

Libro de Resúmenes

XXV Reunión Anual Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo



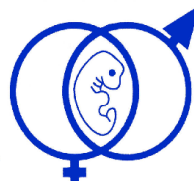
Hotel Villa del Río, Valdivia

3 - 6 Septiembre 2014

www.schrd.cl



DE REPRODUCCION
Y DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987

XXV Reunión Anual Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo 2014

***"Un Cuarto de Siglo Promoviendo la
Investigación en Reproducción y
Desarrollo en Chile"***

**Hotel Villa del Río, Valdivia
3 al 6 de Septiembre de 2014**

Directorio de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo

Presidente Ilona I. Concha

Vice-Presidente Patricio Morales

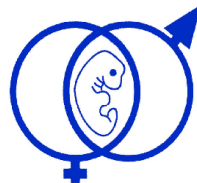
Secretaria Dolores Busso

Tesorera Constanza Angulo

Past- President Carmen Romero

SOCIEDAD
CHILENA

DE Y REPRODUCCION
DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987

Comité Organizador

Ilona I. Concha
Dolores Busso
Constanza Angulo
Carmen Romero
Jorge Farías

Comité Científico

Ricardo Moreno
Pedro Orihuela
Alfonso Paredes
Enrique Castellón
Carmen Romero
Patricio Morales
Silvina Díaz

Comité Editorial

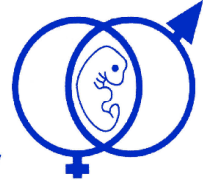
Dolores Busso
Constanza Angulo
Verónica Tapia

Encargada Página Web

Constanza Angulo



DE REPRODUCCION
Y DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987

Auspician

Genexpress
LONCOTEC
Fermelo
Valquim
Animal Care

Patrocinan

Universidad Austral de Chile
Universidad de La Frontera
Universidad de Concepción
Universidad de Antofagasta
Sociedad de Biología de Chile
Soc. Chilena de Medicina Reproductiva

PROGRAMA DETALLADO

Miércoles 3 de Septiembre

15:00 – 17:00

Recepción e Inscripciones

17:00 – 18:00

Ceremonia Inaugural

Ilona I. Concha. Presidenta SChRD

Presentación "25 años: Nuestra Historia y Porvenir"

Eduardo Bustos Obregón (Presidente Fundador)

Patricio Morales (Futuro Presidente)

18:00 – 18:45

Incorporaciones

Coordina: Silvina Díaz

"Motilidad y viabilidad de espermatozoides, comparación de modelos de mamíferos y peces"

Jorge Parodi, Laboratorio de Fisiología de la Reproducción, Escuela de Medicina Veterinaria. U Católica de Temuco.

"Vitrificación de espermatozoides en salmón del Atlántico: efecto del plasma seminal en la funcionalidad espermática"

Elías Figueroa, Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco y Departamento de Ingeniería Química, Universidad de la Frontera, Chile.

"Simvastatina exhibe efectos antiproliferativos sobre esferas derivadas de células de carcinoma mamario canino"

Cristian Torres, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

18:45 – 19:15

Mini conferencia Premio Sociedad año 2013

Coordina: Ricardo Moreno

"La apoptosis inducida por disruptores endocrinos depende de la metaloproteasa ADAM17: una aproximación in vitro"

Paulina Urriola, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

19:15 – 20:15

Conferencia Inagural

Coordina: Sergio Recabarren

"Epigenetic and Metabolomic Insight into PCOS Pathophysiology"

David Abbott, Dept. of Ob/Gyn and Wisconsin National Primate Research Center. Madison, USA.

20:15 – 20:45

Número artístico

Orquesta CIFAN

21:00

Cóctel de Bienvenida

Jueves 4 de Septiembre

9:00 – 10:30

Simposio 1. Reprogramación fetal de PCOS en humanos y modelos experimentales

Coordina: Teresa Sir-Peterman

"Dinámica de parámetros metabólicos y reproductivos en distintas etapas del desarrollo en hijos e hijas de madre SOP: Posible impacto del ambiente prenatal"

Nicolas Crisosto, Facultad de Medicina Occidente, U. de Chile

"¿Es la testosterona un reprogramador fetal de la función endocrina-metabólica en ovinos?"

Sergio Recabarren, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán.

"La exposición a estradiol o estrés inducen ovario poliquístico y reprograman la función ovárica en la rata"

Alfonso Paredes, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

10:30 – 12:00

**Presentaciones Trabajos Libres 1.
Biología Reproductiva Femenina**

Coordina: Jorge Farias

10:30 – 10:45

EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN A UNA DIETA ALTA EN GRASA PREVIO Y DURANTE LA GESTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR OVÁRICO DE LA DESCENDENCIA

Guerra M., Ambrosetti V., Ramírez L., Reyes A., Álvarez D.

Olguín G., Sotomayor R. y **Cruz G.**

Laboratorio de alteraciones metabólicas y reproductivas, CNPC, Instituto de fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

10:45 – 11:00

NANOPARTÍCULAS DE ZEOLITA CARGADAS CON 2-METOXIESTRADIOL TIENEN ACCIÓN ANTICANCERÍGENA SOBRE LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO.

Díaz P.: Cárdenas H., Orihuela P.

Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Universidad de Santiago de Chile. Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología, Universidad de Santiago de Chile.

11:00 – 11:15

EXPRESIÓN DE ADIPOCITOQUINAS DEL TEJIDO ADIPOSO EN MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP).

Echiburú B., Pérez-Bravo F, Galgani J, Elgueta C, Crisosto N y Sir Petermann T.

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

11:15 – 11:30

KISSPETINA AUMENTA EN EL OVARIO DE RATA DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD Y PARTICIPA EN EL DESARROLLO FOLICULAR.

Fernandois D, Na EK, Cuevas F, de las Heras M, Lara HE, Paredes AH.

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

11:30 – 11:45

SOBREEXPRESIÓN DE mRNA Y PROTEINA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) Y TRKA EN EL ENDOMETRIO EUTÓPICO DE MUJERES DIAGNOSTICADAS CON ENDOMETRIOSIS.

Johnson MC, Parada E, Venegas S, Hidalgo P, Castro J, Salina A, González R, Fuentes A, Boric MA. Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Hospital Clínico San Borja Arriarán, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

11:45 – 12:00

ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS RELACIONADAS CON LA OBESIDAD EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO.

Oróstica L, Astorga I., Poblete C., García V., Romero C., Vega M. Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

12:00 – 13:00

Conferencia 2

Coordina: Enrique Castellón

"Medicina Personalizada: una nueva mirada al concepto de cáncer de ovario"

Gareth Owen. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

13:00 – 14:30

Almuerzo

14:30 – 16:00

Simposio 2. Biología del espermatozoide

Coordina: Patricio Morales

"Apoptosis durante la espermatogénesis en condiciones fisiológicas y patológicas"

Ricardo Moreno, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

"Mecanismos moleculares/vías de transducción de señales que gobiernan las etapas tardías de la fusión de membranas durante la exocitosis del acrosoma"

Claudia Tomes, F. de Ciencias Médicas, Universidad de Cuyo, Mendoza. Argentina.

"Estudios básicos y tecnológicos asociados a la criopreservación y funcionalidad espermática en mamíferos"

Alfredo Ramírez, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

16:00 – 18:00

Café y Sesión de Posters 1

Coordinan: Alfredo Ramírez y Ma. Cecilia Johnson

POSTER 1

EFFECTO DEL LÍQUIDO PERITONEAL SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y EL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) Y SUS RECEPTORES TrkA Y p75NTR EN CÉLULAS ESTROMALES ENDOMETRIALES EUTÓPICAS.

Alcántar K., Castro J, Gabler F, Sovino H, Martínez A, Munevar L, Boric MA, Johnson MC.

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

POSTER 2

EFFECTO DE TCM-199 Y DMEM-F12 EN LA MADURACIÓN IN VITRO Y DESARROLLO EMBRIONARIO DE OVOCITOS EQUINOS ACTIVADOS PARTENOGENÉTICAMENTE.

Álvarez M., Arias ME., Vargas T., Sánchez, R., Felmer R.

Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

POSTER 3

EFFECTO DE LA SEPARACIÓN DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS MEDIANTE CENTRIFUGACIÓN EN GRADIENTE DE PERCOLL Y SWIM-UP SOBRE PARÁMETROS DE CALIDAD Y MOTILIDAD ESPERMÁTICA.

Andara K., Arias ME., Sánchez R., Águila L., Zambrano F., Vargas T. y Felmer R.

- POSTER 4** **LA OBESIDAD COMO FACTOR DISRUPTIVO DEL DESARROLLO FOLICULAR OVÁRICO.**
Bazzano MV., Torelli C., Pustovrh MC., Paz DA. y Elia EM.
Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-CONICET-UBA). Buenos Aires. Argentina.
- POSTER 5** **EL BLOQUEO DE LA VÍA PI3K-AKT EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS SE ASOCIA A DISMINUCIÓN DE LA MOTILIDAD, AUMENTO DE ROS INTRACELULAR Y DAÑO OXIDATIVO DEL DNA.**
Boquen R., Uribe P., Treulen F., Villegas JV.
Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.
- POSTER 6** **EFFECT OF A MIXTURE OF ENDOCRINE DISRUPTORS IN THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF MALE MICE.**
J. Buñay. L.M Gallardo, D.Patiño, R.D.Moreno.
Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- POSTER 7** **REPROGRAMACIÓN FETAL: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ESTRADIOL O DHT SOBRE LA DINÁMICA INSULINA-GLUCOSA EN OVEJAS OVARIETOMIZADAS EXPUESTAS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA.**
Carrasco A., Recabarren M., Rojas-García P., Sandoval D., Acevedo C., Sir-Petermann T., Recabarren S..
Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal(FISENLAB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción.
- POSTER 8** **EXPOSICIÓN DE OVOCITOS MADUROS A UN DONADOR DE ÓXIDO NÍTRICO (ON) PARA LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA AL ESTRÉS OXIDATIVO EN EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*.**
Cheuquemán C., Loren P., Arias M., Risopatrón J., Felmer R., Álvarez J., Mogas T., Sánchez R.
Centro de Biotecnología de la Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
- POSTER 9** **EL FACTOR TRANSCRIPCIONAL SNAIL PROMUEVE LA TRASLOCACIÓN DE SINDECANO 1 AL NÚCLEO DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO.**
Chrzanowsky DR., Farfán NM., Castellón EA., Contreras HR.

POSTER 10

LA AROMATIZACIÓN *IN VITRO* INDUCE PROTECCIÓN FRENTE A ESTRÉS OXIDATIVO: ROL DE TRPV1.

Córdova C., Ramírez R., Rodríguez B., Olivero P.

Laboratorio de estructura y función celular, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

POSTER 12

EL BLOQUEO KISSPEPTINÉRGICO DISMINUYE EL DESARROLLO FOLICULAR DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD EN OVARIOS DE RATAS DESNERVADAS.

Cuevas F., Na E, Fernandois D, Lara H, Paredes A.

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

POSTER 13

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO ACUOSO DE *ARISTOTELIA CHILENSIS* (MAQUI) Y SU EFECTO EN LA CAPACIDAD FECUNDANTE DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS.

Silva T. Cuevas M., Jofré I., Acevedo F., Rubilar M., Romero F.

Laboratorio de neurociencias y biología de peptidos. Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina CEGIN-BIOREN-CEBIOR Universidad de la Frontera.

POSTER 14

EVALUACIÓN DE miRNAs EN TEJIDOS DE CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL

Cuevas P., Vega M. y Romero C.

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

POSTER 15

METODOLOGÍA DE CRIOCONSERVACIÓN *IN VITRO* DE SEMEN DE ZÁNGANOS DE *Apis mellifera*.

Díaz MC., Cruz-Fernandes L., Acuña R., Palomino J., Moreno RD.

Unidad de Endocrinología y Reproducción. Departamento Fisiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

POSTER 16

PERFIL METABÓLICO Y CONDUCTA ALIMENTARIA EN HIJOS PREPUBERALES Y EN PUBERTAD TEMPRANA DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO.

Echiburú B., Vantman N, Concha F, Luchsinger M., Pereira C, Crisosto N., Pérez-Bravo F., Santos JL., Recabarren SE. y Sir Petermann T.

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

- POSTER 17** **PHYSIOLOGICAL AND PATHOPHYSIOLOGICAL ANGIOGENESIS IS INCREASED BY PLATELETS AND INHIBITED BY DIABETIC CONCENTRATIONS OF METFORMIN.**
Erices R., Orellana R., Aravena R., Racordon D., Valdivia A., González I., Oliva B., Vásquez P., Mezzano D., Cuello M.A. y Owen G.I.
 Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- POSTER 18** **ALTERACIONES EN EL ESPERMIOGRAMA DE JÓVENES, EXPUESTOS A DIFERENTES DOSIS DE BORO EN EL AGUA POTABLE DE ARICA-CHILE.**
Espinoza-Navarro O., Cortés S., Bustos-Obregón E..
 Departamento de Biología, Universidad de Tarapacá, Arica-Chile
- POSTER 19** **REGULACIÓN FUNCIONAL DEL PROTEASOMA POR LA PROTEÍNA SERINA/TREONINA FOSFATASA PP2A EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS DURANTE LA CAPACITACIÓN.**
Fara K., Baron L., Diaz ES., Morales P.
 Laboratorio de Biología de la Reproducción, Departamento Biomédico. Facultad de Ciencias de la Salud. Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.
- POSTER 20** **LOS FACTORES TRANSCRIPCIONALES ZEB1/2 REPRIMEN LA EXPRESIÓN DEL GEN DE SINDECANO 1 EN CÉLULAS EPITELIALES PROSTÁTICAS.**
Farfán NM., García de Herreros A., Castellón EA., Contreras HR.
 Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- POSTER 21** **DETECCIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DIFERENCIAL 9 (GDF-9) EN FOLÍCULOS ANTRALES DE PERRA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO.**
Fernández T., Palomino J., M de los Reyes
 Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- POSTER 22** **EFFECTO DE LA ACTIVIDAD DE LA METALOPROTEASA ADAM17 SOBRE EL RECEPTOR TRKA, EN UNA LÍNEA CELULAR ENDOTELIAL HUMANA.**
Girardi S., García P., Poblete C., Vera C., Vega M., Romero C.
 Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

POSTER 23

4-NONILFENOL (NP) INDUCE LA GENERACIÓN DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO Y DIACILGLICEROL EN CÉLULAS DE SERTOLI.

Godoy-Sepúlveda R., Oresti G.M., Reyes JG., Aveldaño MI. y Moreno RD.

Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

POSTER 24

EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE PROGESTERONA EN CÉLULAS DE LA GRANULOSA Y SU EFECTO SOBRE METALOPROTEASAS DE LA MATRIZ EXTRACELULAR POSIBLEMENTE INVOLUCRADAS EN LA RUPTURA FOLICULAR.

Henríquez S., Kohen P., Godoy A., Orge F., Devoto L.

Laboratorio de Endocrinología Clínico-Molecular de la Reproducción. Instituto de Investigación Materno Infantil (IDIMI) U. de Chile.

POSTER 25

EL DAÑO HISTOLÓGICO PRODUCIDO POR ESTRÉS CALÓRICO EN TÚBULOS SEMINÍFEROS DE RATA ADULTA ES INDEPENDIENTE DE ESTRÉS OXIDATIVO.

Henríquez-Olavarrieta S. y Moreno RD.

Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. Doctorado en Biología Celular y Molecular, Universidad de Antofagasta.

POSTER 26

ROL DE COX-2 Y SU RELACIÓN CON EL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) EN CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL

Hurtado I., Gabler F., Vega M., Romero C.

Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

POSTER 27

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO POLIFENÓLICO DE *UGNI MOINAE* VAR. TURCZ (MURTILLA) Y EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD METABÓLICA FUNCIONAL EN ESPERMATOZOIDES PORCINOS PRESERVADOS.

Jofré I., Silva T., Cievas M., Scheuermann E. Romero F.

Laboratorio de Neurociencias y Biología de Péptidos. Departamento de Ciencias Preclínicas. Facultad de Medicina. CEGIN-BIOREN-CEBIOR-UFRO. Universidad de la Frontera.

POSTER 28

DIHIDROTESTOSTERONA (DHT) Y SU RELACIÓN CON LA VÍA DE TGF- β 1 EN EL PROCESO DE PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL.

Kohan K., Poblete C., Vega M., Romero C.

Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

POSTER 29

LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS INDUCE LA ACTIVACIÓN DE LA INTEGRINA $\alpha 5\beta 1$.

Lonis, MA., Pozo, P., Perez, B., Martínez, E., Morales, P., Diaz, E.S, Laboratorio Biología de la Reproducción, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

POSTER 30

LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE STAT3 ESTÁ ACTIVADA EN PLACENTA DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO.

Maliqueo M., Sundström Poromaa I., Vanky E., Fornes R., Benrick A., Åkerud H., Stridsklev S., Labrie F., Jansson T., Stener-Victorin E.

Institute of Neuroscience and Physiology, Department of Physiology, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden.

POSTER 31

REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN Y DEGRADACIÓN DE AGO2 DURANTE LA DEFICIENCIA DE GLUTATIÓN

Mancilla H., Slebe JC., Meister G., Concha II..

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.

POSTER 32

FUNCIÓN DE LA ALBÚMINA Y EL BICARBONATO EN EL AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DEL PROTEASOMA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS

Maturana CS., Diaz ES., Signorelli J., Morales P..

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

POSTER 33

OPTIMIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE TRANSFECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS PARA SU POSTERIOR UTILIZACIÓN EN TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES (SMGT).

Delgado A¹, Arias ME¹, Sánchez R¹, Águila L¹, Zambrano F¹, Vargas T¹, Sánchez E¹ y Felmer R^{1,2*}.

¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. ²Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

Viernes 5 de Septiembre

9:00 – 10:30

Simposio 3. Biología del ovocito

Coordina: Dolores Busso

"Movilización de fosfatidilserina en ovocitos de ratón"

Débora Cohen, IBYME Buenos Aires, Argentina.

"Factores Paracrinos en el desarrollo del ovocito canino"

Mónica de los Reyes, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

"Bloqueo y reinicio de meiosis: factores que influyen la maduración de ovocitos bovinos in vitro"

Claudia Lima Verde Leal, F. Zootecnia e Engenharia de Alimentos, U. de São Paulo. Brasil.

10:30 – 12:00

Café y Sesión de Posters 2

Coordinan: Alfonso Paredes y Constanza Angulo

POSTER 1

CONGELACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO EN MEDIO CON ALGINATO.

Merino O., Valdebenito I., Figueroa E., Sánchez R., Risopatrón J. Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile.

POSTER 2

LA DETECCIÓN Y LA FUNCIONALIDAD DEL RECEPTOR DE PROGESTERONA DE MEMBRANA (PRGMC1) AUMENTA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.

Milla, K., Pozo, P., Perez, B., Martínez, E., Morales, P., Diaz, E.S. Laboratorio Biología de la Reproducción, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

POSTER 3

FUNCIÓN DE LA ALBÚMINA, BICARBONATO Y PROTEÍNAS FOSFATASAS EN EL AUMENTO DE LA FOSFORILACIÓN EN RESIDUOS DE TREONINA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.

Mondaca N., Diaz ES., Morales P., Signorelli J.

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

POSTER 4

EL CATABOLISMO DE LÍPIDOS NEUTROS CONTENIDOS EN ADIPOSOMAS ES INDEPENDIENTE DE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS DE SERTOLI

Montes de Oca M., Mancilla H., Covarrubias A., Cereceda K., Vander Stelt K., Angulo C., Concha II.
Laboratorio de Metabolismo Molecular, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile

POSTER 5

APOPTOSIS DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS Y PATOLÓGICAS.

Moreno RD., Urriola-Muñoz P., Buñay J., Henríquez-Olavarrieta S., Aguirre-Arias MV., Gallardo LM. y Reyes JG.
Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

POSTER 6

KISSPEPTINA PARTICIPA EN LA DINÁMICA FOLICULAR DURANTE EL PERIODO FERTIL Y SUBFERTIL DE LA RATA

Na EK, Fernandois D, Lara HE, Paredes AH.
Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

POSTER 7

EL MEDIO CONDICIONADO DE CÉLULAS DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO MODULA LA ANGIOGÉNESIS *IN VITRO* INDUCIDA POR GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA.

Nazir I., Argandoña F. y Tapia-Pizarro A.
Laboratorio Endocrinología Molecular Reproductiva, Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

POSTER 8

EXPRESIÓN DEL REGULADOR DE LA TRANSICIÓN EPITELIO-MESENQUIMA ZEB1 EN MUESTRAS DE CÁNCER PROSTÁTICO DE DIFERENTE GRADO DE MALIGNIDAD.

Orellana O., Farfán NM., Castellón EA., Contreras HR.
Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

POSTER 9

CUANTIFICACIÓN DE COPIAS DEL GEN DAZ DEL CROMOSOMA-Y EN SUJETOS CON FALLA

ESPERMATOGÉNICA PRIMARIA CON O SIN DELECCIONES PARCIALES DE LA REGIÓN AZFc.

Ortega V., Lardone MC., Flórez M., Piottante A., Valdevenito R., Ebensperger M., Castro A.

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

POSTER 10

EFFECTO DEL FACTOR TRANSCRIPCIONAL SNAIL1 SOBRE LAS PROPIEDADES PROLIFERATIVAS, MIGRATORIAS E INVASIVAS EN LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO LNCaP Y PC3.

Osorio L., Farfán NM., Castellón EA., Contreras HR

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

POSTER 11

EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE ENZIMAS LISOSOMALES DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO DEL PEZ *Seriola lalandi*.

Palomino J., Herrera G., Dettleff P., Martínez V.

Laboratorio de Reproducción Animal y ²Laboratorio FAVET-INBIOGEN, Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

POSTER 12

CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE NORADRENALINA Y EL RECEPTOR BETA-ADRENÉRGICO INTRAOVÁRICO Y SU RELACIÓN CON LA FUNCIÓN OVÁRICA EN MUJERES PERIMENOPÁUSICAS.

Paredes A., Urrea J., Greiner M., Echiburu B, Miranda C, Sir-Petermann T. y Lara H.

Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Sede Occidente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Depto. Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico Universidad de Chile

POSTER 13

LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR FIBRONECTINA (FN) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS ES MEDIADA POR EL SISTEMA PROTEINA G-ALFA_s (Gα_s)/ADENILIL CICLASA DE MEMBRANA (ACM)/AMPC/PKA.

Pérez B., Morales P. y Díaz ES.

Laboratorio de Biología de la Reproducción y Desarrollo. Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. Instituto Antofagasta. Universidad de Antofagasta

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

POSTER 14

CONCENTRACIÓN DE ANDROSTENEDIOL EN ENDOMETRIO DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS) Y SU EFECTO EN LOS NIVELES DE CICLINA D1, P27 Y P-AKT EN CÉLULAS ENDOMETRIALES HUMANAS.

Plaza-Parrochia F., Poblete C., Carvajal R., Romero C., Valladares L., Vega M.

Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, INTA, Universidad de Chile.

POSTER 15

IMPACTO DEL COLESTEROL HDL EN LA BIOLOGÍA DEL OVOCITO.

Quiroz A., Mendoza C, Cautivo K, Rigotti A, Busso D.

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

POSTER 16

PAPEL DE LA EXPOSICIÓN PRENATAL A CONTAMINANTES AMBIENTALES Y OBESIDAD MATERNA SOBRE LA PROGRAMACIÓN FETAL DE ENFERMEDADES CRÓNICAS EN RATONES.

Salas-Pérez F., Berkowitz L., Cautivo K., Rigotti A., Moreno RD., Busso D.

Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Facultad de Medicina. Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

POSTER 17

EXPRESIÓN DE BMP-15 EN OVOCITOS DE PERRA PROVENIENTES DE FOLÍCULOS PREANTRALES EN DIFERENTES ESTADOS DE DESARROLLO.

Ramírez F., Palomino J., M. De los Reyes.

Laboratorio de Reproducción Animal. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

POSTER 18

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE METABOLITOS DE ESTRÓGENOS EN CUERPO LÚTEO DE DIFERENTES EDADES Y SU EFECTO SOBRE LA ANGIOGÉNESIS.

Retamales R., Henríquez S, Kohen P, J Strauss y Devoto L.

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

POSTER 19

EFECTO DE LA EXPOSICIÓN PRENATAL A TESTOSTERONA EN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO DE OVINOS.

Sandoval D., Carrasco A., Recabarren M., Rojas-García P., Sir-Petermann T., Recabarren S.

Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal (FISENLAB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán. Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

POSTER 20

REPROGRAMACIÓN FETAL: ALTERACIÓN DE PARÁMETROS TESTICULARES EN MACHOS PREPÚBERES NACIDOS DE MADRES EXPUESTAS A TESTOSTERONA DURANTE LA PREÑEZ.

Silva P., Puentes P., Rojas-García P., Sandoval D., Carrasco A., Recabarren M., Sir-Petermann T., Recabarren S..

Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal (FISENLAB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán. Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

POSTER 21

MECANISMOS MOLECULARES INVOLUCRADOS EN LA REACCIÓN ACROSOMAL INDUCIDA POR ATP, ZONA PELÚCIDA Y PROGESTERONA EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN.

Torres-Fuentes, J.L., Treviño, C., Darszon, A., Moreno, R.D.

Unidad de Reproducción y Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Consorcio de la Fisiología del espermatozoide, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

POSTER 22

N-ACETILCISTEÍNA PROTEGE AL ADN DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS DEL DAÑO OXIDATIVO INDUCIDO POR LA PRODUCCIÓN ENDÓGENA *IN VITRO* DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO.

Treulen F., Uribe P., Boguen R., Villegas JV.

Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

POSTER 23

DETERMINACIÓN DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN POR TUNEL EN BLÁSTULAS *IN VITRO* DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) OBTENIDAS DE OVOCITOS ALMACENADOS A 4°C.

Ubilla A., Arias M.E., Valdebenito I., Risopatrón J.

Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Depto. Ciencias Básicas. Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco.

POSTER 24

EL ESTRÉS NITROSATIVO EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS AFECTA LA PRODUCCIÓN DE ATP, TANTO

POR LA VIA GLICOLÍTICA COMO POR FOSFORILACIÓN OXIDATIVA.

Uribe P., Boguen R., Treulen F., Sanchez R., Villegas JV.
Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN),
Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Programa
de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular
Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

POSTER 25

UMBILICAL CORDS FROM MATERNAL OBESITY PREGNANCIES SHOWS INSULIN RESISTANCE

¹Villalobos-Labra R. ^{2,3}Westermeyer F, ^{1,3}Sáez PJ, ¹Kusanovic JP, ¹Poblete J, ¹Sobrevia L, ¹Farías-Jofré M. ¹Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Medical Research Centre (CIM), Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDIS), Faculty of Chemical & Pharmaceutical Sciences, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Sebastián.

POSTER 26

EFFECTOS DE 2-HIDROXIESTRADIOL SOBRE LA VIABILIDAD Y LA RESPUESTA TRANSCRIPCIONAL ACTIVADA POR TESTOSTERONA EN CÉLULAS DE SERTOLI DE RATÓN Y HUMANA.

Valencia C., Fontecilla J, Molina C, Castro A, Parada-Bustamante A.
Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

POSTER 27

EXPRESIÓN DE DYRK1B EN CÉLULAS DE SERTOLI: POTENCIAL MECANISMO INVOLUCRADO EN LA REGULACIÓN DE LA GLUCOGÉNESIS.

Vander Stelt K., Covarrubias AA., Mancilla H., López C., Cereceda K., Montes de Oca M., Angulo C., Slebe JC. y Concha II.
Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile.

POSTER 28

TAPSIGARGINA Y MITOXANTRONA, A DIFERENCIA DE NGF, INDUCEN TRANSLOCACIÓN DE CALRETICULINA DESDE EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO HACIA LA MEMBRANA CELULAR EN CÉLULAS OVÁRICAS HUMANAS.

Vera C., Poblete C., Vega M., Ferreira A., Romero C.
Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva. Hospital Clínico Universidad de Chile. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDIS)

POSTER 29

EVALUACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES Y CÉLULAS MESENQUIMALES EN EL TUMOR PRIMARIO Y EN EL NICHOS METASTÁSICO EN UN MODELO ORTOTÓPICO DE CÁNCER DE PROSTATA.

Walker K., Cifuentes F., Valenzuela R., Contreras HR., Castellón EA.

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

POSTER 30

AUMENTO EN LAS TASAS DE FORMACIÓN DE BLASTOCISTOS BOVINOS PRODUCIDOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI) MEDIANTE LA DESESTABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA Y ELIMINACIÓN DEL ACROSOMA.

Zambrano F., Arias ME., Vargas T., Sánchez R., Águila L., Felmer R.

Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, UFRO.

POSTER 31

HORMONA GONADOTROFINA CORIÓICA HUMANA (hCG) MODULA LA SEÑALIZACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE-BETA (TGF- β), DISMINUYENDO LA ACTIVACIÓN DE ERK 1/2 EN CÉLULAS DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO.

Zavaleta K., Argandoña F., Tapia-Pizarro A.

Laboratorio Endocrinología Molecular Reproductiva, Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

12:00 – 13:00

Conferencia 3

Coordina: Carmen Romero

"Síndrome de Ovario Poliquístico y su impacto a nivel endometrial"

Margarita Vega, Hospital Clínico, U. de Chile.

13:00 – 14:30

ALMUERZO

14:30 – 16:00

Presentaciones Trabajos Libres 2.

Biología Reproductiva Masculina y Desarrollo Embrionario

Coordina: Gareth Owen

- 14:30 – 14:45 **CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS FLAGELARES RICAS EN CISTEÍNA, OXIDADAS EN EL EPIDÍDIMO Y SU RELACIÓN CON LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA.**
Cabrillana ME., Ruiz Estrabón M., Monclus MA., Vincenti AE. y Fornés MW.
Instituto de Histología y Embriología de Mendoza, F.C.Médicas U.N.Cuyo Argentina. Consejo de Investigación de la Universidad del Aconcagua, F.C.Médicas Mendoza Argentina.
- 14:45 – 15:00 **THE WNT1 LIGAND/FRIZZLED 3 RECEPTOR SYSTEM PLAYS A REGULATORY ROLE IN THE ACHIEVEMENT OF THE “IN VITRO” CAPACITATION AND SUBSEQUENT “IN VITRO” ACROSOME EXOCYTOSIS OF PORCINE SPERMATOZOA**
Covarrubias AA., Cereceda K., Vander Stelt K., López C., Montes de Oca M., Rodríguez-Gil JE., Concha II.
Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Chile. Universidad Autónoma de Barcelona, Spain.
- 15:00 – 15:15 **LA FIBRONECTINA (FN) MODULA EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE DURANTE LOS EVENTOS TEMPRANOS DE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS.**
Martínez E., Pérez-Martínez S., Morales P., Díaz ES.
Laboratorio de Biología de la Reproducción, Universidad de Antofagasta. Laboratorio de Biología de Mamíferos CEFYBO-CONICET-UBA, Buenos Aires, Argentina. Instituto Antofagasta.
- 15:15 – 15:30 **CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ENZIMAS DE REGULACIÓN EPIGENÉTICA DURANTE LA DIFERENCIACIÓN MULTILINAJE DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES BOVINAS**
Cuevas FH¹, Peralta OA¹.
¹Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- 15:30 – 15:45 **PARTICIPACIÓN DEL RECEPTOR DE HDL SR-BI EN LA CAPTACIÓN DE VITAMINA E DURANTE EL CIERRE DEL TUBO NEURAL EN RATONES.**
Santander N¹, Pérez D², Echeverría G², Mendoza C¹, Cautivo K¹, Rigotti A^{1,2}, Busso D¹.
¹Depto. de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, ²Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas (CNMEC), Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 15:45 – 16:00 **PARTICIPACIÓN DE LOS HEMICANALES DE PANXINAS EN LA CAPACITACIÓN Y REACCIÓN**

ACROSOMAL INDUCIDA POR ATP EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN

Torres-Fuentes, JL.¹; Treviño, C.²; Darszon, A.²; Moreno, RD¹.

