides criopreservados, en cambio, presentaron similares señales de p-DARPP32, p-CaMKIV y fosfotirosinas a las 0 y 2 horas de capacitación con ambos diluyentes. Estos resultados indican que la dinámica de capacitación de espermatozoides criopreservados difiere de la de espermatozoides frescos, sugiriendo que los eventos celulares-moleculares involucrados en la criocapacitación difieren de la capacitación fisiológica.

Financiamiento: FONDEF D0811076

## Póster 48

### **EFFECTO DE LOS METODOS DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA SOBRE LA FUNCIÓN DEL ESPERMATOZOIDE EN SEMEN CONGELADO/DESCONGELADO DE EQUINO** (Effect of sperm selection methods on sperm function in equine sperm after thawing)

**Cabrera P<sup>1</sup>**, Sánchez R<sup>1</sup>, Risopatrón J<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile, <sup>2</sup>Depto. Cs. Básicas, Facultad de Medicina Universidad de la Frontera, Chile.

La criopreservación produce cambios estructurales y funcionales en los espermatozoides. Como consecuencia, el semen congelado/descongelado contiene espermatozoides no viables y viables pero dañados estructuralmente. Es importante post-descongelación utilizar procedimientos de selección que permitan recuperar una población de espermatozoides altamente funcionales. Se evaluó el efecto de las técnicas de selección Swim-Up y Equipure®, en semen congelado/descongelado de equino. Semen de 3 potros (A, B y C) de raza chilena en edad reproductiva fueron congelados-descongelado y procesados por: I) Swim-up (SU) y II) Equipure® (EQ). Se evaluó post-selección espermática: El porcentaje de motilidad progresiva (MO; subjetivamente) y la viabilidad (SYBR-14/PI), potencial de membrana mitocondrial ( $\Psi\Delta m$ ; JC-1), integridad del acrosoma (PSA-FITC/PI) por citometría de flujo. AL comparar ( $P < 0.05$ ) SU con EQ: MO fue mayor con SU en todos los animales: A( $55,7 \pm 5,8\%$  v/s  $38,17 \pm 3,7\%$ ), B( $24,2 \pm 3,2\%$  v/s  $21,8 \pm 2,2\%$ ) y C( $37,5 \pm 7\%$  v/s  $32 \pm 2,1\%$ ); la viabilidad fue significativamente mayor con SU en el potro A( $54,38 \pm 1,7\%$  v/s  $36,7 \pm 1,9\%$ ), no se observaron diferencias significativas en B( $15,2 \pm 6,4\%$  v/s  $12,6 \pm 0,7\%$ ) y C( $36,1 \pm 5,7\%$  v/s  $29,4 \pm 4,8\%$ ); el  $\Psi\Delta m$  fue mayor con SU en todos los animales: A( $69,09 \pm 8,64\%$  v/s  $47,44 \pm 3,34\%$ ), B( $59,34 \pm 12,35\%$  v/s  $24,85 \pm 1,56\%$ ) y C( $54,95 \pm 12,35\%$  v/s  $43,25 \pm 3,08\%$ ); con respecto a la integridad del acrosoma se aprecian diferencias entre los procedimientos pero no son estadísticamente significativas: A( $32,29 \pm 2,76\%$  v/s  $34,68 \pm 2,75\%$ ), B( $12,77 \pm 8,00\%$  v/s  $7,46 \pm 0,92\%$ ), C( $23,31 \pm 4,079\%$  v/s  $18,25 \pm 2,48\%$ ). Se observaron diferencias individuales entre los animales en los parámetros evaluados. No obstante, la aplicación de SU en semen congelado/descongelado de equino permite recuperar espermatozoides de mayor calidad funcional, su utilización optimizaría las técnicas de reproducción asistida en equino.

Financiamiento: CEBIOR y Proyecto DI10-2019, Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera.

## Póster 49

### **EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE EXTENSORES DE CONGELACIÓN DE SEMEN SOBRE LA CAPACIDAD DE UNIÓN DE ESPERMATOZOIDES EQUINOS A ZONA PELÚCIDA DE OVOCITOS BOVINOS** (Evaluation of semen freezing extenders effects on linkage ability from equine spermatozoa to zona pellucida from bovine oocytes)

**Mosqueira T**<sup>1,2</sup>, Ratto M<sup>1</sup>, Ramírez A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, <sup>2</sup>Laboratorio de Criobiología, <sup>1,2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

La tasa de preñez en equinos mediante el uso de semen congelado suele ser baja. Nuestro laboratorio ha formulado un nuevo diluyente de congelación, HM-0, al cual se le han adicionado fármacos activadores e inhibidores de la enzima AMPK con el fin de disminuir el daño inducido en la criopreservación. Para determinar el efecto de estos fármacos sobre la función espermática, se desarrolló un ensayo para evaluar la capacidad de unión del espermatozoide equino a la zona pelúcida de ovocitos bovinos. El semen equino fue colectado con vagina artificial, diluido y congelado con el diluyente HM-0 suplementado con: 1) Metformina, 2) AICAR, 3) Compuesto C, 4) AICAR+Compuesto C, o 5) AMP. Se utilizaron como controles semen fresco sin diluir ni congelar y semen congelado utilizando el diluyente comercial BotuCrio®. Muestras de espermatozoides de cada uno de estos grupos fueron co-incubados con ovocitos de bovino en medio de capacitación Whiten modificado durante 1 o 4 horas (15-20 ovocitos por  $1 \times 10^6$  espermatozoides). Posteriormente, los ovocitos fueron lavados, fijados, teñidos con Hoesch y fotografiados. Se determinó número de espermatozoides adheridos por ovocito utilizando software Sperm Class Analyzer. La tasa de adherencia a la zona pelúcida fue mayor a las 4 horas de incubación para los espermatozoides procesados con el diluyente comercial en comparación con aquellos pertenecientes a HM-0 o HM-0 con aditivos. Se concluye que tanto el medio base HM-0 con o sin adición de fármacos tuvieron una tasa de adherencia menor que la contraparte comercial.

Financiamiento: FONDEF D0811076

## Póster 50

**VIABILIDAD E INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN ESPERMATOZOIDES DE TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*) ALMACENADOS A 4°C POR 14 DÍAS** (Viability and integrity of the plasma membrane in spermatozoa of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored at 4 ° C for 14 days)

**Trigo P<sup>1</sup>**, Merino O<sup>1</sup>, Valdebenito I<sup>3</sup>, Risopatrón J<sup>1,2</sup>.

Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile<sup>1</sup>, Depto. Ciencias Básicas, Facultad de Medicina Universidad de la Frontera, Chile<sup>2</sup>. Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica Temuco<sup>3</sup>

El almacenamiento de gametos es ampliamente utilizado en acuicultura. En las especies de salmónidos de cultivo de Chile, los efectos del envejecimiento por almacenamiento sobre la función espermática han sido poco investigados, es fundamental conocer el nivel de daño que se produce para optimizar las condiciones de manejo *in vitro*. El presente estudio evalúa el efecto del almacenamiento a 4°C en la motilidad y viabilidad e integridad de membrana plasmática en espermatozoides de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). El semen fue almacenado en diluyente Stopmilt (1:2v/v) y sin diluir (control), en oscuridad y con inyección de oxígeno. Al 0, 7 y 14 días de almacenamiento se evaluó nivel (escala de 0 a 5) y tiempo (segundos) de motilidad y la viabilidad e integridad de la membrana plasmática (SYBR-14/PI) por citometría de flujo. La motilidad entre los tratamientos no presentó diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ) al día 0 (5;29±1,8s v/s 5;33±8,8s), día 7 (4;27±3,2s v/s 4;31±1,7s), día 14c (2;24±16,8s v/s 3;32±4,4s), respectivamente. Similarmente, con respecto a viabilidad e integridad de la membrana plasmática no se observaron diferencias ( $p>0,05$ ); día 0 (81.3% v/s 87.9%), día 7 (45.7% v/s 42.6%), día 14 (17.4% v/s 24%). Los resultados sugieren que, las condiciones de almacenamiento utilizadas en el presente estudio hasta el día 14, no afectaron la duración de la motilidad (s). El nivel de motilidad y la viabilidad fueron mantenidos adecuadamente hasta el día 7. Sin embargo, en ambos grupos, la motilidad y viabilidad e integridad de la membrana plasmática sufren deterioro a través del tiempo de almacenamiento.

Financiamiento: FONDECYT 1120705

## Póster 51

### **MICROENCAPSULACIÓN DE ESPERMATOZOIDES EN TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*): RESULTADOS PRELIMINARES** (Microencapsulation of sperm in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Preliminary results)

**Lozano C**<sup>1</sup>, Merino O<sup>1</sup>, Valdevenito I<sup>3</sup>, Sánchez R<sup>1,2</sup>, Risopatrón J<sup>1,2</sup>.

Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile<sup>1</sup>, Depto. Cs. Básicas, Facultad de Medicina Universidad de la Frontera, Chile<sup>2</sup>. Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica Temuco<sup>3</sup>

La microencapsulación celular es utilizada para optimizar técnicas de reproducción asistida y ha sido aplicada con éxito en almacenamiento en frío de espermatozoides porcinos, ovinos, caninos y humanos. Sin embargo, no existen antecedentes de este proceso de criopreservación en espermatozoides de peces. El presente estudio aplica el método de microencapsulación de espermatozoides en trucha arcoíris almacenados a 4°C y evalúa su efecto sobre la motilidad, viabilidad e integridad de la membrana plasmática. Para la microencapsulación se aplicaron los siguientes protocolos: A) Alginato de sodio (AS) 1%(w/v); B) 1,5%; C) 1,5% + KCl 0,012%(w/v) y D) 2% + KCl 0,012%(w/v). La polimerización se realizó con CaCl<sub>2</sub> 1,5%(w/v). Para permeabilizar las microcápsulas se utilizó poly-l-lisina 0,04%. Las microcápsulas fueron almacenadas en medio Cortland a 4°C por 3 días. La licuefacción se realizó en citrato de sodio 3% (post 3 días). La concentración espermática fue de  $3,2 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^5$  espermatozoides/ml por microcápsula. Post licuefacción se determinó el porcentaje y tiempo (s) de motilidad espermática utilizando microscopio contraste de fase y la viabilidad (SYBR-14/PI) por citometría de flujo. Presentaron motilidad solamente los espermatozoides C ( $20 \pm 5,5\%$ ;  $59 \pm 3,6s$ ) y D ( $22 \pm 4,7\%$ ;  $58 \pm 3,7s$ ). Con respecto, a la viabilidad e integridad de la membrana plasmática, no se observaron diferencias significativas entre C ( $99,6 \pm 0,07\%$ ) y D ( $99,5 \pm 0,3\%$ ). Los resultados preliminares sugieren que los espermatozoides de trucha arcoíris son factibles de ser microencapsulados y conservados a 4°C sin pérdida significativa de la viabilidad y que la incorporación de KCL es esencial para mantener la motilidad.

Financiamiento: FONDECYT 1120705, FONDEF DO111064, CONICYT.

## Póster 52

**LA INSEMINACIÓN INTRAUTERINA CON ESPERMATOZOIDES REGULA LA EXPRESIÓN DE COMT Y SUS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN EN EL OVIDUCTO Y LA ACTIVIDAD DE ERK EN LA HIPOFISIS DE RATA** (Intrauterine insemination of sperm cells regulates the expression of COMT and its transcription factors in the oviduct and the activity of ERK in the rat hypophysis).

**Curotto C**<sup>1</sup>, Orostica ML<sup>1</sup>, Reuquén P<sup>1,2</sup>, Orihuela PA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Universidad de Santiago de Chile y

<sup>2</sup>Escuela de Bioquímica, Universidad Andrés Bello.

La inseminación intrauterina con espermatozoides apaga la vía de señalización no-genómica del estradiol (E<sub>2</sub>), dependiente de la actividad de la Catecol-o-metiltransferasa (COMT), en el oviducto de la rata. En este trabajo determinamos si los espermatozoides producen cambios en la vía de señalización de COMT y TNF- $\alpha$  en el oviducto. Además, exploramos si el efecto de los espermatozoides puede alcanzar órganos lejanos al sitio de inseminación. Ratas en la mañana del estro fueron inseminadas intrauterinamente con 10-20 millones de espermatozoides y 3 horas después los oviductos e hipófisis fueron extraídos. Los niveles oviductales del ARNm de *Tnf- $\alpha$* , *Comt*, y los factores de transcripción *RelA*, *Foxo1A1* y *Gata-3* fueron determinados por Real-time PCR, la localización de los receptores de TNF- $\alpha$  por inmunofluorescencia y los niveles de TNF- $\alpha$  en el fluido oviductal por ELISA. Por otro lado, los niveles de ERK total y ERK-fosforilado fueron determinados por western blot en la hipófisis. La presencia de espermatozoides disminuyó los niveles de *Comt* y sus factores de transcripción en el oviducto, y decreció la actividad de ERK en la hipófisis. Sin embargo, ninguno de los parámetros asociados a TNF- $\alpha$  cambió en el oviducto luego de la inseminación de espermatozoides. Se concluye que los espermatozoides apagan la vía no-genómica del E<sub>2</sub> regulando la señalización de COMT, pero no de TNF- $\alpha$ , en el oviducto de la rata. Además, se reporta un rol de los espermatozoides en la regulación de la hipófisis lo cual muestra un efecto del coito sobre órganos distantes al tracto reproductor femenino.

Financiamiento: FONDECYT 1110662

### Póster 53

**INTERACCION ENTRE EL SISTEMA NOTCH Y LOS CAMINOS INTRACELULARES PI3K/AKT Y MAPK EN UNA LINEA OVARICA TUMORAL DE GRANULOSA HUMANA** (Interaction between Notch system and PI3K/AKT and MAPK signaling pathways in a human ovarian granulosa tumor cell line)

**Pazos C**, Pascuali N, Tesone M, Irusta G

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

**Introducción:** En diversos sistemas tumorales se ha demostrado que el sistema Notch se encuentra involucrado en la supervivencia de células tumorales y además, interacciona con diferentes vías de transducción de señales.

**Objetivos:** Estudiar el rol de Notch sobre la línea celular KGN y su interacción con las vías de PI3K/AKT y MAPK.

**Metodología:** En la línea celular KGN se estudiaron los siguientes parámetros, en presencia y ausencia del inhibidor de la vía de Notch: **a.** proliferación y viabilidad celular, **b.** niveles de caspasa-8, FAS y FASL y **c.** niveles de AKT y ERK1/2 fosforilados y PTEN. Además, se examinó la viabilidad y capacidad migratoria de las células KGN en presencia de inhibidores de la vía de PI3K/AKT y ERK1/2.

**Resultados:** Se observó una disminución de la proliferación, viabilidad y niveles de AKT fosforilado y PTEN en las células KGN en presencia del inhibidor de la vía de Notch. No se observaron cambios en los niveles de ERK1/2 fosforilado. También se detectó un aumento del clivaje de caspasa 8 sin detectarse cambios en las proteínas FAS y FASL. Además, se observó una disminución en la viabilidad y migración de las células en presencia de inhibidores de las vías de PI3K/AKT y MAPK.

**Conclusión:** El sistema Notch afecta la viabilidad de las células KGN y se encuentra relacionado a las funciones de supervivencia que la vía de transducción PI3K/AKT posee sobre células KGN. Por el contrario, este sistema no parece interactuar con el camino de MAPK.

Financiamiento proveniente de CONICET y Fundación Roemmers.

**Póster 54**

**LA EXPRESIÓN DE SNAIL Y MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR SE ASOCIA CON LA CAPACIDAD TUMORIGÉNICA EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO** (Snail and cellular adhesion molecules expression is associated with the tumorigenic capacity in prostate cancer cell lines)

**Seguel V**, Muñoz D, Ochoa N, Castellón EA, Contreras HR

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

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo en incidencia mundial y la segunda causa oncológica de muerte en hombres en Chile. En la progresión del CaP las células cambian su fenotipo y funcionalidad epitelial y adquieren características mesenquimales a través de un proceso conocido como Transición Epitelio Mesenquimal (TEM). Durante la TEM se produce una alteración en la expresión y localización de algunas moléculas de adhesión celular (MAC) y en la expresión de algunos factores transcripcionales. En este trabajo se analizó cualitativa y cuantitativamente, mediante inmunocitoquímica (IC), la expresión de Sindecano 1, Sindecano 2, E-cadherina y N-cadherina, así como su relación con la expresión del factor transcripcional Snail, en líneas celulares de CaP con baja (LNCaP) y alta (PC3) capacidad tumorigénica. El análisis cuantitativo de las IC se realizó utilizando el programa ImageJ para obtener los valores de DOI (densidad óptica integrada). Finalmente, se aplicó el método estadístico Anova. Los resultados indican un aumento significativo en la expresión de Snail en PC3 cuando se compara con LNCaP ( $p < 0,014$ ). Este aumento se correlaciona con la disminución en la expresión de las MAC, E-Cadherina ( $p < 0,005$ ), N-Cadherina ( $p < 0,001$ ), Sindecano-1 ( $p < 0,001$ ) y Sindecano-2 ( $p < 0,001$ ). El análisis cualitativo, confirma la expresión normal de estas moléculas con la excepción Sindecano 2, en que se pierde la marca citoplasmática y de membrana, lo que sugiere una liberación proteolítica de su ectodominio. Estos resultados permiten concluir que existe un incremento en la expresión de Snail y MACs que podría estar asociado a una mayor capacidad tumorigénica en líneas celulares de CaP.

Financiamiento: FONDECYT 1110269 (HC)

**Póster 55**

**SINDECANO-2 PARTICIPA EN LA PROLIFERACIÓN, INVASIÓN Y ANGIONGÉNESIS EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA** (Syndecan-2 participates in the proliferation, invasion and angiogenesis in the prostate cancer)

Gallardo M, Farfán N, Poblete C, Castellón EA y Contreras HR.

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

Datos recientes de nuestro laboratorio indican que Sindecano 2 (S2) presenta baja expresión en grados de mayor agresividad del cáncer de próstata (CaP). Se ha sugerido que la disminución en la localización de S2 anclado a la membrana plasmática podría estar implicada en invasión, angiogénesis y metástasis. En este trabajo se evaluó, mediante western blot, el efecto la expresión ectópica tanto de de S2 normal como el de una mutante con un ectodominio que se libera al medio extracelular, sobre el fenotipo de líneas celulares de CaP y endoteliales humanas. Las células LNCaP se transfectaron establemente con S2 normal y mutante. Posteriormente, se evaluó la proliferación, capacidad de adhesión, trans migración e invasión de las células. Finalmente, se evaluó el efecto del ectodominio de S2 sobre la proliferación de células endoteliales. Los resultados indican que la expresión ectópica de S2 normal produce un aumento en la proliferación celular, en la capacidad de adhesión, trans migración e invasión. La liberación al medio del ectodominio de S2, produce un aumento en la proliferación celular, pero no en la capacidad de adhesión ni migración. Al incubar células endoteliales en presencia del ectodominio soluble de S2 se observó aumento en su tasa proliferativa. Se concluye que la participación de S2 en el CaP ocurre en múltiples etapas. Por una parte, su sobreexpresión favorece el aumento en proliferación celular, capacidad de adhesión y migración, mientras que su ectodominio soluble induce proliferación de células endoteliales favoreciendo el proceso angiogénico.

