

XXVII

REUNION ANUAL
SOCIEDAD CHILENA DE
REPRODUCCION Y DESARROLLO

LIBRO DE RESÚMENES

2 al 5
de Septiembre 2016

Hotel Enjoy
Antofagasta

SOCIEDAD
CHILENA

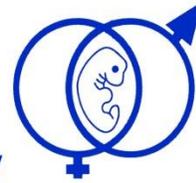
DE
Y REPRODUCCION
DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987



DE REPRODUCCION
Y DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987

XXVII REUNIÓN ANUAL SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO 2016

***“Comunicando los Avances en
Reproducción y el Desarrollo”***

**Hotel Enjoy, Antofagasta
2 al 5 de Septiembre de 2016**



DE REPRODUCCION
Y DESARROLLO



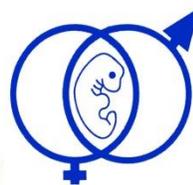
Fundada el 30 de Abril de 1987

Directorio de la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo

Presidente	Patricio Morales
Vice-Presidente	Alfonso Paredes
Secretaria	Milene Kong
Tesorera	Emilce Díaz
Past-President	Ilona Concha



DE REPRODUCCION
Y DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987

Comité Organizador

Patricio Morales

Milene Kong

Emilce Díaz

Janetti Signorelli

Jorge Farías

Comité Científico

Ricardo Moreno

Alfonso Paredes

Enrique Castellón

Ilona Concha

Gareth Owen

Comité Editorial Libro de Resúmenes

Janetti Signorelli

Emilce Díaz

Milene Kong

Encargada Página Web

Milene Kong

SOCIEDAD
CHILENA

DE REPRODUCCION
Y DESARROLLO



Fundada el 30 de Abril de 1987

Auspician

Universidad de Antofagasta

Merck Group

Reichmann

Fermelo Biotec

Animal Care

Winkler

Patrocinan

Universidad de Tarapacá

Universidad de Antofagasta

PROGRAMA DETALLADO

Viernes 2 de Septiembre

- 14:30 – 15:30 Recepción e Inscripciones
- 15:30 – 15:45 **Ceremonia Inaugural**
- 16:00 – 16:30 **Mini conferencia Premio Sociedad año 2015**
Coordinador: Dr. Ricardo Moreno
- “REVERSIÓN FENOTÍPICA DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES AISLADAS DE CARCINOMA PROSTÁTICO HUMANO”
Rodrigo Valenzuela. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Chile.
- 16:30 – 17:30 **Trabajos de Incorporación I**
Coordinadora: Dra. Margarita Vega
- 16:30 – 16:50 **ADAM17 PARTICIPA EN LA APOPTOSIS DE CÉLULAS GERMINALES FISIOLÓGICA E INDUCIDA POR XENOESTRÓGENOS DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS**
Urriola-Muñoz P, Patiño-García D and Moreno RD.
Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.
- 16:50 – 17:10 **AVANCES EN BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS EN FELINOS DOMÉSTICOS**
Cheuquemán C, Sánchez R, Risopatrón J.
Centro de Biotecnología de la Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
- 17:10 – 17:30 **EL NEUROESTEROIDE ALLOPREGNANOLONA, MODULADOR DE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA DE LA RATA**
Laconi, Myriam R
Laboratorio de Fisiopatología ovárica y Neurobiología; Instituto de Biología y Medicina Experimental de Cuyo; IMBECU-CONICET, Argentina. INBIOMED-UM. Adrián Ruiz Leal S/N. Parque Gral San Martín. Godoy Cruz Mendoza, Argentina.
- 17:30 - 18:00 Café
- 18:00 – 18:40 **Trabajos de Incorporación II**
Coordinadora: Dra. Margarita Vega
- 18:00 – 18:20 **PAPEL DE LOS microARNs EN LAS ALTERACIONES DEL TESTÍCULO EN RATONES INDUCIDOS POR LA EXPOSICIÓN A UNA MEZCLA DEFINIDA DE PERTURBADORES ENDOCRINOS**
Buñay J, Larriba E, del Mazo J, Moreno RD.
Department of Physiology, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile.