¹Unidad de Reproducción y Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Consortio de la Fisiología del espermatozoide, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

10:30 - 11:00

Simposio 4.

Modelos y perspectivas en biología del desarrollo

Coordina: Miguel Concha

"El desarrollo de Drosophila desde una perspectiva celular"

Alvaro Glavic, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

"Evolución del programa genético encargado del desarrollo óseo en vertebrados"

Sylvain Marcellini, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

"Movimientos celulares y dinámica de tejidos en el origen de la forma animal"

Miguel Concha, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 17:30 – 18:00 **Café**

18:00 – 19:00

Conferencia 4

Coordina: Dolores Busso

"Evolución de las estrategias reproductivas en humanos"

Fabián Gabelli, Facultad de Psicología. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

21:00

Ceremonia y Cena de Clausura. Resultados de las premiaciones e incorporaciones.

Sábado 6 de Septiembre

9:30 – 11:00 Reunión de Socios de la Sociedad Chilena de
Reproducción y Desarrollo

INCORPORACIONES

MOTILIDAD Y VIABILIDAD DE ESPERMATOZOIDES, COMPARACIÓN DE MODELOS DE MAMÍFEROS Y PECES

(Motility and viability of sperm, models of mammalian and fish comparison)

Parodi J

Laboratorio de Fisiología de la Reproducción, Escuela de Medicina Veterinaria, Núcleo de investigación en Producción Alimentaria, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco.
jparodi@uct.cl

La motilidad de espermatozoides afecta la viabilidad de las células, alterando el calcio intracelular. Se usó semen 5 salmones (*Salmon salar*) sanos y 5 pajuelas criopreservadas de bovino. La viabilidad se midió por tinción eosina, se evaluó la movilidad por observación directa y se midió el acrosoma en semen de bovino usando tinción de azul de cromassie. La medición de calcio se realizó utilizando la sonda de Fluo-4. Semen de salmón pudo mantenerse por 3 días, su viabilidad decae junto con su capacidad de activación, en 50% a los 5 días, calcio también disminuye. Interesantemente, al ser activada aumenta 3 veces la basal de calcio, esto depende del tiempo de conservación. El semen de bovino, tiene un motilidad de 2 a 4 hrs y su viabilidad es de unas 8 horas. La observación de acrosoma es de un 60 a 80% en las muestras colectadas por "swin-up" y disminuye en las horas de conservación a 10%. La capacidad de generar el "swin-up" depende de calcio extracelular y quelando el calcio con una solución de BAPTA 10 mM logramos inhibir la motilidad. En esta solución se incrementó en un 50% el tiempo de viabilidad de las células y se preservó el acrosoma en un 60%. Esta evidencia sugiere que el disminuir la motilidad, genera un aumento en la viabilidad y proponemos explorar si la modulación de canales de calcio en espermatozoides de bovino y salmón es capaz de reducir la motilidad y aumentar la viabilidad de estas células en condiciones experimentales.

Agradecimientos JP apoyo MECESUP-UCT 07804 y a BIOACUI por semen de salmón.

VITRIFICACIÓN DE ESPERMATOZOIDES EN SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*): EFECTO DEL PLASMA SEMINAL EN LA FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA.

Figueroa E^{a,c}, Merino O^b, Risopatrón J^b, Isachenko V^d, Sánchez R^b, Effer B^a, Isachenko E^d, Farias J^c, Valdebenito I^a.

^a Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, Chile; ^b BIOREN – Centro de biotecnología en Reproducción, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile; ^c Departamento de Ingeniería Química, Universidad de la Frontera, Chile; ^d University of Cologne, Department of Obstetrics and gynecology, Köln, Germany.

Este estudio fue diseñado para evaluar un protocolo de vitrificación espermática en salmón del Atlántico y determinar la capacidad del plasma seminal (PS) para proteger a las células del criodañ. El medio de vitrificación consistió en un solución salina para espermatozoides de peces (medio Cortland®) + 10% de DMSO + 2% de BSA + 0,13 M de sacarosa + PS en concentraciones de 30% (grupo 1), 40% (grupo 2) y 50% (grupo 3), espermatozoide fresco (F) se utilizaron como control. Para la congelación, alícuotas de 30µL de suspensiones espermática (1.2×10^6 espermatozoides) de cada grupo fueron depositadas directamente en nitrógeno líquido. Luego, las esferas fueron colocadas en criotubos para su almacenamiento en nitrógeno líquido. Los criotubos con los espermatozoides vitrificados se descongelaron en un baño termoregulado con agua a 37°C durante 45s. Posteriormente a la desvitrificación, se evaluaron los siguientes parámetros de calidad espermática por citometría de flujo: la fragmentación del ADN (TUNEL), integridad de la membrana plasmática (SYBR-14/PI) y el potencial de membrana mitocondrial (JC-1). Por microscopia óptica se evaluó la motilidad de los espermatozoides, mientras que la capacidad fecundante se determinó en un estereomicroscopio para establecer la presencia de embriones en estado neurulación, utilizando cinco repeticiones por tratamiento con 30 ovocitos. La mayor protección de la función espermática se observó en la concentración más alta de PS (50%), obteniendo la fragmentación del ADN un 9,2%, integridad de la membrana de plasma un 98,6%, potencial de membrana mitocondrial un 47,2%, motilidad espermática de 44,1% y la tasa de fecundación un 46,2%.

Financiado por FONDEF (D10I1064) y FONDECYT (1120705). *Aceptado en Theriogenology, An International Journal of Animal Reproduction, 2014.*

SIMVASTATINA EXHIBE EFECTOS ANTIPROLIFERATIVOS SOBRE ESFERAS DERIVADAS DE CÉLULAS DE CARCINOMA MAMARIO CANINO. (Simvastatin exhibits anti-proliferative effects on spheres derived from canine mammary carcinoma cells)

Torres C

Laboratorio de Biomedicina y Medicina Regenerativa, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

La neoplasia mamaria canina es una patología de presentación frecuente y un buen modelo de estudio para el cáncer mamario humano. Esta enfermedad tiene un potencial metastásico, condición que podría explicarse parcialmente por la presencia de células neoplásicas con características de troncalidad (CNT), las cuales pueden resistir tratamientos antineoplásicos y promover la progresión tumoral. Previamente, se ha descrito que simvastatina tiene efectos antiproliferativos sobre células de cáncer mamario humano, cuyo mecanismo de acción estaría dado en parte por una reducción en la expresión de CD44 -receptor de ácido hialurónico- que usualmente se expresa en CNT. Sin embargo, lo anterior no ha sido evaluado en CNT derivadas de tumores mamarios. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de simvastatina sobre CNT derivadas de células de carcinoma mamario canino CF41.Mg en DMEM/F12, las que se caracterizaron fenotípica (CD44, CD24, CD133) y funcionalmente (autorenovación, quimioresistencia). Se evaluó viabilidad (reducción de MTS) e invasión celular, apoptosis (Tunel), y la expresión de CD44 (inmunocitoquímica, western blot) en respuesta a simvastatina. Las esferas mostraron características de troncalidad pues expresaron una alta proporción del fenotipo CD44⁺/CD24^{-bajo}, exhibiendo autorenovación y quimioresistencia relativa. Simvastatina redujo la viabilidad e invasión celular ($p < 0,05$), e indujo apoptosis ($p < 0,05$). Simvastatina no gatilló cambios en la expresión de CD44. Estos resultados sugieren que simvastatina modula la actividad de CNT de una forma independiente de CD44, lo cual sustenta la realización de estudios clínicos en el modelo canino de neoplasia mamaria.

FONDECYT INICIACIÓN 11110148

***MINI CONFERENCIA
PREMIO SCHRD***

**LA APOPTOSIS INDUCIDA POR DISRUPTORES ENDOCRINOS
DEPENDE DE LA METALOPROTEASA ADAM17: UNA APROXIMACIÓN
IN VITRO** (Apoptosis induced by endocrine disruptors is depending of
ADAM17 metalloprotease: an in vitro approximation)

Urriola-Muñoz P ¹, Li X ², Blobel C ² y Moreno R ¹. ¹Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Arthritis & Tissue Degeneration Program, Hospital for Special Surgery, New York.

Los disruptores endocrinos son moléculas que alteran el balance hormonal, y están presentes en diversos utensilios de uso diario como las botellas de plástico, billetes, mamaderas, etc. Recientemente hemos mostrado que ADAM17, una metaloproteasa extracelular que desprende el ectodominio de varias proteínas ancladas a la membrana, participa en la apoptosis fisiológica e inducida de células germinales, sin embargo, se desconoce su mecanismo de activación. Bisfenol A (BFA) y 4-nonilfenol (NF), dos disruptores endocrinos, inducen la muerte en células de cáncer de próstata (LnCap) y en células de Sertoli de ratón (TM4). El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar si BFA y NF inducen apoptosis en células LnCap y TM4 de forma dependiente de ADAM17. Hemos observado que la muerte celular inducida tanto por BFA como NF es prevenida al silenciar ADAM17 con el uso de shRNA. Por otro lado, usando un sistema in vitro, en donde las células expresan constitutivamente una proteína de fusión correspondiente a un sustrato de ADAM17 acoplado a fosfatasa alcalina, hemos observado que estos xenoestrógenos inducen un aumento en la actividad de ADAM17, la cual es reducida al inhibir genéticamente ADAM17 mediante shRNA. Además, hemos estudiado que iRhom2, una proteína transmembrana requerida para la maduración de ADAM17, es necesaria para la activación de ADAM17 inducida por BFA y NF. En conclusión, en este trabajo hemos mostrado evidencia de un mecanismo donde la apoptosis en células LnCap y TM4 inducida por los xenoestrógenos BFA y NF depende de un mecanismo de activación de la metaloproteasa ADAM17.

FONDECYT-1110778

CONICYT-201121110211

CONFERENCIAS

EPIGENETIC AND METABOLOMIC INSIGHT INTO PCOS PATHOPHYSIOLOGY

Abbott D ^{1,4}, Goodarz M ⁵, Assadi-Porter F ⁶, Whigham L ⁷, Nicol L ², Levine J ^{3,4} and Dumesic D ⁸.

Departments of ¹Obstetrics and Gynecology, ²Pediatrics and ³Neuroscience, and ⁴Wisconsin National Primate Research Center, University of Wisconsin, Madison, WI, USA; ⁵Department of Medicine, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA; ⁶Department of Nutritional and Human Health Sciences, Texas Tech University, Lubbock, TX, USA; ⁷Paso del Norte Institute for Healthy Living, El Paso, TX, USA; ⁸Department of Obstetrics and Gynecology, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, CA, USA.

Polycystic ovary syndrome (PCOS) encompasses not only hyperandrogenic anovulation, but also increased risk of obesity and type 2 diabetes. A minority of women with PCOS have distinct genetic or epigenetic presentations. The origins of PCOS, however, are still unknown. Animal models of PCOS demonstrate repeatable generation of its fundamental traits from epigenetic manipulation, particularly when fetal exposure to testosterone (T) is employed in nonhuman primates, such as rhesus monkeys. Adult prenatally androgenized (PA) female monkeys exhibit PCOS-like diagnostic traits when exposed to T during either early-to-mid (E) or late (L) gestation, but gonadotropic and insulin-related defects are more pronounced in EPA females. Epigenetic analysis of visceral fat in infant and adult EPA monkeys suggests altered TGF-beta and LH/CG receptor signaling, both of which have been implicated in gene candidate analyses in PCOS women. Altered gene expression in adipocytes, together with a 'fat sparing' phenotype from metabolomics analyses, suggest that reduced capacities for safe storage and metabolism of lipid may contribute to the developmental origins of PCOS. A population of naturally-occurring hyperandrogenic adult female rhesus monkeys has been recently identified exhibiting increased circulating levels of LH and AMH, positive correlations between circulating T and adult ovarian volume and ano-genital distance (a biomarker for fetal T exposure), and an ~24% incidence of oligomenorrhea. Contrasting potential genetic versus epigenetic origins of PCOS in a single nonhuman primate species may provide a novel molecular level of insight into pathogenesis of the syndrome. Funding: grants from NIH (P50-HD044405, U54-HD028934, R01-RR013635, P51 OD011106) and Endocrine Fellows Foundation.

PERSONALIZING CANCER THERAPY

Owen G

Faculty of Biological Sciences & Biomedical Research Consortium of Chile & Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS) & Center UC: Investigation in Oncology, at the Pontificia Universidad Católica de Chile.

Despite every cancer being unique, cancer patients generally receive the same chemotherapy regimes. Recent advances have demonstrated that the metastatic cancer cell is distinct to the majority of cells found in the tumor mass and thus the cancer cells that have escaped the primary tumor are the true targets of chemotherapy. Our objective is to personalize chemotherapy in ovarian cancer patients by analyzing both the chemotherapy that will deliver the highest toxicity to individual cancer cells and how the individual patient will metabolize the cancer drug. To this end we isolated potential ovarian metastatic cells from peritoneal fluid of patients and correlated their *in vitro* response to the chemotherapy to that observed in the clinic. Blood was extracted from each patient to analyze metabolism gene SNPs with the object of obtaining a correlation with drug toxicity recorded by the attending physician. Cancer and blood samples were obtained with signed informed consent and IRB approval from a network of Chilean and Peruvian hospitals. Analysis of first line chemotherapies demonstrated a median of progression free survival (PFS) of 17 months for patients predicted to respond to treatment by our assay and an average of 2 months PFS when the assay predicted no response. Preliminary analyzes of SNPs related to paclitaxel-platinum based chemotherapy show distinct patient sub-populations. In conclusion we demonstrate a clear distinction in PFS between patients predicted or not to respond to treatment in our assay. Our data reinforces that each cancer patient is unique and supports the need to offer personalized treatment to every cancer patient.

Funding CORFO 13CTI21526-P6 & 13IDL2-18608, FONDECYT 3120003 & 1120292, CONICYT-FONDAP 15130011.

SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO Y SU IMPACTO A NIVEL ENDOMETRIAL. (Polycystic Ovarian Syndrome and its impact at endometrium level)

Vega M

Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico, Dpto. Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

El Síndrome de Ovario Poliquístico (PCOS) es un trastorno endocrino metabólico, caracterizado por hiperandrogenemia relacionada estrechamente con hiperinsulinemia. Además de la disfunción a nivel ovárico, existe alteración en la función endometrial, siendo este tejido altamente dependiente de esteroides. Por 20 años nuestro grupo ha estudiado la fisiopatología endometrial y hemos descrito en endometrio de mujeres con PCOS (PCOSE) un incremento en la sensibilidad a la acción esteroidal, coincidente con niveles disminuidos de marcadores de receptividad uterina (integrina $\alpha\beta3$). Esto explicaría parcialmente la falla implantacional de estas pacientes, con un porcentaje mayor de abortos y abortos recurrentes. Aún más, dado al trastorno endocrino que presentan, la probabilidad de desarrollar hiperplasia y cáncer endometrial es mayor que la población general, con un aumento en la viabilidad y proliferación celular y disminución de apoptosis, conduciendo a un desbalance en la homeostasis endometrial. Por otro lado, la insulino-resistencia presente en un porcentaje alto de mujeres-PCOS, reduciría la disponibilidad energética en endometrio, donde diversas moléculas intermediarias de la vía de señalización de insulina se encuentran disminuidas, sugiriendo un defecto en la producción y exposición del glucotransportador GLUT4 en la superficie celular. Administración oral de metformina (insulino-sensibilizante) a pacientes-PCOS, aumenta GLUT4 endometrial, mejorando la fertilidad de las paciente s. Otra característica importante es que 70% de mujeres-PCOS son obesas; uno de los marcadores de obesidad es adiponectina (aumenta sensibilidad a insulina), encontrándose disminuida en plasma de mujeres-PCOS, similar a adiponectina, receptor tipo1 y APPL1 endometrial. En su conjunto, nuestros resultados claramente señalan que los defectos moleculares encontrados en el endometrio-PCOS explicarían parcialmente las fallas reproductivas de estas pacientes.

Financiado por FONDECYT Proyectos (MV) #1980899; 1010821; 1050098; 1095127; 1130053.

EVOLUCIÓN DE LAS ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS EN HUMANOS.

(Evolution of human reproductive strategies)

Gabelli F

Lic. Ciencias Biológicas UBA. Prof. Biología del Comportamiento. Facultad de Psicología, UBA.

La psicología evolucionista considera a la psiquis humana como un conjunto de módulos o mecanismos que han evolucionado durante al menos un par de millones de años por la acción de la selección natural. Investiga la función adaptativa de nuestros sistemas cognitivos y emocionales en términos Darwinianos, con la intención de entender como la selección natural diseñó sus funciones de manera que nuestros ancestros resolvieran sus problemas cotidianos relacionados con la supervivencia y la reproducción. Las estrategias reproductivas, resultado de la acción de dichos sistemas cognitivos y emocionales, serían verdaderas "adaptaciones" en el sentido neodarwiniano. Las presiones de selección modularían las estrategias de manera que estas incrementen el éxito reproductivo del ejemplar. Hembras y machos cuentan con diferentes herramientas para resolver el problema de la reproducción. Hembras con pocas gametas muy costosas (óvulos) y mayor inversión parental (gestación y amamantamiento), machos con muchas gametas económicas (espermatozoides) y poca inversión parental obligada. Las estrategias de machos y hembras no serían coincidentes y el conflicto entre sexos uno de los rasgos más distintivos. Los machos, han sido seleccionados para maximizar el uso de sus espermatozoides. La monopolización de parejas es la estrategia de base, con una mayor varianza reproductiva y con intensa competencia por el acceso a las parejas. Las hembras, por el contrario, deberán cuidar el uso de sus gametas siendo altamente selectivas procurando pocas parejas, pero buenas. Las bondades de la pareja estarán basadas tanto en la provisión de cuidado parental como en la calidad genética de su candidato.

SIMPOSIOS

Simposio 1

Reprogramación fetal de PCOS en humanos y modelos experimentales

DINÁMICA DE PARÁMETROS METABÓLICOS Y REPRODUCTIVOS EN DISTINTAS ETAPAS DEL DESARROLLO EN HIJOS E HIJAS DE MADRE SOP: POSIBLE IMPACTO DEL AMBIENTE PRENATAL.

Crisosto N

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

El estudio de la condición SOP tradicionalmente se ha centrado en la etapa reproductiva, en la que se han establecido los patrones hormonales clásicos del síndrome. Desde hace algunos años en nuestro laboratorio, para aproximarnos a la historia natural de la patología, iniciamos el análisis y seguimiento de las hijas de madres portadoras del síndrome en distintas etapas del desarrollo: Infancia (2-3 meses), Niñez (4-7 años), Peripuberal (8-16 años) y 1 a 3 años postmenarquia. Durante la infancia y niñez verificamos un aumento en los niveles de AMH, lo que refleja un incremento en la masa folicular. Esta alteración se mantiene en el periodo peripuberal durante las distintas etapas del desarrollo de Tanner. Desde Tanner IV en adelante se observa hiperandrogenemia asociado a alteraciones metabólicas tales como niveles aumentados de insulina y triglicéridos. En el periodo postmenárquico 69% de las hijas de madre SOP presenta hiperandrogenismo y un 31 % presenta irregularidades menstruales lo que resulta significativamente superior a lo verificado en el grupo control. Dentro de los factores determinantes para controlar la expresión de esta patología durante la adolescencia el manejo de la obesidad es central. Junto con estas influencias ambientales que se presentan durante el desarrollo reproductivo la generación de un SOP pudiese estar determinada por un ambiente intrauterino alterado al que se ve expuesto el feto durante su desarrollo. Intervenciones farmacológicas utilizadas con el fin mejorar el ambiente intrauterino logran revertir las manifestaciones precoces de reprogramación ovárica en las hijas de madre SOP.

REPROGRAMACION FETAL EN MACHOS OVINOS. (Fetal programming in male sheep)

Recabarren S

Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Concepción, Chillán, Chile.

La programación genética de la anatomía y fisiología, puede ser modificada por fenómenos epigenéticos que resultan de estímulos inadecuados en momentos críticos del desarrollo fetal, desviando la trayectoria de la programación y dando origen a lo que se denomina **reprogramación fetal**. En la actualidad, se acepta que muchas enfermedades del adulto tienen un origen fetal y se ha acuñado el concepto del origen fetal de las enfermedades del adulto. Uno de los estímulos reprogramadores es la testosterona (T). Sus efectos son claramente evidentes en las hembras. Nuestro laboratorio ha desarrollado un modelo ovino de reprogramación fetal por exceso de T en machos. Este modelo ovino simula el ambiente hiperandrogénico de la madre con SOP. En estos machos (machos-T) hemos observado que la reprogramación altera parámetros celulares y moleculares del testículo y que algunos de esos fenómenos ya son evidentes desde la etapa fetal. Uno de los fenómenos más destacables es la falta de correlación entre el mayor número de células de Sertoli y la menor concentración espermática. Los mecanismos que conducirían a esta situación estarían relacionados con la AMH, y en los factores de transcripción que median la señal de la FSH. Además, la expresión de proteínas que intervienen en la barrera hemotesticular también está alterada desde la etapa fetal. Estos estudios han permitido empezar a desentrañar el complejo mecanismo que interviene en la reprogramación por T a nivel testicular. Además, desde el punto de vista de la investigación translacional, es posible suponer que hay un riesgo en los hijos de madres SOP.

FONDECYT 1090031

LA EXPOSICIÓN A ESTRADIOL O ESTRÉS INDUCEN OVARIO POLIQUÍSTICO Y REPROGRAMAN LA FUNCIÓN OVÁRICA EN LA RATA. (Exposure to estradiol or stress induces polycystic ovary phenotype and reprograms the ovary function in the rat)

Paredes A ¹, Martínez J ¹, Barra R ¹, Cruz G ². Sotomayor R ² y Lara H ¹.

¹Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, ²Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso,

El estrés es parte integral de la vida moderna, afectando principalmente la función reproductiva. En nuestro laboratorio hemos presentado evidencias que el estrés aumenta el tono noradrenérgico y que está causalmente relacionado con el aumento quistes ováricos y el síndrome de ovario poliquístico. El estrés no sólo afecta la función reproductiva en la etapa adulta, sino que también afecta las primeras etapas del desarrollo, incluso durante el embarazo, afectando la función reproductiva de la progenie en su etapa adulta. En rata adulta, el estrés por frío activa el sistema nervioso simpático (SNS) del ovario. La activación del SNS se origina en el núcleo paraventricular del hipotálamo y se proyecta hacia el ovario en donde estimula la síntesis de andrógenos y modifica el desarrollo folicular, favoreciendo la formación de quistes foliculares. Por otro lado, hemos demostrado que el estrés materno altera el desarrollo folicular en la progenie cuando es adulta, provocando un daño permanente e irreversible en el periodo reproductivo, afectando la expresión de neurotrofinas y el receptor de FSH. Otro método de aumento de la actividad simpática como es la administración de estradiol a ratas neonatas, programa un aumento de la actividad simpática del ovario durante la vida adulta, alterando el desarrollo folicular y generando la condición quística del animal. Estos efectos parecen estar relacionados con una sobreexpresión de la hormona antimülleriana (AMH) y el receptor de andrógenos (AR) en el ovario, dado por cambios epigenéticos. El aumento de la actividad simpática (ya sea por estrés o por estradiol) genera cambios de acuerdo a la etapa del desarrollo y altera la función ovárica de forma permanente y que podrían ser transgeneracionales.

Financiamiento: 1120147(AP). 1130049(HL).

Simposio 2

Biología del espermatozoide

APOPTOSIS DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS Y PATOLÓGICAS

Moreno R ¹, Urriola-Muñoz P ¹, Buñay J ¹, Henríquez-Olavarrieta S ¹, Aguirre-Arias M ¹, Gallardo L ¹ y Reyes J ².

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad católica de Chile. ²Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Un creciente número de evidencia apunta a que la fertilidad, y particularmente la producción de espermatozoides, está disminuyendo a nivel mundial. Esto ha generado preocupación por el impacto a nivel biológico, médico, social y económico. Entre las posibles causas se han planteado que el estilo moderno de vida occidental podría influir en esta situación, debido a que algunas variables como el aumento de la temperatura escrotal, por el uso de ropa interior, obesidad, diabetes, y contaminantes ambientales pueden alterar la producción de espermatozoides. El objetivo de esta presentación es mostrar evidencia experimental de que la metaloproteasa ADAM17 participa en la inducción de apoptosis en condiciones fisiológicas y patológicas. ADAM17 es una metaloproteasa de transmembrana implicada en el desprendimiento (o corte) de diversos ligandos y receptores de superficie. Nuestros datos indican que esta enzima se activa en células germinales, y que inhibidores farmacológicos y genéticos previenen la apoptosis en condiciones fisiológicas. También hemos observado un incremento en la apoptosis de células germinales y activación de ADAM17 en un modelo de diabetes y frente a la exposición de xenoestrógenos, los cuales son compuestos que principalmente se encuentran en utensilios de plásticos. En ratas diabéticas encontramos una disminución en la producción de espermatozoides, y ambos modelos se ven afectados parámetros funcionales del espermatozoide como la motilidad y reacción del acrosoma. Estos resultados muestran que agentes como la diabetes o la exposición a xenoestrógenos afectan a las células germinales en diferentes estados de su diferenciación, lo que podría en parte explicar la infertilidad masculina.

FONDECYT 1110778 (RDM) y 1110267 (JGR)

MECANISMOS MOLECULARES/VÍAS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES QUE GOBIERNAN LAS ETAPAS TARDÍAS DE LA FUSIÓN DE MEMBRANAS DURANTE LA EXOCITOSIS DEL ACROSOMA (Molecular mechanisms/signal transduction pathways that govern the late fusion stages during the exocytosis of the acrosome)

Tomes C

IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. 5500 Mendoza. Argentina

La exocitosis es un mecanismo fundamental utilizado por prácticamente todas las células eucariotas para liberar una variedad de compuestos biológicos (por ejemplo hormonas peptídicas y neurotransmisores) y para insertar lípidos y proteínas en la membrana plasmática. Mi laboratorio está interesado en desentrañar los mecanismos moleculares que gobiernan la exocitosis del acrosoma, un gránulo denso de gran tamaño que se libera en la vecindad del ovocito durante la fertilización o por estimulación farmacológica en el tubo de ensayo. La exocitosis del acrosoma depende de miembros de la maquinaria proteica de fusión altamente conservada en todas las células eucariotas, por ejemplo GTPasas monoméricas (Rab3, Rab27, and Rap), SNAREs (syntaxina, sinaptobrevina y SNAP-25) y proteínas que interactúan con ellas (α -SNAP, NSF, Munc13, Munc18, complexina). También requiere calcio de dos fuentes (extra e intracelular) y un sensor (sinaptotagmina), AMP cíclico y su blanco Epac, que es un factor intercambiador de nucleótidos de guanina para Rap. A diferencia de otras células, en el espermatozoide la maquinaria no sufre ciclos constitutivos de activación/inactivación o ensamblado/desensamblado, más bien estas reacciones son unidireccionales y están acopladas a la exocitosis. Por ejemplo, la exposición a inductores activa secuencialmente a Rab27→Rab3→Rap en la región acrosomal del espermatozoide humano. El proceso depende de la síntesis *de novo* de AMP cíclico por parte de la adenilato ciclasa soluble y de la consecuente activación de Epac. La cascada culmina con el ensamblado de SNAREs entre las membranas acrosomal y plasmática y la movilización de calcio del reservorio acrosomal.

Sectyp 06/J342, 06/J416 y 06/J461, PICT2006-01036 y PICT-2010-0342 (C.N.T.)

ESTUDIOS BÁSICOS Y TECNOLÓGICOS ASOCIADOS A LA CRIOPRESERVACIÓN Y FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA EN MAMÍFEROS. (Basic and technological studies associated to cryopreservation and sperm function in mammals)

Ramírez A

El estudio de la funcionalidad espermática en mamíferos tiene alta relevancia biológico-básica, clínica en humanos y productiva en ciencia animal. En tal sentido el conocimiento, desarrollo y uso de marcadores que estimen el potencial fertilizante de los eyaculados frescos o conservados, centra el debate en la calidad seminal y sus paradigmas. Con el fin desarrollar un programa piloto de IA con semen congelado y refrigerado en equinos se montó un esquema de trabajo que incluyo desde análisis andrológicos de los donantes, evaluaciones de calidad, refrigerabilidad y congelabilidad espermática y validación de protocolos para uso en IA intracornual profunda. Al respecto, en esta presentación se muestran aproximaciones básicas y tecnológicas que permitieron obtener, bajo condiciones controladas, una tasa promedio de gestación del 61%, a un intento (semen congelado). También hemos podido abordar algunos aspectos que no han recibido mucha atención en relación a los estudios de calidad y congelabilidad espermática equina, como lo son: La estacionalidad reproductiva, tolerancia a la centrifugación, uso de tasas de refrigeración por sobre los 0,5°C/min entre los 20 y 8°C, criterios que definen esos límites, respuesta a la congelación y mantención a -80°C, densidad espermática de las dosis seminales, importancia de la compactación de la cromatina y nuevos marcadores proteicos de capacitación espermática en equinos y ratón. En bovinos se ha estudiado la posible interacción de moduladores metabólicos y la capacitación y más recientemente la congelabilidad seminal a largo plazo, bajo distintos soportes y que mantienen genética bovina de alto valor por más de 40 años.

(FONDEF D08I1076: FONDEF VIU20017; DID S-2009-61)

Simposio 3
Biología del ovocito

MOVILIZACIÓN DE FOSFATIDILSERINA EN OVOCITOS DE RATÓN

Gómez M ¹, Curia A ¹, Stein P ², Busso D ³, Schultz R ², Cuasnicu P ¹ y **Cohen D ¹**.