Financiamiento: FONDECYT 1110269 (HC), MG: Becaria CONICYT, NF: Becaria MECESUP

**Póster 56**

**EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR ABCG2 EN CÁNCER PROSTÁTICO Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA A DROGAS** (Expression of ABCG2 transporter in prostate cancer and its relationship to drug resistance)

**Castillo V**, Sánchez C, Contreras HR, Huidobro C, Castellón EA.

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

Las proteínas de multiresistencia a drogas (MDR) están asociadas con la resistencia a la quimioterapia en varios cánceres. Una de estas proteínas, ABCG2, es expresada principalmente en células troncales tumorales (CSCs). El objetivo de este trabajo fue determinar su expresión en muestras de carcinoma prostático (CaP) de diferentes grados histológicos y de hiperplasia prostática benigna (HPB), y evaluar su relación con la MDR utilizando cultivos primarios de CaP. Para la detección de ABCG2 en muestras tumorales se utilizó inmunohistoquímica y en cultivos primarios, inmunofluorescencia. Para evaluar la resistencia a drogas, las células se trataron con quimioterapéuticos en presencia y ausencia de un inhibidor específico de ABCG2, evaluándose la sobrevida mediante el ensayo MTT. ABCG2 se expresó diferencialmente en el dominio apical de las células epiteliales en las muestras de CaP de bajo grado de Gleason y en el citoplasma en CaP de grado medio y alto. La mayor expresión se observó en los grados medios. En HPB se observó expresión moderada en células basales y endotelio y escasa en células lumbinales. Los cultivos primarios expresan ABCG2, preferentemente, en la región perinuclear y en el citoplasma. Se observó una sobrevida celular mayor luego del tratamiento con topotecan en comparación con daunorubicina. En ambos casos, la sobrevida disminuyó en presencia de un inhibidor de ABCG2. Dado que ABCG2 se considera un marcador de CSCs, los resultados sugieren que estas células estarían en mayor cantidad en grados histológicos medios. Considerando su participación en el fenotipo MDR podría ser considerada un potencial blanco terapéutico.

Financiamiento: FONDECYT N° 1100183

**Póster 57**

**CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES EN ESFEROIDES DERIVADOS DE MUESTRAS DE PACIENTES CON CARCINOMA PROSTÁTICO** (Characterization of cancer stem cells in spheroids derived from samples of patients with prostate carcinoma)

**Valenzuela R**, Castillo V, Poblete C, Tobar E, Contreras HR, Huidobro C, Castellón EA

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

El cáncer de próstata (CaP) es una de las principales causas de mortalidad oncológica en hombres a nivel nacional y mundial. A pesar de contar con herramientas para su detección temprana presenta una alta resistencia a los tratamientos. Se postula que las células troncales tumorales (CSCs) serían las responsables de la metástasis, recidiva y resistencia en la mayoría de los cánceres. Las CSCs se encuentran en cantidad reducida en tejidos tumorales (0,1 - 1%) y se han establecido protocolos para su aislamiento y cultivo enriquecido, basándose en su capacidad de generar esferoides cuando se hacen crecer en ausencia de suero. El objetivo de este trabajo fue aislar CSCs de cultivos primarios derivados de muestras de CaP, mediante la inducción de crecimiento en esferas (prostatósferas) y la separación por métodos inmuno-magnéticos (MACS), y su posterior caracterización a través de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y qPCR. Se observó, en las prostatósferas, una elevada expresión de CD133, CD44, ABCG2, ALDH y ausencia de marcadores de diferenciación, como receptor de andrógeno y PSA, en comparación con los cultivos originales. La subpoblación CD133+ aislada mediante MACS mostró, además, una elevada expresión de los marcadores CD44 e integrina  $\alpha 2\beta 1$ . El análisis de expresión génica de estas CSCs, evidenció una alta expresión de genes de troncalidad tales como Sox2 y Nanog. Los resultados indican que la inducción de esferoides combinada con la separación por MACS hace posible enriquecer los cultivos en CSCs permitiendo caracterizarlas con el propósito de encontrar nuevos blancos terapéuticos para una potencial estrategia de eliminación selectiva.

Financiamiento: FONDECYT 1100183 (EC). Beca Doctorado CONICYT (RV).

**Póster 58**

**INMUNODETECCION DE RECEPTORES DE ADIPONECTINA, ADIPOR1 Y ADIPOR2, EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO** (Immunodetection of adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2, in endometria of women with polycystic ovarian syndrome)

**García V**<sup>1,3</sup>, Rosas C<sup>1</sup>, Poblete C<sup>1</sup>, Cuevas F<sup>1</sup>, Carvajal R<sup>2</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, <sup>2</sup>Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Hospital Padre Hurtado, Santiago, Chile.

Las pacientes con SOP presentan un riesgo de pérdida reproductiva mayor a la población general, es decir, pueden presentar una mayor probabilidad de abortos. Múltiples alteraciones a nivel endometrial y del ovocito son propuestas como causa. Asimismo, la obesidad es una patología que alteraría diferentes moléculas (adiponectina y sus receptores AdipoR1/AdipoR2) a nivel endometrial relacionadas con implantación. Nuestro objetivo fue evaluar los niveles proteicos de los receptores AdipoR1 y AdipoR2 en tejido endometrial de pacientes SOP, delgadas y obesas. Para ello, se realizó inmunohistoquímica para AdipoR1 y AdipoR2 en endometrios proliferativos de pacientes SOP con IMC<25, normoinsulinémicas e IMC>30, hiperinsulinémicas y en controles. Los niveles plasmáticos fueron evaluados a los 120 min por test de tolerancia a la glucosa oral. En los tres grupos se evaluó la Densidad Óptica (IOD) de la tinción positiva. Los resultados muestran la presencia de AdipoR1 y AdipoR2 en todos los endometrios analizados, tanto en epitelio como en estroma. No obstante, la presencia de AdipoR1 es menor (50%) en los endometrios de mujeres SOP, independiente de su IMC respecto a controles. Por el contrario, los niveles de AdipoR2 están relacionados con el IMC, siendo mayores (60%) en las pacientes SOP-obesas respecto a SOP-delgadas y controles. En conclusión, la condición endocrino-metabólica del SOP alteraría la expresión endometrial de los receptores AdipoR1 y AdipoR2. Además, los datos sugieren que los niveles aumentados de AdipoR2 en endometrio SOP-obesas pudiesen corresponder en forma compensatoria a niveles circulantes bajos de adiponectina, descritos en mujeres con SOP, obesas e insulino-resistentes.

Financiamiento: FONDECYT 1095127-MV, Beca CONICYT Apoyo Tesis Doctoral 24121256-CR

## Póster 59

**EVALUACIÓN DE NIVELES PROTEICOS DE CICLINA D1 EN UN MODELO *IN-VITRO* DE CÉLULAS ENDOMETRIALES EXPUESTAS A ESTÍMULOS CON ESTEROIDES.** (Evaluation of protein levels of cyclin D1 in an *in-vitro* model of endometrial cells exposed to steroids stimuli)

**Plaza F<sup>1</sup>**, Astorga I<sup>1</sup>, Kohan K<sup>1</sup>, Tapia V<sup>1</sup>, Poblete C<sup>1</sup>, Romero C<sup>1,2</sup>, Valladares L<sup>3</sup>, Vega M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, <sup>2</sup>Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, <sup>3</sup>INTA, Universidad de Chile.

Los endometrios de mujeres con síndrome de ovario poliquístico (ESOP) presentan un favorecimiento de los procesos proliferativos y disminución de apoptosis. En el ciclo menstrual normal, los estrógenos activan en el endometrio procesos proliferativos. En ESOP se han descrito modificaciones en la metabolización intracelular de esteroides, que probablemente, incrementan las concentraciones intracelulares de esteroides con actividad estrogénica, como androstenediol. La progresión de ciclo celular normal es regulada por la interacción entre ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas. Particularmente, ciclina D1 está incrementada en ESOP en células epiteliales. En el presente estudio se desarrolló un modelo *in-vitro* de células endometriales con el objeto de determinar si concentraciones elevadas de esteroides modifican los niveles de ciclina D1. Células de la línea T-HESC fueron estimuladas con concentraciones crecientes de testosterona, estradiol y androstenediol (0-10-100-1000 nM), y posteriormente, los niveles proteicos de ciclina D1 fueron evaluados por western blot. En las células estimuladas con androstenediol y con estradiol se detecta un incremento al estimular con 10 nM, sin embargo con los estímulos 100 nM y 1000 nM los niveles disminuyen (~10%) versus condiciones basales. Para los estímulos con testosterona no se detectaron diferencias al comparar con los basales. Los resultados indican que estradiol y androstenediol inducen una respuesta similar en las células T-HESC, afectando los niveles de la proteína ciclina D1. Por lo anterior, es probable que la regulación del ciclo celular dada por estos esteroides ocurre a través de la modulación de otras proteínas involucradas en ciclo celular como p27.