18:20 - 18:40 **DOWN-REGULATION OF TFPI-2 IN THE PROGRESSION OF OVARIAN CANCER**
J. Fry, S. Kato, L. Abarzua, P. González, C. Ramírez, E. Cumsille, J.C. Roa, C. Ibañez, M.A. Cuello, G.I. Owen, **M.L. Bravo.**
Faculty of Biological Sciences, Faculty of Medicine, Millennium Institute on Immunology & Immunotherapy, Biomedical Research Consortium Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile.

18:45 - 19:45 **Conferencia 1**
Coordinador: Dr. Alfonso Paredes
"EXTENDING LIFE AND THE BACTERIA OF THE ATACAMA DESERT"
Dr. **Juan A. Asenjo**
Centre for Biotechnology and Bioengineering, CeBiB. University of Chile. Chile.

19:45 - 20:15 **Número artístico**

20:30 **Cóctel de Bienvenida**

Sábado 3

9:00-10:40 **Simposio 1. Neuroendocrine Regulation of Female Reproduction**

Coordinador: Dr. Hernán Lara

"PARTICIPATION OF GnIH AND STRESS IN THE ONSET OF POLYCYSTIC OVARY AND AGING. RAT AND HUMAN STUDIES"
Dr. **Hernán Lara**, University of Chile, Chile.

"GONADOTROPIN-INHIBITORY HORMONE, STRESS AND REPRODUCTION"
Dr. **George E. Bentley**, University of California at Berkeley, USA.

"PARTICIPATION OF RFRP-3 IN THE PRODUCTION OF POLYCYSTIC OVARY PHENOTYPE INDUCED BY A COLD STRESS MODEL IN THE RAT"
Dra. **Valentina Squicciarini**, University of Chile, Chile.

"KISSPEPTIN IS INVOLVED IN THE REGULATION OF FOLLICULAR DEVELOPMENT IN RAT OVARY DURING REPRODUCTIVE LIFE"
Dr. **Alfonso Paredes**, University of Chile, Chile.

10:40 - 11:00 Café

11:00 - 12:30 **Presentaciones Trabajos Libres 1**
Coordinadora: Dra. Bárbara Echiburú

11:00 - 11:15 **UNA EXPOSICIÓN CRÓNICA A UNA MEZCLA DE DISRUPTORES ENDOCRINOS (FTALATOS Y ALQUILFENOLES) DISMINUYE LA ESTEROIDOGÉNESIS Y FERTILIDAD EN RATÓN HEMBRA**

Patiño-García DF y Moreno RD
Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas,
Pontificia Universidad Católica de Chile.

11:15 – 11:30 **MATERNAL ATHEROGENIC HIGH FAT DIET RESULTS IN HEPATIC LIPIDOSIS, POOR BIRTH OUTCOME, GROWTH RESTRICTION, AND SKELETAL ABERRATIONS IN C57BL/6 MICE**

Bahamonde J, Brenseke B, Oest M, Prater R.
Departamento de Fomento a la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Chile.

11:30 – 11:45 **EL INCREMENTO DE CALCIO INTRACELULAR SE ASOCIA CON PERMEABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA EN ESPERMATOZOIDES BOVINOS CRIOPRESERVADOS**

F. Treulen, M. Arias, R. Felmer.
Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de ciencias agropecuarias y Forestales, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

11:45 – 12:00 **EFFECTO ANTIIMPLANTACIONAL DE ESTRADIOL: ROL DE 2-METOXIESTRADIOL Y F-SPONDINA**

Guajardo E, Díaz P, Orihuela PA.
Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile y Centro para el Desarrollo en Nanociencia y Nanotecnología

12:00 – 12:15 **EL RECEPTOR DE PROGESTERONA MEDIA LA EXPRESIÓN DE ADAMTS Y MMP3/10 EN CÉLULAS DE GRANULOSA HUMANA: ROL DIFERENCIAL DE HIF-1 ALPHA**

Henríquez S, Kohen P, Muñoz A, Godoy A, Orge F, Devoto L.
Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Hospital Clínico San Borja Arriarán.