¹ Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Buenos Aires, Argentina. ²Department of Biology, University of Pennsylvania, USA.

³ Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

dcohen@ibyme.conicet.gov.ar

La fosfatidilserina (PS) está normalmente localizada en la cara interna de la membrana plasmática y su translocación dependiente de Ca^{2+} a la cara externa es un requisito en diferentes procesos celulares distintos a la apoptosis. Dado que el Ca^{2+} también cumple un rol fundamental en la fisiología del ovocito, evaluamos la movilización de PS en ovocitos de ratón. Los ovocitos fertilizados presentan marca fluorescente para Anexina 5-FITC, proteína que se une específicamente a PS, lo que indica la exposición de PS luego de la fertilización. La fluorescencia fue observada en la superficie del ovocito con excepción de la región que recubre el huso meiótico y la de entrada del espermatozoide. La exposición de PS es transitoria, no detectándose en el momento de la primera división mitótica. Ensayos de RT-PCR mostraron que el ovocito de ratón expresa la flipasa *Atp8a1* y las escramblasas *Plscr1* y *3*, responsables de la movilización de PS en las membranas celulares. La activación partenogenética de ovocitos con SrCl_2 mostró que la exposición de PS es independiente de la presencia del espermatozoide. La utilización del quelante de Ca^{2+} BAPTA-AM, de ovocitos provenientes de hembras deficientes en CaMKII γ y de ovocitos activados con el quelante de Zn^{2+} TPEN indica que la exposición de PS es dependiente de Ca^{2+} e independiente de la reasunción de la meiosis. Más aun, también se observó externalización de PS cuando los ovocitos fueron activados con etanol o 2-APB, pero no con ionóforo de Ca^{2+} o thimerosal, sugiriendo que el origen del Ca^{2+} es importante para dicha exposición. Finalmente, observamos que la externalización de PS requiere de un citoesqueleto de actinadínámico. En conjunto, los resultados muestran por primera vez que el aumento de Ca^{2+} que ocurre durante la activación del ovocito induce una exposición transitoria de PS que no está asociada a apoptosis.

FACTORES PARACRINOS EN EL DESARROLLO DE OVOCITOS CANINOS. (PARACRINE FACTOR ON CANINE OOCYTE DEVELOPMENT)

De los Reyes M

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

Los ovocitos caninos son menos competentes en el desarrollo que los ovocitos obtenidos de otras especies. Por lo tanto, la maduración de ovocitos *in vitro*, la fecundación *in vitro* y el desarrollo embrionario temprano en cultivo son especialmente difíciles de obtener en esta especie. El factor de diferenciación 9 (GDF9) y la proteína morfogénica ósea 15 (BMP15), son miembros de la familia de factores de transformación beta (TGF β), que tienen un rol regulatorio para el desarrollo del ovocito y células foliculares. Estas proteínas se han descrito en diferentes especies y recién ahora las hemos empezado a describir en ovocitos de perras. Hemos estudiado en las células el cumulo y en ovocitos desnudos, como también en ovocitos ovulados, los patrones de expresión de GDF-9 y BMP-15 mediante Western blot e inmunofluorescencia indirecta después de diferentes tiempos de maduración. La evidencia indica por primera vez la presencia de GDF-9 y BMP-15 en ovocitos caninos y células del cumulo, indicando que la presencia de estas proteínas no sería igual durante la maduración del ovocito. Actualmente se está estudiando en nuestro Laboratorio la producción de estos factores durante el desarrollo folicular en esta especie ya que la IVM de los ovocitos depende en gran medida de su período anterior dentro de los folículos, donde cobra especial importancia la influencia temporal de estos factores en diferentes parámetros que afectan el crecimiento folicular y por tanto, la competencia de desarrollo de los ovocitos.

FONDECYT 1110265 y 1140658

MEIOSIS BLOCK AND RESUMPTION: FACTORS INFLUENCING IN VITRO MATURATION OF BOVINE OOCYTES

Leal C ¹

¹Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, Brasil

The demand for oocytes for embryo production by *in vitro* fertilization (IVF), in particular, but also for cloning and transgenesis in cattle, has been increasing. IVF has been more used in commercial bovine herds worldwide, including South America. Blastocyst production, however, has remained in 30-40%. *In vivo*, the oocyte ends its growth blocked in prophase I within a 2-3mm follicle, which then continues growing up to ≥ 15 mm, when it becomes capable of responding to ovulatory stimulus. After the LH preovulatory surge, the oocyte resumes meiosis up to metaphase II (maturation) when it is ovulated. Oocytes from 3-8mm follicles are usually selected for *in vitro* maturation (IVM). Such oocytes spontaneously resume meiosis when removed from the follicle during the usual *in vitro* production procedures. Spontaneous maturation, however, is somewhat different from the physiological process *in vivo*, in which maturation is a stimulated or induced process, and this difference could be related to the lower competence of IVM oocytes. Several studies have focused on different signalling pathways involved with maintenance and release of oocytes from meiosis block and based on such knowledge have aimed to develop IVM culture conditions to overcome spontaneous maturation, leading to a stimulated maturation system, mimicking events *in vivo*. Meiosis block and resumption involves several signalling pathways, including those related to maturation promoting factor (MPF), nucleotide levels, nitric oxide, among others, which are studied to better understand meiosis control which in turn also impacts on oocyte quality. Such knowledge can be of great value to improve IVM systems, and consequently, *in vitro* embryo production.

FAPESP 2013/15374-3

Simposio 4

Modelos y perspectivas en biología del desarrollo

DROSOPHILA DEVELOPMENT FROM A CELLULAR PERSPECTIVE: THE MODULATION OF ORGANISMAL GROWTH BY tRNA MODIFICATION

Glavic A, Rojas-Benítez D

Laboratory of Developmental Biology and Center FONDAP for Genome Regulation, Department of Biology, Faculty of Sciences, Universidad de Chile, Chile.
alglavic@uchile.cl

The number of cells and their size determine organism dimensions. Nutrients and hormones influence growth; these adjust translation to sustain animal growth. Tor kinase transduces the growth-promoting signals to set, regulating the translational machinery, the metabolic state of the cell. tRNAs stand at the core of this machinery and need a variety of posttranscriptional modifications to function. N⁶-threonylcarbamoyl-adenosine (t⁶A) occurs in tRNAs that recognize ANN codons to permit accurate translation. Recent reports have revealed that KEOPS (Kinase, putative Endopeptidase and Other Proteins of Small size) complex together with Sua5 are responsible for this modification in yeast. Mutants for KEOPS members display low t⁶A and slow-growth phenotypes. Recent experiments have shown that increasing the amount of the initiator transfer RNA (tRNA_i^{met}) stimulates cell proliferation in yeast and promotes oncogenic transformation in mammals. Furthermore, tRNA_i^{met} duplication in *Drosophila* produces larger animal. These growth effects are induced even although growth-promoting signals are kept constant, suggesting that changes in tRNA_i^{met} levels are sufficient to set new growth outlines.

Using the advantages of *Drosophila* genetics we have investigated how the mechanisms that transduce the environmental cues are adjusted by the growth potential of the cells, specifically by the level of t⁶A modification. Our results show that KEOPS activity is conserved in metazoans, t⁶A is not only required for efficient translation and in consequence necessary for cell growth, but the amount of this modification present in tRNAs determine the growth potential of the organism, thus tuning the biosynthetic challenge to support sustainable cell and animal growth.

FONDECYT 1140522, FONDAP 15090007 and CONICYT AT 24121519 (DR)

EVOLUTION OF THE VERTEBRATE OSTEOGENIC PROGRAM (Evolución del programa genético encargado del desarrollo óseo en vertebrados)

Marcellini S¹, Hanna P¹, Godoy F¹, Contreras P¹, Muñoz D¹, Buisine N², Sach L².

Faculty of Biological Sciences, University of Concepcion, Chile¹ and CNRS, Paris, France²

Repeated sequences (DNA transposons, retroviruses or tandem repeats) represent around 45% of the vertebrate genomes and usually are considered as molecular parasites, or “Junk DNA”, devoid of any regulatory function. However, in some instances, the function of mammalian tissue-specific transcriptional enhancers strongly relies on repeated sequences. Here, we challenge the universality of this view using a new taxonomic group (amphibians) and a new tissue (bone). Experiments were performed with native, uncultured, osteoblasts. Gene expression was assessed by RNA-seq. Enhancers were detected by performing ChIP-seq for H3K4me1, H3K4me3, H3K27ac and H3K27me3. Repeats were detected with Tandem Repeat Finder and by BLAST at XENBASE. Putative transcription factor binding sites (TFBS) were detected with JASPAR. We detected, at a genome wide scale, osteoblast-specific genes, active promoters (bearing H3K4me3, H3K27ac), proximal and remote enhancers (bearing H3K4me1, H3K27ac). H3K27me3 marked repressed genes and enhancers, which were analyzed further. Focusing on a random set of active enhancers, we find that most of them contain at least one type or repeat. Furthermore, such repeats are prone to accumulating mutations and highly variable, generating a strong turnover of putative bone TFBS. One ancient repeat is present in thousands of copies in the fish genome. Our unbiased approach demonstrates that osteoblastic enhancers do tolerate repeated sequences, which might play a functional role, or not (neutralism). Repeats are highly variable and can evolve new TFBS, therefore providing a possible molecular mechanism for the *de novo* emergence of osteoblastic enhancers.

FONDECYT 1110756

MOVIMIENTOS CELULARES Y DINÁMICA DE TEJIDOS EN EL ORIGEN DE LA FORMA ANIMAL (Cell movements and tissue dynamics in the origin of animal form)

Concha M ^{1,2}

¹Laboratorio de Estudios Ontogénicos (LEO). Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Instituto de Neurociencias Biomédicas (BNI), Santiago, Chile. mconcha@med.uchile.cl; www.ontogenesis.cl

Tal vez el aspecto más llamativo del desarrollo animal, es la constante generación de forma y estructura a partir de movimientos e interacciones entre grupos celulares. Esto es un proceso altamente dinámico y regulado en el cual las células embrionarias interpretan señales químicas y mecánicas para colonizar las distintas regiones del embrión, cambiar de forma y organizarse en tejidos y órganos funcionales. En nuestro laboratorio tomamos ventaja de la transparencia óptica que ofrecen los embriones de peces teleósteos para estudiar en forma directa los mecanismos genéticos y morfogenéticos que subyacen a la generación de forma durante el desarrollo, a través del uso de microscopía confocal in vivo en embriones manipulados genéticamente. En la presentación discutiremos un ejemplo de generación de forma en el embrión temprano del pez anual *Austrolebias nigripinnis*, el cual ilustra el papel instructivo que juegan las interacciones célula-célula durante la morfogénesis de tejidos. Veremos cómo un tipo particular de interacción celular mediado por moléculas de adhesión tipo cadherina, establece un mecanismo de “guía por contacto”, donde un grupo celular “sensa” el movimiento de otro tejido y usa esta señal como guía para su migración dirigida dentro del embrión. Este ejemplo nos demuestra la potencia que ofrece de la visualización directa de los procesos del desarrollo como estrategia para extraer principios celulares generales que gobiernan la generación de forma, estructura y organización funcional en el desarrollo embrionario.

Financiado por FONDECYT (1120558 - 1120579) e Iniciativa Científica Milenio (ICM P09-015-F)

COMUNICACIONES LIBRES

Sesión 1

Reproducción Femenina

SESIÓN 1

EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN A UNA DIETA ALTA EN GRASA PREVIO Y DURANTE LA GESTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR OVÁRICO DE LA DESCENDENCIA

(Exposure to a high fat diet previous and during pregnancy and its effects on ovarian follicular development of the offspring)

Guerra M, Ambrosetti V, Ramírez L, Reyes A, Álvarez D, Olguín G, Sotomayor R y **Cruz G**

Laboratorio de alteraciones metabólicas y reproductivas, CNPC, Instituto de fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso

En Chile más del 50% de las mujeres embarazadas comienzan su embarazo con exceso de peso. La obesidad gestacional se ha relacionado con alteraciones metabólicas, reproductivas o incluso cáncer en la descendencia. Mujeres hijas de madres obesas tienen una pubertad precoz, hallazgo que hemos reproducido en un modelo murino en nuestro laboratorio. Pretendemos observar si la descendencia presenta alteraciones en la función ovárica. Nuestra hipótesis es que existe un incremento de estradiol en madres con obesidad gestacional durante el desarrollo de la descendencia, que llevaría a pubertad precoz y alteraciones ováricas en la vida adulta. Ratas Sprague Dawley fueron separadas en controles con alimento normal (CD) y tratadas con una dieta alta en grasa (HFD, 60%Kcal en grasa). Después de un mes de tratamiento se realizó la cruce con machos reproductores manteniéndose la dieta HFD durante la preñez y lactancia. Ambos grupos siguieron con CD después del destete. Se estudió la apertura vaginal (como índice de pubertad), se realizó la morfometría de los folículos ováricos y se midió los niveles plasmáticos de estradiol y testosterona en la descendencia adulta de 60 y 120 días. Ratas hijas de madres obesas tuvieron una pubertad adelantada, disminución de folículos antrales sanos, aumento de atrésicos, aumento de quistes foliculares y alteraciones en los niveles séricos de estradiol y testosterona comparado con hijas de controles. Nuestros resultados sugieren que la exposición a una dieta alta en grasa durante la gestación puede producir alteraciones reproductivas similares a las obtenidas en los modelos de administración de estradiol durante el desarrollo.

FONDECYT 11130707 (G.C.)

SESIÓN 1

NANOPARTÍCULAS DE ZEOLITA CARGADAS CON 2-METOXIESTRADIOL TIENEN ACCIÓN ANTICANCERÍGENA SOBRE LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO (Zeolite nanoparticles loaded with 2-methoxyestradiol have anticancer action on cancer cell lines of the female reproductive system)

Díaz P ^{1,2}, Cárdenas H ^{1,2}, Orihuela P ^{1,2},

¹Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Universidad de Santiago de Chile. ²Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología, Universidad de Santiago de Chile.

2-metoxiestradiol (2-ME) es un metabolito endógeno producto de la metabolización de los estrógenos. Además de sus efectos fisiológicos, tiene efectos antiproliferativos, antiangiogénicos y apoptóticos por lo que podría ser usado como droga anticancerígena, pero para ello se requiere mejorar su solubilidad y biodisponibilidad. Nuestro objetivo fue adsorber 2-ME en nanopartículas de zeolita para mejorar su solubilidad y biodisponibilidad, manteniendo sus efectos anticancerígenos. Se sintetizaron nanopartículas de zeolita cargadas con 2-ME, las cuales fueron usadas para tratar cultivos de células HeLa, Ishikawa e UCI-101 con concentraciones de 0, 1, 5 y 10 μM de 2-ME libre o adsorbido en nanopartículas. Posteriormente, se realizaron ensayos de internalización celular para demostrar que las nanopartículas son capaces de ingresar a las células, ensayos de viabilidad celular y análisis de la expresión de F-spondin, gen con actividad antiangiogénica que incrementa su expresión por acción de 2-ME, mediante inmunofluorescencia. Las células Ishikawa fueron capaces de internalizar mayor cantidad de nanopartículas ($p < 0,01$) que las células UCI-101 y HeLa ($66,9 \pm 6,3$; $48,3 \pm 4,5$ y $25,7 \pm 2,2$ unidades de fluorescencia, respectivamente) mientras que 2-ME fue más tóxico en las células Ishikawa ($p < 0,05$) que UCI-101 y HeLa ($41,6 \pm 3,7$; $58,5 \pm 7,1$ y $83,4 \pm 2,6$ % de viabilidad celular, respectivamente post 120 horas de tratamiento). Finalmente, la expresión de F-spondin se incrementó significativamente ($p < 0,05$) tanto en las células tratadas con 2-ME libre o adsorbido en nanopartículas. Estos resultados muestran que el 2-ME adsorbido en nanopartículas puede ser captado fácilmente por diferentes líneas celulares manteniendo su actividad anticancerígena, potenciando su uso como nueva droga para el tratamiento del cáncer. FONDECYT 1110662, BASAL FBO-07

SESIÓN 1

EXPRESIÓN DE ADIPOCITOQUINAS DEL TEJIDO ADIPOSO EN MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP).

(Adipose expression of adipocytokines in women with polycystic ovary syndrome (PCOS))

Echiburú B ¹, Pérez-Bravo F ², Galgani J ³, Elgueta C ¹, Crisosto N ¹ y Sir-Petermann T ¹.

¹Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.²Laboratorio de Genómica Nutricional, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.³Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Se ha establecido que el SOP es un estado pro-inflamatorio, en el cual la secreción de adipocitoquinas del tejido adiposo está alterada. Se desconoce si este perfil es propio del SOP o se debe al hiperandrogenismo o a la obesidad. Objetivo: caracterizar la expresión génica en tejido adiposo y la concentración sérica de adipocitoquinas en mujeres controles (MC) y con SOP (MSOP). Evaluamos 12 MC y 15 MSOP de 18-54 años, con parámetros antropométricos y una prueba de tolerancia a la glucosa oral, con determinación de glucosa e insulina. En la muestra basal se midieron: andrógenos, lípidos, adiponectina, leptina, IL-6, MCP-1 y TNF-alfa. Además, se obtuvo una muestra de grasa subcutánea abdominal para análisis genético (IL-6, MCP-1, TNF- α , adiponectina, leptina, receptor de andrógenos y lipoproteína lipasa, receptor adrenérgico $\beta 2$) y conteo de macrófagos. Los grupos fueron comparables en peso corporal. La expresión génica y concentración sérica de citoquinas fue similar entre ambos grupos, descartando un papel directo del hiperandrogenismo. Las MSOP presentaron una menor relación adiponectina/leptina en circulación y en tejido adiposo, en comparación a las MC. Las MSOP mostraron una correlación positiva entre la concentración y expresión de TNF- α ($r=0.681$, $p=0.005$) y entre la concentración de MCP-1 y número de macrófagos ($r=0.614$, $p=0.015$). En conclusión, si bien el perfil proinflamatorio fue similar entre MSOP y MC, las correlaciones observadas en las MSOP podría estar reflejando una actividad diferente de su tejido adiposo.

FONDECYT 1110864.

SESIÓN 1

KISSPETINA AUMENTA EN EL OVARIO DE RATA DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD Y PARTICIPA EN EL DESARROLLO FOLICULAR. (Kisspeptin increases in the rat ovary during the subfertility period and participates in the follicular development).

Fernandois D, Na E, Cuevas F, de las Heras M, Lara H, Paredes A.
Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

En la actualidad las parejas han decidido aplazar la maternidad acercándose a la ventana de subfertilidad, en este periodo, se ha descrito una acelerada pérdida de la reserva folicular y un aumento en el tono adrenérgico del ovario, dificultando la concepción de hijos. Debido a esto, comprender el mecanismo del desarrollo folicular durante este periodo es fundamental. Nuestro objetivo es identificar actores claves del desarrollo folicular y su alteración durante el periodo de subfertilidad utilizando ratas Sprage-Dawley. Para ello, estudiamos marcadores del desarrollo folicular por qPCR, WBlot y la morfología ovárica en ratas desnervadas quirúrgicamente y en ratas tratadas con propranolol por 2 meses durante el periodo fértil y subfértil de la rata. Los resultados muestran que durante el periodo de subfertilidad, al compararlo con la etapa fértil, aumenta la expresión ovárica de kisspeptina (ARNm y proteína). Por otro lado, ovarios de ratas en periodo subfértil tratados con propranolol presentan una disminución en los folículos primordiales y un aumento de folículos secundarios y antrales, lo que sugiere un aumento del desarrollo folicular. Estos ovarios presentan además una disminución del ARNm de kisspeptina, efecto también observado en ratas desnervadas. En éstas últimas, se determinó un aumento del ARNm del receptor de FSH (FSHR, marcador del crecimiento folicular). Ovarios incubados por 8h simultáneamente con isoproterenol (agonista β -adrenérgico) y kisspeptina disminuyeron el ARNm del FSHR. Estos resultados sugieren que: kisspeptina es regulada por el tono adrenérgico y que el sistema simpático en conjunto con el kisspeptidérgico participan en la regulación del mRNA del FSHR.

FONDECYT 1120147, Beca Doctorado CONICYT

SESIÓN 1

SOBREEXPRESIÓN DE mRNA Y PROTEINA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) Y TRKA EN EL ENDOMETRIO EUTÓPICO DE MUJERES DIAGNOSTICADAS CON ENDOMETRIOSIS. (Overexpressed mRNA and protein of NGF and TrkA in the eutopic endometrium of women diagnosed with endometriosis)

Johnson M, Parada E, Venegas S, Hidalgo P, Castro J, Salina A, González R, Fuentes A, Boric M

Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Hospital Clínico San Borja Arriarán, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. FONDECYT 1120074

NGF y sus receptores TrkA y p75NTR, involucrados en proliferación y reparación de fibras nerviosas, podrían estar alterados en endometriosis, patología asociada con dolor. Nuestro objetivo fue estudiar su expresión durante el ciclo menstrual. Se determinó mRNA (qReal time-PCR/RT-PCR) y proteína (inmunohistoquímica) de NGF, TrkA y p75NTR en endometrio eutópico de mujeres sin (control, n=47) y con (n=72) endometriosis, agrupadas en peritoneal (19%), ovárica (38%), peritoneal-ovárica (14%) y nódulo-rectovaginal (NRV, 29%) y en mínima-leve (51%) y moderada-severa (49%). En células estromales se estudió el efecto de NGF (5-50 ng/mL) sobre viabilidad (MTS). Aprobado por Comités de Ética Institucionales. Diferencias significativas entre las medias se expresaron como porcentaje de incremento, según t-test y Anova/Tukey. NGF, TrkA y p75NTR fueron inmunolocalizados en el citoplasma glandular y estromal endometrial de ambos grupos. El mRNA de TrkA incrementó en fase secretora tardía en control y endometriosis (8 y 19 veces) y el de NGF en secretora media sólo en endometriosis (79%) vs. fase proliferativa; la expresión en endometriosis fue 132% y 100% mayor al control para cada gen; p75NTR no varió. Mayor expresión de NGF y TrkA se encontró en endometrios provenientes de mujeres con NRV. En condición basal, la proliferación celular fue 181% mayor en endometriosis que en control, e incrementada por NGF y bloqueada por inhibidor de JUNK. Estos datos indican un aumento en la expresión de NGF y su receptor TrkA en endometrio eutópico de mujeres con endometriosis, mostrando sus células estromales mayor sensibilidad al NGF, hallazgos que contribuirían a la fisiopatología del dolor.

SESIÓN 1

ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS RELACIONADAS CON LA OBESIDAD EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (Alteration on the expression of molecules related to obesity in PCOS endometria)

Oróstica L¹, Astorga I¹, Poblete C¹, García V³, Romero C^{1,2}, Vega M^{1,2,1}

Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción,² Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Escuela de Medicina, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

El Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) es una alteración endocrino-metabólica caracterizada por hiperandrogenemia crónica. La obesidad y resistencia a insulina juegan un rol central en su patogénesis. Existe una condición pro-inflamatoria crónica propia de la obesidad y moléculas relacionadas con sensibilidad a insulina están alteradas bajo esta condición, afectando el funcionamiento de tejidos que requieren un alto aporte energético como el endometrio. Se evaluó si la obesidad altera la expresión de moléculas relacionadas con la vía de TNF- α (afecta negativamente la vía de la insulina) y adiponectina (insulinosensibilizante) en endometrios de mujeres obesas SOP y controles. Para esto, se determinó por western-blot, inmunohistoquímica (IHQ) y qPCR la expresión de TNF- α /receptores, adiponectina/receptores, APPL1 y CD68 (marcador de macrófagos); adiponectina/TNF- α sérica por RIA. No se observaron cambios en los niveles séricos de TNF- α , y los de adiponectina fueron menores en grupo obesas-SOP ($p < 0.01$). Además, en este grupo se observó disminución de niveles proteicos endometriales de adiponectina y su receptor tipo-1 vs controles ($p < 0.05$). Se evaluó APPL1 (vía señalización de adiponectina), observándose niveles bajos en endometrios de mujeres obesas y mujeres obesas-SOP vs controles ($p < 0.05$). Por otro lado, CD68 ($p < 0.01$), TNF- α ($p < 0.001$) y sus receptores tipos 1 y 2 ($p < 0.01$) aumentaron sus niveles endometriales en el grupo de obesas-SOP respecto a controles. En conclusión, el hiperandrogenismo junto con la obesidad favorecería un ambiente pro-inflamatorio, sugiriendo una mayor actividad de la señalización de TNF- α endometrial, además de alterar la vía de señalización de adiponectina, lo que afectaría el metabolismo del endometrio bajo ambas condiciones patológicas. FONDECYT #1130053 (MV). Beca CONICYT #21120541 (LO)

Sesión 2

***Reproducción Masculina y
Desarrollo Embrionario***

SESIÓN 2

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS FLAGELARES RICAS EN CISTEÍNA, OXIDADAS EN EL EPIDÍDIMO Y SU RELACIÓN CON LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA. (Characterization of flagellar proteins rich in cysteine which are oxidized in the epididimal transit and their relation with sperm motility)

Cabrillana M ^{1,2}, Ruiz Estrabón M ², Monclus M ^{1,2}, Vincenti A ¹ y Fornés M ^{1,2}. Instituto de Histología y Embriología de Mendoza, F.C.Médicas U.N.Cuyo Argentina. Consejo de Investigación de la Universidad del Aconcagua, F.C.Médicas Mendoza Argentina.

Un correcto ensamblaje del flagelo en el testículo y una eficiente maduración en el epidídimo contribuyen con una buena motilidad espermática. Numerosas proteínas ricas en cisteína se encuentran ampliamente distribuidas en el espermatozoide y son oxidadas durante el tránsito epididimario. Este cambio de sulfhidrilo (SH) a puente disulfuro de las cisteínas está vinculado, entre otros, al proceso de motilidad espermática. Trabajos previos en nuestro laboratorio indican que ODF1, proteína flagelar, es blanco de esta oxidación y es reconocida por monobromobimane (mBBR) en espermatozoides de rata. Nuestro objetivo es determinar si ODF1 es reconocida por mBBR en espermatozoides humanos y la importancia que tienen los SH en la motilidad espermática. Se aplicaron técnicas de inmunomarcado, como western blot y colocalización celular junto a mBBR (marcador fluorescente de SH). Se analizó la motilidad espermática utilizando a mBBR para bloquear grupos tioles. Finalmente se comparó la presencia de SH reducidos en muestras de pacientes normo (31) y asteno-zoospermicos (15). Se observó que una de las proteínas afines a mBBR es ODF1 y colocaliza en el cuello y flagelo del espermatozoide con mBBR. Cuando se incubaron espermatozoides seleccionados con mBBR se produjo una caída de la motilidad progresiva. Los espermatozoides de pacientes asteno-zoospermicos mostraron mayor afinidad flagelar por mBBR que en pacientes normo-zoospermicos. En conclusión el bloqueo de los SH afecta la motilidad espermática progresiva. Los pacientes asteno-zoospermicos demostraron una menor oxidación de SH flagelares. Más estudios serán necesarios para determinar si esta diferencia puede explicar el mal funcionamiento espermático y si ODF1 está involucrada. Proyecto de Consejo de Investigaciones de la Universidad del Aconcagua. Becario Posdoctoral de CONICET.

SESIÓN 2

THE WNT1 LIGAND/FRIZZLED 3 RECEPTOR SYSTEM PLAYS A REGULATORY ROLE IN THE ACHIEVEMENT OF THE "IN VITRO" CAPACITATION AND SUBSEQUENT "IN VITRO" ACROSOME EXOCYTOSIS OF PORCINE SPERMATOZOA

(El sistema ligando Wnt1/receptor Frizzled3 juega un rol regulatorio en la capacitación y exocitosis acrosomal "in vitro" en espermatozoides de porcino)

Covarrubias A ^{1*}, Cereceda K ¹, Vander Stelt K ¹, López C ¹, Montes de Oca M ¹, Rodríguez-Gil J ², Concha I ¹. ¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Chile. ²Universidad Autónoma de Barcelona, Spain *alejandracovarrubiasp@live.cl

The aim of this work was to determine the existence of a functional WNT/ β -catenin signaling pathway in boar spermatozoa, which would be linked with the already well known GSK-3 signaling pathway. This was firstly confirmed by detecting the presence of the specific Frizzled 3 receptor in these cells. Furthermore, this signaling pathway was activated in boar sperm subjected to "in vitro" capacitation (IVC) and subsequent progesterone-induced "in vitro" acrosome exocytosis (IVAE) by incubating cells with separate concentrations of the WNT/ β -catenin signaling pathway specific effector Wnt1 ligand. Incubation with the Wnt1 ligand increased the rhythm of the time-dependent decrease in the percentage of viability during the IVC and IVAE. This potentiation was concomitant with a time-dependent increase of sperm with altered membrane fluidity (Merocyanine-540 and YO-PRO-1). On the contrary, the Wnt1 ligand did not modify the percentage of total motility during the IVC. However, the Wnt1 ligand induced an increase in the motility patterns of sperm subjected to IVAE. This action was linked to a decrease in the percentage of cells with high mitochondrial membrane potential and an increase in the percentage of cells with high intracellular Ca^{2+} content. In conclusion, our results suggest that the Wnt ligands-modulated WNT/ β -catenin signaling pathway is playing a relevant role in the modulation of both IVC and subsequent, progesterone-induced IVAE. Furthermore, our results seem also to indicate that the transduction pathways by which the Wnt1 ligand acts on IVC and IVAE are different and, in case of IVC, independent of the GSK-3 activity.

FONDECYT 1110508 (IC), FONDECYT 1141033 (JCS), AGL2008-01792/GAN (JER-G), DID-UACH 1330-32-09 (AC), AC: Beca CONICYT, MECESUP AUS 0704.