Financiamiento: FONDECYT#1095127 (MV) y #1100299 (LV). Beca de Apoyo de Tesis Doctoral CONICYT #24121153 (FP). Beca CONICYT Doctorado Nacional #21100275 (FP)

## Póster 60

### **EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA MATRIZ EXTRACELULAR (EMAP), DURANTE EL CICLO MENTRUAL E TROMPAS DE FALOPIO HUMANAS** (Expression of matrix extracellular-associated proteins (EMAP), during menstrual cycle in human fallopian tubes)

**Solar P**<sup>1,2</sup>, Juica N<sup>1,2</sup>, Velasquez L<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Center of Integrative Medicine and Innovative Sciences (CIMIS), Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y Nanotecnología CEDENNA

Recientemente hemos descrito en el tracto reproductor femenino, la expresión de las proteínas que regulan la matriz extracelular (MEC), en base a ello analizamos la expresión de 65 proteínas asociadas a la matriz extracelular (EMAP) durante el ciclo menstrual (CM) en trompas de Falopio (TF). Dentro de las EMAP se estudiaron proteínas involucradas con la interacción célula-MEC de las familias de las contactinas, integrinas, selectinas; moléculas de adhesión y proteínas constituyentes de la matriz, tales como lamininas y colágenos. Para ello se obtuvieron TF de 12 pacientes en diferentes etapas del CM. Se obtuvo el RNA total con Trizol (Invitrogen) y se realizaron ensayos de RT-PCR en tiempo real mediante *First strand* y *RT<sup>2</sup> qPCR array* de SA Biosciences. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa *RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array Data Analysis*. Las interacciones entre los genes estudiados se realizó mediante el programa *Gene network*, SA Biosciences y las vías de transducción involucradas, fueron identificadas mediante *KEEG pathways*. De las 65 EMAP analizadas, las 65 se expresan en la TF. Se encontraron genes con cambios significativos en su expresión entre las diferentes etapas del CM y se determinaron grupos de genes que interactúan entre ellos y comparten vías de transducción. Finalmente se identificaron los procesos fisiológicos y fenómenos que se asociarían a la expresión de estos genes en TF, tales como proliferación de células ciliadas e implantación tubaria. Los resultados sugieren que las EMAP serían componentes clave para la regulación de los procesos fisiológicos y reproductivos en la TF.

Financiamiento: FONDECYT 1120712, Wellcome Trust 090301, CEDENNA FB

## Póster 61

### **LA ESTIMULACION CERVICO-VAGINAL BLOQUEA EL EFECTO DEL ESTRADIOL SOBRE LOS NIVELES DE ERK1/2 FOSFORILADA EN HIPOFISIS DE RATA** (Cervico-vaginal stimulation inhibits the effect of estradiol on the level of phosphorylated ERK1/2 in the rat hypophysis)

**Reuquén P**<sup>1,2</sup>, Curotto C<sup>1</sup>, Guajardo E<sup>1</sup>, Orihuela PA<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Universidad de Santiago de Chile y

<sup>2</sup>Escuela de Bioquímica, Universidad Andrés Bello

El apareamiento regula la señalización del Estradiol (E<sub>2</sub>) en el oviducto de la rata, aunque se desconoce si este efecto puede ocurrir en otro de sus órganos blancos. Se determinó el efecto del E<sub>2</sub> sobre los niveles de fosforilación de ERK1/2 en hipófisis de ratas en ciclo y pseudopreñadas, como también el rol del receptor de estrogéno (ER) en la rata en ciclo. En la noche del proestro, los animales fueron pseudopreñados mediante la estimulación cervico-vaginal con una varilla de vidrio mientras otro grupo se mantuvo aislado. Doce hrs. después fueron inyectadas subcutáneamente con 1 µg de E<sub>2</sub> o vehículo y una hora después la hipófisis fue extirpada y los niveles de fosforilación de ERK1/2 fueron determinados por Western blot. Por otro lado, otro grupo de ratas fueron inyectadas con ICI182780 (antagonista del RE) en la mañana del estro y 0,5 h después se inyectó E<sub>2</sub> o vehículo. Las hipófisis fueron extirpadas 1 hora después para determinar la fosforilación de ERK1/2. Estradiol disminuyó los niveles de fosforilación de ERK1/2 en las hipófisis de las ratas en ciclo, pero no en pseudopreñadas. ICI182780 bloqueó el efecto del E<sub>2</sub> sobre la fosforilación de ERK1/2 en ratas en ciclo. Estos resultados muestran que la estimulación sensorial de la porción inferior del tracto genital femenino regula una vía del E<sub>2</sub> asociada a ERK1/2 y dependiente del ER en un órgano lejano al sitio de estimulación, sugiriendo un efecto global del coito sobre la señalización del E<sub>2</sub>.

Financiamiento: FONDECYT 1110662, PROYECTO BASAL FB0-807.

## Póster 62

### **DISTRIBUCION DEL APARATO DE GOLGI DURANTE LA MADURACION *IN VITRO* E *IN VIVO* DE OVOCITOS DE PERRA Y SU RELACION CON EL DESARROLLO MEIOTICO** (Golgi apparatus distribution during *in vitro* and *in vivo* maturation in canine oocyte and their relationship with meiotic development)

**Jofré M<sup>1</sup>**, Palomino J<sup>1</sup>, Moreno R<sup>2</sup>, De los Reyes M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción. Departamento de Fomento de la Producción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Reproducción. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La maduración de ovocitos de perra involucra cambios nucleares y citoplasmáticos que comprenden la reanudación de la meiosis y la redistribución de organelos como el aparato de Golgi. La coordinación de estos procesos en el tiempo es un evento crítico para el establecimiento de desarrollo embrionario normal. Este trabajo estudió la dinámica del aparato de Golgi durante la maduración de ovocitos de perra y su relación con la progresión nuclear. La localización del aparato de Golgi se evaluó mediante inmunofluorescencia indirecta en ovocitos no madurados (n=172), madurados *in vitro* (IVM) por 48 (n=97), 72 (n=157) y 96 (n=147) horas y madurados *in vivo* (n=17), los cuales fueron distribuidos aleatoriamente y cada grupo fue subdividido en dos para ser incubados con los Ac antiGM130 y antiGiantin; la configuración cromatínica se determinó mediante tinción DAPI, clasificándose en vesícula germinal (VG), reinicio meiótico (GVBD), metafase I (MI) y II (MII). Los resultados con ambos Ac mostraron dos patrones de distribución a) Homogéneo en el citoplasma que predominó en ovocitos no madurados (80%) presentando estados meióticos tempranos (GV y GVBD: 88%), y b) Cortical, principalmente en ovocitos sometidos a IVM (92%), predominando el estado MI (80%). Todos los ovocitos madurados *in vivo* mostraron patrón cortical y 98% de MII. Estos resultados sugieren que el Golgi se relocaliza durante la maduración de ovocitos de perra, lo cual se relaciona con la progresión meiótica siendo *in vitro* menos eficiente que aquellos madurados *in vivo*.

Financiado: Proyecto FONDECYT 1110265

### Póster 63

#### **ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMO EN EL GEN DE LA PROTEINA MORFOGÉNICA OSEA 15 (BMP-15) Y EL RECEPTOR 1B DE LA PROTEÍNA MORFOGÉNICA OSEA (BMPR-1B) EN EL OVINO CRIOLLO ARAUCANO** (Polymorphism analysis of Bone Morphogenetic Protein 15 and Bone Morphogenetic Receptor Type 1B genes in Araucano Creole Sheep)

**Paz E**<sup>1</sup>, Quiñones J<sup>1</sup>, Sepúlveda N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Producción Animal, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Departamento de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

En la región de la Araucanía, Chile, existe un ecotipo denominado ovino Criollo Araucano utilizado principalmente como animal de doble propósito por pequeños y medianos agricultores. Diferentes estudios han demostrado que posee altos índices reproductivos, pero se desconoce la existencia de algún factor genético relacionado a este rasgo. El objetivo de este estudio es determinar la presencia de la *mutación FecB*, *FecX<sup>L</sup>*, *FecX<sup>B</sup>* y *FecX<sup>H</sup>* de los genes de efecto mayor BMPR-1B y BMP-15 asociados con la reproducción. Para genotipificar los polimorfismos en cuestión, se utilizó la técnica denominada reacción en cadena de la polimerasa para polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción forzada, Forzed PCR-RFLP. Se recolectaron muestras sanguíneas a 66 Ovinos criollos Araucanos, a los cuáles se les extrajo ADN genómico y se amplificaron las secuencias diana, las cuáles posteriormente fueron digeridas con las enzimas de restricción *Avall*, *XbaI*, *BclI* y *HpyF3I* sugeridas por la literatura. Para los ejemplares evaluados no se encontró ninguna de las mutaciones propuestas, sin embargo, aun se están rastreando las mutaciones en otros individuos criados en la región, lo cual todavía nos deja la posibilidad de encontrar resultados favorables. Cabe mencionar que el alto desarrollo reproductivo de estos animales también podría estar influenciado por otros factores ya sea genético o ambiental.