12:15 – 12:30 **ROL DE LAS CÉLULAS UNK EN LA VASCULARIZACIÓN DECIDUAL DURANTE LA ORGANOGÉNESIS MURINA TEMPRANA LUEGO DE LA INGESTA PERIGESTACIONAL DE ALCOHOL**

Ventureira, M; Sobarzo, C; Barbeito, C; Palomino WA; Cebra E.
IFIBYNE-UBA/CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

12:30 – 13:30 **Conferencia 2**

Coordinadora: Dra. Janetti Signorelli

“SIGNALING PATHWAYS INVOLVED IN MAMMALIAN SPERM CAPACITATION”.

Dr. **Pablo E. Visconti**. Department of Veterinary and Animal Sciences. University of Massachusetts. USA.

13:30 – 15:00

Almuerzo

15:00 – 16:30

Simposio 2. Investigadores Jóvenes

Coordinador: Dr. Oscar Peralta

“GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) EN EL DIÁLOGO PARACRINO EMBRIO-MATERNO”.

Dr. **Alejandro Tapia**, Universidad de Chile, Chile.

“HUMAN AMNIOTIC MEMBRANE, FROM BASIC RESEARCH TO CLINICAL APPLICATIONS”.

Dr. **Sebastián San Martín**, Universidad de Valparaíso, Chile.

“EL TRATAMIENTO PRENATAL CON METFORMINA IMPIDE AUMENTO DE ESTRADIOL ENDÓGENO Y MEJORA PARCIALMENTE LA FUNCIÓN OVÁRICA EN RATAS HIJAS DE MADRES OBESAS”.

Dr. **Gonzalo Cruz**, Universidad de Valparaíso, Chile.

16:45 – 18:45

Sesión de Pósters y café

Coordinadoras: Dra. Janetti Signorelli, Dra. Milene Kong

PÓSTER 1

LA EXPOSICIÓN CRÓNICA A UNA MEZCLA DE FTALATOS Y ALQUILFENOLES MODIFICA LOS NIVELES DE LA ENZIMA AROMATASA (*Cyp19a1*), DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENO (*Erβ*) Y DE LOS Pre-MicroRNAs QUE LOS MODULAN, EN ESPERMATOZOIDES Y CELULAS GERMINALES MASCULINAS DE RATÓN

Gallardo LM, Moreno RD¹.

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

PÓSTER 2

CONCENTRACIONES DIABÉTICAS DE METFORMINA REDUCE EL AUMENTO EN ANGIOGÉNESIS PROMOVIDA POR PLAQUETAS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE OVARIO

Erices R, Márquez M., Ramírez C, Cubillos S, González P, Bravo M.L, Kato S, Cuello M.A, **Owen G.I.**

Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

PÓSTER 3

ROL DE LA VITAMINA E EN TUBO NEURAL DE EMBRIONES Y FETOS DE RATÓN (*Mus musculus*) TRATADOS CON ÁCIDO VALPROICO: ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE SONIC HEDGEHOG

Conei D, Saint-Pierre G, Soler B, Rojas M.

Laboratorio de Embriología Comparada, Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de la Frontera.

PÓSTER 4

THE 3' UTRs FROM *Rnf19a* mRNA, HIGHLY EXPRESSED IN SPERMATOCYTES, AND FROM THE *Rnf19aP3* PSEUDOGENE

TRANSCRIPT, ARE TARGETS FOR MIRNA BINDING MEDIATED GENE EXPRESSION REGULATION

Smith, D.; Rejas, C.; Villena, J.; San Martín, S; del Mazo, J.; Párraga, M.

Centro de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. Chile.