SESIÓN 2

LA FIBRONECTINA (FN) MODULA EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE DURANTE LOS EVENTOS TEMPRANOS DE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS. (FIBRONECTIN (FN) MODULATES ENDOCANNABINOID SYSTEM OPERATION DURING THE EARLY EVENTS IN HUMAN SPERM CAPACITATION)

Martínez E¹, Pérez-Martínez S², Morales P^{1,3}, Díaz E¹. ¹Lab. Biología de la Reproducción, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. ²Lab. Biología de la Reproducción en Mamíferos, CEFyBO-CONICET-UBA, Buenos Aires, Argentina. ³Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

Los espermatozoides de mamíferos al ser eyaculados no poseen la capacidad de fecundar un oocito, estos deben experimentar, previamente, una serie de cambios bioquímicos denominados "capacitación". Se ha sugerido que moléculas oviductales podrían modular la función espermática y la capacidad fecundante, tales como la Fn (glicoproteína de la matriz extracelular que se une a la integrina $\alpha 5\beta 1$), y la Anandamida (endocannabinoide que se une a los receptores CB1, CB2 y TRPV1). Anteriormente, demostramos que la Fn estimula la capacitación en espermatozoides humanos. El objetivo del trabajo fue evaluar si el efecto de Fn sobre la capacitación es regulado por el sistema endocannabinoide. Para ello, alícuotas de espermatozoides móviles fueron incubados por 1 y 60 minutos en diferentes condiciones: 1) Medio no capacitante (MNC); 2) MNC+100 μ g/ml Fn; 3) Medio capacitante reconstituido (MCR); 4) MCR+100 μ g/ml Fn. En estas alícuotas se determinó: 1) el efecto de la inhibición e interacción de CB1, CB2 y TRPV1 sobre la capacitación estimulada por la Fn por la técnica de clortetraciclina y de liberación de espermatozoides; 2) actividad de la enzima FAAH por radioconversión enzimática y 3) la participación del sistema AMPc/PKA en dicha modulación. Los resultados indicaron que la presencia de los antagonistas de CB1 y TRPV1 revierte el efecto inducido por la Fn sobre la capacitación ($p < 0,05$), observándose también una interacción entre estos receptores durante el proceso de capacitación ($p < 0,05$). Además, la Fn moduló la actividad específica de FAAH ($p < 0,01$) a través del sistema AMPc/PKA. Estos resultados sugieren que el efecto de Fn sobre la capacitación es mediado por el sistema endocannabinoide.

FONDECYT 1130341/1120056

SESIÓN 2

CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ENZIMAS DE REGULACIÓN EPIGENÉTICA DURANTE LA DIFERENCIACIÓN MULTILINAJE DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES BOVINAS.

(Quantification of the expression epigenetic regulation enzymes during multilineage differentiation in bovine mesenchymal stem cells)

Cuevas F¹, Peralta O¹. ¹Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

La regulación epigenética es un proceso clave en la expresión génica, que participa tanto en el silenciamiento como en la activación de genes durante la diferenciación multilínea de células madre mesenquimales (CMM). El objetivo del presente estudio fue cuantificar la expresión de enzimas de metilación del ADN (DNMT1, DNMT3a y DNMT3b), metilación de histonas (EZH2) y demetilación de histonas (KDM6a) en CMM fetales bovinas durante la diferenciación *in vitro* osteogénica, condrogénica y adipogénica. Las CMM fueron aisladas desde médula ósea de fetos bovinos (7-9 meses de gestación, n=3) y cultivadas en presencia de factores de diferenciación multilínea. La expresión génica fue cuantificada mediante PCR cuantitativo (Q-PCR). La expresión de DNMT1 fue menor ($P<0,05$) en CMM diferenciadas el día 24 de cultivo osteogénico. En contraste, este día se detectó un aumento ($P<0,05$) en la expresión de KDM6a. La expresión de DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, EZH2 y KDM6a fue menor ($P<0,05$) en CMM diferenciadas el día 7 de cultivo condrogénico. Se detectó una disminución ($P<0,05$) en la expresión de DNMT1 en CMM diferenciadas los días 6 y 18 de cultivo adipogénico. Adicionalmente, durante este cultivo se detectó un aumento ($P<0,05$) en la expresión de DNMT3a, DNMT3b y EZH2 en CMM diferenciadas los días 12 y 18 de diferenciación. En conclusión, se detectó un aumento en la expresión de las enzimas asociadas a la activación de genes durante las diferenciaciones osteogénica y condrogénica. En contraste, durante la diferenciación adipogénica se detectó un aumento en la expresión de enzimas asociadas a la represión de genes.

FONDECYT 11100205

SESIÓN 2

ROL DE LA ABSORCIÓN DE VITAMINA E MEDIADA POR EL RECEPTOR DE HDL SR-BI EN EL CIERRE DEL TUBO NEURAL EN EL RATÓN. (Involvement of HDL receptor SR-BI-mediated vitamin E uptake in murine neural tube closure)

Santander N¹, Pérez D², Echeverría G², Mendoza C¹, Cautivo K¹, Rigotti A^{1,2}, Busso D¹. ¹Depto. de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, ²Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas (CNMEC), Pontificia Universidad Católica de Chile.

SR-BI es un receptor de lipoproteínas que media la captación celular de colesterol y vitaminas liposolubles. Durante el desarrollo se expresa exclusivamente en los trofoblastos gigantes extraembrionarios y su ausencia se asocia a defectos en el cierre del tubo neural. En este trabajo, estudiamos la importancia de la captación de vitamina E mediada por SR-BI en el cierre del tubo neural. Se generaron cruces de ratones heterocigotos (SR-BI+/-) y las madres fueron alimentadas con una dieta control o una suplementada con α -tocoferol (vitE) desde la concepción. Se evaluó la presencia de defectos del tubo neural (NTD) y se determinó el contenido de α -tocoferol en embriones y TGC en el día embrionario (E)9,5. La suplementación materna con α -tocoferol previno la aparición de NTD en los embriones SR-BI-/-, ya que 0/39 embriones tenían este fenotipo, en comparación a 31/55 embriones con NTD en el grupo control. El contenido de α -tocoferol en embriones SR-BI-/- fue muy bajo en comparación a embriones SR-BI+/+ ($0,027 \pm 0,015$ ng/ μ g proteína vs. $1,5 \pm 0,38$ ng/ μ g proteína, respectivamente; $p < 0,01$), mientras que en TGC SR-BI-/- y SR-BI+/+ el contenido de α -tocoferol fue similar ($0,84 \pm 0,23$ ng/ μ g proteína vs. $1,02 \pm 0,062$ ng/ μ g proteína; $p > 0,05$). La alimentación materna con vitE no aumentó el contenido de α -tocoferol en los embriones de ningún genotipo, pero incrementó los niveles de α -tocoferol en los TGC SR-BI-/- [SR-BI+/+: $0,84 \pm 0,23$ ng/ μ g proteína en control vs. $1,74 \pm 0,52$ ng/ μ g proteína en vitE ($p > 0,05$); SR-BI-/-: $1,02 \pm 0,062$ ng/ μ g proteína control vs. $4,36 \pm 1,72$ ng/ μ g proteína en vitE ($p < 0,05$)]. En conclusión, el transporte de vitamina E mediado por SR-BI es importante para el cierre del tubo neural. FONDECYT n° 1141236 (D.B.) y n° 1110712 (A.R.), Beca de Doctorado CONICYT 21130444 (N.S.)

SESIÓN 2

PARTICIPACIÓN DE LOS HEMICANALES DE PANNEXINAS EN LA CAPACITACIÓN Y REACCIÓN ACROSOMAL INDUCIDA POR ATP EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN (Participation of pannexin hemichannels in capacitation and acrosome reaction induced by ATP in mice sperm).

Torres-Fuentes J¹, Treviño C², Darszon A², Moreno R¹.

¹Unidad de Reproducción y Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

²Consorcio de la Fisiología del espermatozoide, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Una vez eyaculados los espermatozoides no poseen la capacidad de fecundar, y en el tracto reproductivo de la hembra, o in vitro, sufren una serie de cambios bioquímicos y funcionales que le entregan la potencialidad de formar un nuevo cigoto. Este fenómeno se conoce como capacitación y su evento final es la reacción acrosomal. La capacitación involucra cambios en el potencial de membrana, hiperactivación y diferentes mecanismos moleculares que permiten al espermatozoide fusionar la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática adyacente frente a diferentes estímulos en la reacción acrosomal. Recientemente descritas en tejidos reproductivos de rata, las pannexinas, canales iónicos no selectivos, nunca han sido previamente estudiados en espermatozoides de ratón. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la participación de estos canales en la capacitación, hiperactivación y reacción acrosomal espermatozoides murinos. Para esto se utilizó una estrategia farmacológica para evaluar potencial de membrana con la sonda fluorescente DiSc, la hiperactivación con un sistema CASA, reacción del acrosoma inducida por ATP con azul de coomassie, captación de colorantes con bromuro de etidio, imágenes de Ca^{2+} libre citoplasmático con Fluo-3 AM y la presencia de estos canales se estudió con Inmunofluorescencia. Los resultados muestran que las pannexinas modulan el estado basal previo a la capacitación, y la reacción del acrosoma, pero no la capacitación. Estos resultados muestran por primera vez proteína que pueden modular directamente la reacción del acrosomal y la motilidad basal sin modificar la capacitación del espermatozoide de ratón. FONDECYT 1110778, Beca DOCTORAL año académico 2013, CONICYT.

POSTERS

Sesión 1

Poster 1

EFFECTO DEL LÍQUIDO PERITONEAL SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y EL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) Y SUS RECEPTORES TrkA Y p75NTR EN CÉLULAS ESTROMALES ENDOMETRIALES EUTÓPICAS (Peritoneal fluid effect on cell proliferation and nerve growth factor (NGF) and its receptors TrkA and p75NTR in eutopic endometrial stromal cells)

Alcántar K¹, Castro J², Torres M², Gabler F³, Sovino H², Martínez A², Munevar L², Boric M², Johnson M². ¹Escuela de Tecnología Médica, ²Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), ³ Departamento de Anatomía Patológica, División Ciencias Médicas Centro, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Hospital Clínico San Borja Arriarán Santiago, Chile.

La endometriosis, patología uterina invasiva proinflamatoria asociada a dolor, provoca acumulación de líquido peritoneal, rico en citoquinas. NGF y sus receptores podrían ser inducidos en las lesiones ectópicas. El objetivo fue estudiar el efecto de líquido peritoneal sobre la proteína de NGF, TrkA y p75NTR en células estromales aisladas imitando el microambiente peritoneal. Se obtuvieron células estromales de endometrio eutópico y líquido peritoneal de mujeres con (LPE, n=6) y sin (control, LPC, n=6) endometriosis. Se incubaron estas células con ambos LP (1-10%) por 24h; se evaluó Ki67 (%), NGF, TrkA y p75NTR (IOD) por inmunocitoquímica. Aprobado por Comités de Ética Institucionales. Diferencias significativas entre las medias se expresaron como porcentaje de incremento ($p < 0,05$), según las pruebas de Mann Whitney y Kruskal-Wallis/Dunn. Las proteínas se inmunodetectaron como marca positiva café, con localización para Ki67 nuclear en algunas células estromales; NGF presentó en todas las células marca citoplasmática difusa, periparanuclear homogénea perdiéndose hacia los extremos celulares; p75NTR, aunque su distribución fue similar a NGF, fue levemente más intensa y homogénea intra-células, pero heterogénea inter-células. TrkA fue casi indetectable. En condición basal, NGF fue mayor (16%) en células estromales de endometriosis vs. control. LPE (10% v/v) incrementó Ki67 en células estromales control (147%) y de endometriosis (255%) vs. su basal; ni LPE ni LPC modificaron el IOD de NGF, p75NTR o TrkA. La mayor detección de NGF junto al efecto proliferativo de LPE sobre células estromales de endometrios eutópicos de endometriosis podría relacionarse con el aumento y/o neo-inervación observado en las lesiones ectópicas. FONDECYT 1120074

EFFECTO DE TCM-199 Y DMEM-F12 EN LA MADURACIÓN *IN VITRO* Y DESARROLLO EMBRIONARIO DE OVOCITOS EQUINOS ACTIVADOS PARTENOGENÉTICAMENTE. (Effect of TCM-199 and DMEM-F12 in the *in vitro* maturation and embryonic development of parthenogenetic activated equine oocytes).

Álvarez M¹, Arias M¹, Vargas T¹, Sánchez, R¹, Felmer R^{1,2}. ¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. ²Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

En equinos la implementación y el desarrollo de la producción *in vitro* de embriones ha sido más lenta en comparación a otras especies, principalmente por la baja disposición de ovarios de matadero y la baja tasa de recolección de ovocitos (3,8 ovocitos/ovarios), entre otros factores. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos medios de maduración de ovocitos equinos sobre la maduración y posterior desarrollo embrionario de ovocitos activados partenogenéticamente. Los ovocitos fueron obtenidos mediante aspiración folicular desde ovarios recolectados en el Frigorífico Imperial. Estos se maduraron por 36 horas a 38,5°C y 5% de CO₂ en medio TCM-199 y DMEM-F12 suplementado con hormonas y SFB. La activación se realizó con DMAP y CHX por 4 horas y los embriones se cultivaron en medio KSOM por 7 a 10 días en baja tensión de oxígeno. Los resultados preliminares de este estudio demuestran que no se existen diferencias ($p>0,05$) en las tasas de maduración con ambos medios (DMEM-F12 65,2% vs. TCM-199 64,8%). Tampoco se observaron diferencias ($p>0,05$) en la tasa de desarrollo embrionario a las 72 horas (DMEM-F12 58,5% vs. TCM-199 53,9%) ni en la tasa de blastocistos (DMEMF12 7,8% vs. TCM-199 2,8%). En conclusión, los resultados demuestran que ambos medios de maduración pueden ser utilizados en la producción *in vitro* de embriones equinos.

FONDECYT 120241. Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera y Frigorífico Imperial Ltda. por la disposición de los ovarios.

EFFECTO DE LA SEPARACIÓN DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS MEDIANTE CENTRIFUGACIÓN EN GRADIENTE DE PERCOLL Y SWIM-UP SOBRE PARÁMETROS DE CALIDAD Y MOTILIDAD ESPERMÁTICA.

(Effect of bovine sperm separation by Percoll gradient centrifugation and Swim-up on sperm motility and quality parameters).

Andara K¹, Arias M¹, Sánchez R¹, Águila L¹, Zambrano F¹, Vargas T¹ y Felmer R^{1,2}. ¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. ²Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.

En bovinos, la centrifugación en gradiente de Percoll y Swim-up son las principales técnicas de separación utilizadas para obtener espermatozoides móviles y viables previo a la fecundación *in vitro* (FIV). Sin embargo, existe información divergente sobre su efecto en los espermatozoides y embriones. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la separación de espermatozoides utilizando Percoll y Swim-up, sobre parámetros de calidad y motilidad espermática. Muestras de semen de tres toros se separaron mediante gradiente de Percoll y Swim-up. Se evaluó la viabilidad (SYBR14/PI), acrosoma (PNA-FITC/PI), estrés oxidativo (CH2FDDA) y potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi$) (TMRM) mediante citometría de flujo, y la motilidad mediante el sistema CASA. Los resultados indican que la separación por Percoll logra mayor ($p<0,05$) viabilidad ($87,5\%\pm3,4$), integridad de acrosoma ($89,8\%\pm2,0$) y espermatozoides con alto $\Delta\Psi$ ($84,3\%/16,1$ UA), respecto a Swim-up ($63,3\%\pm3,8$; $74,9\%\pm4,3$ y $72,8\%/9,9$ UA, respectivamente). No se observaron diferencias en los niveles de estrés oxidativo entre los espermatozoides separados por Percoll ($84,7 \pm 4,62$ UA) y Swim-up ($72,7 \pm 7,27$ UA). Finalmente, el análisis de la motilidad mostró que los espermatozoides separados por Percoll poseen mayor ($p<0,05$) motilidad total y progresiva, en comparación con los espermatozoides separados por Swim-up. En conclusión, en bovinos la separación de espermatozoides utilizando gradiente de Percoll mejora los parámetros de calidad y motilidad espermática en relación a Swim-up. Evaluaciones futuras sobre la integridad del ADN espermático, expresión de biomarcadores y el efecto en el desarrollo embrionario confirmarán el mejor método de separación de espermatozoides para técnicas de reproducción asistida en bovinos.

FONDECYT 11130724. CONICYT, Chile. Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia. PAI-CONICYT, Chile.

Póster 4

LA OBESIDAD COMO FACTOR DISRUPTIVO DEL DESARROLLO FOLICULAR OVÁRICO (Obesity as a disruptive factor of the ovarian follicular development)

Bazzano M¹, Torelli C³, Pustovrh M², Paz D^{1,3} y Elia E¹. ¹Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-CONICET-UBA). Buenos Aires. Argentina. ²Departamento de Morfología. Escuela de Ciencias Básicas. Facultad de Salud. Universidad del Valle. Cali. Colombia. ³Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.

La obesidad representa un serio problema epidemiológico a nivel mundial siendo uno de los mayores desafíos de la salud pública del siglo XXI. Si bien se ha descripto el impacto de la obesidad sobre la salud reproductiva femenina no se conocen completamente los mecanismos involucrados. El objetivo aquí fue investigar el efecto de la obesidad adquirida por dieta sobre la foliculogénesis. Se trabajó con ratas Wistar hembras que fueron alimentadas ad libitum bajo 2 dietas diferentes durante 50 días. El grupo control (n=8) fue alimentado con una dieta estándar (330 Kilocalorías/100g) mientras que el grupo DCI (n=8), recibió dieta de cafetería (435 Kilocalorías/100g). El grupo DCI mostró un incremento en su peso corporal ($p < 0.05$) y de la glucemia ($p < 0.001$) mientras que colesterol y triglicéridos no se vieron alterados respecto al control. Los niveles de estradiol (E2) fueron más bajos en el grupo DCI ($p < 0.001$) sin verse alterado los niveles de progesterona (P4). A nivel ovárico, la obesidad no alteró la proporción de folículos en diferentes estadios de desarrollo; sin embargo DCI mostró un aumento significativo en el número de quistes foliculares y folículos conteniendo oocitos múltiples ($p < 0.05$). Además, el grupo DCI mostró una disminución en el número de folículos primordiales ($p < 0.05$), primarios ($p < 0.01$) y secundarios ($p < 0.05$) que expresaron la hormona antimülleriana (AMH) y un aumento de la apoptosis en los folículos antrales ($p < 0.001$). Estos resultados sugieren que la dieta de cafetería promueve el desarrollo de obesidad asociada a hiperglucemia; alterando el desarrollo folicular y disminuyendo la reserva ovárica.

Fundación Alberto Roemmers; Proyecto Plurianual CONICET, PIP Ref: 112-201101-00799. CR: Becaria Doctoral CONICET

EL BLOQUEO DE LA VIA PI3K-AKT EN ESPERMATOZOIODES HUMANOS SE ASOCIA A DISMINUCIÓN DE LA MOTILIDAD, AUMENTO DE ROS INTRACELULAR Y DAÑO OXIDATIVO DEL DNA

(The blocking of PI3K/Akt pathway in human spermatozoa is associated to motility decrease, intracellular ROS increase and oxidative damage of DNA)

Boguen R¹, Uribe P¹, Treulen F¹, Villegas J^{1,2}. ¹Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, ³Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La supervivencia celular está determinada por la vía intracelular fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3K)/Akt y su bloqueo desencadena muerte apoptótica. Existe un reporte previo que muestra la importancia de esta vía en espermatozoides humanos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inhibición de PI3K en espermatozoides humanos. Espermatozoides humanos seleccionados mediante *swim up* se incubaron durante 1, 4 y 24 horas con 10, 50 y 100 μ M de wortmanina, un inhibidor de PI3K. La viabilidad, niveles de Akt y Akt fosforilado [pAkt(pSer473)], potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$), especies reactivas del oxígeno (ROS) intracelular, desorden de lípidos de membrana, oxidación y fragmentación del DNA fueron evaluados por citometría de flujo. La motilidad se evaluó utilizando el sistema CASA. Los resultados mostraron que la viabilidad de los espermatozoides no resultó alterada con ninguna de las concentraciones probadas de wortmanina. Los niveles de Akt se incrementaron, sin embargo, los niveles de pAkt(pSer473) no mostraron diferencias luego de la exposición a wortmanina. Asimismo se observó alteración en los lípidos de membrana, motilidad y niveles de ROS. En cambio el $\Delta\Psi_m$ se mantuvo constante. Por otra parte, se produjo oxidación sin fragmentación del DNA luego de 24 horas de incubación con wortmanina. Estos resultados indican que el bloqueo de PI3K causa alteración de la función espermática, probablemente debido al aumento en la producción de ROS y el consecuente desarrollo de estrés oxidativo, lo que finalmente produce oxidación del DNA.

Proyectos DI10-0021, Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera (JV).

Póster 6

EFFECT OF A MIXTURE OF ENDOCRINE DISRUPTORS IN THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF MALE MICE.

Buñay J, Gallardo L, Patiño D, Moreno R.

Physiology Department, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile.

Human beings are exposed daily to different chemicals that potentially may disrupt the endocrine system. There is controversy about the real impact that these compounds may have on reproductive health. Only a few studies have addressed the effect of complex mixtures of these endocrine disruptors (EDs) throughout life. In this work we wanted to determine the effect of a mixture of 5 EDs in the male reproductive system. Pregnant mice from 0.5 postcoital day was treated with a mixture of 30mg/Kg of phthalates (DEHP, DBP, BBP), and 5mg/Kg of alkylphenols (NP, OP) in the drinking water. At weaning time only male offspring were selected and the administration of EDs was continued until adulthood. Mixtures made with each of the EDs and we evaluate the effect of three different doses 1X, 0.1X and 0.01X in different parameters. We observed an increase in the mRNA levels of enzymes *StAR*, *Cyp17a1* but not in *Sp1*, *Hsd3β*. Morphological alterations in seminiferous tubules in treated animals were: increased number of seminiferous tubules with detachment, without lumen, without certain stages and germ cell apoptosis. We observed an increased caudal epididymis sperm concentration but not in spontaneous or progesterone induced acrosome reaction. As a new approach, we conducted a bioinformatic analysis that predicted miRNAs that regulate the network for synthesis of testosterone and estradiol. These results suggest that chronic exposure to low doses of EDs induce alterations in the reproductive system of male mice by increasing the expression of the steroidogenic pathway genes.

FONDECYT 1110778, JB: Becario Doctorado CONICYT

Póster 7

REPROGRAMACIÓN FETAL: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ESTRADIOL (E) O DIHIDROTESTOSTERONA (DHT) SOBRE LA DINÁMICA INSULINA-GLUCOSA EN OVEJAS OVARIETOMIZADAS EXPUESTAS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA (Fetal programming: effect of acute administration of estradiol (E) or Dihydrotestosterone (DHT) on the insulin-glucose dynamics in ovariectomized sheep exposed prenatally to testosterone)

Carrasco A¹, Recabarren M¹, Rojas-García P¹, Sandoval D¹, Acevedo C¹, Sir-Petermann T¹, Recabarren S¹. ¹Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal (FISENLAB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán. ²Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

En el modelo ovino se ha demostrado que la sensibilidad a la insulina (SI), es menor en hijas nacidas de madres tratadas con testosterona (T) durante la preñez que en controles. La exposición a una hiperandrogenemia durante la etapa fetal, reprogramaría la SI de estas hembras. Sin embargo, se desconoce si los efectos de reprogramación se pueden exacerbar por efecto de la testosterona o del estradiol. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la SI mediante el test de tolerancia a la glucosa endovenosa (TTGEV) en hembras ovinas ovariectomizadas con administración aguda de DHT o Estradiol. Los valores de glucosa (G) e insulina (I) durante el TTGEV permiten calcular el Índice SI (ISI). Ovejas controles (hembra-C, n=7) y ovejas nacidas de madres tratadas con T durante la preñez (hembra-T, n=7) se ooforectomizaron a las 26 sem de edad (peripuberal), para eliminar los efectos de los esteroides endógenos. A las 40-42 sem (etapa adulta) se realizó un primer TTGEV en un diseño "cross-over". Inmediatamente después, se inyectó DHT o benzoato de E a hembras-C y hembras-T, y 48 horas después se realizó un segundo TTGEV. Las concentraciones basales de I previo al primer TTGEV fue mayor en hembras-T ($P<0,05$), las concentraciones de G fueron similares entre ambos grupos. El ISI tendió a disminuir en hembras-C con la administración de DHT ($P<0,10$) pero no con E. Sin embargo, ni el E ni la DHT modificaron el ISI en las hembras-T. Los resultados sugieren que las hembras-T ovariectomizadas son insulino-resistentes pero la administración aguda de DHT o E no les agrava dicho fenómeno.

FONDECYT 1090031 y FISENLAB.

EXPOSICIÓN DE OVOCITOS MADUROS A UN DONADOR DE ÓXIDO NÍTRICO (ON) PARA LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA AL ESTRÉS OXIDATIVO EN EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*

(Short-term exposure of mature oocytes to a nitric oxide donor for inducing oxidative stress resistance on *in vitro* produced bovine embryos).

Cheuquemán C¹, Loren P¹, Arias M¹, Risopatrón J^{1, 2}, Felmer R^{1, 3}, Álvarez J⁴, Mogas T⁵, Sánchez R^{1, 6}. ¹Centro de Biotecnología de la Reproducción, Facultad de Medicina, ²Departamento de Ciencias Básicas, ³Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ⁴Centro ANDROGEN, España. ⁵Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, España. ⁶Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La exposición de ovocitos a estresores como la presión hidrostática, estrés osmótico y oxidativo, puede inducir tolerancia al estrés en los embriones producidos *in vitro*. En este trabajo se estudió el efecto de la exposición de los complejos cúmulo-ovocito (COCs) a *nitroprusiato de sodio* (SNP) sobre la generación de embriones *in vitro*. Los COCs se incubaron con SNP por 1 h en medio de maduración (Control sin SNP, 10^{-6} M, 10^{-5} M y 10^{-4} M SNP). Se realizó la fecundación *in vitro* y cultivo embrionario, evaluándose la división y blastocistos al día 7. Mediante tinción del Trofoectodermo (TE) con el anticuerpo cdx2-texas red y de células totales (Hoechst) se analizó la relación entre TE y las células del macizo celular interno (ICM). Se evaluó la expresión génica en un qPCR, Stratagene MX 3000P y el software Agilent MX pro 4.1. La división embrionaria fue mayor en el control vs. 10^{-4} M SNP ($82 \pm 8.4\%$ vs. $77 \pm 7.1\%$) y mayor en 10^{-5} M vs. 10^{-4} M SNP ($84.9 \pm 4.1\%$ vs. $77 \pm 7.1\%$). El % de blastocistos fue mayor en el control vs. 10^{-4} M SNP ($34.1 \pm 7.8\%$ vs. $26.2 \pm 4.9\%$). No se observó diferencias en el desarrollo embrionario (iniciales, expandidos o eclosionados), ni en la calidad embrionaria (ICM: TE). La expresión génica no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos (iNOS, eNOS, nNOS, HSP70, HSP90, HIF1A, PRDX5 y BCL2A). La exposición de los ovocitos a 10^{-4} M SNP perjudica el desarrollo embrionario. Sin embargo, tanto la calidad embrionaria como el patrón de expresión génica se mantuvieron similares. Queda por dilucidar si la exposición a estrés nitrosativo puede inducir mayor sobrevivencia en los embriones cuando estos son sometidos a estresores importantes como ocurre en el proceso de crio preservación. FONDECYT 1130888 y Beca doctoral de C.CH. (CONICYT, CHILE).

Póster 9

EL FACTOR TRANSCRIPCIONAL SNAIL PROMUEVE LA TRASLOCACIÓN DE SINDECANO 1 AL NÚCLEO DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO

(The transcription factor SNAIL promotes the translocation of syndecan 1 to the nucleus of prostate cancer cell lines)

Chrzanowsky D, Farfán N, Castellón E, Contreras H. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile

El factor transcripcional SNAIL promueve inicialmente el proceso de transición epitelio mesénquima (TEM), el cual ocurre durante el desarrollo y se simula durante la malignización de las células epiteliales en cáncer. En el cáncer prostático (CaP) SNAIL reprime la expresión de E-cadherina, y aumenta su expresión asociada con el aumento del Índice de Gleason. Adicionalmente, Sindecano 1 (SDC-1), otra molécula de adhesión localizada en la membrana plasmática de las células epiteliales, disminuye su expresión al aumentar la progresión del CaP. Se propone que en las células de CaP con sobreexpresión del factor transcripcional SNAIL podrían disminuir la expresión de SDC-1 y/o modificar su distribución subcelular. En este trabajo, se utilizaron las líneas celulares de CaP, LNCaP y PC3, en las cuales se expresó ectópicamente SNAIL. Para detectar SNAIL, E-cadherina y SDC-1 se determinaron los niveles proteicos mediante western blot. Su distribución y localización sub-celular, junto a otros marcadores de TEM como citokeratinas 18 y vimentina, fueron evaluados por inmunofluorescencia y microscopía confocal. Los resultados indican que la expresión ectópica de SNAIL no modifica los niveles proteicos de SDC-1. Sin embargo, se observa una preferente localización nuclear de SDC-1 en aquellas células con alta expresión de SNAIL y morfología mesenquimal. Estos cambios de localización de SDC-1 de la membrana plasmática al núcleo inducida por SNAIL, podrían indicar un cambio en la función canónica de SDC-1 durante la malignización. La detección nuclear de SDC-1 podría utilizarse como un marcador pronóstico temprano de CaP.

FONDECYT 1110269 (HRC), ChDR: Tesista Tecnología Médica. NF: becaria doctorado, CONICYT

Póster 10

LA AROMATIZACIÓN *IN VITRO* INDUCE PROTECCIÓN FRENTE A ESTRÉS OXIDATIVO: ROL DE TRPV1.

Córdova C, Ramírez R, Rodríguez B, Olivero P

Laboratorio de estructura y función celular, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

La función testicular es perturbada por el estrés oxidativo, induciendo alteraciones en la espermatogénesis y la producción de hormonas esteroidales. En respuesta a esta agresión, estrógenos y no andrógenos, favorecen la resistencia a la muerte celular de la línea germinal. La resistencia inducida por estrógeno, ha sido registrada independiente de receptores clásicos y relacionada con la actividad de la membrana, sin embargo las entidades moleculares involucradas no han sido completamente dilucidadas. Por otra parte TRPV1, un canal catiónico no selectivo que se expresa en células de sertoli como en la línea germinal, es un determinante mayor del control de la muerte celular y es diferencialmente regulado por hormonas sexuales. En este contexto postulamos que la aromatización de andrógenos a estrógenos constituye un mecanismo protector frente al ambiente oxidativo a través de TRPV1. Controlamos la producción local de estrógenos a partir de andrógenos estimulando la capacidad de aromatización mediante activación farmacológica en una línea celular proveniente de espermatocito, mediante RIA se determinó que la activación farmacológica *in vitro* aumenta la cantidad de estrógeno liberado al medio. Medimos mediante citometría de flujo el efecto en la viabilidad celular de los medios condicionados para la aromatización a estrógeno sobre la muerte inducida por estrés oxidativo, en un modelo que sobreexpresa TRPV1 de manera heteróloga, protegiendo de la muerte celular solo en aquellas células que expresan el canal. Estos datos sugieren que la aromatización a estrógeno puede ser un mecanismo auto y/o paracrino en la protección celular frente a estrés oxidativo mediado por TRPV1.