EP: Becario Doctorado CONICYT

**Póster 64**

**DETECCIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DIFERENCIAL (GDF9) MEDIANTE WESTERN BLOT EN OVOCITOS DE PERRA EN DIFERENTES ESTADOS DE MADURACIÓN *IN VITRO*** (Western blot detection of Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) in canine oocytes during different times of *in vitro* maturation)

**Rojas C**, Palomino J, De los Reyes M

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

En la perra, la maduración *in vitro* de los ovocitos aún tiene porcentajes muy limitados de éxito; dado que el factor de crecimiento y diferenciación, GDF9, es esencial en el desarrollo del ovocito en otras especies, el objetivo de este trabajo fue evaluar durante la maduración *in vitro*, la presencia de GDF9 a través de Western blot, en ovocitos no madurados y madurados *in vitro* por 48, 72 y 96 h. Se utilizaron grupos de 80 ovocitos sin células del cúmulo y 80 complejos cúmulo ovocito (COC's) en cada tiempo de maduración a través de 3 réplicas experimentales. Se utilizó el anticuerpo policlonal anti GDF9 humano (C-18) y los resultados se evaluaron mediante ANOVA. El Ac reconoció específicamente en el grupo de ovocitos desnudos y COC's una banda de ~56 kDa correspondiente a la pre-proteína, y dos bandas de ~18 y 19 kDa en COC's correspondientes a la proteína madura. La densidad óptica de la banda de pre-proteína fue mayor en COC's que la de ovocitos desnudos ( $P < 0,05$ ); observándose mayor reactividad en ovocitos no madurados, disminuyendo durante el cultivo ( $P < 0,05$ ). La densidad óptica de la proteína fue también mayor en ovocitos no madurados en relación a los cultivados por 48 h ( $P < 0,05$ ), no observándose su presentación a las 72 y 96 h. En conclusión, GDF9 se identificó en ovocitos de perra y tendría una mayor participación en estados tempranos del desarrollo.

Financiamiento: FONDECYT 1110265

**Póster 65**

**MODULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE GLUCÓGENO EN CÉLULAS GERMINALES MASCULINAS TRATADAS CON LITIO** (Modulation of glycogen synthesis in male germ cells treated with lithium)

**Salazar E**, Villarroel-Espíndola F, Maldonado R, Angulo C, Castro MA, Slebe JC, Concha II.

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.  
[e.salazar.petres@gmail.com](mailto:e.salazar.petres@gmail.com)

Las sales de litio son usadas para el tratamiento de severos desórdenes psiquiátricos, sin embargo, es causante de varios efectos secundarios, entre los que se encuentra la toxicidad reproductiva masculina. Litio es un inhibidor de varias enzimas, entre ellas la Glucógeno sintasa quinasa  $3\beta$  (GSK3 $\beta$ ). Esta enzima regula por fosforilación a la enzima encargada de la síntesis de glucógeno, Glucógeno sintasa (GS). En este trabajo se determinaron los estados de fosforilación y localización subcelular de las enzimas GSK3 $\beta$  y GS al tratar células germinales GC-1 y GC-2 con cloruro de litio 30 mM. Mediante análisis de *Western blot* e inmunofluorescencia se observó que litio disminuye el nivel de fosforilación del residuo de serina 640 de GS en ambas líneas celulares, tanto en el núcleo como citosol. GSK3 $\beta$ , en cambio, presentó un aumento de la fosforilación en el residuo de Serina 9 (GSK3 $\beta$  inactiva), en contraste con la fosforilación en Tirosina 216 (GSK3 $\beta$  activa), escasamente afectada. Se determinó además que el contenido de glucógeno aumentó en células tratadas con litio, corroborando el efecto de litio sobre GS vía GSK3 $\beta$ . Estos resultados sugieren que los múltiples efectos secundarios descritos para el litio sobre las células del epitelio seminífero se podrían explicar por alteraciones observadas en el metabolismo del glucógeno.

Financiamiento: FONDECYT-1110508, 1090740, 1110571

## Póster 66

### **AUOTFAGIA EN CÉLULAS GERMINALES: RESPUESTA ADAPTATIVA FRENTE A SEVERAS DEFICIENCIAS DE GLUTATIÓN** (Germ cell autophagy: adaptive response to serious glutathione deficiency)

**Mancilla H<sup>1</sup>**, Cereceda K<sup>1</sup>, Maldonado R<sup>1</sup>, Burgos J<sup>1</sup>, Lopez C<sup>1</sup>, Montesdeoca M<sup>1</sup>, Villarroel-Espíndola F<sup>1</sup>, Castro MA<sup>1</sup>, Slebe JC<sup>1</sup>, Lavandero S<sup>2</sup>, Concha II<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, <sup>2</sup>NEMESIS, Centro Estudios Moleculares de la Célula (CEMC), Universidad de Chile. [hector.mancilla.bioq@gmail.com](mailto:hector.mancilla.bioq@gmail.com)

La autofagia es un proceso dinámico y programado para degradar proteínas citoplasmáticas y organelos mediante su secuestro en vacuolas de doble membrana y posterior fusión con lisosomas. Este proceso adaptativo de supervivencia se activa tanto en condiciones de estrés nutricional como de estrés oxidativo. El desarrollo y la supervivencia de las células germinales masculinas dependen tanto de su contacto con las células de Sertoli como de la capacidad antioxidante del epitelio seminífero. Glutati3n es uno de los antioxidantes esenciales durante la espermatogénesis. El objetivo de este estudio consistió en evaluar la participaci3n de la autofagia en la sobrevivencia de las células germinales durante una deficiencia severa de glutati3n. Los resultados muestran que L-butiona-sulfoximina, un potente inhibidor de la síntesis de este antioxidante, produce una caída drástica del contenido de glutati3n en las líneas celulares germinales GC-1 y GC-2, sin producir muerte celular. Estudios de flujo autofágico mediante el procesamiento de la proteína endógena LC3-I y la formaci3n de vesículas autofágicas indican que la disminuci3n del contenido de glutati3n activa la autofagia en estas dos líneas celulares. Asimismo, en ambos tipos celulares aumentó la degradaci3n del glucógeno durante la inducci3n de autofagia. Estos resultados sugieren que en condiciones de una deficiencia de glutati3n, se induce autofagia, aumentando la degradaci3n de glucógeno como una respuesta adaptativa a esta condici3n de estrés.

Financiamiento: FONDECYT-1110508, FONDECYT-1110571, HM: Becario Doctorado CONICYT, FONDAP-1501006, Anillo de Investigaci3n de Ciencia y Tecnología-10176

**Póster 67**

**CLORURO DE LITIO INDUCE AUTOFAGIA VÍA INOSITOL MONOFOSFATASA EN CÉLULAS DEL TÚBULO SEMINIFERO** (Lithium chloride induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase in seminiferous tubule cells)

**Cereceda K**, Mancilla H, Burgos. J, López C, Maldonado R, Montesdeoca M, Villarroel-Espíndola F, Angulo C, Castro MA, Concha II.

Laboratorio Metabolismo Molecular, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.

Se ha demostrado que en las células del túbulo seminífero (células germinales y Sertoli) existe una variación del número y actividad de lisosomas que coinciden con etapas avanzadas de la espermatogénesis, sugiriendo que parte del proceso de reabsorción de cuerpos residuales involucra el proceso de autofagia. El mayor regulador de este proceso es la kinasa mTOR, sin embargo existen vías de regulación independientes de mTOR tales como la vía de Inositol Monofosfatasa (IMPasa), cuya inhibición activaría el proceso de autofagia. En este trabajo, hemos tratado células germinales y de Sertoli con LiCl, inhibidor de IMPasa, para determinar si induce autofagia. Se realizaron ensayos de Western Blot observando el aumento de la relación de las proteínas endógenas LC3 II/ LC3 I, lo cual indicaría que LiCl induce autofagia. Estas células fueron tratadas además con Rapamicina (control positivo) y se realizó un co-tratamiento con Bafilomicina, evitando la degradación de LC3 II. Se realizaron ensayos de inmunofluorescencia que permitieron determinar un cambio de localización de LC3, la cual, con los tratamientos antes mencionados, presenta una distribución puntiforme que indicaría la formación de autofagosomas. Finalmente para confirmar que LiCl induce autofagia por la vía de la IMPasa, se trataron las células con L690, inhibidor de esta enzima, observando el mismo efecto que LiCl. Estos resultados sugieren que LiCl induce autofagia en estas células, vía IMPasa, por lo tanto es posible que la reabsorción de cuerpos residuales ocurra en un principio por autofagia y que este proceso sea también regulado por vías independientes de mTOR.

Financiamiento: FONDECYT 1110508, 1110571

## Póster 68

### **EXPRESION DE LAS ENZIMAS CYP1A1, CYP1B1 Y COMT EN TEJIDO TESTICULAR HUMANO CON ESPERMATOGENESIS CONSERVADA** (Expression of the enzymes CYP1A1, CYP1B1 and COMT in human testicular tissue with conserved spermatogenesis)

**Vargas C**<sup>1</sup>, Molina C<sup>1</sup>, Ebensperger M<sup>2</sup>, Valdevenito R<sup>3</sup>, Lardone MC<sup>1</sup>, Piottante A<sup>4</sup>, Florez M<sup>1</sup>, Castro A<sup>1</sup>, Parada-Bustamante A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, <sup>2</sup>Departamento de Urología Hospital Clínico San Borja Arriarán, <sup>3</sup>Departamento de Urología Hospital Clínico Universidad de Chile, <sup>4</sup>Escuela de Medicina, Universidad Andrés Bello.