PÓSTER 5

METFORMINA DISMINUYE LA VIABILIDAD DE ESFERAS DERIVADAS DE CÉLULAS DE CARCINOMA MAMARIO CANINO CF41.Mg

Romo MA, Cruz P, Arias JI, Torres CG

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

PÓSTER 6

EFFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN SOBRE LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA DE LA MEMBRANA DE ESPERMATOZOIDES DE SALMON DEL ATLANTICO (*Salmo salar*)

Díaz R, Figueroa E, Ulloa P, Short S, Lee M, Dumorné K, Valdebenito I, Farías JG.

Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada (LIBBA), Dpto. Ingeniería Química, Universidad de La Frontera. Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR), Universidad de La Frontera.

PÓSTER 7

EL APAREAMIENTO REGULA LOS NIVELES DE GLICOPROTEINAS HNK-1 EN LA MUCOSA OVIDUCTAL DE LA RATA

Fábrega FA, Poveda PM, Maldonado-Michea JR, Díaz ES, Morales P y Zúñiga LM.

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

PÓSTER 8

METILACIÓN GLOBAL DEL ADN DURANTE LA INFANCIA TEMPRANA EN NIÑAS NACIDAS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP) Y DE NIÑAS CON DISTINTOS PESOS DE NACIMIENTO NACIDAS DE MUJERES NORMALES

Echiburú B, Pérez-Bravo F, Maliqueo M, Crisosto N, Flores C, Sandoval D, Recabarren SE y Sir-Petermann T.

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

PÓSTER 9

ALMACENAMIENTO DE SEMEN DE RÓBALO PATAGÓNICO (*Eleginops maclovinus*) A 4°C: EFECTO DE LA DILUCIÓN EN LA FUNCIÓN ESPERMÁTICA

Contreras P, Ulloa P, Cheuquemán C, Merino O, Figueroa E, Valdebenito I, Farías J, Risopatrón J.

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

PÓSTER 10

COMPARACIÓN DEL POTENCIAL DE MIGRACIÓN *IN VITRO*

DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMÁTICAS DERIVADAS DE MÉDULA ÓSEA Y TEJIDO ADIPOSEO FETAL BOVINO

Jervis M, Cahuascanco B, Huaman O, Arias JI, Torres CG, Bahamonde J, Peralta OA.

Laboratorio de Células Madres, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

PÓSTER 11

INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS, SUS EFECTOS EN ESPECIES BIOCENTINELES Y EN HUMANOS. CONTROL Y APLICACIÓN EN CHILE

Espinoza-Navarro O, Ponce-La Rosa C, Bustos-Obregón E. Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile.

PÓSTER 12

EXPRESIÓN RELATIVA DE RNAm DE *Bmp15* EN LAS CÉLULAS DEL CÚMULO DE OVOCITOS DE PERRAS EN DIESTRO

Ramírez, G.; García, P.; Torres-Fuentes, JL.; Palomino, J.; De los Reyes, M.

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

PÓSTER 13

LA VÍA AMPc/PKA REGULA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL PROTEASOMA DURANTE LA CAPACITACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO

Cikutović, R. Zapata, H. Barón, L. Díaz, ES. Morales, P.

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

PÓSTER 14

EFECTOS DE METFORMINA SOBRE LA FUNCIONALIDAD DE LAS CELULAS DE SERTOLI (CS)

Gustavo Rindone, Agostina Gorga, Mariana Regueira, María del Carmen Camberos, Eliana Pellizzari, María Noel Galardo, Silvina Beatriz Meroni y María Fernanda Riera.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas, "Dr César Bergadá", CONICET-FEI-División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez

PÓSTER 15

DIFFERENTIAL RESPONSE OF TWO PUTATIVE Wnt/ β -CATENIN TARGET GENES, *Cx43* and *dax1* IN 42GPA9 (MOUSE ADULT SERTOLI) CELL LINE

López C, Aguilar R, Montecino M, Meisterernst M, Slebe JC, **Concha I.**

Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

PÓSTER 16

LOS CANALES DE PANNEXINAS ESTÁN INVOLUCRADOS EN EL INCREMENTO EN LA PERMEABILIDAD AL IP LUEGO DE CONGELAMIENTO Y DECONGELAMIENTO EN ESPERMATOZOIDES DE PERRO

Torres-Fuentes, JL.; Palomino, J.; Moreno, RD.; De los Reyes, M.