FONDECYT 11100047, DIPUV- 21/2008

Póster 12

EL BLOQUEO KISSPEPTINÉRGICO DISMINUYE EL DESARROLLO FOLICULAR DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD EN OVARIOS DE RATAS DESNERVADAS. (Blockade of kisspeptinergic system decrease the follicular development during the subfertility period in denervated rat ovaries).

Cuevas F, Na E, Fernandois D, Lara H, Paredes A. Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

A nivel mundial, la población ha postergado la maternidad hacia un periodo donde la fertilidad de la mujer está disminuida (periodo de subfertilidad). Una de las causas de este proceso es la disminución gradual de su reserva folicular. Esta disminución se ha correlacionado con un aumento en la actividad adrenérgica y los niveles de kisspeptina endógena del ovario. En este contexto, es probable que el péptido kisspeptina junto a su receptor GPR54, jueguen un rol en la dinámica folicular del ovario durante la subfertilidad. El objetivo es determinar si el bloqueo farmacológico del receptor GPR54 y la disminución del tono simpático provocan cambios en la dinámica folicular. Para esto, se estudió la morfología ovárica en ratas Sprague-Dawley de 10 meses de edad (etapa subfértil). Los animales se trataron con P234 (antagonista del GPR54), administrado con una minibomba osmótica en la bursa ovárica por 28 días. Un segundo grupo se trató con P234 y se seccionó el nervio ovárico superior. Los resultados muestran una disminución en la población de folículos antrales sanos y un aumento en folículos antrales atrésicos, indicando una disminución del desarrollo folicular. Las estructuras quísticas cambian sus tamaños (aumento en los prequistes y disminución en los quistes), sin alterar su cantidad. Finalmente, los cuerpos lúteos muestran una tendencia a la disminución mientras que se evidencia un aumento de los folículos luteinizados, lo que podría relacionarse con el envejecimiento ovárico. Estos datos sugieren que el sistema kisspeptinérgico y adrenérgico participan en el crecimiento folicular durante el periodo de subfertilidad.

FONDECYT 1120147

Póster 13

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO ACUOSO DE *ARISTOTELIA CHILENSIS* (MAQUI) Y SU EFECTO EN LA CAPACIDAD FECUNDANTE DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS (Antioxidant activity of aqueous of *Aristotelia chilensis* and effect on fertilizing capacity)

Silva T ¹, **Cuevas M** ¹, Jofré I ¹, Acevedo F ^{2,3}, Rubilar M ², Romero F ¹.
¹Laboratorio de Neurociencias y Biología de Péptidos. Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina. CEGIN-BIOREN-CEBIOR-UFRO. ² Centro de Genómica Nutricional de Agriocacuicultura CGNA, Unidad de Tecnología y Procesos, ³BIOREN, Universidad de La Frontera, Temuco Chile.

El almacenamiento y preservación de espermatozoides de porcinos resulta complejo debido a las características físico-químicas de su membrana y a la elevada concentración de ácidos grasos insaturados, desencadenando un aumento en el estrés oxidativo, peroxidación lipídica, aumento en el número de espermatozoides reaccionados, pérdida en la motilidad y bajo poder fecundante. Con el objetivo de reducir el estrés oxidativo y mejorar los parámetros de calidad espermática, se evaluó el efecto funcional de un extracto acuoso de Maqui (*Aristotelia chilensis*) sobre espermatozoides porcinos preservados a 17°C. El análisis de los datos mostró que el extracto de maqui induce una disminución en los niveles de ROS extracelular e intracelular, en los espermatozoides de porcino, de manera dosis dependiente (DE_{50%} 1,051ugCianidinas/mL; DE_{50%} 0,14ugCianidinas/mL, respectivamente). De acuerdo a los ensayos de motilidad, los ensayos nos revelan un aumento de los espermatozoides motiles progresivos dosis dependiente, alcanzando un 40% de estos al adicional 100ug/mL de extracto de maqui, en comparación con el control, el cual presenta un 30,4% de espermatozoides motiles progresivos. Sin embargo, de manera independiente, el extracto de Maqui produce una disminución en la concentración de ATP en los espermatozoides de verraco, lo cual no es consecuente con los ensayos de motilidad. Estos datos sugieren que maqui puede ser utilizado como un suplemento para preservación, reduciendo el estrés y modulando la fisiología espermática.

FIA PYT-0035-2013

Póster 14

EVALUACIÓN DE miRNAS EN TEJIDOS DE CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL

(Evaluation of miRNAs in epithelial ovarian cancer)

Cuevas P¹, Vega M^{1,3}, Romero C^{1,2,3}. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. ²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. ³Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El Cáncer Ovárico Epitelial (COE) es el más letal de los cánceres ginecológicos debido al tardío diagnóstico de esta patología y mala respuesta a las terapias existentes. En busca de nuevos marcadores diagnósticos y blancos terapéuticos; los microRNAs (miRNAs) están siendo evaluados en muchos tipos de cáncer. Estos ácidos nucleicos pequeños (~20 nt) reprimen la expresión de sus moléculas blanco al inducir degradación del mRNA o inhibición de la traducción, actuando como oncogenes o como supresores de tumores. El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de los miRNAs let-7c, miR-23b, miR-27a y miR-200a por PCR de tiempo real en muestras de Ovario normal inactivo (Ov-I, grupo control; n=5), Tumores benigno y pre-cancerígeno (Tbe-Tbo; n=11) y cáncer ovárico epitelial con distintos grados de diferenciación (COEs; n=13). Los resultados obtenidos para los miRNAs let-7c y miR-23b muestran una disminución significativa al comparar el grupo COEs con respecto a Ov-I, alcanzando niveles de 0,4 veces el grupo control ($p < 0,05$) para ambos miRNAs. Los miRNAs miR-27a y miR-200a tuvieron un aumento evidente a partir del grupo tumores, siendo significativo para ambos en el grupo COEs con niveles de 5,6 ($p < 0,001$) y 39,7 ($p < 0,001$) veces el control respectivamente. En conclusión, los miRNAs 23b y let-7c disminuyen durante la progresión del COE por lo que podrían considerarse miRNAs supresores de tumores y los miRNAs miR-27a y miR-200a al aumentar sus niveles en la progresión de esta patología se podrían considerar miRNAs oncogénicos.

FONDECYT 1110372

METODOLOGÍA DE CRIOCONSERVACIÓN *IN VITRO* DE SEMEN DE ZÁNGANOS DE *Apis mellifera* (Methodology of in vitro Cryopreservation of *Apis mellifera* drones semen)

Díaz M¹, Cruz-Fernandes L¹, Acuña R², Palomino J³, Moreno R¹. ¹Unidad de Endocrinología y Reproducción, Dpto. Fisiología, Pontificia Universidad de Católica de Chile. ²Centro Investigación Apícola Abejas del Bio-Bio Ltda. ³Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Departamento de Fomento de Producción Animal, Universidad de Chile.

En la actualidad las abejas se están extinguiendo. En esta población, el zángano es quien reproduce totalmente la genética de la reina. Por esto es de vital importancia preservar el semen de zángano para su uso posterior en el tiempo y así incrementar la producción de abejas. Nuestro objetivo fue caracterizar y evaluar procedimientos de crioconservación de espermatozoides de zánganos de *A. mellifera*, mediante un equipo programable de congelación. Para esto se evaluaron dos protocolos de congelamiento: uno rápido y otro lento, con distintos crioprotectores DMSO (5 o 10%), Glicerol (5%) y la mezcla DMSO-Gly (5%). La viabilidad post-descongelamiento se evaluó mediante el kit Live and Dead, que mide células vivas con la sonda fluorescente SYBR-14, y células muertas con Ioduro de Propidio. Nuestros resultados arrojaron que con el protocolo rápido se obtuvo un 48,75% de viabilidad con DMSO 5% y un 64,9% con DMSO-Gly; mediante el protocolo lento se observó un 46,8% de viabilidad en las condiciones de DMSO-Gly y un 41,5% con DMSO 10% (n=2). La viabilidad de los espermatozoides previa al proceso de congelamiento fue de un 72.6%. Estos resultados sugieren que el procedimiento de congelación rápido es mejor que el lento. Además, con la mezcla de crioprotectores DMSO-Glicerol se obtuvo mejores resultados que con cada uno de ellos por separado. En conclusión, el procedimiento de congelamiento de semen de *A. mellifera* es posible. Con estos resultados esperamos poder mejorar la tasa de sobrevivencia de los espermatozoides post-congelamiento, y comenzar las pruebas de campo.

Proyecto FIA: PYT-2013-0053

Póster 16

PERFIL METABÓLICO Y CONDUCTA ALIMENTARIA EN HIJOS PREPUBERALES Y EN PUBERTAD TEMPRANA DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP) (Metabolic profile and eating behavior score in prepubertal and early pubertal sons of women with polycystic ovary syndrome)

Echiburú B¹, Vantman N¹, Concha F¹, Luchsinger M¹, Pereira C¹, Crisosto N¹, Pérez-Bravo F², Santos J³, Recabarren S⁴ y Sir-Petermann T¹. ¹Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile. ²Laboratorio de Genómica Nutricional, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile. ³Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁴Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán.

Hemos establecido que los hijos de mujeres con SOP (HSOP) presentan mayor peso corporal desde la infancia y resistencia a la insulina en la etapa adulta. Actualmente se acepta que factores genéticos y epigenéticos intervienen en el desarrollo de la conducta alimentaria y de la obesidad infantil. En el caso de las madres SOP, es probable que ellas protejan a las hijas, pero no a los hijos de la sobrealimentación. Objetivo: Evaluar parámetros metabólicos y conducta alimentaria en 27 HSOP y 20 hijos de mujeres controles (HC). Se realizó: examen clínico-antropométrico, prueba de tolerancia a la glucosa oral con determinación de glucosa, insulina y perfil lipídico. Se les aplicó una encuesta de conducta de alimentación infantil "Child Eating Behavior Questionnaire" (CEBQ). Los grupos fueron comparables en edad y peso. Los HSOP presentaron mayor relación cintura/cadera y concentración de glucosa en comparación a los HC. Los HSOP púberes mostraron mayor preferencia hacia los alimentos sabrosos según la CEBQ. En los HSOP este parámetro se correlacionó positivamente con el IMC ($r=0.85$, $p=0.004$). En los HC durante la misma etapa, el IMC se correlacionó positivamente con las subescalas disfrute de los alimentos ($r=0.49$, $p=0.0048$) y respuesta a los alimentos ($r=0.54$, $p=0.024$). En conclusión, la preferencia de consumir alimentos sabrosos durante la pubertad temprana en los HSOP, podría ser un hábito adquirido o programado. El hecho de que ambos grupos presenten asociación del IMC con parámetros pro-ingesta, es concordante con la alta prevalencia de obesidad en nuestros niños.

FONDECYT 1050915 y 1110864.

PHYSIOLOGICAL AND PATHOPHYSIOLOGICAL ANGIOGENESIS IS INCREASED BY PLATELETS AND INHIBITED BY DIABETIC CONCENTRATIONS OF METFORMIN

Erices R¹, Orellana R¹, Aravena R^{1,2}, Racordon D¹, Valdivia A¹, González I¹, Oliva B¹, Vásquez P¹, Mezzano D³, Cuello M⁴, Owen G¹.

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Universidad Santo Tomás, ³División de Hematología y Oncología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, ⁴ Departamento de Ginecología y Obstetricia, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Metformin, a diabetes mellitus type 2 drug, has been shown to increase the progression-free survival in ovarian cancer (OC) patients with diabetes. It is currently unknown if this metformin-mediated benefit is due in part to the inhibition of vascular structure formation, i.e. angiogenesis and vasculogenic mimicry. In OC patients an increase in circulating platelets, or thrombocytosis, is recognized as an independent risk factor of bad prognosis and metastasis. Therefore, we evaluated the role of platelets in tubular structure formation and the corresponding effect of metformin presence. We hypothesize that platelets increase, while metformin (at approved diabetic doses) inhibits physiological and pathophysiological angiogenesis *in vitro*. Herein we present data from the ovarian cancer cell lines SKOV3 and UCI101, and the endothelial cell line EA.hy926. Platelets were extracted from vein blood from healthy volunteers with informed consent and ethics committee approval. To evaluate *in vitro* tube formation we used the endothelial cell line grown in matrigel. Platelets significantly increased the formation of tubular structures (n=3, P<0.05), while metformin decreased the number of tubular structures by 40% (n=3, P<0,05). Our results demonstrate that platelets are pro-angiogenic, both directly upon endothelial cells and indirectly by increasing the angiogenic capacity of ovarian cancer cells. Both of these processes were significantly blocked by metformin. Our data presents metformin as an anti-angiogenic agent and provides further evidence for the evaluation of the use of metformin in the treatment of ovarian cancer.

BMRC 13CTI 21526-P6 (GO); CONICYT-FONDAP ACCDIs 15130011 (GO); FONDECYT 1140970 (GO) & 110292 (MC)

Póster 18

ALTERACIONES EN EL ESPERMIOGRAMA DE JÓVENES, EXPUESTOS A DIFERENTES DOSIS DE BORO EN EL AGUA POTABLE DE ARICA-CHILE (Alterations in spermogram of young men exposed to different doses of boron in drinking water from Arica-Chile)

Espinoza-Navarro O ¹, Cortés S ², Bustos-Obregón E ³. ¹Departamento de Biología, Universidad de Tarapacá, Arica-Chile. ²Departamento de Salud Pública, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago-Chile. ³Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago-Chile

Boro provoca alteraciones en órganos reproductivos de animales expuestos. Sin embargo efectos sobre humanos no han sido reportados. La población de Arica-Chile, ha sido expuesta a niveles altos de boro (6.0 a 12 mg/L), en el agua potable. El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis comparativo de las alteraciones en el espermiograma de varones jóvenes expuestos a diferentes dosis de boro. Las muestras seminales de 102 jóvenes, residentes de Arica, de entre 18 a 30 años fueron recolectadas en tres zonas de exposición, según niveles de boro en el agua de beber: Zona de baja exposición (<3 mg B/L); de media exposición (3 a 7 mg B/L) y de alta exposición (>7 mg B/L). A cada muestra se les determinó el volumen, pH, concentración, motilidad, vitalidad y morfología espermática. Los resultados muestran que esta población presenta un comportamiento normal según valores espermáticos referenciales de la OMS y de otras poblaciones. Al estudiarlos comparativamente según las zonas de exposición, se observa que en la zona de alta exposición los valores de concentración, motilidad y vitalidad espermática presentan una tendencia a disminuir, con respecto a la zona con niveles de <3 mgB/L. Sin embargo también se registra un aumento significativo del porcentaje de espermatozoides con morfología normal, lo que estaría expresando un efecto positivo en la fertilidad masculina. Se concluye que boro altera los valores del espermiograma en jóvenes de Arica. Estos resultados son preliminares y se necesitan mayores estudios para determinar el real efecto del boro en la reproducción.

Proyecto UTA, Mayor N° 4712-13.

Póster 19

REGULACIÓN FUNCIONAL DEL PROTEASOMA POR LA PROTEÍNA SERINA/TREONINA FOSFATASA PP2A EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS DURANTE LA CAPACITACIÓN. (Functional regulation of the human sperm proteasome by the serine/threonine phosphatase PP2A, during capacitation).

Fara K^{1,2}, Baron L¹, Díaz E¹, Morales P^{1,2}. ¹Laboratorio de Biología de la Reproducción, Departamento Biomédico. Facultad de Ciencias de la Salud. ²Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

Se conoce que un mecanismo importante en la regulación funcional del proteasoma espermático es la fosforilación / defosforilación de algunas de sus subunidades, especialmente en residuos de serina y tirosina. En estudios anteriores, la mayor atención se centró principalmente en las proteínas quinasas y en su regulación; sin embargo, no hay estudios sobre la regulación del proteasoma por proteínas fosfatasa en espermatozoides humanos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de inhibidores de la serina/treonina fosfatasa PP2A sobre la actividad enzimática y patrón de fosforilación del proteasoma. Espermatozoides móviles fueron separados en una doble gradiente de Percoll y luego incubados por 30 minutos en: 1) medio capacitante (MC; medio Tyrode suplementado con 2.6% BSA y 25 mM Bicarbonato)+ 0,1% DMSO (control); 2) MC + 90 nM Endothal; y 3) MC + 0,1 nM Acido Okadaico; a 37 °C, 5% CO₂ y 10x10⁶ 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. El efecto de los inhibidores de PP2A sobre la fosforilación de las subunidades del proteasoma, fueron evaluados mediante la inmunoprecipitación con 7 µl del anticuerpo anti subunidad α4 del proteasoma, inmovilizado en agarosa (2mg/ml), luego la muestra fue sometida a SDS-PAGE y Western blot. Los resultados indican que la actividad tipo quimotripsina del proteasoma aumenta durante la capacitación y que los inhibidores de PP2A aumentan la fosforilación de sus subunidades. Se concluye que PP2A regula la actividad del proteasoma espermático durante la capacitación.

FONDECYT 1120056 y 1130341

LOS FACTORES TRANSCRIPCIONALES ZEB1/2 REPRIMEN LA EXPRESIÓN DEL GEN DE SINDECANO 1 EN CÉLULAS EPITELIALES PROSTÁTICAS. (The transcription factors ZEB1/2 repress the syndecan 1 gene expression in prostate epithelial cells)

Farfán N¹, García de Herreros A², Castellón E¹, Contreras H¹.

¹Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

²Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, Barcelona, España.

Los factores transcripcionales ZEB1/2 promueven el proceso de transición epitelio mesénquima (TEM) durante la gastrulación y en cáncer durante la malignización de las células epiteliales. ZEB1/2 reprimen la expresión de E-cadherina contribuyendo a la desorganización epitelial. En cáncer de próstata (CaP) existe un aumento de ZEB1 a mayor desorganización del epitelio y agresividad del CaP. Además, se ha descrito que moléculas de adhesión célula-matriz como sindecano 1 (SDC-1), disminuyen su expresión cuando aumenta el grado de Gleason en CaP. El objetivo del presente trabajo es evaluar si la disminución de SDC-1 podría ser mediada por ZEB1/2. Para responder esta pregunta, se utilizaron líneas celulares comerciales de epitelio normal de próstata (RWPE1) y de CaP (LNCaP y PC3). Se determinó mediante qRT-PCR la expresión basal de algunos marcadores de TEM y SDC-1, y sus cambios en células con expresión ectópica o silenciamiento (shRNA) de ZEB1/2. Se analizó la actividad promotora de SDC-1 mediante ensayo de reportero de luciferasa en células HEK293T. Los resultados muestran que las líneas celulares de CaP poseen un fenotipo mesenquimático con respecto a la línea epitelial normal. La expresión de SDC-1 fue reprimida con la expresión ectópica de ZEB1 (70%) y ZEB2 (50%) en las células epiteliales ($p < 0,05$). El silenciamiento de ZEB1/2 aumentó la expresión de SDC-1 en las células LNCaP ($p < 0,05$). La actividad promotora de SDC-1 disminuyó en presencia de ZEB1/2 ($p < 0,05$). Estos resultados demuestran que la represión de SDC-1 es específica de ZEB1/2, lo cual podría contribuir a la malignización inicial de las células epiteliales prostáticas.

FONDECYT 1110269 (HRC) NF: Becaria Doctorado, CONICYT

Póster 21

DETECCIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DIFERENCIAL 9 (GDF-9) EN FOLÍCULOS ANTRALES DE PERRA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO (Detection of growth differential factor 9 (GDF-9) in bitch antral follicles by flow cytometry)

Fernández T, Palomino J, De Los Reyes M. Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

El factor de crecimiento diferencial 9 (GDF-9) juega un rol fundamental en el crecimiento de los ovocitos mamíferos. Considerando que el ovocito de perra muestra diferencias en su maduración con otras especies, y una estrecha relación con las células foliculares del cúmulo más allá de la ovulación, el estudio de factores paracrinós en la regulación del crecimiento y maduración del gameto canino es de gran importancia. Por lo tanto, en este estudio se evaluó la presencia de GDF-9 en células foliculares de diferentes etapas del desarrollo de folículos antrales, a través del ciclo estral, mediante citometría de flujo. Los folículos se recolectaron de ovarios de perras adultas obteniendo las células foliculares por gradientes de Ficoll, las cuales se incubaron con anticuerpo anti GDF-9 humano (1/100) y un segundo anticuerpo conjugado con FITC. Se analizaron 48 folículos antrales pequeños (AP: 150–390µm) y 23 antrales medianos (AM: 400–590µm) provenientes de perras en diestro, más 17 AP y 14 AM en proestro. La fluorescencia basal para el detector de FITC se situó en la primera década en escala logarítmica, mediante un control negativo. Un 95,7 y 91,5% de las células foliculares provenientes de folículos AP y AM, respectivamente, expresaron GDF-9 en diestro. En proestro se observó que el 72% de las células de AP y 52,8% en AM fueron positivas para GDF-9. Estos resultados nos llevan a inferir que en estas etapas del ciclo estral, disminuye la expresión de GDF-9 en las células foliculares a medida que avanza el desarrollo folicular.

FONDECYT 1140658

Póster 22

EFFECTO DE LA ACTIVIDAD DE LA METALOPROTEASA ADAM17 SOBRE EL RECEPTOR TRKA, EN UNA LÍNEA CELULAR ENDOTELIAL HUMANA (Effect of metalloprotease ADAM17 activity on TRKA receptor, in a human endothelial cell line)

Girardi S¹, García P¹, Poblete C¹, Vera C¹, Vega M^{1,2}, Romero C^{1,2}.
¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

Se ha descrito que muestras de cáncer ovárico epitelial (COE) expresan altos niveles del receptor TRKA total y fosforilado (TRKA-p), tanto en células epiteliales como en células endoteliales, favoreciendo la angiogénesis. También se ha descrito sobre-expresión de la metaloproteasa ADAM17 en esta malignidad. Estudios en líneas celulares (CHO), muestran que ADAM17 puede cortar proteolíticamente al receptor TRKA, liberando su ectodominio al medio de cultivo, y originando una forma proteica citosólica de TRKA de menor peso molecular activa o fosforilada. El objetivo de este trabajo, fue evaluar si ADAM17 produce corte del ectodominio del receptor TRKA dejando una forma proteica fosforilada de menor peso molecular en la línea celular endotelial humana (EAHY926), utilizando un inhibidor (TAPI-0 1 μ M) y un activador (PMA 1 μ M) de ADAM17 por 1 y 2 horas, respectivamente, a 37°C y 5%CO₂, posteriormente analizar los niveles proteicos de las distintas isoformas de TRKA por *Western blot*. Resultados preliminares muestran que la inhibición en la actividad de ADAM17 con TAPI-0 produce una disminución de la forma proteica de TRKA de menor peso molecular, respecto a la isoforma de 110 kDa del receptor ($p < 0,05$). Al estimular la actividad de la proteasa con PMA, no se observa un efecto sobre la detección de la forma pequeña de TRKA. Estos resultados preliminares sugieren que ADAM17 podría participar favoreciendo la angiogénesis en cáncer ovárico epitelial, mediante el corte proteolítico del receptor TRKA, dejando una isoforma activada de menor tamaño.

FONDECYT 1110372 (C.R.). SG: Becaria Doctorado CONICYT

4-NONILFENOL (NP) INDUCE LA GENERACIÓN DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO Y DIACILGLICEROL EN CÉLULAS DE SERTOLI. (4-nonylphenol (np) induce arachidonic acid and diacylglycerol generatarion in sertoli cells.)

Godoy-Sepúlveda R^{1,2}, Oresti G³, Reyes J², Aveldaño M³ y Moreno R¹.

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. ³Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, Universidad Nacional del Sur-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

Las células de Sertoli (CS) desempeñan un papel fundamental en la proliferación y diferenciación de las células germinales. Xenoestrógenos como 4-nonilfenol (NP), contaminante ambiental, interrumpen el desarrollo testicular y disminuyen la fertilidad masculina. Aquí se evaluó si NP altera el metabolismo del ácido araquidónico (AA) en cultivos primarios de CS de ratas prepúberes. CS se preincubaron con ³[H]AA y estimularon 1-hora con NP. Se estudió la distribución de la marca entre lípidos de células y medio. La mayor parte de la marca se incorporó en fosfolípidos. La incubación con NP indujo aumento en la liberación de ³[H]AA y diacilglicerol (³[H]AA-DAG). Muy poco de los fosfolípidos, pero más del 50% del total de ambos productos fue recuperado del medio, indicando su liberación desde las CS. Estos aumentos ocurrieron concomitantemente con una disminución de la marca de ³[H]AA en fosfatidilinositol (FI), sugiriendo a FI como fuente de AA. Cromatografía gaseosa de la fracción ácidos grasos libres reveló que AA fue el que más aumentó en respuesta a la incubación con NP, seguido del oleico y linoleico. La preincubación con H89 10μM y 14-22PKAi 36nM, inhibidores de proteína quinasa A (PKA), disminuyó el aumento de ³[H]AA y ³[H]AA-DAG, sugiriendo un rol para esta enzima en la respuesta a NP en CS. Estos resultados sugieren que NP podría alterar la fertilidad masculina por un mecanismo que involucra aumento de AA libre y DAG, lo cual sería dependiente de PKA, por lo cual PKA podría ser un blanco farmacológico para la prevención de la infertilidad producida por NP.

FONDECYT 1110778 (RDM) y 1110267 (JGR); Beca pasantía doctoral CD FSM1204

Póster 24

EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE PROGESTERONA EN CÉLULAS DE LA GRANULOSA HUMANA Y SU EFECTO SOBRE METALOPROTEINASAS DE LA MATRIZ EXTRACELULAR POSIBLEMENTE INVOLUCRADAS EN LA RUPTURA FOLICULAR. (Progesterone receptor expression in human granulosa cells and its effects on matrix metalloproteinases involved in follicular rupture).

Henríquez S, Kohen P, Godoy A, Orge F, Devoto L

Laboratorio de Endocrinología Clínico-Molecular de la Reproducción, Instituto de Investigación Materno Infantil (IDIMI), Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La ovulación es un proceso complejo que se inicia con el alza pre-ovulatoria de LH acompañada de la expresión de numerosos genes en las células de la granulosa (CG). Las vías de señalización activadas por LH están asociadas a la luteinización, ruptura folicular y liberación del ovocito. Progesterona (P4) unida a su receptor (RP) es un factor clave en el proceso ovulatorio. La administración de RU486 (anti-progestina) inhibe la ovulación. Estudios en CGs de ratón han identificado metaloproteinasas de matriz extracelular, ADAMTS, MMP3/10, MMP2 y MMP9 LH-dependientes que podrían participar en el proceso ovulatorio. Su inhibición genera falla en la ruptura folicular. Determinar las vías de señalización LH/hCG dependientes que regulan la expresión de RP y de metaloproteinasas mediadas por RP en cultivo de CGs humana. CGs humanas provienen de mujeres normales participantes del programa de FIV por factor masculino (n=20). Las CGs se cultivan en medio deprivado y se estimulan 12 horas con hCG, en ausencia y presencia de inhibidores de las vías PKA, PI3K, PKC y ERK1/2 analizando las vías que participan en la expresión de RP. Además, usando RU486 en estas células, determinamos si el complejo RP/P4 está regulando la expresión de metaloproteinasas. Nuestros resultados muestran que RP se expresa en el núcleo de las CG post administración con hCG, solamente a través de PKA, PKC y ERK1/2. Además determinamos que el complejo RP/P4 regula la expresión de ADAMTS, MMP3/10 y MMP9. Estos resultados apoyan la importancia de estos péptidos en la ruptura folicular. Comprender los mecanismos moleculares involucrados en el proceso ovulatorio humano, contribuyen a mejorar los tratamientos de inducción de ovulación y los métodos anticonceptivos.

FONDECYT POSTDOCTORADO 3130551

Póster 25

EL DAÑO HISTOLÓGICO PRODUCIDO POR ESTRÉS CALÓRICO EN TÚBULOS SEMINÍFEROS DE RATA ADULTA ES INDEPENDIENTE DE ESTRÉS OXIDATIVO. (Histological damage produced by heat stress in adult rat seminiferous tubule is independent of oxidative stress)

Henríquez-Olavarrieta S^{1,2}, Moreno R¹. ¹Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Candidato a Doctor en el Doctorado en Biología Celular y Molecular, Universidad de Antofagasta.

El estrés oxidativo es el efector clásico en condiciones como el varicocele, eventos como hipoxia hipobárica o el estrés térmico y genera variados efectos en los distintos tejidos. La exposición del testículo a estrés térmico produce daño histológico, apoptosis y la redistribución de algunos grupos de proteínas a lo largo del epitelio seminífero. Este daño afecta de manera reversible la espermatogénesis. El objetivo de este trabajo fue determinar si el daño observado en los túbulos seminíferos por estrés térmico es mediado por el estrés oxidativo. Ratas adultas fueron administradas con 70mg/Kg de ácido ascórbico vía gavage a -24, -2 y +4 horas con respecto al momento del stress térmico (43°C durante 30 minutos). Se cuantificó el daño histológico en los túbulos seminíferos en términos de desprendimiento, vacuolización y apoptosis. Se midió peroxidación lipídica mediante la presencia de malondialdehído (TBARS). Los niveles de TBARS presente en los extractos proteicos de las ratas tratadas con temperatura fueron significativamente mayores que los controles, y fueron significativamente prevenidos en presencia de ácido ascórbico. Sin embargo, los parámetros histológicos como desprendimiento, vacuolización y apoptosis aumentaron significativamente en ratas tratadas con temperatura en relación a las controles. Sin embargo, el tratamiento con ácido ascórbico no previno ninguno de estos parámetros. A partir de estos resultados podemos sugerir que el estrés oxidativo no sería el causante directo del daño histológico observado en testículo de ratas expuestas a estrés calórico.

FONDECYT 111078

Póster 26

ROL DE COX-2 Y SU RELACIÓN CON EL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO (NGF) EN CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL (Role of COX-2 and its relationship with nerve growth factor (NGF) in epithelial ovarian cancer)

Hurtado I¹, Gabler F³, Vega M^{1,2}, Romero C^{1,2}. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Universidad de Chile. ³Dpto. Anatomía Patológica, Hospital San Borja Arriarán.