En el testículo, el Estradiol (E<sub>2</sub>) es producido normalmente por la enzima Aromatasa. E<sub>2</sub> puede ser metabolizado a 2-hidroxiestradiol (2OHE<sub>2</sub>) o 4-hidroxiestradiol (4OHE<sub>2</sub>) por las enzimas CYP1A1 y CYP1B1. 2OHE<sub>2</sub> y 4OHE<sub>2</sub> son luego convertidos a 2-metoxiestradiol (2ME<sub>2</sub>) y 4-metoxiestradiol (4ME<sub>2</sub>) por la enzima Catecol-O-Metiltransferasa (COMT). Se ha demostrado que algunos de estos metabolitos de E<sub>2</sub> pueden afectar la funcionalidad de las células somáticas y germinales del testículo; sin embargo, la expresión y localización de las enzimas que los producen no ha sido determinado a nivel testicular. En este trabajo evaluamos la expresión y localización de las enzimas CYP1A1, CYP1B1 y COMT por western blot e inmunohistoquímica en tejido testicular con espermatogénesis conservada, obtenido de pacientes sometidos a biopsia testicular para recuperación espermática (n=3). Las tres enzimas se detectaron a través de western blot. En relación a COMT, se detectaron las dos isoformas descritas (M-COMT y S-COMT), siendo M-COMT la isoforma mayormente expresada. En relación al estudio de la localización por inmunohistoquímica de estas enzimas, determinamos que CYP1A1 se expresa en las células de Sertoli a nivel citoplasmático, CYP1B1 se localiza principalmente en las células de Leydig y a menor nivel en la región apical de las células de Sertoli, mientras que COMT mostró gran inmunoreactividad en las células de Sertoli. Nuestros resultados sugieren fuertemente que 2OHE<sub>2</sub>, 4OHE<sub>2</sub>, 2ME<sub>2</sub> y 4ME<sub>2</sub> se producen a nivel testicular. La función fisiológica de estos metabolitos de E<sub>2</sub> y su participación en la patofisiología testicular aún debe ser determinada.

Financiamiento: FONDECYT Iniciación 11110457 (A.P.B), FONDECYT regular 1120176 (A.C)

## Póster 69

**ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES TESTICULARES Y HEPÁTICAS EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS, Y SU REVERSIÓN POR LA ADICIÓN DE ACEITE DE OLIVA A LA DIETA.** (Study of testicular and liver ultrastructural alterations in hypercholesterolemic rabbits and its reversion by the addition of olive oil to diet).

**Simón L**<sup>1</sup>, Boarelli P<sup>1,2</sup>, Romero A<sup>1</sup>, Funes A<sup>1</sup>, Práctici C<sup>1</sup>, Martínez V<sup>2</sup>, Pietrobon E<sup>1</sup>, Vincenti A<sup>1</sup>, Saez Lancellotti T<sup>1,2</sup> y Fornés M<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza (LIAM) del Instituto de Histología y Embriología (IHEM, Fac. Cs. Médicas, Univ. Nac. de Cuyo y CCT-Mendoza, CONICET,) Mendoza. Argentina. <sup>2</sup> Instituto de Investigaciones (IDI), Fac. Cs. Médicas, Univ. del Aconcagua), Mendoza. Argentina.

La dieta grasa promueve alteraciones seminales y espermáticas en conejos, como disminución del número de espermatozoides, aumento de las formas anormales y decremento en la capacitación y reacción acrosomal. Sin embargo, estos trastornos se pueden revertir con dietas suplementadas con aceite de oliva virgen (AO). Las formas anormales podrían corresponder a una espermiogénesis defectuosa, y el bajo número a menor eficiencia en la espermatogénesis. El primer trastorno es detectable mediante estudio ultraestructural del epitelio seminífero, y el segundo mediante recuentos diferenciales en los mismos cortes. Se generaron 3 grupos de conejos (machos adultos): Control (C) mantenido con alimento balanceado, Grasa (G) adicionando 14% grasa animal (p/p), y un tercer grupo (AO) suplementado con la mitad de grasa de G (7%) + AO (7 % v/p). Los animales se sacrificaron y se obtuvo y estudió el tejido hepático y testicular. La ultraestructura mostró cambios en el patrón de formación del núcleo espermático y una acumulación de vacuolas en hepatocitos. En testículo, se contaron los tipos celulares totales (para cada grupo experimental). Dividiendo al túbulo seminífero en un compartimiento proliferativo y otro de diferenciación, se observó que en el grupo G hay una depresión de la producción celular, ya que el número de espermatocitos y espermátides se observa disminuido respecto a C, en tanto que el AO induce una recuperación mostrando un significativo aumento del recuento celular. Estos valores coinciden con lo observado en los recuentos de espermatozoides seminales. Los resultados sugieren que el AO revierte el efecto negativo de una dieta grasa.

Programa 2011-2014, SECyT, Universidad Nacional de Cuyo; 2011-2013 CIUDA, Universidad del Aconcagua; Proyecto 001-ARG-CHI, Secretaría de Políticas Universitarias (SPU).

## Póster 70

**SEGREGACIÓN ALTERNA V/S SEGREGACIÓN ADYACENTE: IDENTIFICACIÓN DE CROMOSOMAS EN LAS ESPERMÁTIDAS DE *Mus Domesticus* HETEROCIGOTOS ROBERTSONIANOS (Rbs)** (Alternate Segregation v/s Adjacent Segregation: Identification of chromosomes in spermatids of Robertsonian heterozygous *Mus domesticus*)

**Manieu C<sup>1</sup>**, Berríos S<sup>1</sup>, Ayarza E<sup>1</sup>, González M<sup>1</sup>, Manterola M<sup>2</sup>, Page J<sup>3</sup>, Fernández-Donoso R<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup> Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center. <sup>3</sup> Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid.

En los espermatocitos de individuos homocigotos Rbs, la Meiosis garantiza la segregación y distribución de los cromosomas homólogos hacia los gametos a partir de los bivalentes que se forman durante la I<sup>a</sup> Profase. En los heterocigotos Rbs, el proceso meiótico presenta una serie de problemas, ya que durante la I<sup>a</sup> Profase meiótica de estos organismos, se produce la sinapsis entre los neo-cromosomas metacéntricos Rbs y los acrocéntricos ancestrales, dando origen a trivalentes. Ello altera el desarrollo de la I<sup>a</sup> Profase, genera anomalías en la segregación cromosómica e induce sub-fertilidad o esterilidad en los individuos portadores. Nuestros objetivos fueron investigar los tipos de segregación en 2 de los 8 trivalentes que se forman en los heterocigotos 2n=32, procedentes de cruzamientos de *Mus domesticus* 2n=40 X 2n=24. Para ello, por medio de FISH en microesparcidos nucleares, se estudió los cromosomas presentes en las espermátidas de los individuos heterocigotos 2n=32, evaluando la segregación y distribución cromosómica de los trivalentes (16-16:17-17) y (9-9:14-14), comparándola con la de los respectivos bivalentes de los homocigotos parentales. En los heterocigotos se observó un predominio de segregaciones alternas por sobre las adyacentes para los cromosomas de ambos trivalentes. La mayoría de las espermátidas resultantes eran cromosómicamente balanceadas (92-98%), y aquellas con segregación adyacente, mostraron un significativo mayor compromiso de los cromosomas 16-17 (8%) por sobre los cromosomas 9-14 (2%). Los resultados obtenidos contribuyen a explicar cómo, a pesar de las dificultades meióticas y reproductivas de los heterocigotos, los neo-cromosomas Rbs logran propagarse en las poblaciones naturales de *Mus domesticus*.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT # 1120160

## Póster 71

**LA EXPOSICIÓN NEONATAL A ESTRADIOL INDUCE DISMINUCIÓN DE EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE ANDROGENOS Y SOBREENPRESIÓN DE AMH EN OVARIO DE RATA** (Neonatal EV exposure to neonatal rats induce downregulation of ovarian androgen receptor and overexpression of AMH)

**Martínez J**, Lara HE

Laboratorio de Neurobioquímica. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Existen periodos críticos sensibles a hormonas que ocurren durante el desarrollo, pudiéndose alterar en forma permanente el curso de la diferenciación y función de órganos reproductivos. Previamente hemos descrito que la administración de una dosis única de valerato de estradiol (EV) a ratas neonatas programa irreversiblemente la condición de ovario poliquístico en etapa adulta, ausencia de cuerpos lúteos e infertilidad, desconociéndose cómo esta exposición determina el cambio funcional y estructural del ovario. En el presente trabajo se evaluó si el tratamiento con EV (10 mg/Kg) en las primeras 12 horas de edad altera la expresión génica en ovarios de rata, y si estos cambios se mantienen en el desarrollo. Mediante PCR array y en tiempo real se analizó la expresión de genes relacionados con receptores nucleares y correguladores en ovarios de ratas de 2, 30 y 60 días de edad, así como la expresión de genes que codifican para factores de crecimiento. Se observó que los ovarios de ratas tratadas con EV presentan mayor expresión de receptor de andrógenos (AR) en comparación a ratas controles 24 horas post-exposición, normalizándose a los 30 días de edad. Sin embargo, en ratas de 60 días de edad la expresión de AR cae drásticamente -6,4 veces v/s control, encontrándose además un aumento de la expresión de AMH a esta misma edad. Estos datos sugieren que la disminución de expresión de AR en la vida adulta inducida por el tratamiento con EV, inhibiría el proceso de ovulación, mientras que el aumento de AMH reforzaría el estado anovulatorio, inhibiendo el crecimiento y selección de folículos preantrales y antrales pequeños.

Financiamiento: FONDECYT 1090036 (H.L.); Beca de apoyo de tesis doctoral N°24110133 (J.M.)

## Póster 72

### **FACTOR INDUCTOR DE OVULACIÓN EN LLAMAS: ESTUDIO DE SU EFECTO OVULATORIO Y LUTEOTRÓFICO** (Ovulation inducing-factor in llamas: Its role on ovulation rate and luteotrophic effect).