Laboratorio de reproducción animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Departamento de fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

PÓSTER 17 **PACIENTES SOMETIDOS A HIPOBARIA INTERMITENTE CRÓNICA PRESENTAN UN MAYOR ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DEL DNA ESPERMÁTICO QUE PACIENTES QUE TRABAJAN A NIVEL DEL MAR.**

Pérez, B.; García, V.; Pacheco, V.; Signorelli, J.; Silva-Urra, J.; Cikutovic M.; Díaz, E.S.

Centro de Estudios en Medicina Reproductiva (CEMER-UA). Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Antofagasta.

PÓSTER 18 **LA EXPOSICIÓN PRENATAL A TESTOSTERONA INDUCE MÍNIMOS EFECTOS EN LA MADURACIÓN PULMONAR DE FETOS OVINOS PREVIOS A LOS 120 DIAS DE GESTACIÓN (dg)**

Sandoval, D., Gutiérrez, M., González, M. J., Recabarren, MP., Recabarren, S.E.

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

PÓSTER 19 **EL MICROAMBIENTE HIPERANDROGÉNICO INTRAUTERINO IMPACTA EL DESARROLLO Y FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS FETALES EN HEMBRAS OVINAS**

Sandoval, D., Carrasco, A., Rojo, M.P., González, M. J., Recabarren, MP., Sir-Petermann T. , Recabarren, S.E.

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

PÓSTER 20 **CARACTERÍSTICAS DEL ESPERMATOZOIDE DE RÓBALO PATAGÓNICO (*Eleginops maclovinus*) Y EL EFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN FRÍO SOBRE LOS CONTENIDOS DE ATP BASAL Y CONSUMO DE OXÍGENO EN EL TIEMPO**

Ulloa P, Contreras P, Figueroa E, Risopatrón J, Valdebenito I, Farías JG.

Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de La Frontera.

PÓSTER 21 **COMPARACIÓN DEL POTENCIAL DE PROLIFERACIÓN *IN VITRO* DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DERIVADAS DE MÉDULA ÓSEA Y TEJIDO ADIPOSO FETAL BOVINO**

Huaman O, Jervis M, Cahuascanco B, Cortez J, Torres CG, Bahamonde J, Peralta OA.

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

PÓSTER 22 **INHIBICIÓN DE BMP-15 DURANTE LA MADURACIÓN *IN***

VITRO DE OVOCITOS DE PERRA

García, P.; Ramírez, G., Torres-Fuentes, JL; Palomino, J.; De los Reyes, M.

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

PÓSTER 23

EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO EN RESPUESTA A LA SEÑAL EMBRIONARIA EN ENDOMETRIOS DE CICLOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Camila Aguirre, Felipe Argandoña, Camila Paredes, Paulina Kohen, Sonia Dittus, Alberto Palomino.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Departamento de Obstetricia y Ginecología Centro, Universidad de Chile.

PÓSTER 24

ALTERACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE INSULINA Y SU RELACIÓN CON LA SEÑALIZACIÓN DE ADIPONECTINA EN ENDOMETRIOS DE PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS)

Poblete CE, Oróstica L, Astorga I, García V, Carvajal R, Romero C, Vega M.

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

PÓSTER 25

COMPACTACIÓN DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA: POSIBLE EXPLICACIÓN DE LA INFERTILIDAD IDEOPÁTICA ASOCIADA A SEMEN DE POTROS "BUENOS CONGELADORES"

Hartley, R; Alvarenga, M; Ramírez, C; Romero, F, Ramírez-Reveco, A.