A medida que progresa el cáncer ovárico epitelial (COE), hay un aumento tanto en los niveles de NGF como de VEGF, promoviendo la angiogénesis tumoral. A su vez, se ha reportado que NGF es capaz de regular los niveles de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), una enzima que participa en muchos tipos de cáncer. COX-2 es clave en la síntesis de las prostaglandinas, como PGE₂, la cual se ha reportado que modula los niveles de VEGF. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles proteicos de COX-2 en muestras de tejido ovárico (ovarios normales inactivos, tumores ováricos y COE), así como también cambios en los niveles de esta enzima por acción de NGF en líneas celulares. Los niveles proteicos de COX-2 en 36 tejidos ováricos se determinaron mediante Inmunohistoquímica y Western blot. En las líneas celulares HOSE: células del epitelio de la superficie ovárica humana y A2780: células de cáncer ovárico epitelial humano (n=4), los niveles de COX-2 se determinaron por Western Blot. Los resultados muestran que los niveles proteicos de COX-2 aumentan considerablemente a medida que progresa el COE tanto por Inmunohistoquímica ($p < 0.001$) como por Western Blot ($p < 0.05$). En las líneas celulares en condiciones basales no se observaron cambios significativos de COX-2; sin embargo, al estimular por 2 horas con 150 ng/mL de NGF, se observa un aumento en los niveles de COX-2 con respecto al basal ($p < 0.05$). Estos resultados sugieren que altos niveles de NGF promueven un aumento en los niveles de COX-2, enzima que podría modular la angiogénesis tumoral.

FONDECYT #1110372 (C.R). Beca CONICYT Magíster Nacional (I.H).

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO POLIFENÓLICO DE *UGNI MOLINAE* VAR. TURCZ (MURTILLA) Y EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD METABÓLICA-FUNCIONAL EN ESPERMATOZOIDES PORCINOS PRESERVADOS

(Antioxidant activity of polyphenolic extract of *Ugni molinae* var. Tucz and effect on metabolic activity in preserved boar sperm)

Jofré I¹, Silva T¹, Cuevas M¹, Scheuermann E², Romero F¹. ¹Laboratorio de Neurociencias y Biología de Péptidos. Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina. CEGIN-BIOREN-CEBIOR-UFRO. Universidad de La Frontera, Fco. Salazar 01145. Temuco, Chile. ²Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Casilla 54-D, Temuco, Chile y Center of Food Biotechnology and Bioseparations, BIOREN-UFRO, Universidad de La Frontera. Casilla 54-D, Temuco, Chile.

Se ha determinado que la elevada concentración de lípidos insaturados en membranas de espermatozoides porcinos es responsable de la reactividad oxidativa lo que dificulta su preservación por la baja viabilidad y capacidad fértil de estos. Con el objetivo de reducir el estrés oxidativo y mejorar los parámetros de calidad espermática, se evaluó el efecto funcional de un extracto acuoso de *Ugni molinae* (murtilla), sobre espermatozoides porcinos preservados a 17°C. Para ello se determinó el efecto antioxidante extra (Luminol) e intracelular (DHE/SytoxGreen), y en la peroxidación lipídica (BODIPY-11) inducida. El análisis mostró que existe un efecto tiempo y concentración dependiente para el efecto antioxidante extracelular ($DE_{50\%}$ 0,315µgGAE/mL 0,5horas; 0,055µgGAE/mL 1hora; 0,003µgGAE/mL 2horas) reduciendo el 43% del ROS interno y 35,6% la peroxidación y para la integridad de membranas (Sybr14/PI) se obtuvo protección del efecto injuriente. Los ensayos para evaluar la reacción acrosómica (PSA/FITC/PI), mostraron espermatozoides negativos para tal evento, lo cual está en relación con lo observado con FLUO-4AM, sugiriendo que la presencia del extracto no genera un aumento en la concentración citosólica de Ca^{2+} . Los ensayos metabólicos de ATP-cAMP demostraron que murtilla disminuye los niveles de estas moléculas en un 50% y 55%, respectivamente y aumento de espermatozoides estáticos (<20%) en presencia de extracto. Al adicionar ATP(1µM) se recupera la motilidad espermática obteniendo índices basales de la progresividad. Estos resultados sugieren que el extracto de murtilla puede ser potencialmente usado como un suplemento en un medio de preservación, reduciendo el estrés y modulando los estímulos fisiológicos en la reacción acrosómica. FIA PYT-0035-2013, Beca de Doctorado UFRO.

DIHIDROTESTOSTERONA (DHT) Y SU RELACIÓN CON LA VÍA DE TGF- β 1 EN EL PROCESO DE PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL. (Dihydrotestosterone (DHT) and its relation to the pathway of TGF- β 1 in the cell proliferation process in epithelial ovarian cancer)

Kohan K¹, Poblete C¹, Vega M^{1,2}, Romero C^{1,2}. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile, ²Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El cáncer ovárico epitelial (COE) corresponde al 90% de las neoplasias malignas del ovario. Una de las hipótesis sobre la génesis de este cáncer postula que los andrógenos estimulan la proliferación celular del epitelio de la superficie normal ovárica (OSE), de los quistes de inclusión y del epitelio transformado. En estudios anteriores, observamos que DHT es capaz de disminuir los niveles de los receptores I y II de TGF- β 1, pudiendo alterar su efecto antiproliferativo. El objetivo de este trabajo fue determinar si DHT provoca cambios en la vía de TGF- β 1 que podrían alterar su efecto antiproliferativo. Líneas celulares de cáncer ovárico epitelial (A2780) y controles (HOSE) fueron tratadas con DHT 100nM, TGF- β 1 2ng/ml, hidroxiflutamida 10 μ M, DHT+TGF- β 1, DHT+TGF- β 1+hidroxiflutamida durante 72 h, luego se determinó la proliferación celular por citometría de flujo y se evaluó por inmunocitoquímica la proteína p21, la cual inhibe el ciclo celular, sintetizada a partir de la señalización de TGF- β 1. Los resultados obtenidos mostraron un aumento significativo ($p < 0.05$) en la proliferación de células A2780 solo en la etapa G2/M con DHT y con DHT+TGF- β 1+ hidroxiflutamida. Además, interesantemente se encontró una disminución significativa de p21 en células A2780 por efecto de DHT. Sin embargo, con TGF- β 1 se observó un aumento significativo de p21 ($p < 0.05$) sólo en células HOSE. Estos resultados sugieren que DHT puede inhibir el efecto antiproliferativo de TGF- β 1, disminuyendo proteínas que participan en el control de la proliferación celular y además hidroxiflutamida tendría un efecto sinérgico con DHT, actuando como agonista del receptor de andrógeno en COE.
FONDECYT 1110372 (CR), Beca CONICYT (KK)

LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS INDUCE LA ACTIVACIÓN DE LA INTEGRINA $\alpha 5\beta 1$. (The human sperm capacitation induce to activation of $\alpha 5\beta 1$ integrin).

Lonis M¹, Pozo P¹, Perez B¹, Martínez E¹, Morales P^{1,2}, Diaz E¹.
¹Laboratorio Biología de la Reproducción, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Instituto Antofagasta.

El espermatozoide humano no capacitado no es capaz de desencadenar la reacción acrosómica. Dado que el espermatozoide es una célula transcripcionalmente inactiva (no puede sintetizar nuevas proteínas), debe tener todas las moléculas necesarias para llevar a cabo su tarea, incluyendo los receptores que inducen la reacción del acrosoma. El objetivo del trabajo fue determinar si durante el proceso de capacitación de los espermatozoides humanos se activa la integrina $\alpha 5\beta 1$ (receptor de fibronectina) y esto se correlaciona con la capacidad de desencadenar la reacción acrosómica. Para esto, alícuotas de espermatozoides móviles seleccionados por gradiente de Percol no capacitados y capacitados durante 5 y 18 hrs fueron utilizadas para determinar: 1) el porcentaje del patrón B de espermatozoides capacitados por la técnica de clortetraciclina, 2) el porcentaje de espermatozoides reaccionados, 3) el porcentaje de integrinas activas (por citometría de flujo e inmunofluorescencia) y 4) el grado de fosforilación del receptor $\alpha 5\beta 1$ en el residuo Tyr795 por Western blot. Los resultados indican que el porcentaje de detección de la integrina $\alpha 5\beta 1$ aumenta a medida que el espermatozoide se capacita ($P < 0,001$ $N = 10$), lo que se correlaciona con el aumento del porcentaje de espermatozoides reaccionados inducidos con Fibronectina ($P < 0,001$ $N = 10$). Además, se observa un aumento en el grado de fosforilación de la integrina $\alpha 5\beta 1$ ($N = 3$). Los resultados obtenidos sugieren que existe una correlación entre la capacidad de desencadenar la reacción acrosómica inducida con fibronectina y la activación de la integrina $\alpha 5\beta 1$ durante el proceso de capacitación.

FONDECYT 1130341 y FONDECYT 1120056.

LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE STAT3 ESTÁ ACTIVADA EN PLACENTA DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO. (Placental STAT3 signaling is activated in women with polycystic ovary syndrome)

Maliqueo M¹, Sundström Poromaa I², Vanky E^{3,4}, Fornes R¹, Benrick A¹, Åkerud H², Stridsklev S^{3,4}, Labrie F⁵, Jansson T⁶ y Stener-Victorin E¹.

¹Institute of Neuroscience and Physiology, Department of Physiology, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Sweden; ²Department of Women's and Children's Health, Uppsala University, Uppsala, Sweden; ³Institute of Laboratory Medicine, Children's and Women's Health, Norwegian University of Science and Technology, Norway; ⁴Department of Obstetrics and Gynecology, St. Olavs Hospital, Norway; ⁵EndoCeutics, Quebec City, Canada; ⁶Center for Pregnancy and Newborn Research, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Texas Health Science Center, Texas

Las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) presentan un mayor riesgo de desarrollar patologías del embarazo y afectar el crecimiento fetal. Las vías de señalización placentarias de STAT3 y mTOR están involucradas en el crecimiento fetal. Por lo tanto, evaluamos la hipótesis que el hiperandrogenismo materno en mujeres con SOP afecta las vías de señalización STAT3 y mTOR en la placenta. Al momento del parto, se obtuvieron muestras de sangre materna y de placenta de 38 mujeres con SOP sin patologías del embarazo y de 40 mujeres controles. En placenta, se evaluó por qRT-PCR la expresión génica de proteínas relacionadas con vías metabólicas, síntesis de esteroides y acción esteroideal. La fosforilación (P) de STAT3 y de proteínas efectoras de la vía mTOR, 4E-BP1 y proteína ribosomal S6, fue evaluada por Western Blot. Los niveles de esteroides circulantes fueron medidos por espectrometría de masa. Los niveles de mRNA de leptina y de receptor de leptina fueron menores en placenta de mujeres con SOP ($P<0.05$). La expresión de P-STAT3 fue mayor en placenta de mujeres SOP ($P<0.05$). La vía de señalización de mTOR fue similar en ambos grupos. Las mujeres con SOP presentaron mayores niveles de andrógenos y menores niveles de estrógenos que las mujeres controles ($P<0.05$). No se observaron correlaciones entre los niveles de esteroides y P-STAT3. En conclusión, la vía de señalización STAT3 está activada en placenta de mujeres con SOP, lo cual parece no estar relacionado a la presencia de patologías del embarazo y a los niveles circulantes de esteroides sexuales.

FONDECYT 11130250

Póster 31

REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN Y DEGRADACIÓN DE AGO2 DURANTE LA DEFICIENCIA DE GLUTATIÓN. (Regulation of Ago2 function and degradation during glutathione depletion)

Mancilla H¹, Slebe J¹, Meister G², Concha I¹. ¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile; ²Biochemistry Center Regensburg (BZR), Laboratory for RNA Biology, University of Regensburg, Germany

Glutatión es uno de los principales antioxidantes involucrados en el desarrollo de la línea germinal masculina. En nuestro laboratorio hemos demostrado que la deficiencia de glutatión induce autofagia en células GC-1, tipo espermatogonias, actuando como mecanismo de supervivencia en esta condición. En el último año la autofagia ha tenido un rol importante en la regulación post-traducciona a través de los RNA pequeños no codificantes (miRNA), afectando los niveles de Ago2 y su interacción con miRNA. El objetivo de este trabajo fue evaluar si Ago2 es afectada durante autofagia inducida por deficiencia de glutatión en células germinales. En esta condición no observamos cambios en los niveles de Ago2 mediante *Western blot*, incluso en presencia de cloroquina y MG-132, inhibidores de autofagia y proteosoma, respectivamente. Por el contrario en células Hela, la disminución del contenido de glutatión degrada Ago2 en un proceso dependiente de autofagia. Esta degradación depende de su capacidad de unirse a los miRNA y de su ubicación subcelular al utilizar células que expresan FH-Ago2 529E, FH-Ago2 NLS mut y FH-Ago2 NES mut, respectivamente. Finalmente, mediante *Northen blot* se determinó que durante depleción de glutatión, autofagia es necesaria para la interacción entre los miRNA y Ago2, pudiendo afectar la traducción de ciertos mensajeros. Estos resultados sugieren una posible diferencia en la regulación de los niveles y función de Ago2 durante una deficiencia de glutatión en células germinales.

FONDECYT 1110508 (IC) y 1141033 (JCS). HM: Becario Doctorado CONICYT, DID-1330-32-06 y Beca Estadía MECESUP AUS 1203

Póster 32

FUNCIÓN DE LA ALBÚMINA Y EL BICARBONATO EN EL AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DEL PROTEASOMA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS (Role of Albumin and Bicarbonate in the Increase of Proteasome Activity During Capacitation of Human Sperm)

Maturana C ^{1,2}, Diaz E ¹, Signorelli J ¹, Morales P ^{1,2}. ¹Laboratorio de Biología de la Reproducción. Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. ²Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile.

Durante la capacitación espermática la albúmina (BSA) permite aumentar la fluidez de la membrana por remoción de colesterol y el bicarbonato facilita la fosforilación de proteínas en serina y treonina activando la vía SACY/AMPC/PKA. Además, la actividad enzimática del proteasoma aumenta durante la capacitación. En este trabajo evaluamos el rol de BSA y bicarbonato en el aumento de la actividad del proteasoma. Espermatozoides humanos, obtenidos por gradiente de Percoll, fueron incubados por 15 min a 37 °C y 5% CO₂ en: 1) Medio No Capacitante (MnC, medio libre de BSA y bicarbonato); 2) Medio Capacitante (MC, medio suplementado con 2.6% BSA y 25 mM bicarbonato); 3) MnC+BSA y 4) MnC+bicarbonato. Otras alícuotas fueron incubadas con metil-β-ciclodextrina (MBCD, aceptor de colesterol): MnC+2.5 mM MBCD y MnC+2.5 mM MBCD+bicarbonato. La capacitación fue evaluada con la técnica de Clortetraciclina. La actividad tipo quimotripsina del proteasoma se midió usando el sustrato Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC. Los resultados indican que el patrón B y la actividad del proteasoma aumentan sólo en espermatozoides incubados en MC (p<0.05; N=11) y en MnC+BSA (p<0.05; N= 10); el patrón B y la actividad del proteasoma no aumentan en espermatozoides incubados en MnC y MnC+bicarbonato (p<0.05; N=10). Finalmente, la actividad del proteasoma en espermatozoides incubados en Mnc+MBCD fue más alta que en aquellos incubados en MnC, pero más baja que en MC o en MnC+BSA . Los resultados sugieren que la albúmina por sí sola permite la capacitación y el aumento de la actividad del proteasoma y que MBCD podría sustituirla durante la capacitación.

FONDECYT 1120056 y FONDECYT 1130341.

POSTERS

Sesión 2

Póster 1

CONGELACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO EN MEDIO CON ALGINATO (Sperm freezing atlantic salmon in medium with alginate)

Merino O¹, Valdebenito I², Figueroa E², Sánchez R¹, Risopatrón J¹.
¹Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Chile. ²Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica Temuco

La efectividad de la criopreservación del semen, depende de la composición del medio de congelación y protocolo utilizado. El medio de congelación puede ser enriquecido (calcio, yema huevo, proteínas) para mejorar la congelación en salmónidos. La adición de alginato de sodio al medio de congelación de semen de salmónidos no ha sido investigado. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del alginato de sodio en el medio de congelación sobre la motilidad de espermatozoides de *Salmo salar* (salmón del Atlántico) post-congelación. Para congelar el semen se utilizaron 2 protocolos: **I.** Medio congelación constituido por; diluyente Storfish® (1:2), suplementado con 1,3 M dimetilsulfóxido (DMSO), 0,3 M glucosa y 2% albúmina sérica de bovino (BSA), 10% (v/v) yema huevo y **II.** Medio utilizado en grupo I suplementado con 0,6% alginato de sodio. El semen fue envasado en pajuelas de 0,5 mL, las que fueron colocadas a 2 cm de vapor de nitrógeno líquido durante 10 minutos y posteriormente sumergidas en nitrógeno líquido. Después de 1 semana de almacenamiento, las pajuelas se descongelaron en baño termorregulado a 40 °C durante 10 segundos. Post- descongelación se evaluó la motilidad en microscopio de luz. No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) con respecto a la motilidad; $56,71 \pm 6,35\%$ (**C**) v/s $60,73 \pm 9,92\%$ (**T**). Los resultados preliminares demuestran que la adición de alginato de sodio al medio de congelación de espermatozoides de *Salmo salar* no tiene efecto sobre motilidad espermática post-descongelación.

FONDEF D10I1064, CONICYT.

Póster 2

LA DETECCIÓN Y LA FUNCIONALIDAD DEL RECEPTOR DE PROGESTERONA DE MEMBRANA (PRMGC1) AUMENTA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS. (Detection and function of membrane progesterone receptor C1 (PRMGC1) rise during capacitation in human sperm).

Milla K¹, Pozo P¹, Perez B¹, Martínez E¹, Morales P^{1,2}, Diaz E¹.
¹Laboratorio Biología de la Reproducción, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. ²Instituto Antofagasta.

Previamente, determinamos que existen sub-poblaciones de espermatozoides, que expresan el receptor PRMGC1 y que el espermatozoide no capacitado no es capaz reaccionar en respuesta a progesterona. Dado que el espermatozoide es una célula transcripcionalmente inactiva, debe tener todas las moléculas necesarias para llevar a cabo su tarea, incluyendo los receptores que inducen reacción del acrosoma. El Objetivo de este trabajo es: Determinar si la expresión y la actividad del PRMGC1 en espermatozoides humanos cambia durante la capacitación. Para ello, alícuotas de espermatozoides móviles, seleccionados por Percoll, no capacitados y capacitados durante 5 y 18 hrs fueron utilizadas para determinar: 1) el porcentaje del patrón B de capacitación por la técnica de clortetraciclina, 2) la detección del PRMGC1, por inmunofluorescencia, citometría de flujo y Western blot, 3) el estado acrosomal por la técnica de PSA-FITC 4) la capacidad del PRMGC1 unir a su ligando (progesterona) usando la sonda P-BSA-FITC. Resultados: El porcentaje de detección del PRMGC1 cambia a medida que el espermatozoide se capacita ($P < 0,01$ $N=8$), lo que se relaciona con el aumento en el porcentaje de espermatozoides reaccionados inducidos por progesterona. Por otra parte, se observa un aumento en el porcentaje de espermatozoides que unen progesterona durante la capacitación ($P < 0,01$ $n=8$). Teniendo en cuenta que en el espermatozoide los procesos de traducción y transcripción están inactivos, los resultados obtenidos sugieren que el cambio detectado en la activación del PRMGC1, durante la capacitación, podría adjudicarse a cambios conformacionales o variaciones en la distribución sub-celular de las proteínas detectadas en este trabajo.

FONDECYT 1130341 y FONDECYT 1120056.

Póster 3

FUNCIÓN DE LA ALBÚMINA, BICARBONATO Y PROTEÍNAS FOSFATASAS EN EL AUMENTO DE LA FOSFORILACIÓN EN RESIDUOS DE TREONINA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS. (Role of Albumin, Bicarbonate and Protein Phosphatases in the Increase of Protein Phosphorylation on Thr Residues During Capacitation of Human Sperm)

Mondaca N^{1,2}, Diaz E¹, Morales P^{1,2}, Signorelli J¹. ¹Laboratorio de Biología de la Reproducción. Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud. ²Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile.

El rol de BSA y bicarbonato sobre la fosforilación en Tyr durante la capacitación espermática está ampliamente estudiado; sin embargo, no hay información de su efecto sobre la fosforilación en residuos de Thr ni de la participación de proteínas fosfatasas (PPs) en este proceso. En este trabajo estudiamos el rol de BSA, bicarbonato y PPs sobre la fosforilación en residuos de Thr durante la capacitación espermática. Espermatozoides humanos, obtenidos por gradiente de Percoll, fueron incubados por distintos tiempos a 37 °C y 5% CO₂ en: 1) Medio No Capacitante (MnC, medio sin BSA ni bicarbonato); 2) Medio Capacitante (MC, medio con 2.6% BSA y 25 mM bicarbonato); 3) MnC+BSA; 4) MnC+BSA+inhibidores de PPs; 5) MnC+bicarbonato y 6) MnC+bicarbonato+inhibidores de PPs. La capacitación fue evaluada usando el ensayo de Clortetraciclina y el patrón de fosforilación mediante Western blot. Los resultados indican que el patrón B de capacitación (% de espermatozoides capacitados), aumenta sólo en espermatozoides incubados en MC (p<0.05; N=11) y en MnC+BSA (p<0.05; N=10). Con respecto al rol de las PPs, el patrón B aumenta en espermatozoides incubados con inhibidores de PP1 y PP2B pero no con inhibidores de PP2A. Además, BSA y bicarbonato por separado aumentan la fosforilación en residuos de Thr durante la capacitación. Lo mismo se observó con los inhibidores de PPs. Estos resultados sugieren que la albúmina permite la capacitación y la fosforilación en Thr y que bicarbonato es fundamental sólo para facilitar la fosforilación en Thr. Las fosfatasas PP1 y PP2B parecen tener un rol inhibitorio de la capacitación independiente de BSA y bicarbonato.

FONDECYT 1120056 y FONDECYT 1130341.

Póster 4

EL CATABOLISMO DE LÍPIDOS NEUTROS CONTENIDOS EN ADIPOSOMAS ES INDEPENDIENTE DE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS DE SERTOLI. (Catabolism of neutral lipids contained in adiposomes is independent of autophagy in Sertoli cells)

Montes de Oca M, Mancilla H, Covarrubias A, Cereceda K, Vander Stelt K, Angulo C, Slebe J, Concha I

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

La producción de ATP en células de Sertoli depende principalmente de β -oxidación de lípidos, los que pueden ser almacenados en adiposomas o gotas lipídicas intracelulares. Lipasas citosólicas poseen un rol clave en el catabolismo de lípidos neutros contenidos en adiposomas y se ha descrito que autofagia posee un rol parcial en este proceso en distintos tipos celulares, pero se desconoce si este mecanismo está presente en células de Sertoli. En este trabajo se evaluó el contenido relativo de ATP y ambos tamaño y número de adiposomas durante privación de nutrientes en células de Sertoli tratadas con 3-metiladenina y bafilomicina A-1, agentes químicos capaces de bloquear etapas tempranas y tardías de autofagia, respectivamente. El contenido relativo de ATP se determinó por luminiscencia mientras que el tamaño y número de adiposomas se estableció por análisis digital de imágenes de células teñidas con Oil red O. Se observó que tanto 3-metiladenina como bafilomicina A-1 no disminuyen el contenido relativo de ATP ni alteran ambos tamaño y número de adiposomas por célula. Mientras que el inhibidor de actividad colesterol esterasa, dietilumberiferil fosfato, aumenta el área de adiposomas de 0,7 a 2,2 μm^2 y en conjunto con 3-metiladenina disminuye el contenido de ATP en un 65%. Esto sugiere que la producción de ATP durante privación de nutrientes en células de Sertoli es independiente de autofagia de adiposomas.

FONDECYT 1110508 (IC), 1141033 (JCS)

Póster 6

KISSPEPTINA PARTICIPA EN LA DINÁMICA FOLICULAR DURANTE EL PERIODO FERTIL Y SUBFERTIL DE LA RATA. (Kisspeptin participates in the follicular dynamics during the period fertile and subfertile in rat.)

Na E, Fernandois D, Lara H, Paredes A.

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

Kisspeptina (KP) es un péptido que regula la actividad de las neuronas GnRH en el hipotálamo. A nivel ovárico, las células de granulosa y teca expresan KP, pero la función local del péptido es desconocida. Recientemente, hemos descrito que el sistema simpático (SNS) regula la expresión de KP en el ovario y que ambas, la actividad del SNS y KP aumentan durante el envejecimiento reproductivo, aumentando la formación de quistes y favoreciendo el cese de la función ovárica. El objetivo es determinar si un aumento de KP intraovárica participa en la regulación del desarrollo folicular durante el periodo de subfertilidad. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley de 6 (6m=fértil) y 10 (10m=subfértil) meses de edad tratadas durante 28 días con KP, (administrada en la bursa del ovario con minibomba osmótica ALZET). Se observó la ciclicidad estral durante el periodo de administración y se estudió la morfología ovárica. Los resultados muestran que KP no afecta el porcentaje de folículos antrales, pero si aumentan el porcentaje de los cuerpos lúteos (6m, 30%: $p<0,01$; 10m, 94%: $p<0,05$) comparado con el control y aumenta el número de ciclos estrales al doble en ratas subfértiles (10m). La administración de KP no afecta el porcentaje de quistes (6m), folículos luteinizados (10m) y estructuras prequísticas (10m). Sin embargo, KP disminuye el tamaño de los folículos luteinizados (6m, 10%: $p<0,01$; 10m, 10%: $p<0,05$) y estructuras prequísticas (6m, 10%: $p<0,01$; 10m, 6,1%: $p<0,05$). Estos resultados sugieren que KP participa en la dinámica folicular, favoreciendo la formación y/o mantención de cuerpos lúteos durante la etapa fértil y subfértil de la rata.

FONDECYT 1120147.

Póster 7

EL MEDIO CONDICIONADO DE CÉLULAS DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO MODULA LA ANGIOGÉNESIS *IN VITRO* INDUCIDA POR GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (hCG). (The conditioned media from human endometrial stromal cells modulates the chorionic gonadotrophin-induced angiogenesis in vitro.)

Nazir I¹, Argandoña F¹, Tapia-Pizarro A¹.

¹Laboratorio Endocrinología Molecular Reproductiva, Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La función principal del endometrio es proveer un sustrato adecuado para la implantación del embrión y la placentación. Durante este proceso, los vasos sanguíneos del lecho vascular endometrial se incrementan como resultado de una extensiva angiogénesis. Una de las hormonas secretadas tempranamente por el embrión es la hCG, la cual posee un efecto pro-angiogénico directo sobre las células endoteliales. Se especula que esta hormona también sería responsable de la angiogénesis uterina durante la implantación del embrión. El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto modulador de células de estroma endometrial humano (ESC) sobre el efecto angiogénico directo de hCG sobre las células endoteliales. Para esto se preparó medios condicionados de cultivos primarios de ESC (MCs), las cuales fueron estimuladas con hCG (10 UI/mL) o vehículo. Estos MCs fueron incubados en combinación con hCG (10 IU/mL) y (100UI/mL), VEGF o vehículo para evaluar su potencial angiogénico utilizando un modelo de angiogénesis *in vitro* tridimensional. Para ello se utilizó la línea celular derivada de endotelio EA.hy926, adheridas a esferas de polímero incubadas con los MC evaluando número de brotes, ramificaciones, formación de lumen y anastomosis. Los resultados muestran que los MCs de ESC disminuyen aproximadamente (de un 100% a un 8%) la angiogénesis inducida por hCG (n=3, P<0.05) y que este efecto es específico para ESC ya que no se observa con medios condicionados de células no endometriales. Estos resultados sugieren que el proceso de angiogénesis endometrial es modulado por el propio ambiente endometrial, lo cual tendría implicancias directas sobre el éxito de la implantación embrionaria y placentación.

Póster 8

EXPRESIÓN DEL REGULADOR DE LA TRANSICIÓN EPITELIO-MESENQUIMA ZEB1 EN MUESTRAS DE CÁNCER PROSTÁTICO DE DIFERENTE GRADO DE MALIGNIDAD (Expression of the epithelial-mesenchymal transition regulator ZEB1 on prostate cancer samples with different degrees of malignancy)

Orellana O., Farfán N, Castellón E, Contreras H. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

Recientemente se ha reportado que la activación anormal del proceso embrionario de transición epitelio-mesénquima (TEM) durante el desarrollo tumoral sería clave para la diseminación e invasión del tumor a otros tejidos. Este programa de TEM estaría controlado por la expresión de distintos factores de transcripción, uno de los cuales sería ZEB1. El desarrollo y avance del cáncer de próstata (CaP) presenta diferentes estados de organización epitelial que podrían estar asociados a diferentes estados del avance de la TEM. En este contexto, no se ha relacionado la expresión de ZEB1 y malignización tumoral o malignización en el CaP. En el presente trabajo nos proponemos estudiar la expresión y localización de ZEB1 por medio de Inmunohistoquímica en muestras de cáncer prostático a distintos estados de progresión de la enfermedad (gleason bajo y alto). Nuestros resultados muestran que la expresión de ZEB1 comenzaría en etapas tempranas de la enfermedad (gleason bajo) y continuaría hasta etapas avanzadas de esta (gleason alto), expresándose fuertemente en los núcleos de las células estromales tumorales. ZEB1 también se expresa fuertemente en epitelios que han perdido su organización normal monoestratificada. No existe nula o escasa expresión en epitelios que mantienen su organización normal. La heterogenidad del CaP, permite evidenciar diferentes niveles de expresión de ZEB1 para el mismo paciente. Además se observó en epitelios desorganizados una deslocalización de ZEB1, detectándose en el núcleo y citoplasma. Los resultados de este trabajo muestran que ZEB1 aparecería tempranamente en el proceso de malignización del cáncer prostático, pudiendo ser un inductor temprano del programa de TEM.

FONDECYT 1110269 (HRC) NF: becaria doctorado, CONICYT

CUANTIFICACIÓN DE COPIAS DEL GEN DAZ DEL CROMOSOMA-Y EN SUJETOS CON FALLA ESPERMATOGÉNICA PRIMARIA CON O SIN DELECCIONES PARCIALES DE LA REGIÓN AZFc. (*Quantitation of DAZ gene copies of the Y chromosome in subjects with primary spermatogenic failure with or without AZFc subdeletions*)

Ortega V ^{1*}, Lardone M ¹, Flórez M ¹, Piottante A ², Valdevenito R ³, Ebensperger M ^{1,4} Castro A ¹. ¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. ³Hospital Clínico José Joaquín Aguirre, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁴Hospital Clínico San Borja Arriarán. *Tesis de Magister en Genética de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las microdeleciones del cromosoma-Y que incluyen la región AZFc son causa importante de defectos espermatogénicos primarios. AZFc comprende varios genes, entre ellos 4 copias *DAZ* organizadas en *clusters* (*DAZ1/DAZ2-DAZ3/DAZ4*) que codifican proteínas que participan en el control post-transcripcional. Tal organización conduce a arreglos cromosómicos que generan deleciones parciales (DPar) y/o duplicaciones (Dup), que involucran pérdida o ganancia de copias *DAZ* respectivamente. Si bien, en Europa y Asia las DPar (pérdida de 1 *cluster*) representan un factor de riesgo de infertilidad, en América esto no se ha observado. Por lo tanto, proponemos que la ganancia de copias *DAZ* compensa la pérdida debida a DPar y repercuten positivamente sobre la espermatogénesis. Nuestro objetivo fue establecer el número de copias *DAZ* en sujetos con y sin DPar, con Síndrome de sólo células de Sertoli (n=99) respecto de controles con espermatogénesis normal (n=126). Las DPar se determinaron con marcadores STS/SNVs mediante PCR y restricción enzimática. La cuantificación de *DAZ* se realizó mediante qPCR-curva estándar. La frecuencia de DPar fue de 5,05% en casos (2 *gr/gr* y 3 *b2/b3*) y 3,17% en controles (2 *gr/gr*, 1 *b2/b3* en azoospermicos obstructivos y 1 *b2/b3* en normozoospermicos). La prevalencia de Dup en casos fue 4,04% (1 de 5 con DPar-*gr/gr*) y 3,17% en controles (1 normozoospermico y 3 obstructivos). La prevalencia de DPar y/o Dup entre casos y controles fue similar ($P>0,05$, χ^2). Concluimos que el desbalance de copias *DAZ* no es un factor protector o de riesgo de falla espermatogénica severa en nuestra población.