**Ulloa-Leal C<sup>1</sup>**, Berland M<sup>1</sup>, Guerra M<sup>2</sup>, Vio K<sup>2</sup> y Ratto M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, <sup>2</sup>Laboratorio de Histología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del OIF presente en el plasma seminal de llamas a nivel ovulatorio, luteotrófico y vascular, en folículos preovulatorios y CL. Llamas adultas (n=30) fueron asignadas al azar a uno de tres grupos de estudio: 1) administración intramuscular (i.m.) de 50 µg de Gonadorelina acetato(n=10), 2) 1 mg de OIF purificado i.m.(n=10) y 3) 1ml de PBS i.m. (n=10). Se realizó seguimiento ecográfico en modo Power Doppler a 12 hrs y los días 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 post tratamiento en los tres grupos tratados para detectar y calcular el área de vascularización en folículos preovulatorios (FP) y cuerpos lúteos (CL) respectivamente, además se determinó tasa ovulatoria. No se encontraron diferencias entre GnRH, OIF y PBS, respectivamente, en el diámetro del folículo preovulatorio al momento del tratamiento ( $9.7\pm 0.3$ ,  $9.9\pm 0.4$ ,  $10.3\pm 0.4$ , respectivamente). La tasa de ovulación fue similar entre los grupos GnRH y OIF (10/10 vs OIF 10/10, respectivamente) pero difirieron a las del grupo control (0/10). El folículo preovulatorio tratado con OIF purificado tuvo una mayor ( $p<0.05$ ) señal de área vascular después del tratamiento con respecto a los otros grupos. El tejido luteal de las llamas tratadas con OIF tuvo una mayor ( $p\leq 0.0001$ ) señal de área vascular respecto de las hembras tratadas con GnRH en los días 4, 6, 12 y 16 después del tratamiento. Concluimos que el OIF purificado del plasma seminal de llama aumenta la perfusión vascular en el folículo preovulatorio y en el subsecuente CL.

Financiamiento: FONDECYT 1120518, Becario Doctorado Proyecto Mecsup AUS 0601 (U-L C)

### **Póster 73**

#### **LA LECTINA CONCAVALINA-A PROMUEVE LA MUERTE DE LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA E IMPIDE LA MADURACIÓN FOLICULAR (The lectin Concanavalin-A promotes granulosa cell death and prevents follicular maturation)**

**Velásquez EV**, Ríos M, Ortiz ME, Villalón M, Owen GI.

Unidad de Endocrinología y Reproducción, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago, Chile.

Las lectinas son proteínas capaces de reconocer y unirse con alta especificidad a carbohidratos o glicoconjugados. Previamente nuestro grupo ha descrito una fracción de Hormona Folículo Estimulante (FSH) obtenida a partir de una preparación comercial de hormona recombinante de uso clínico, la cual produce muerte de las células de la granulosa e interrumpe la maduración folicular. Estudios posteriores mostraron que esta fracción de FSH contiene altos niveles de la lectina Concanavalina-A (Con-A), comúnmente utilizada para la purificación y enriquecimiento de proteínas recombinantes como la FSH. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de Con-A sobre la viabilidad celular y la maduración folicular en un modelo animal (rata). Análisis de MTS y TUNEL mostraron que Con-A es capaz de inducir muerte celular en cultivos primarios de células de la granulosa, en concordancia con los resultados obtenidos inicialmente utilizando la fracción de FSH. En un sistema más fisiológico como es el cultivo de folículos intactos, Con-A produce la muerte de las células foliculares, en especial de las células de la granulosa; impide la maduración de folículos antrales tempranos y puede promover la degeneración del ovocito. Este efecto es parcialmente reducido en presencia de FSH, sin embargo la muerte de las células foliculares conducirá muy posiblemente a ovocitos de baja calidad. La capacidad de Con-A de inducir muerte celular en este modelo experimental, sugiere que el patrón de glicosilación presente en las células foliculares, particularmente en las células de la granulosa, puede ser relevante para el proceso de selección folicular.

Los autores agradecen a Ximena Vergues, Jorge Lillo y Alejandro Munizaga por su valiosa contribución en las técnicas histológicas. Financiado por Anillo ACT79 (MV), FONDECYT #1100870 (GO), Fondecyt # 3090066 (EV).

#### Póster 74

**KISSEPTINA EN EL EJE GANGLIO CELÍACO-OVARIO ES ACTIVADA POR EL SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO Y SE REQUIERE PARA UNA CORRECTA CICLICIDAD ESTRAL** (A celiac ganglion-ovarian kisspeptina axis is activated by the sympathetic nervous system and is required by a proper estrous cyclicity)

**Ricu M<sup>1</sup>**, Paredes A<sup>1</sup>, Ramirez V<sup>1,2</sup>, Lara H<sup>1</sup>

Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. 2 Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de Illinois en Urbana-Champaign, Urbana, USA.

Kisspeptina juega un rol clave en la liberación de GnRH a nivel central. Además está descrita su presencia en el ovario, aunque su función se desconoce. Nuestro objetivo fue probar el rol del sistema nervioso simpático en la regulación de la kisspeptina ovárica y su participación en la regulación local de la función ovárica. Para esto se emplearon ratas Sprague-Dawley de 2 meses de edad, se determinó mRNA de kisspeptina por PCR tiempo real y el péptido por EIA. Los resultados muestran que kisspeptina está presente en ganglio celíaco y que colocaliza con neuronas que expresan tirosina hidroxilasa detectado por inmunofluorescencia. La activación de la inervación simpática del ovario generada por un protocolo de estrés por frío agudo (64 hrs/4°C.) cambia la expresión de kisspeptina a lo largo del eje ganglio celíaco-ovario (GC-O), resultados similares se obtuvieron al incubar ovarios *in vitro* en presencia de isoproterenol (agonista  $\beta$ -adrenérgico). Dado que se demostró que el mRNA de kisspeptina aumenta en el eje GC-O al llegar a la pubertad, la administración en la bursa del ovario del antagonista para kisspeptina, p234, en ratas de 22 días de edad, produjo un retraso en la apertura vaginal y una disminución en el porcentaje de ciclos estrales. En conclusión, estos resultados sugieren que el sistema de kisspeptina en el eje GC-O podría ser regulado por la actividad nerviosa simpática y que se requiere de kisspeptina, ya sea de origen neuronal u ovárico, para el inicio de la pubertad y el buen funcionamiento del ovario.

Financiado por proyecto Fondecyt 1120147 (AP) y 1090036 (HL)

## Póster 75

### **ROL DE LA CONVERSIÓN A ESTRADIOL (E<sub>2</sub>) EN LOS EFECTOS OVÁRICOS TEMPRANOS PRODUCIDOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE TESTOSTERONA PROPIONATO (TP) EN RATAS NEONATAS** (Rol of conversion to Estradiol in early ovarian effects produced by testosterone propionate administration in neonatal rat)

**Tiszavari M<sup>1</sup>**, Cruz G<sup>1,2</sup>, Lara H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago-Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso-Chile.

La exposición temprana a esteroides altera la función reproductiva en varias especies. Tanto la administración de TP como de Estradiol Valerato (EV) a ratas neonatas, produce anovulación y quistes foliculares en la adultez, efectos que no produce Dihidrotestosterona (DHT). Otro efecto del E<sub>2</sub> es retrasar el ensamblaje folicular y aumentar la expresión del Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) y su receptor de baja afinidad NGFR en ratas neonatas. Creemos que los efectos deletéreos de TP son mediados por una previa conversión a E<sub>2</sub>. Para demostrar esta hipótesis, medimos E<sub>2</sub> plasmáticos en ratas neonatas tratadas con TP mediante ELISA. Además medimos los niveles de ARNm de *Cyp19a1*, *Ngfb* y *Ngfr* mediante qPCR a las 60, 84 y 108h postnatal (PN) en animales inyectados con TP, DHT y EV comparados con controles. La cinética de eliminación de EV y TP son similares, lo que implica que ambos permanecen elevados por al menos 10 días post administración, coincidiendo con el periodo de mayor vulnerabilidad a la disrupción producida por estrógenos. Encontramos que en controles la expresión de *Cyp19a1* incrementa sólo a las 108h de edad concordando con la aparición de folículos secundarios, mientras que en los grupos EV, TP y DHT disminuye la expresión de *Cyp19a1* a las 84 y 108h, probablemente por un retraso en el ensamblaje folicular. A pesar de esto, E<sub>2</sub> aumenta en ratas tratadas con TP a las 108h. La expresión de NGF y NGFR incrementa transitoriamente en los grupos TP y EV pero no en DHT, por lo que concluimos que posiblemente los efectos tempranos de T se deben a su conversión a E<sub>2</sub>.

Financiado por Fondecyt 1090036 (H.L.)

**Póster 76**

**EFECTO DE LA ACTIVACIÓN  $\beta$ -ADRENÉRGICA EN OVARIO DE RATA DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD** (Effect of  $\beta$ -adrenergic activation in rat ovary during of subfertility period)

**Vega-Villarroel C**, Fernandois D, Lara HE, Paredes A

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

La postergación de la maternidad hacia el periodo de subfertilidad es un tema de salud pública relevante, los mecanismos que operan en esta etapa reproductiva no han sido descritos. Evidencias del laboratorio indican que la actividad nerviosa simpática aumenta espontáneamente durante el periodo de subfertilidad, lo que conduce a la formación y/o mantención de quistes foliculares, contribuyendo al cese de la función ovárica. El aumento del tono adrenérgico en ovario de rata durante el periodo óptimo de fertilidad (3-7 meses de edad) podría conducir a la formación de quistes foliculares. El objetivo fue estudiar el efecto del aumento de la actividad  $\beta$ -adrenérgica en el desarrollo folicular ovárico de rata durante el período de fertilidad y subfertilidad. Para ello, se utilizaron ratas Sprague Dawley de 6 y 8 meses de edad. Se simuló un tono adrenérgico aumentado mediante la administración vía SC de isoproterenol (ISO), 125  $\mu$ g/g durante 10 días. Los animales fueron eutanasiados a los 20 días post-inyección y los ovarios fueron fijados en bouins y teñidos con hematoxilina-eosina para el análisis morfológico y se colectó suero para la determinación de las hormonas esteroideas por EIA. Los resultados indican que en ratas de 6 y 8 meses de edad, la administración de ISO aumenta la atresia folicular y el número de quistes, disminuyó cantidad de cuerpos lúteos, indicando una alteración en la ovulación y el desarrollo folicular que se refleja con una menor secreción de las hormonas esteroideas. En conclusión, la simulación de un tono adrenérgico aumentado altera el desarrollo folicular y la esteroidogénesis en forma similar a lo que ocurre durante el periodo de subfertilidad.