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

PÓSTER 26

FACTORES APOPTÓTICOS RELACIONADOS CON LA FLOTABILIDAD DE EMBRIONES TEMPRANOS DEL PEZ *Seriola lalandi*

Gómez-Pérez CA, Rodríguez J, Torres-Fuentes JL, Hernández E, Dettleff P, Palomino J. Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

PÓSTER 27

SENSIBILIDAD A LA INSULINA EN OVEJAS OOFERECTOMIZADAS EXPUESTAS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA

Carrasco A, Recabarren MP, Sandoval D, Montalbán A, Gutiérrez M, Sir-Petermann T, Recabarren SE.

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

- PÓSTER 28** **EFFECTO DE LA TRANSFECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES TRANSGÉNICOS MEDIANTE TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES**
Arias ME, Sánchez E, Águila L y Felmer R.
Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.
- PÓSTER 29** **GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (HCG) MODULA LA SEÑALIZACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE β (TGF- β) EN CELULAS DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO (ESC) FACILITANDO LA INVASION DEL TROFOBLASTO IN VITRO**
Zavaleta K., Gonzalez R., Johnson M.C., Tapia-Pizarro A.
Laboratorio Endocrinología Molecular Reproductiva, Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- PÓSTER 30** **ESTUDIO DEL EFECTO DE CRIOPRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO EN FRÍO SOBRE LA SECUENCIA DE DNA MITOCONDRIAL DE ESPERMATOZOIDES DE SALMON DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*)**
Manuel Lee-Estevez, Giovanni Larama, Elías G. Figueroa, Jorge G. Farías.
Laboratory of Engineering, Biotechnology and Applied Biochemistry (LIBBA). Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
- PÓSTER 31** **EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE INMEDIATA EN EL ENDOMETRIO DE MUJERES CON FALLA REPETIDA DE IMPLANTACIÓN EN CICLOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**
Camila Paredes, Camila Aguirre, Felipe Argandoña, Karina Sequeira, Alberto Palomino.
Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Universidad de Chile.
- PÓSTER 32** **EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE METFORMINA SOBRE MOLÉCULAS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE ADIPONECTINA EN ENDOMETRIOS DE MUJERES HIPERINSULINÉMICAS CON OBESIDAD Y SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS)**
Torres M, Astorga I, Carvajal R, Oróstica L, García V, Romero C, Vega M.
Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico de la Universidad de Chile.
- PÓSTER 33** **THE Rnf19a GENE, HIGHLY EXPRESSED IN SPERMATOCYTES, AND THE Rnf19aP3 PSEUDOGENE SHOWED DIFFERENTIAL EXPRESSION AND CELL-DEPENDENT RESPONSE TO HEAT SHOCK**
Rejas, C.; Villena, J.; San Martín, S; del Mazo, J.; Párraga, M.
Centro de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. Chile.

- PÓSTER 34** **RELACIÓN ENTRE OBESIDAD Y MOLÉCULAS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE ADIPONECTINA, (APPL1/APPL2) EN ENDOMETRIOS DE MUJERES HIPERINSULINÉMICAS CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS).**
Astorga I, Orostica L, Torres M, Carvajal R, Gabler F, García V, Romero C, Vega M.
 Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico de la Universidad de Chile.
- PÓSTER 35** **EFFECTO DE FSH SOBRE LAS CÉLULAS DE GRANULOSA HUMANAS CULTIVADAS EN UN AMBIENTE HIPERANDROGÉNICO E HIPERINSULÍNICO**
Quilaqueo L, Henríquez S, Kohen P, Devoto L.
 Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- PÓSTER 36** **EFFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN EN LA ULTRAESTRUCTURA Y FUNCIÓN MITOCONDRIAL EN ESPERMATOZOIDES DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*).**
Figueroa E, Lee-Estevez M, Ulloa P, Valdebenito I Risopatrón J, Farías J.G.
 Departamento de Ingeniería, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile
- PÓSTER 37** **EFFECTO DE LA ESTREPTOLISINA SOBRE ESPERMATOZOIDES BOVINOS PARA MEJORAR LA TRANSGENESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES (SMGT)**
Sánchez-Villalba E, Arias ME, Loren P, Felmer R.
 Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.
- 19:00 – 20:00 **Conferencia 3**
 Coordinador : Dr. Alfredo Ramírez.
 "ROL DE LAS MITOCONDRIAS EN EL ESPERMATOZOIDE, MÁS ALLÁ DE LA BIOENERGÉTICA"
 Dr. **Joan Enric Rodriguez Gil**, Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- 20:00 – 20:30 Charla Técnica Merck
- Domingo 4**
- 9:00 – 10:30 **Simposio 3. Cánceres del Tracto Reproductivo Masculino**
 Coordinador: Dr. Héctor Contreras
 "CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS DEL CÁNCER DE PENE".
 Dr. **Iván Gallegos**, Universidad de Chile, Chile.