FONDECYT-1120176.

Póster 10

EFFECTO DEL FACTOR TRANSCRIPCIONAL SNAIL1 SOBRE LAS PROPIEDADES PROLIFERATIVAS, MIGRATORIAS E INVASIVAS EN LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO LNCaP Y PC3

(Effect of the transcription factor SNAIL1 on the proliferative, migratory and invasive properties of prostate cancer cell lines LNCaP and PC3)

Osorio L, Farfán N, Castellón E, Contreras H. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En Chile la incidencia y mortalidad del cáncer de próstata (CaP) está aumentando, llegando a ser la segunda causa de muerte por cáncer en hombres. Durante la progresión tumoral las células epiteliales disminuyen moléculas de adhesión, entre otras características, y aumentan sus capacidades migratorias e invasivas. Esto se debe a la Transición Epitelio-Mesénquima (TEM) que se caracteriza por el aumento de factores transcripcionales como SNAIL1, que reprime genes característicos de un fenotipo epitelial, como E-cadherina, y aumenta indirectamente la expresión de genes mesenquimales. Se propone que SNAIL1 disminuye la proliferación y aumenta la migración e invasión en líneas celulares de CaP. Se utilizaron células LNCaP y PC3 con expresión ectópica y silenciamiento de SNAIL1 mediante el uso de vectores lentivirales. Se caracterizó la expresión de marcadores de TEM mediante qPCR y western blot. Además, se analizó la viabilidad (MTS), proliferación (PCNA y Ki-67), migración e invasión a través de placas específicas con poros de 8 μ m. Complementariamente se determinó la apoptosis (actividad de las caspasas 3 y 7). Los resultados indican que la proliferación y sobrevida disminuyen en ambas líneas celulares con sobreexpresión y silenciamiento de SNAIL1. Sin embargo, la sobreexpresión de SNAIL1 disminuye la apoptosis respecto a las células con silenciamiento, en las cuales aumenta. La migración e invasión aumentó sólo en las células con sobreexpresión de SNAIL1 y disminuyeron en las células con silenciamiento. En conclusión, células de CaP con sobreexpresión de SNAIL1 exhibieron características fenotípicas tipo TEM, mientras que el silenciamiento condujo a un fenotipo tipo epitelial.

FONDECYT N°1110269 (HRC), LO y NF: becados de doctorado, CONICYT

Póster 11

EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE ENZIMAS LISOSOMALES DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO DEL PEZ *Seriola lalandi*

(Expression and activity of lysosomal enzymes during early embryo development of yellow-tail Kingfish *Seriola lalandi*)

Palomino J^{1,2}, Herrera G^{1,2}, Dettleff P², Martínez V².

¹Laboratorio de Reproducción Animal y ²Laboratorio FAVET-INBIOGEN, Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

El procesamiento de las proteínas del vitelo es crucial para la hidratación del ovocito y disponibilidad de nutrientes para el embrión en desarrollo en peces pelágicos. Las enzimas involucradas en este proceso proteolítico son las catepsinas, las cuales presentan patrones de expresión y actividad especie-específicos. *Seriola lalandi* es un pez marino de importancia comercial, del cual se desconocen estas características. En este trabajo se evaluó la expresión y actividad enzimática de las catepsinas B, D y L durante el desarrollo embrionario de esta especie. Se analizaron huevos, embriones de 4 y 16 células, blástulas y embriones de 24 y 48 horas post-fecundación. La expresión se evaluó mediante RT-qPCR y la actividad por espectrofotometría utilizando sustratos específicos. Para las tres catepsinas, la mayor expresión se observó en los primeros estadios, disminuyendo en forma brusca y significativa durante la blastulación. En estadios posteriores se observó un aumento en la expresión de las catepsinas D y L. La mayor actividad para las tres enzimas se presentó en huevos recién fecundados. Sin embargo, en este estadio, la actividad de catepsina B fue menor a la observada en las catepsinas D y L. La actividad enzimática se mantuvo con altos valores hasta el estadio de blástula, disminuyendo significativamente después de 24 horas post-fecundación. Estos resultados concuerdan con la función de estas proteasas en generar las condiciones osmóticas para la hidratación del ovocito y proveer al embrión de energía durante su periodo de alimentación endógena, a través de aminoácidos libres generados de la proteólisis del vitelo.

FONDECYT Postdoctorado 3120211 y FIC-ATACAMA N° 121017019102035.

Poster 12

CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE NORADRENALINA Y EL RECEPTOR BETA-ADRENÉRGICO INTRAOVÁRICA Y SU RELACIÓN CON LA FUNCIÓN OVÁRICA EN MUJERES PERIMENOPÁUSICAS.

(Changes in both norepinephrine and beta-adrenergic receptor intraovarian content and its relationship with ovarian function in perimenopausal women)

Paredes A ¹, Urra J ¹, Greiner M ¹, Echiburú B ², Miranda C ³, Sir-Petermann T ² and Lara H ¹

¹Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. ²Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Sede Occidente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ³Depto. Obstetricia y Ginecología, Hospital Clínico Universidad de Chile

Durante el envejecimiento reproductivo, aumenta la densidad de los nervios simpáticos del ovario humano al igual como lo hace en pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP). Podría existir una correlación entre la edad, la infertilidad dada por el SOP y la activación del sistema nervioso simpático. Estudiamos la relación entre la edad y la actividad nerviosa ovárica. Para ello, determinamos el contenido de noradrenalina (NA) ovárica y plasmática (por HPLC-EC), el mRNA de los receptores β -adrenérgicos (PCR en tiempo real) y la cantidad de receptor β (ensayos de radioligando). Los niveles de hormonas esteroidales plasmáticas fueron determinados por RIA en pacientes de edades entre 24-54 años de edad ingresadas a cirugía por patologías endocrinas no-ováricas y que consintieron a donar una biopsia de ovario. La NA plasmática no cambió entre los distintos rangos de edad. La NA intraovárica sin embargo, mostró un aumento significativo (3 veces) durante la etapa perimenopáusica. Detectamos además, una disminución de un 80% en el contenido intraovárico de mRNA de receptor β -adrenérgico en la etapa perimenopáusica, sin afectar la cantidad del receptor β -adrenérgico durante todos los periodos estudiados. Los niveles de hormonas esteroidales disminuyeron (50%) en mujeres perimenopáusicas. El aumento de NA en mujeres mayores de 44 años indujo un down-regulation del receptor beta-adrenérgico, que podría estar asociado con la disminución en la producción de hormonas esteroidales.. En conclusión, el aumento de NA que aparece en la etapa perimenopausica es un proceso gradual que se desarrolla durante el envejecimiento reproductivo y puede estar asociado al cese de la función ovárica. Fondecyt: **1110864**.

Póster 13

LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) INDUCIDA POR FIBRONECTINA (Fn) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS ES MEDIADA POR EL SISTEMA PROTEÍNA G- α_s ($G\alpha_s$)/ADENILIL CICLASA DE MEMBRANA (ACm)/AMPc/PKA (Acrosome reaction in human sperm fibronectin-induced, is mediated by the system G α_s protein/ACm/cAMP/PKA)

Pérez B ¹, Morales P ², Díaz E ¹. ¹Laboratorio Biología de la Reproducción y Desarrollo, Depto. Biomédico, Facultad Ciencias de la Salud, ²Instituto Antofagasta. Universidad de Antofagasta.

Previamente, demostramos que la Fn induce la RA de forma específica y dosis dependiente a través de la integrina $\alpha 5\beta 1$, y que su efecto es mediado por el sistema ACm/AMPc/PKA. El objetivo de este trabajo es demostrar la presencia y participación de la proteína $G\alpha_s$ en la RA inducida por Fn, y su efecto sobre el sistema ACm/AMPc/PKA. Para ello, espermatozoides móviles, seleccionados por Percoll, fueron capacitados durante 5 hr. Unas alícuotas fueron fijadas y permeabilizadas para determinar presencia y distribución de proteína $G\alpha_s$, a través de inmunofluorescencia. Otras alícuotas, en los últimos 30 min de capacitación, fueron pre-incubadas en presencia o ausencia de un inhibidor de proteína $G\alpha_s$ (NF449 1 μ M). Luego de 15 min se agregó Fn (100 μ g/ml). Estas alícuotas se utilizaron para determinar el porcentaje de RA (PSA-FITC/Hoechst 33258), niveles de AMPc (kit comercial), y grado de fosforilación de proteínas sustrato de PKA (Western blot). Los resultados demuestran que la proteína $G\alpha_s$ se ubica en la región acrosomal y post-acrosomal del espermatozoide humano. En presencia del inhibidor de proteína G, el efecto inductor de Fn sobre: 1) la RA (Control: 5 $\pm$ 0,8%; Fn: 13 $\pm$ 1,5%; NF449: 5 $\pm$ 0,8%; Fn+NF449= 5,5 $\pm$ 0,5%); 2) los niveles totales de AMPc y 3) el grado de fosforilación de proteínas sustrato de PKA, se ven disminuidos (n=6, P<0,001). Estos resultados sugirieron que la interacción Fn-integrina $\alpha 5\beta 1$ induce la RA modulando la activación de la proteína $G\alpha_s$, y ésta al sistema ACm/AMPc/PKA.

FONDECYT 1130341 y 1120056; Becario CONICYT

CONCENTRACIÓN DE ANDROSTENEDIOL EN ENDOMETRIO DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS) Y SU EFECTO EN LOS NIVELES DE CICLINA D1, P27 Y P-AKT EN CÉLULAS ENDOMETRIALES HUMANAS

(Androstenediol concentration in endometria of women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and its effect on cyclin D1, p27 and p-Akt levels in human endometrial cells)

Plaza-Parrochia F¹, Poblete C¹, Carvajal R², Romero C^{1,2}, Valladares L³, Vega M^{1,2}. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, ²Dpto. Obstetricia/Ginecología, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, ³INTA, Universidad de Chile.

El endometrio de mujeres con PCOS (PCOSE) tiene incrementado los procesos proliferativos, los cuales son activados por estrógenos. En PCOSE se han descrito modificaciones en la metabolización intracelular de esteroides, que favorecería la síntesis de moléculas con actividad estrogénica, como androstenediol. La progresión del ciclo celular es regulada por ciclina D1 y p27, que están alteradas en PCOSE, las que pueden ser moduladas por la vía de PI3K-Akt. En el presente estudio se evaluó la concentración de androstenediol en el tejido endometrial de mujeres con PCOS. Además, se determinó si concentraciones elevadas del esteroide modifican los niveles de ciclina D1, p27 y la fosforilación de Akt (p-Akt) en células endometriales humanas. En PCOSE y controles se evaluó las concentraciones de androstenediol por ELISA competitivo. Células de la línea T-HESC fueron estimuladas con androstenediol (100 nM) por 48 horas y los niveles proteicos de ciclina D1, p27 y p-Akt evaluados por western blot. La concentración de androstenediol en PCOSE es mayor que en controles (~150%, p=0,002). Las células estimuladas con androstenediol presentan mayores niveles de ciclina D1 (~20%, p=0,01), menores niveles de p27 (~10%, p=0,04) y mayores niveles de p-Akt (p=0,004), al compararlos con la condición basal. Los resultados indican que androstenediol está en altas concentraciones en el tejido PCOSE. Además, en células endometriales, este esteroide induce modificaciones en el contenido de reguladores de ciclo celular los que probablemente son modulados por la vía de PI3K-Akt. Esto podría favorecer la proliferación celular en el tejido endometrial de mujeres con PCOS.

FONDECYT #1095127; 1130053 (MV) y #1100299 (LV). Beca de Apoyo de Tesis Doctoral CONICYT #24121153 (FP-P). Beca CONICYT Doctorado Nacional # 21100275 (FP-P)

IMPACTO DEL COLESTEROL HDL EN LA BIOLOGÍA DEL OVOCITO
(Impact of HDL cholesterol metabolism in oocyte biology)

Quiroz A, Mendoza C, Cautivo K, Rigotti A, Busso D. Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) transportan el colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado, donde es captado por el receptor Scavenger Clase B Tipo I (SR-BI) para su excreción en la bilis. Los ratones knock out para SR-BI (SR-BI KO) presentan niveles elevados de colesterol HDL e infertilidad femenina. Los ovocitos SR-BI KO ovulados presentan acumulación de colesterol, activación espontánea de la meiosis y una mayor labilidad comparados con ovocitos silvestres. Interesantemente, las HDL son las lipoproteínas más abundantes del fluido folicular (FF). En este trabajo nos propusimos: 1) analizar la dinámica de acumulación de colesterol en ovocitos SR-BI KO durante la foliculogénesis ovárica, 2) caracterizar la expresión y presencia de diferentes proteínas involucradas en el metabolismo de colesterol HDL en el ovario. Crio secciones de ovarios SR-BI KO y controles fueron incubados con filipina, agente fluorescente marcador de colesterol, y se cuantificó la fluorescencia en ovocitos de folículos en diferentes estadios. Los niveles de fluorescencia en los ovocitos SR-BI KO fueron significativamente mayores en folículos antrales tempranos, tardíos y preovulatorios ($p < 0.001$, Anova), indicando una asociación entre la formación del antro folicular y la acumulación del colesterol en los ovocitos. Por otra parte, detectamos ABCA1, ABCG1 y APOA1 (y no de ABCG5, ABCG8 o ApoE) a nivel de mRNA y proteína en el ovario, demostrando la existencia de una maquinaria de transporte de colesterol ovárica. Estos resultados sugieren que el transporte de colesterol HDL entre el FF y los ovocitos tendría implicancias para la fertilidad femenina.

FONDECYT n° 1141236 (D.B.)

Póster 16

PAPEL DE LA EXPOSICIÓN PRENATAL A CONTAMINANTES AMBIENTALES Y OBESIDAD MATERNA SOBRE LA PROGRAMACIÓN FETAL DE ENFERMEDADES CRÓNICAS EN RATONES (Effect of prenatal exposure to environmental pollutants and maternal obesity on fetal programming of chronic disease in mice)

Salas-Pérez F¹, Berkowitz L¹, Cautivo K¹, Rigotti A¹, Moreno R², Busso D¹. ¹Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Facultad de Medicina. ²Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

La exposición intrauterina a condiciones ambientales adversas puede "programar" al feto impactando la salud de la descendencia. Nuestro objetivo fue evaluar si la exposición a contaminantes ambientales denominados disruptores endocrinos (DE) y a obesidad materna, por separado o en conjunto, alteraban el metabolismo de la descendencia. Ratonas C57BL/6J preñadas normopeso u obesas (por inducción dietética) fueron inyectadas diariamente desde el día gestacional 7(E7) a E15 una mezcla de DE presentes en plásticos de uso común; [DEHP+DPP+BBP(300mg/Kg/día)+4-nonilfenol+4-ter-Octilfenol(50mg/Kg/día)] en dosis completa y en diluciones 1/2 y 1/10 vía i.p usando como vehículo aceite de sésamo. Se analizó la toxicidad de las mezclas, se registró peso materno, tamaño de camada, peso corporal y parámetros metabólicos en las crías a los 90 y 120 días de edad. Los DE en dosis completa y en dilución 1/2 provocaron acortamiento de la gestación, disminución del tamaño de camada y muerte prematura de crías. En la dosis 1/10 no se observó toxicidad obteniéndose camadas de tamaño normal. Machos de 90 y 120 días expuestos a DE 1/10 presentaron un test de tolerancia a la glucosa (TTG) alterado y mayores niveles de colesterol plasmático, sin observarse estos cambios en las hembras. En las crías macho de madres obesas se observó un TTG alterado y un menor peso hepático. No se observaron efectos aditivos por la exposición a DE y obesidad materna en los parámetros estudiados. En conjunto, estos resultados indican la inducción género-específica de alteraciones metabólicas por la exposición materna a una mezcla de DE o a obesidad materna.

FONDECYT n° 1141236 (D.B.), 1110712 (A.R.) y 111078 (R.M.). Beca CONICYT n° 21120903 (F.S.)

Póster 17

EXPRESIÓN DE BMP-15 EN OVOCITOS DE PERRA PROVENIENTES DE FOLÍCULOS PREANTRALES EN DIFERENTES ESTADOS DE DESARROLLO (Expression of BMP-15 in dog oocytes from preantral follicles during different stages of development)

Ramirez F, Palomino J, De los Reyes M.

Laboratorio de Reproducción Animal. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. Santiago, Chile

La proteína morfogénica ósea 15 (BMP-15) es un miembro de la familia de los factores de transformación- β (TGF- β) y ha sido identificada como un factor regulador clave del desarrollo del ovocito en muchas especies con un aporte diferencial durante el crecimiento. El propósito de este trabajo fue evaluar la expresión del BMP-15 en los ovocitos caninos de diferentes tamaños, provenientes de folículos preantrales. Los ovarios se obtuvieron de 4 perras en diestro y anestro, seleccionando a través de lupa estereoscópica los ovocitos desde folículos que aún no habían desarrollado antro. Los ovocitos se midieron con un ocular cuadrado en el microscopio y posteriormente fueron fijados y procesados para inmunofluorescencia indirecta utilizando el anticuerpo monoclonal AF2925 anti- BMP-15 humano (dilución 1/100), el cual en trabajos previos ha demostrado reacción cruzada con la proteína de perro. Los rangos de fluorescencia emitidos de acuerdo al análisis de pixels se clasificó en alta, mediana y baja. Los resultados mostraron tamaños de ovocitos de 60 a 130 μm desde folículos preantrales con niveles de emisión de fluorescencia media a baja, no se encontró alta emisión indicativo de una mayor expresión de la proteína. Todos los ovocitos < 80 μm mostraron baja expresión de BMP-15, mientras que aquellos > 80 μm tuvieron una expresión media. Se concluye que los ovocitos de mayor desarrollo dentro de la población folicular preantral podrían expresar más la proteína que los ovocitos en el inicio del desarrollo, pero alcanzando sólo niveles medios de expresión antes de formar antro. Lo que requiere ser confirmado con mayores análisis.

FONDECYT 1140658.

Póster 18

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE METABOLITOS DE ESTRÓGENOS EN CUERPO LÚTEO DE DIFERENTES EDADES Y SU EFECTO SOBRE LA ANGIOGÉNESIS. (Determination of estrogen metabolites in corpus luteum and their effect on angiogenesis).

Retamales R, Henríquez S, Kohen P, Strauss J, Devoto L.

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

El rol de los metabolitos del estradiol (ME) en el cuerpo lúteo (CL) no ha sido bien establecido, pero podrían estar involucrados en la formación y luteólisis del CL. Durante un ciclo menstrual normal, el proceso de formación del CL va acompañado de angiogénesis durante las fases lúteas inicial e intermedia, la reducción de este Potencial Angiogénico (PA) en CL tardío disminuiría su funcionalidad desencadenando la luteólisis. Determinar los niveles de ME en CLs de diferentes edades y su función sobre el PA y la producción de VEGF. Los CLs se obtuvieron por mini-laparotomía de procesos ginecológicos benignos; ME se determinaron por cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masa; PA se evaluó por ensayos de angiogénesis *in vitro*; y el VEGF por ELISA, desde medios condicionados de cultivo primario de células de la granulosa luteinizadas de pacientes del programa de FIV. Nuestros resultados muestran diferentes niveles de ME en CL humano de metoxi-estrógenos, catecolestrógenos y 16-ketoestrógenos. Se destacan aumentos de 16-ketoestradiol en fase lútea inicial, 4-OHE1 en fase lútea intermedia y 2-ME1 en fase lútea tardía. En cultivo primario de CGs luteinizadas 2-ME1 inhibió parcialmente el PA incrementado por hCG y la secreción de VEGF, por otro lado, 4-OHE1 y el 16-ketoestradiol aumentaron el PA y la secreción de VEGF, sugiriendo la participación de ME en el proceso de formación y regresión del CL, donde 4-OHE1 y 16 keto-E2 actúan como pro-angiogénico en fase lútea inicial y media, mientras que 2-ME1 tendría propiedades antiangiogénicas, al aumentar en la fase tardía.

FONDECYT REGULAR 1140693

EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN PRENATAL A TESTOSTERONA EN LA CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN OVINOS.

Sandoval D ¹, Carrasco A ¹, Recabarren M ¹, Rojas-García P ¹, Sir-Petermann T ², Recabarren S ¹. ¹Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal (FISENLAB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán. ²Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

En el modelo ovino de reprogramación fetal, por concentración anormal de esteroides, se ha observado que las hembras nacidas de madres tratadas con T, presentan un menor peso al nacimiento que aquellas nacidas de madres control, fenómeno que no tiene su correlato en machos. Este menor peso al nacimiento, es un factor de riesgo que se asocia con la presentación de RI. Considerando que aproximadamente el 40% del peso corporal corresponde al músculo esquelético, tejido altamente demandante de glucosa en respuesta directa a insulina. Por ende, modificaciones en la homeostasis glucosídica, mediada por el efecto disruptor de la T, alteraría el desarrollo normal de este tejido. El propósito del presente estudio, fue evaluar la ontogenia del efecto reprogramador de la T en las características del músculo esquelético en ovinos. Para ello, se evaluó el peso corporal en fetos (120 días de gestación) machos-C (n=10) y hembras-C (n=8); machos-T (n=5) y hembras-T (n=8). Igualmente en animales peripuberales (24-26 semanas edad) machos-C (n=9) y hembras-C (n=8); machos-T (n=9) y hembras-T (n=5). Complementariamente, se determinó el área de sección transversal (CSA) de las fibras musculares del *gluteus superficialis*. Los resultados de los pesos corporales y CSA en fetos de ambos sexos control y T, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$). De igual manera, el peso corporal en animales peripuberales no presentó variaciones significativas. Sin embargo, la determinación de la CSA en esta edad, indicó que las hembras-T presentan un menor tamaño de sus fibras musculares en comparación con machos-T ($P<0.05$) y hembras-C. Estos resultados permiten concluir, que el efecto reprogramador de la T tiene un impacto negativo en el tamaño de las fibras musculares en hembras, lo que es posible observar en la etapa adulta, pero que a su vez no se relaciona con el peso corporal. FONDECYT 1090031 y FISENLAB.

REPROGRAMACIÓN FETAL: ALTERACIÓN DE PARÁMETROS TESTICULARES EN MACHOS PREPÚBERES NACIDOS DE MADRES EXPUESTAS A TESTOSTERONA DURANTE LA PREÑEZ. (Fetal programming: Alteration of testicular parameters in prepubertal males born to mothers exposed to testosterone during pregnancy.)

Silva P¹, Puentes P¹, Rojas-García P¹, Sandoval D¹, Carrasco A¹, Recabarren M¹, Sir-Petermann T², Recabarren S¹.

¹Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal (FISENLAB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán. ²Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

La exposición prenatal a un exceso de testosterona en ovinos reprograma el eje reproductivo de los machos. A nivel testicular, hemos observado que machos adultos presentan mayor número de células de Sertoli y menor concentración de espermatozoides en el eyaculado. Esta discrepancia entre número de células de Sertoli y menor concentración de espermios, es una incógnita cuya ontogenia y mecanismos se desconocen. El objetivo fue determinar si las alteraciones observadas en machos adultos se manifiestan en machos prepúberes. El diámetro de los túbulos seminíferos (TS), la altura del epitelio y el área de TS fue menor en machos-T que en machos-C ($P<0,05$). El número de espermatogonias fue igual, pero el número de espermatocitos primarios y espermatidas redondeadas fue menor en machos-T ($P<0,05$), mientras que el número de células de Sertoli fue mayor en machos T ($P<0,05$). La expresión del ARNm de FSHR fue similar en ambos grupos, mientras que la del AR fue menor ($P<0,05$) y la de AMHR-II fue menor ($P<0,05$) en machos-T. Los niveles de la proteína FSHR fue igual en ambos grupos pero el del AR fue menor ($P<0,05$) y de la AMHR-II fue menor ($P<0,05$). Los resultados sugieren que las alteraciones en el número de espermios y células de Sertoli ya están presentes antes de la pubertad.

FONDECYT 1090031 y FISENLAB.

Póster 21

MECANISMOS MOLECULARES INVOLUCRADOS EN LA REACCIÓN ACROSOMAL INDUCIDA POR ATP, ZONA PELÚCIDA Y PROGESTERONA EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN (Molecular mechanisms involved in acrosome reaction induced by ATP, zona pellucid and progesterone in mice sperm).

Torres-Fuentes J¹, Treviño C², Darszon A², Moreno R¹. ¹Unidad de Reproducción y Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.²Consortio de la Fisiología del espermatozoide, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Se conoce como reacción del acrosoma al mecanismo final de la capacitación que involucra la fusión de las membranas acrosomal externa y plasmática. Este fenómeno, es crucial para la fecundación; el momento y estímulo que lo gatilla, está en controversia. Se sabe que estímulos como la zona pelúcida (ZP) o la progesterona (P_4), pueden inducir reacción acrosomal en espermatozoides de ratón, pero las vías de señalización que gobiernan este proceso aún no han sido dilucidados. El objetivo de este trabajo fue describir las posibles vías de señalización que estimulan a los canales de pannexina en respuesta a ZP, P_4 y ATP, en el espermatozoide de ratón. Para esto se capacitaron espermatozoides de ratón y se adicionaron diferentes bloqueadores o activadores de receptores y vías de señalización relacionadas con ATP, P_4 o ZP. La reacción del acrosoma se cuantificó con azul de coomassie. Estudios en célula única se realizaron utilizando sondas como Fluo-3 AM y Bromuro de etidio. Los resultados muestran participación de receptores de ATP del tipo P2, fundamentalmente $P2X_7$ y $P2X_2$, lo que lleva a un aumento en el calcio intracelular. Además, encontramos que la P_4 y ZP activan a la adenilato ciclasa de membrana, PKA y el transportador SHNE. Estas vías confluyen regulando la actividad de hemicanales de Panx y modulación de los aumentos de Ca^{2+} citoplasmático. Estos resultados muestran a nueva vía de señalización intracelular en el espermatozoide de ratón.

FONDECYT 1110778, Beca DOCTORAL año académico 2013, CONICYT. Apoyo a estadias de Cotutela o Estancia en el extranjero convocatoria 2013.

N-ACETILCISTEÍNA PROTEGE AL ADN DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS DEL DAÑO OXIDATIVO INDUCIDO POR LA PRODUCCIÓN ENDÓGENA *IN VITRO* DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO (N-acetylcysteine protects the human sperm dna from oxidative damage induced by the endogenous production in vitro of reactive oxygen species)

Treulen F^{1,3}, Uribe P^{1,3}, Boguen R^{1,3}, Villegas J^{1,2}. ¹Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, ³Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

El estrés oxidativo es consecuencia de un desbalance entre la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) y la capacidad antioxidante del cuerpo, siendo actualmente identificado como una de las principales causas de infertilidad masculina. A pesar de que los antioxidantes han sido utilizados en el tratamiento médico de infertilidad masculina, sus efectos han sido contradictorios. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de N-acetilcisteína (NAC) sobre la producción endógena de EROs y la fragmentación del DNA en espermatozoides humanos. Para inducir la producción endógena de EROs, espermatozoides humanos seleccionados a una concentración de $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ fueron expuestos a $1\mu\text{M}$ de ionomicina por 2 horas a 37°C . Para evaluar el efecto de NAC, los espermatozoides fueron incubados con 10 y 20mM de NAC en presencia y ausencia de ionomicina. Como control se utilizaron espermatozoides sin tratamiento. La producción de EROs y la fragmentación del DNA espermático fueron analizadas a la 1 y 2 horas de incubación. La producción de EROs intracelular fue evaluada con la tinción DHE/SYTOX y la fragmentación del DNA se evaluó con la técnica de TUNEL, ambas por citometría de flujo. Los resultados muestran que NAC disminuyó tanto el nivel de EROs endógeno como el porcentaje de células con el DNA fragmentado. En conclusión, este estudio refuerza la utilidad del antioxidante N-acetilcisteína en el tratamiento de la infertilidad masculina causada por estrés oxidativo.

Proyectos DI12-0102, Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera (JV) y Beca Gastos Operacionales CONICYT 2012 (FT: Becario Doctorado CONICYT).

Póster 23

DETERMINACIÓN DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN POR TUNEL EN BLÁSTULAS *IN VITRO* DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) OBTENIDAS DE OVOCITOS ALMACENADOS A 4°C.

(Determination of DNA fragmentation by TUNEL for *in vitro* blastulas of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) obtained from stored oocytes at 4°C).

Ubilla A^{1,3}, Arias M¹, Valdebenito I³, Risopatrón J^{1,2}. ¹Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Depto. Ciencias Básicas. Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, ³Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco.

El almacenamiento de ovocitos *in vitro* conlleva a una sobremadurez de las células originando una pérdida en su calidad. No existe en literatura antecedente de la evaluación de la integridad del ADN en embriones de salmónidos. El objetivo de este estudio fue aplicar el test de TUNEL en blástulas obtenidas de ovocitos almacenados a 4°C de trucha arcoíris. Las blástulas fueron originadas por Fecundación *in vitro* (FIV) con ovocitos almacenados durante 0 (control), 48 y 96h a 4°C. Para evaluar la integridad del ADN se utilizó el test de TUNEL el cual fue modificado para esta especie. Inicialmente se permeabilizó (parcialmente) con Tritón X-100 en PBS-BSA e incubó con PI (2,4mM) y Hoechst 33342 (5mM), se fijó en paraformaldehído-PBS (2%) y se permeabilizó con Tritón X-100. Finalmente se incubó en mix de reacción utilizando el kit a 37°C, en oscuridad por 2h, montadas en PBS-Glicerol (9:1) y analizadas en microscopio de Epifluorescencia con el programa NIS-Element AR. El control positivo se realizó con 50U de ADNsa I y el negativo en ausencia de la enzima terminal transferasa dUTP. El porcentaje de FIV disminuyó significativamente ($P<0,05$) entre los grupos: $95\pm 2,30$ (0h); $88\pm 4,10$ (48h); $80,33\pm 3,39$ (96h). Se observó un $27,33\pm 4,41\%$ de fragmentación del ADN en las blástulas provenientes de ovocitos almacenados por 96h. Los resultados demuestran que es factible aplicar la técnica de TUNEL para evaluar ADN en células de blástulas de salmónidos y que el almacenamiento de ovocitos *in vitro* por 96h produce disminución de la FIV e integridad del ADN en las células.