Financiamiento: FONDECYT 1120147

## ***ÍNDICE DE AUTORES***

Abarzúa E	40
Abramovich D	59, 61, 102
Acuña AI	34
Adams GP	38
Aguirre-Arias MV	54
Alba JF	52
Alvarez J	57
Angulo C	34, 70, 74, 98, 99, 128, 130
Araya DB	107
Arias ME	66, 67, 69, 105, 106
Astorga I	87, 124
Awad F	42
Ayarza E	53, 96, 135
Ballesteros R	52
Baraño RI	64, 88
Barón L	76, 78
Barra R	44, 47
Barrios L	100
Bastón JI	64, 88
Berland M	38, 92, 137
Belmar C	41
Berrios S	53, 96, 135
Bilotas M	64, 88
Boarelli P	134
Boric MA	89,90,91
Bravo L	104
Burgos J	70, 74, 98, 131, 132
Busso D	41, 42, 50, 93
Cabrera P	113
Cabrillana ME	57
Carrasco A	48
Carrasco R	92
Carvajal R	52, 123
Carvajal A	52
Casanello P	109
Castellón EA	80, 84, 85, 119, 120, 121, 122
Castillo V	121, 122

Castro A	58, 133
Castro FO	68
Castro J	89, 90, 91
Castro O	60
Castro MA	34, 70, 74, 98, 99, 130, 131, 132
Cereceda K	98, 131, 132
Cheuquemán C	69
Cifuentes F	80
Concha II	34, 70, 74, 98, 99, 128, 129, 130
Contreras HR	80, 84, 85, 119, 120, 121, 122
Contreras S	40
Córdoba A	112
Córdova C	95
Corthorn J	50
Cortínez A	52
Covarrubias AA	70, 74, 98
Crisosto N	59, 101
Croci D	64
Cruz G	44, 47, 140
Curotto C	117, 126
Cuevas F	123
Cuevas P	81
Cuevas P	95
De los Reyes M	63, 94, 127, 129
de Zúñiga	61
Deppe M	111
Devoto L	60, 103
Díaz ES	56, 76, 77, 78
Díaz F	104
Díaz Murillo H	70, 71
Díaz R	71
Díez de Medina C	40
Dissen G	30
Durán J	34
Echiburú B	59, 101
Ebensperger M	133
Effer B	79

Escalona J	91
Escalona M	41
Estrada E	74
Fara K	76, 76
Farfán N	120
Farías JG	100
Farlora R	45
Faúndes J	41
Felmer R	66, 67, 69, 105, 106
Fernández-Donoso R	53, 96, 135
Fernandois D	141
Ferrada P	110
Figueroa CA	100
Figueroa E	79
Fitzgerald J	108
Florez M	133
Fornés MW	57, 134
Fuentes A	91
Funes A1,	132
Gallardo LM	75
Gallardo M	120
Gabler F	83, 84, 90
Gallegos I	84
García V	123
García-Robles A	34
García-Rocha MA	36
Garrido MP	62
Godoy A	60
Goldedenberg D	41
González M	53, 96, 135
Grüzmacher A	92
Guajardo A	49
Guajardo E	126
Guerra M	37, 38, 137
Guinovart JJ	34
Guzmán-Gutérrez E	40
Haro Durand L	61

Henríquez S	60, 103
Henríquez-Olavarrieta S,	97
Heredia A	109
Hidalgo ME	71
Hidalgo P	89, 90, 91
Huidobro C	121, 122
Horton M	61
Hurtado I	84
Inostroza K	71
Irusta G	118
Jara L	82
Jessam C	101
Jeria F	52
Jofré M	127
Johnson MC	89, 90, 91
Juica N	125
Jung H	29
Kohan K	82, 87, 124
Kohen P	60, 103
Kopcow L	61
Ladrón de Guevara A	59, 101
Lagos-Cabré R	51
Lara H	44, 47, 62, 136, 139, 140, 141
Lardone MC	133
Lavandero S	131
Leiva A	40
Letelier C	92
Lizama C	42
Llanos M	49
López C	98, 99, 131, 132
Lozano C	116
Maldonado R	34, 70, 98, 99, 130, 131, 132
Mancilla H	34, 74, 98, 131, 132
Manieu C	53, 96, 135
Markert U	108
Manterola M	53, 96, 135
Martínez J	47, 136

Martínez V	134
Martínez V	94
Mascareño L	50
Mayerhofer A	28, 44, 47
Méndez R	98
Meresman G	64, 88
Merino O	79, 110, 111, 115, 116
Michael P	101
Miranda C	52
Molina C	58, 133
Molina R	32
Montesdeoca M	131, 132
Morales P	54, 75, 76, 77, 78
Moreno RD	51, 56, 75, 97, 127
Mosqueira T	114
Muñoz D	119
Nicklitschek I	41
Nolasco J	100
Nualart F	34
Ochoa N	119
Ojeda SR	27
Olivares A	86
Olivares C	64, 88
Olivero P	95
Olmo P	41
Orihuela PA	117, 126
Orostica ML	117
Ortiz ME	138
Oubiña A	102
Owen GI	138
Page J	53, 96, 135
Palomino J	94, 127, 129
Parada E	89
Parada-Bustamante A	58, 133
Parborell F	61, 93, 100
Pardo F	40
Paredes A	44, 62, 81, 83, 139, 141

Parga MJ	42
Párraga M	108
Parraguez VH	104
Pascuali N	61, 102, 118
Passalacqua I	42
Paz E	128
Pazos C	102, 118
Pedemonte C	70
Peñailillos R	49
Peralta OA	107
Pereira C	59, 101
Pérez B	56
Pérez C	101
Pérez C	104
Pérez L	67, 105, 106
Pérez L	104
Perez P	77
Piottante A	133
Pietrobon E	134
Pizarro E	76
Pizarro M	108
Plaza F	87, 124
Poblete C	87, 118, 122, 123, 124
Poblete CE	84, 85
Práticos C	134
Prevot V	31
Quezada T	41
Quilaqueo L	93
Quiñones J	128
Rabinovich GA	64
Raggi L	104
Ramirez A	70, 74, 112, 114
Ramírez R	95
Ramirez V	139
Ratto M	38, 92, 114, 137
Recabarren MP	48
Recabarren SE	48

Reuquén P	117, 126
Reyes JG	100
Reyes-Díaz M	111
Ricci A	64, 88
Ricu M	139
Rigotti A	39, 41, 42, 50, 93
Ríos M	138
Risopatron J	66, 69, 79, 106, 110, 109, 113, 115, 118
Risso N	79
Robles N	63
Rocha LG	74
Rodríguez E	37, 38
Rodríguez-Alvarez LI	68
Rodríguez-Gil JE	74
Rojas C	103, 129
Rojas C	60
Rojas-García PP	48
Romero A	134
Romero C	81, 82, 83, 84, 85, 87, 123, 124
Ronco AM	49
Rosas C	123
Rossi SP	93
Saez T	108, 109
Saez Lancellotti T	134
Salazar E	70, 98, 130
Samith B	41
Sánchez C	121
Sánchez R	57, 66, 67, 69, 105, 106, 110, 113, 116
Sandoval D	48
San Martin S	108, 109
Santander N	42, 50, 93
Scotti L	60, 102
Seguel V	85, 119
Selman A	83
Sepúlveda N	70, 128
Sepúlveda S	52
Signorelli J	77

Simón L	134
Sir-Petermann T	48, 59, 101
Slebe JC	34, 70, 98, 99, 130, 131
Sobral F	102
Sobrevia L	40, 109
Solar P	125
Sovino H	89
Stoore C	86
Strauss JF	103
Strobel P	112
Takeuchi Y	45
Tapia V	81, 82, 83, 87, 124
Tapia-Pizarro A	58
Tesone M	59, 60, 102, 118
Tiszavari M	140
Tobar E	122
Torres CG	86
Torres M	89, 90
Treulen F	55
Trigo P	115
Ubillá A	79
Ulloa-Leal C	137
Uribe P	57
Urquieta B	104
Valdebenito I	79, 115, 116
Valdebenito M	79
Valdebenito R	133
Valdés G	50
Valenzuela P	112
Valenzuela R	80, 122
Valladares L	87, 124
Vallejos C	81, 83
Vander Stelt K	98, 99
Vantman D	52
Vargas C	58, 133
Vargas T	67, 105, 106
Vásquez F	101

Vega C	95
Vega M	81, 82, 83, 84, 85, 87, 123, 124
Vega-Villarroel C	141
Veis H	52
Velarde V	54
Velásquez AE	68
Velásquez EV	138
Velasquez L	125
Venegas S	89
Villalón M	138
Villarroel A	63
Villarroel F	74
Villarroel-Espíndola F	34, 70, 98, 99, 130, 131, 132
Villegas J	55, 57
Vincenti A	134
Vio K	38, 137
Vorphal A	48
Weber M	108
Yeste M	74
Yoshizaki G	45
Zapata A	71
Zavala JC	90
Zepeda AB	100