"FARMACOGENÉTICA DE LA QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER TESTICULAR".

Dr. **Luis Quiñonez**. Universidad de Chile, Chile.

"NUEVOS MARCADORES DIAGNÓSTICOS Y PRONÓSTICOS EN CÁNCER DE PRÓSTATA".

Dr. **Héctor Contreras**. Universidad de Chile, Chile.

10:30 - 11:00

Café

11:00 - 13:00

Presentaciones Trabajos Libres 2

Coordinador: Dr. Héctor Contreras

11:00 - 11:15

EFFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZEOLITA CARGADAS CON 2-METOXIESTRADIOL EN CÉLULAS TUMORALES DE PRÓSTATA

Mena D., Díaz P., Guajardo E., Mena J., Cárdenas H., Orihuela P. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología—USACH.

11:15 - 11:30

LOS TÓXICOS AMBIENTALES ENDOTHALL Y NONILFENOL INDUCEN LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) VÍA LA PROTEÍNA CINASA A (PKA), EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN

Gallardo LM, Puga Molina LA, Buffone MG, Moreno RD. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

11:30 - 11:45

EXPRESIÓN DE CATEPSINAS B, D Y L EN RELACIÓN AL GRADO DE FLOTABILIDAD EN HUEVOS Y EMBRIONES DEL PEZ DORADO *Seriola lalandi*

Rodríguez J, Hernández E, De los Reyes M, Palomino J. Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

11:45 - 12:00

COMPARATIVE STUDY OF PRONUCLEAR FORMATION AFTER INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI) BETWEEN BOVINE AND MOUSE ICSI: EFFECT OF GAMETE TYPE AND QUALITY

L. Aguila, R. Felmer, R. Fissore. Laboratory of Reproduction, Centre of Reproductive Biotechnology (CEBIOR-BIOREN), Faculty of Agriculture and Forestry Sciences, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

12:00 - 12:15

LA REGULACIÓN HORMONAL DE LA RESPUESTA INMUNE INMEDIATA ES DISFUNCIONAL EN EL ENDOMETRIO DE MUJERES CON ENDOMETRIOSIS DURANTE EL PERIODO DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

Felipe Argandoña, Camila Aguirre, María José Miranda, Alex Muñoz, Paulina Kohen, Luigi Devoto, Alberto Palomino. Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Departamento de Obstetricia y Ginecología Centro, Universidad de Chile.