FONDECYT 1120705 Y FONDEF D10I1064

EL ESTRÉS NITROSATIVO EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS AFECTA LA PRODUCCIÓN DE ATP, TANTO POR LA VIA GLICOLÍTICA COMO POR FOSFORILACIÓN OXIDATIVA. (Nitrosative stress in human sperm affects ATP production through glycolytic pathway and oxidative phosphorylation)

Uribe P ^{1,3}, Boguen R ^{1,3}, Treulen F ^{1,3}, Sánchez R ¹, Villegas J ^{1,2}. ¹Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, ³Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Las especies reactivas de nitrógeno, entre ellas peroxinitrito, generan estrés nitrosativo cuando se producen a niveles elevados, causando oxidación y nitración de diversos componentes celulares. En trabajos anteriores hemos demostrado el efecto negativo de peroxinitrito sobre la motilidad, potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) y estado de oxidación de grupos tioles en espermatozoides humanos. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de peroxinitrito sobre la producción de ATP y determinar si se afecta la vía glicolítica y/o mitocondrial. Para ello, espermatozoides seleccionados mediante *swim up* fueron expuestos a SIN-1, molécula generadora de peroxinitrito y se evaluó la producción de ATP. Se utilizó 2-desoxi-D-glucosa y rotenona, inhibidores de la glicólisis y la fosforilación oxidativa respectivamente, para evaluar ambas vías por separado. Se evaluó ATP, viabilidad y $\Delta\Psi_m$. Al bloquear ambas vías o cada una por separado, se observó que el ATP disminuyó cuando se bloqueó la glicólisis, la viabilidad disminuyó solo cuando se bloquearon ambas vías, mientras que el $\Delta\Psi_m$ disminuyó en todos los casos. Al exponer los espermatozoides a peroxinitrito se observó disminución en la producción de ATP en todos los grupos experimentales. Estos resultados demuestran que el estrés nitrosativo inducido por peroxinitrito deteriora la producción de ATP tanto a nivel de la glicólisis como de la fosforilación oxidativa en espermatozoides humanos.

Proyectos DI12-0102, Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera (JV), FONDECYT 1130888 (RS) y Beca Gastos Operacionales CONICYT 2013 (PU).

EFFECTOS DE 2-HIDROXIESTRADIOL SOBRE LA VIABILIDAD Y LA RESPUESTA TRANSCRIPCIONAL ACTIVADA POR TESTOSTERONA EN CÉLULAS DE SERTOLI DE RATÓN Y HUMANA (Effects of 2-hydroxyestradiol on viability and testosterone-induced transcriptional response in mouse and human Sertoli cells)

Valencia C, Fontecilla J, Molina C, Castro A, Parada-Bustamante A. Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Previamente determinamos que 2-hidroxiestradiol ($2OHE_2$) a concentraciones micromolares induce apoptosis en células de Sertoli de ratón (TM4). Si concentraciones menores de $2OHE_2$ alteran el funcionamiento de este tipo celular o si el efecto deletéreo ejercido por $2OHE_2$ en células TM4 es sólo especie específico no ha sido determinado. Aquí evaluamos si concentraciones nanomolares de $2OHE_2$ afectan la respuesta transcripcional inducida por testosterona en células TM4 y si los efectos deletéreos de $2OHE_2$ observados en células TM4 ocurrían también en células de Sertoli humanas (hSECs). Para esto, células TM4 transfectadas con el gen de la Luciferasa cuyo promotor posee elementos de respuesta a andrógenos, fueron tratadas con testosterona (10 nM) y con $2OHE_2$ (0.1-10nM) para luego evaluar la actividad Luciferasa. Además, células hSEC se trataron con 20 μM de $2OHE_2$ o vehículo para luego evaluar viabilidad celular a través de ensayo de MTS y fragmentación del DNA por ensayo de TUNEL. $2OHE_2$ (10 nM) disminuyó la actividad Luciferasa inducida por testosterona y este efecto no fue bloqueado por el antagonista del receptor de estrógenos ICI182780. Además, $2OHE_2$ (20 μM) disminuyó significativamente la viabilidad de células hSEC y aumentó significativamente el porcentaje de células TUNEL positivas en comparación al grupo control. En resumen, $2OHE_2$ disminuye la respuesta transcripcional inducida por testosterona por un mecanismo independiente del receptor de estrógenos. Además, el efecto deletéreo ejercido por $2OHE_2$ en células de Sertoli de ratón no es especie específico. Nuestros resultados refuerzan el concepto que un aumento intratesticular de $2OHE_2$ podría estar relacionado con infertilidad masculina.

FONDECYT Iniciación #11110457 y programa U-apoya, Universidad de Chile (Alexis Parada-Bustamante) y FONDECYT regular #1120176 (Andrea Castro)

EXPRESIÓN DE DYRK1B EN CÉLULAS DE SERTOLI: POTENCIAL MECANISMO INVOLUCRADO EN LA REGULACIÓN DE LA GLUCOGÉNESIS (Expression of DYRK1B in Sertoli cells: potential mechanism involved in the regulation of glucogenesis)

Vander Stelt K, Covarrubias A, Mancilla H, López C, Cereceda K, Montes de Oca M, Angulo C, Slebe J, Concha I. Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Chile

Las células de Sertoli proveen soporte estructural y nutricional para las células germinales y son capaces de sintetizar glucógeno, principal fuente energética celular. La síntesis de glucógeno o glucogénesis es un proceso altamente regulado en el cual la glucógeno sintasa muscular (MGS) es fosforilada en 9 sitios aminoacídicos por varias quinasas provocando la inactivación enzimática. El sitio de fosforilación más importante es Ser640 (Sitio 3a) ya que al encontrarse fosforilado disminuye en un 80% la actividad de MGS. Este es directamente fosforilado por la familia de quinasas Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase (DYRK), de las cuales se han descrito cinco isoformas, siendo DYRK1B específica del testículo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar DYRK1B en células de Sertoli y analizar su rol en la glucogénesis. Inmunofluorescencias de epitelio seminífero mostraron la presencia de DYRK1B en células de Sertoli y germinales mientras que por RT-PCR y Western blot se determinó la expresión de DYRK1B en células de Sertoli de ratón pre-púber y adulto sin evidenciar diferencias a nivel de transcrito tras análisis de qRT-PCR. Por microscopía confocal se observó que DYRK1B se localiza en núcleo y citoplasma lo cual fue confirmado por medio de fraccionamiento subcelular observando una mayor distribución citoplasmática. Adicionalmente, MGS se encontró en ambos compartimentos altamente fosforilada. Ensayos de inmunofluorescencia demostraron la colocalización de DYRK1B con MGS. Finalmente, se utilizó AZ191, inhibidor específico de DYRK1B sugiriendo que ésta fosforila Ser640. Estos resultados indican por primera vez que en testículo la glucogénesis estaría siendo regulada por esta quinasa recientemente descrita.

FONDECYT 1110508 (IC), 1141033 (JCS), Beca CONICYT KV.

TAPSIGARGINA Y MITOXANTRONA, A DIFERENCIA DE NGF, INDUCEN TRANSLOCACIÓN DE CALRETICULINA DESDE EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO HACIA LA MEMBRANA CELULAR EN CÉLULAS OVÁRICAS HUMANAS (Thapsigargin and mitoxantrone, but not NGF, induce calreticulin translocation from the endoplasmic reticulum to the cell membrane in human ovarian cells)

Vera C¹, Poblete C¹, Vega M^{1, 2}, Ferreira A³, Romero C^{1, 2,4}. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Hospital Clínico Universidad de Chile. ²Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ⁴Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS)

El cáncer ovárico, quinto cáncer más común en mujeres, se caracteriza por su mal pronóstico. La angiogénesis se exacerba, inducida, entre otros factores, por el factor de crecimiento nervioso (NGF). La calreticulina, chaperona del retículo endoplasmático, al ser estimulada con fármacos citotóxicos como mitoxantrona, puede exponerse en la membrana plasmática previa respuesta de estrés de retículo. En cáncer, sus niveles se asocian a mal pronóstico; sin embargo, su exposición induce muerte celular inmunogénica. En este trabajo buscamos determinar los efectos de tapsigargina (inductor de estrés de retículo), mitoxantrona y NGF en los niveles y localización de calreticulina. Estimulamos células epiteliales de la superficie ovárica humana (HOSE) y células de cáncer ovárico (A2780) con tapsigargina, mitoxantrona y NGF por 2, 4 y 8 horas. Luego, analizamos marcadores de estrés de retículo (eIF2a, PERK) mediante western-blot, y determinamos la translocación de calreticulina mediante microscopía confocal. En ambas líneas celulares encontramos un aumento en los niveles de eIF2a y PERK fosforiladas y exposición de calreticulina luego del tratamiento con tapsigargina y mitoxantrona, mientras que NGF no tuvo efecto. Tapsigargina tiene un mayor efecto a las 2 horas; mitoxantrona, a las 4 horas. Si bien no altera su localización subcelular, NGF indujo un aumento en los niveles totales de calreticulina. Los efectos de calreticulina en cáncer parecieran depender de su localización subcelular. El aumento intracelular podría asociarse a proliferación, angiogénesis y metástasis, mientras que uso de fármacos citotóxicos que induzcan la exposición de calreticulina es una alternativa promisorio para tratamiento del cáncer. FONDECYT 1110372 (C.R.). CV: Becaria Doctorado CONICYT

EVALUACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES Y CÉLULAS MESENQUIMALES EN EL TUMOR PRIMARIO Y EN EL NICHOS METASTÁSICO EN UN MODELO ORTOTÓPICO DE CÁNCER DE PRÓSTATA (Evaluation of cancer stem cells and mesenchymal-like cells in the primary tumor and metastatic niche in the orthotopic model of prostate cancer)

Walker K, Cifuentes F, Valenzuela R, Contreras H, Castellón E. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

El cáncer prostático (CaP) constituye el segundo cáncer más frecuentemente en hombres y su mortalidad se asocia principalmente con la generación de metástasis. En el CaP, existe una población de *cancer stem cells* (CSCs) con capacidad de reconstruir la heterogeneidad del tumor primario en el nicho metastásico. El establecimiento de las metástasis requiere una acción cooperativa entre las CSCs y *mesenchymal-like cells* (MLCs) en el nicho metastásico. El objetivo de este trabajo es estudiar la distribución histológica de las CSCs y MLCs en tumor primario y los nichos metastásicos en un modelo ortotópico de CaP humano. Para estudiar las proporciones de ambos tipos celulares en el CaP se utilizaron los marcadores CD44 y c-myc para CSCs y vimentina y n-caderina para MLCs. Además, se analizó la histopatología de páncreas, hígado, colon, pulmón y riñón. El modelo ortotópico de CaP fue desarrollado en ratones de la cepa SCID/NOD-γ (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ, Jackson Laboratory®) los que fueron inyectados con células PC3. El estudio de las poblaciones CSCs y MLCs en los tumores primarios se realizó a los 30, 58 y 75 días de inoculación. La evaluación de CSCs/MLCs en metástasis pancreáticas fue realizada a los 60 días de inoculación. Los resultados indican que durante la infiltración local de la próstata, las MLCs predominan sobre las CSCs y durante la progresión metastásica esta proporción se revierte. Además, existen tumores metastásicos que se restringieron a la periferia de los órganos, sin invadir su parénquima. En conclusión, las poblaciones de CSCs y MLCs coexisten dinámicamente en el tumor primario y en las metástasis.

FONDECYT 1100183 y 1140417 (EC), FONDECYT 1110269 (HC). KW: Tesista Tecnología Médica.

AUMENTO EN LAS TASAS DE FORMACIÓN DE BLASTOCISTOS BOVINOS PRODUCIDOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI) MEDIANTE LA DESESTABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA Y ELIMINACIÓN DEL ACROSOMA

(Rate increase in cattle blastocyst produced by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) by destabilizing the sperm membrane and disposal of acrosome)

Zambrano F¹, Arias M¹, Vargas T¹, Sánchez R¹, Águila L¹, Felmer R^{1,2}.

¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco.

²Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco Chile.

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) en bovino presenta baja eficiencia, una de las razones es la presencia de la membrana intacta del espermatozoide que impide la liberación oportuna de fosfolipasa C ζ (PLC ζ) responsable de la activación del ovocito. Además, el contenido acrosómico tiene un efecto dañino por sus enzimas hidrolíticas (hialuronidasa y acrosina) dentro del ovocito. Con el objetivo de desestabilizar la membrana y eliminar el contenido acrosómico, se trataron espermatozoides bovinos criopreservados con 0,04, 0,05 y 0,06% de lisolecitina (LL) y tritón X-100 (TX) durante 1 minuto. Se evaluó la fluidez de la membrana con merocianina (MC540) y la variación de PLC ζ mediante inmunofluorescencia indirecta. Las concentraciones determinadas como óptimas fueron utilizadas para el procedimiento ICSI donde se evaluaron las tasas de desarrollo *in vitro*. Los resultados mostraron que los tratamientos con LL y TX provocan un aumento de la fluidez de la membrana ($p < 0,05$) entre un 68,2 a 70,7% de LL y un 67,3 a 77,2% con TX. La evaluación de PLC ζ mostró que bajo los tratamientos se produce una pérdida significativa de esta proteína ($p < 0,05$) en rangos de 65 a 77,4% con LL y 21 a 37% con TX. La pérdida de PLC ζ de los espermatozoides fue suplida por activación exógena con ionomicina y cicloheximida. Las tasas de formación de blastocistos bajo estos tratamientos aumentaron en un 7,1 y 4,9% en grupos tratados con LL y TX respectivamente. En conclusión estos tratamientos fueron efectivos para mejorar la eficiencia de esta técnica en bovinos.

FONDECYT 1120241, CONICYT Chile, FZ: Becaria Doctorado CONICYT.

Póster 31

HORMONA GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) MODULA LA SEÑALIZACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE-BETA (TGF- β), DISMINUYENDO LA ACTIVACIÓN DE ERK 1/2 EN CÉLULAS DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO.

(Human Chorionic Gonadotropin (hCG) modulates signaling TGF- β , decreasing the activation of ERK 1/2 in human cells stromal endometrium.)

Zavaleta K¹, Argandoña F¹, Tapia-Pizarro A¹.

¹Laboratorio Endocrinología Molecular Reproductiva, Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La implantación del embrión y posterior placentación son fundamentales para un embarazo exitoso. Estos procesos son regulados por una red de moléculas de origen materno y fetal. La citoquina TGF- β se expresa en el endometrio humano y ejerce un papel importante durante la decidualización de las células del estroma endometrial (ESC). Paradójicamente, esta citoquina disminuye la invasividad de las células de trofoblasto extravellositario. Por otro lado, hCG aumenta la invasión del trofoblasto favoreciendo la implantación, sugiriendo que ejerce efectos opuestos a TGF- β . El objetivo del presente trabajo es determinar si hCG modula la señalización inducida por TGF- β en ESC. Para ello se evaluó el estado de fosforilación de ERK 1/2 por inmunoblot en la línea de ESC inmortalizadas St-t1b, estimuladas con TGF- β (1ng/ml y 2,5 ng/ml) en presencia o ausencia de hCG (10 UI/mL) entre 2,5 y 160 min. Los resultados muestran que ERK se activa con la estimulación de TGF- β con un máximo de fosforilación a los 40 minutos de estimulación para ambas dosis (1ng/ml y 2,5 ng/ml). La activación de ERK 1/2 se redujo significativamente en presencia de hCG en todos los tiempos evaluados (n=3, P<0,05). Estos resultados sugieren hCG modula la señalización de TGF- β en células en ESC, lo cual podría tener implicancias importantes durante el proceso de decidualización endometrial e implantación embrionaria.

UMBILICAL CORDS FROM MATERNAL OBESITY PREGNANCIES SHOWS INSULIN RESISTANCE

Villalobos-Labra R¹, Westermeier F^{2,3}, Sáez P^{1,3}, Kusanovic J¹, Poblete J¹, Sobrevia L¹, Farías-Jofré M¹. ¹Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Medical Research Centre (CIM), Division of Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Faculty of Chemical & Pharmaceutical Sciences, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Sebastián.

Maternal obesity (MO) has been recognized as a risk factor for offspring's insulin resistance (IR) development. Increased fat mass and insulin secretion has been observed in newborn from MO pregnancies. Here we studied the insulin response in vascular neonatal tissue from human umbilical vein in order to evaluate the effect of MO. The vasodilatation induced by insulin was evaluated in rings of from human umbilical veins through wire myography. Primary cultures of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were isolated from normal (HUVEC-N) or MO (HUVEC-OB) pregnancies attending at the Pontificia Universidad Católica de Chile Hospital. Then, we evaluated the insulin signaling pathway by western blot analysis of phosphorylated and total protein levels of IRS-1, Akt, p42/44MAPK and eNOS. Human umbilical vein rings from MO pregnancies showed a reduced relaxation response to insulin than rings from Normal pregnancies. In addition, the exposure (0-60 min) of HUVEC-N to physiological levels of insulin (1nM) produced a quickly and maintained increase of p~Akt and p~p44/42mapk, with a maximal response at 1 minute. However, HUVEC-OB showed a reduced and delayed p~Akt and p44/42mapk signals in response to insulin, with a maximal detection at 15 minutes. This IR state observed in HUVEC-OB, was paralleled by an increased phosphorylation of IRS-1 on the inactivating residue serine 307 and a reduced phosphorylation and total protein of eNOS, compared to HUVEC-N. In this study, we have shown evidence that MO is associated to a neonatal IR state, involving endothelial and physiological reduction of insulin response in umbilical veins.

FONDECYT (1121145, 1110977, 1090594), CONICYT (ACT-73 PIA).

OPTIMIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE TRANSFECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS PARA SU POSTERIOR UTILIZACIÓN EN TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES (SMGT).

(Optimization of a protocol for transfection of bovine sperm for subsequent use in sperm mediated gene transfer (SMGT)).

Delgado A¹, Arias M¹, Sánchez R¹, Águila L¹, Zambrano F¹, Vargas T¹, Sánchez E¹ y Felmer R^{1,2*}.

¹Laboratorio de Reproducción, C. Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina. ²Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. *ricardo.felmer@ufrontera.cl

La transgénesis mediada por espermatozoides (SMGT) se basa en la capacidad intrínseca de los espermatozoides para unir ADN exógeno y su transferencia a los ovocitos durante la fecundación. En bovinos, el progreso de la SMGT ha sido lento debido a la ineficiente interacción observada entre el ADN exógeno y los espermatozoides. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos tratamientos de transfección sobre la viabilidad y motilidad de los espermatozoides y sobre la capacidad de internalización del ADN exógeno. Los tratamientos de transfección se realizaron utilizando complejos de 0,5 µg de ADN plasmidial (pNunc-HcRed-FITC) con Lipofectamina (Invitrogen) y con Turbofect (Thermo Scientific), respectivamente. Se evaluaron 30 y 60 minutos de transfección, determinándose la viabilidad (yoduro de propidio), la internalización de ADN exógeno (mediante citometría de flujo) y los parámetros de motilidad (mediante el sistema CASA). Los resultados preliminares mostraron que a los 30 y 60 minutos de transfección el número de espermatozoides vivos transfectados fue mayor ($p < 0,05$) cuando se utilizó Turbofect (73 y 62%, respectivamente), en comparación con Lipofectamina (63 y 56%, respectivamente). El análisis de la motilidad para ambos tiempos de transfección mostró que los espermatozoides transfectados con Turbofect presentan menor motilidad total, progresiva y parámetros cinéticos, en comparación con Lipofectamina ($p < 0,001$). En conclusión, los resultados preliminares indican que aunque Lipofectamina genera menos espermatozoides vivos transfectados en relación a Turbofect, este compuesto es más adecuado para la transfección de espermatozoides bovinos, ya que los parámetros de motilidad permitirían su posterior uso en técnicas de FIV-SMGT.

FONDECYT 11130724. CONICYT, Chile. Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia. PAI-CONICYT, Chile.

<u>Abbott D</u>	33
Acevedo C	76
Acevedo F	12, 81
Acuña R	12, 83
Águila L	10, 22, 72, 129, 132
Aguirre-Arias M	43
Åkerud H	15, 98
<u>Alcántar K</u>	10, 70
Álvarez D	8, 56
Álvarez J	11, 77
<u>Álvarez M</u>	10, 71
Ambrosetti V	8, 56
<u>Andara K</u>	10, 72
Angulo C	17, 21, 105, 126
Aravena R	13, 85
Argandoña F	17, 22, 107, 130
Arias M	11, 20, 71, 72, 77, 123, 129, 132
Assadi-Porter F	33
Astorga I	9, 61
Aveldaño M	91
Baron L	13, 87
Barra R	41
<u>Bazzano M</u>	73
Benrick A	15, 98
Berkowitz L	19, 116
Blobel C	31
<u>Boquen R</u>	11, 20, 21, 74, 122, 124
Boric M	60, 70
Buisine N	52
Buñay J	17, 43, 75
Busso D	19, 47, 67, 115, 116
Bustos-Obregón E	13, 86
<u>Cabrillana M</u>	63
Cárdenas H	8, 57
<u>Carrasco A</u>	11, 19, 20, 76, 119, 120
Carvajal R	19, 114
Castellón E	78, 88, 108, 110, 128
Castro A	18, 21, 109, 125

Castro J	9, 10, 60, 70
Cautivo K	19, 67, 115, 116
Cereceda K	17, 21, 23, 64, 105, 126
<u>Cheuquemán C</u>	11, 77
<u>Chrzanowsky D</u>	78
Cifuentes F	22, 128
<u>Cohen D</u>	47
Concha F	12, 84
Concha I	64, 99, 105, 126
<u>Concha M</u>	53
Contreras H	78, 88, 108, 110, 128
Contreras P	52
<u>Córdova C</u>	12, 79
Cortés S	13, 86
<u>Covarrubias A</u>	17, 64, 105, 126
<u>Crisosto N</u>	8, 12, 39, 58, 84
Cruz G	8, 41, 56
Cruz-Fernandes L	12, 83
Cuasnicu P	47
Cuello M	13, 85
Cuevas F	9, 12, 59, 66, 80
<u>Cuevas M</u>	12, 81, 95
<u>Cuevas P</u>	12, 82
Curia A	47
Darszon A	68, 121
<u>De los Reyes M</u>	48, 117
De Los Reyes M	89
<u>Delgado A</u>	132
Dettleff P	18, 111
Devoto L	14, 19, 92, 118
Díaz E	65, 87, 97, 100, 103, 104, 113
<u>Díaz M</u>	83
<u>Díaz P</u>	8, 57
Dumesic D	33
Ebensperger M	18, 109
Echeverría G	67
<u>Echiburú B</u>	8, 12, 58, 84, 112
Effer B	28

Elgueta C.....	8, 58	Henríquez-Olavarrieta S.....	14, 17, 43, 93
Elia E.....	73	Herrera G.....	18, 111
Erices R	13, 85	Hidalgo P.....	9, 60
Espinoza-Navarro O	13, 86	Hurtado I	14, 94
Fara K	13, 87	Isachenko E.....	28
Farfán N.....	78, 88, 108, 110	Isachenko V.....	28
Farias J.....	28	Jansson T.....	15, 98
Farías-Jofré M.....	131	Jofré I.....	12, 14, 81, 95
Felmer R.....	10, 11, 22, 71, 72, 77, 129, 132	Johnson M	60, 70
Fernández T	13, 89	Kohan K	14, 96
Fernandois D	9, 12, 17, 59, 80, 106	Kohen P.....	14, 19, 92, 118
Ferreira A.....	21, 127	Kusanovic J.....	131
Figueroa E	16, 28, 102	Labrie F.....	15, 98
Flórez M.....	18, 109	Lara H.....	12, 18, 41, 59, 80, 106, 112
Fontecilla J.....	21, 125	Lardone M.....	109
Fornés M.....	63	Leal C	49
Fornes R.....	15, 98	Levine J.....	33
Fuentes A.....	9, 60	Li X.....	31
Gabelli F	36	Lonis M	97
Gabler F.....	10, 14, 70, 94	López C.....	21, 23, 64, 126
Galgani J.....	8, 58	Loren P.....	11, 77
Gallardo L.....	43, 75	Luchsinger M.....	12, 84
García de Herreros A.....	13, 88	Maliqueo M	15, 98
García P.....	13, 90	Mancilla H	15, 17, 21, 99, 105, 126
García V.....	9, 61	Marcellini S	52
Girardi S	13, 90	Martínez A.....	10, 70
Glavic A	51	Martínez E	65, 97, 103
Godoy A.....	14, 92	Martínez J.....	41
Godoy F.....	52	Martínez V.....	18, 111
Godoy-Sepúlveda R	14, 91	Maturana C	100
Gómez M.....	47	Meister G.....	15, 99
González I.....	13, 85	Mendoza C.....	19, 67, 115
González R.....	9, 60	Merino O.....	16, 28, 102
Goodarz M.....	33	Mezzano D.....	13, 85
Greiner M.....	18, 112	Milla K	103
Guerra M.....	8, 56	Miranda C.....	18, 112
Hanna P.....	52	Mogas T.....	11, 77
Henríquez S	14, 19, 92, 118	Molina C.....	21, 125

Monclus M.....	63
<u>Mondaca N</u>	16, 104
Montes de Oca M.....	17, 21, 23, 64, 105, 126
Morales P.....	13, 15, 16, 18, 23, 65, 87, 97, 100, 103, 104, 113
Moreno R. 31, 43, 68, 75, 83, 91, 93, 116, 121	
Munevar L.....	10, 70
Muñoz D	52
Na E	12, 59, 80, 106
<u>Nazir I</u>	17, 107
Nicol L	33
Olguín G	56
Oliva B.....	13, 85
Olivero P.....	12, 79
<u>Orellana O</u>	17, 108
Orellana R.....	13, 85
Oresti G	14, 91
Orge F	14, 92
Orihuela P.....	8, 57
<u>Oróstica L</u>	9, 61
<u>Ortega V</u>	18, 109
<u>Osorio L</u>	18, 110
<u>Owen G</u>	13, 34, 85
Palomino J	12, 13, 18, 19, 83, 89, 111, 117
Parada E	9, 60
Parada-Bustamante A	21, 125
<u>Paredes A</u>	12, 18, 41, 59, 80, 106, 112
<u>Parodi J</u>	27
Patiño D.....	75
Paz D	73
Peralta O	66
Pereira C.....	12, 84
Perez B.....	97, 103
<u>Pérez B</u>	18, 113
Pérez D	67
Pérez-Bravo F	8, 12, 58, 84
Pérez-Martínez S	65
Piottante A.....	18, 109

<u>Plaza-Parrochia F</u>	19, 114
Poblete C.....	9, 13, 14, 19, 21, 61, 90, 96, 114, 127
Poblete J.....	131
Pozo P.....	97, 103
Puentes P	20, 120
Pustovrh M.....	73
<u>Quiroz A</u>	19, 115
Racordon D.....	13, 85
<u>Ramírez A</u>	45
Ramírez F.....	19, 117
Ramírez L.....	8, 56
Ramírez R.....	12, 79
Recabarren M.....	11, 19, 20, 76, 119, 120
<u>Recabarren S</u>	11, 19, 20, 40, 76, 84, 119, 120
<u>Retamales R</u>	19, 118
Reyes A.....	8, 56
Reyes J.....	43, 91
Rigotti A.....	19, 67, 115, 116
Risopatrón J	11, 16, 20, 28, 77, 102, 123
Rodríguez B.....	12, 79
Rodríguez-Gil J.....	64
Rojas-Benítez D	51
Rojas-García P.....	11, 19, 20, 76, 119, 120
Romero C9, 12, 13, 14, 19, 21, 61, 82, 90, 94, 96, 114, 127	
Romero F.....	12, 14, 81, 95
Rubilar M	12, 81
Ruiz Estrabón M.....	23, 63
Sach L.....	52
Sáez P.....	131
<u>Salas-Pérez F</u>	19, 116
Salina A.....	9, 60
Sánchez E	132
Sánchez R	10, 11, 16, 22, 28, 72, 77, 102, 124, 129, 132
Sánchez, R.....	10, 71

Sandoval D 11, 19, 20, 76, 119, 120
Santander N 67
Santos J 84
Scheuermann E 14, 95
Schultz R 47
Signorelli J 15, 16, 100, 104
Silva P 20, 120
Silva T 12, 14, 81, 95
Sir-Petermann T 11, 18, 20, 58, 76, 84, 112,
119, 120
Slebe J 99, 105, 126
Sobrevia L 131
Sotomayor R 8, 41, 56
Sovino H 10, 70
Stein P 47
Stener-Victorin E 15, 98
Strauss J 118
Stridsklev S 15, 98
Sundström Poromaa I 15, 98
Tapia-Pizarro A 17, 22, 107, 130
Tomes C 44
Torelli C 11, 73
Torres C 29
Torres M 70
Torres-Fuentes J 68, 121
Treulen F 11, 20, 21, 74, 122, 124
Treviño C 68, 121

Ubilla A 20, 123
Uribe P 11, 20, 21, 74, 122, 124
Urria J 18, 112
Urriola-Muñoz P 17, 31, 43
Valdebenito I 16, 20, 28, 102, 123
Valdevenito R 18, 109
Valdivia A 13, 85
Valencia C 21, 125
Valenzuela R 22, 128
Valladares L 19, 114
Vander Stelt K 17, 21, 23, 64, 105, 126
Vanky E 15, 98
Vantman N 12, 84
Vargas T 10, 22, 71, 72, 129, 132
Vásquez P 13, 85
Vega M 9, 12, 13, 14, 19, 21, 35, 61, 82, 90,
94, 96, 114, 127
Venegas S 9, 60
Vera C 13, 21, 90, 127
Villalobos-Labra R 131
Villegas J 74, 122, 124
Vincenti A 63
Walker K 22, 128
Westermeier F 131
Whigham L 33
Zambrano F 10, 22, 72, 129, 132
Zavaleta K 22, 130

Auspician



Patrocinan

Universidad Austral de Chile

Universidad de La Frontera

Universidad de Concepción

Universidad de Antofagasta

Sociedad de Biología de Chile

Soc. Chilena de Medicina Reproductiva