- 12:15 – 12:30 **LA ACTIVACION DE PPAR γ REGULA EL METABOLISMO ENERGÉTICO DE LA CÉLULA DE SERTOLI (CS)**
Agostina Gorga, Gustavo Rindone, Mariana Regueira, Eliana Pellizzari, María del Carmen Camberos, María Fernanda Riera, María Noel Galardo, Silvina Beatriz Meroni.
 Centro de Investigaciones Endocrinológicas, "Dr César Bergadá", CONICET-FEI-División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez
- 12:30 – 12:45 **LA AUSENCIA PERIFÉRICA DEL RECEPTOR DE KISSPEPTINA ALTERA LA EXPRESIÓN GÉNICA DE FACTORES MOLECULARES ASOCIADOS AL DESARROLLO FOLICULAR Y OVULACIÓN**
Fernandois D, Na A, Velásco I, Tena-Sempere M, Lara HE y Paredes AH.
 Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile
- 12:45 – 13:00 **DETERMINACION DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE CELULAS MADRE MESENQUIMÁTICAS DERIVADAS DE MEDULA OSEA Y TEJIDO ADIPOSO FETAL BOVINO**
Cahuascanco B, Jervis M, Huamán O, Cortéz J, Cuevas F, Bahamonde J, Retamal P, Torres CG, Peralta OA.
 Laboratorio de Células Madre, Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- 13:30 – 15:00 Almuerzo
- 15:00 – 16:00 **Conferencia 4**
 Coordinadora: Dra. Emilce Díaz
 "EL PROCESO DE EXCLUSIÓN DE AMP α ACTIVA VÍAS MOLECULARES ASOCIADAS A LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA EN BOVINOS".
 Dra. **Silvina Pérez Martínez**, CEFYBO-CONICET, Buenos Aires, Argentina.
- 16:00 – 16:30 Café
- 16:45 – 18:15 **Simposio 4. Avances en Reproducción Animal.**
 Coordinador: Dra. Mónica De los Reyes
 "FACTORES ESPERMÁTICOS Y OVOCITARIOS QUE AFECTAN LA EFICIENCIA DE LA ICSI EN BOVINOS".
 Dr. **Ricardo Félmer**, Universidad de La Frontera. Temuco, Chile.
 "ESTRÉS OXIDATIVO EN LA SUBFERTILIDAD DE LOS OVINOS".
 Dr. **Víctor Hugo Parraguez**, Universidad de Chile, Chile.

" β -NGF: LAS SEÑALES QUÍMICAS PARA LA INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN LAS LLAMAS".

Dr. **Marcelo Ratto**, Universidad Austral de Chile, Chile.

18:30 – 19:30

Conferencia 5

Coordinador: Dr. Jorge Farías

"CONTRIBUTION OF FISH SPERM MOTILITY STUDIES TO SPERMATOLOGY: AN UPDATE OF OUR RECENT RESULTS".

Dr. **Jacky Cosson**, CNRS & Univ. P. M. Curie, Marine Station, Villefranche sur mer, France and University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic.

21:00

Ceremonia y Cena de Clausura

Lunes 5

9:00-10:30

Reunión de socios

**MINI CONFERENCIA
PREMIO SCHR**

REVERSIÓN FENOTÍPICA DE CÉLULAS TRONCALES TUMORALES AISLADAS DE CARCINOMA PROSTÁTICO HUMANO

Valenzuela R, Cifuentes F, Miyaoka F, Castillo V, Contreras HR., Castellón EA.
Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. Programa de Fisiología y Biofísica. ICBM.
Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago. Chile.

INTRODUCCIÓN: Existe evidencia que las células troncales tumorales (CSCs) del cáncer prostático (CaP) serían responsables de la resistencia a drogas y metástasis. Varias vías de señalización y factores de transcripción se han relacionado con la mantención del estado troncal en las CSCs. El bloqueo selectivo de genes de pluripotencialidad podría revertir algunas características funcionales de las CSCs.

OBJETIVO: Evaluar la inhibición selectiva de los genes de troncalidad SOX2, KLF4 y MYC sobre la resistencia a drogas y la capacidad metastásica de las CSCs de CaP.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se utilizaron muestras tumorales obtenidas de prostatectomías radicales. Las células se cultivaron en condiciones que favorecen el crecimiento de CSCs (formación de esferas) las cuales fueron aisladas y caracterizadas. Se determinó la sobreexpresión de genes de pluripotencialidad mediante qPCR. Se seleccionaron y silenciaron mediante shRNAs específicos, los genes SOX2, KLF4 y MYC. Posteriormente, se evaluaron, mediante ensayos funcionales *in vitro*, las propiedades de clonogenicidad, autorenovación, proliferación, apoptosis y resistencia a drogas de las CSCs silenciadas. Finalmente, se evaluó la capacidad metastásica de estas células utilizando un modelo ortotópico de CaP en ratones inmunocomprometidos NOD/SCID.

RESULTADOS: Las prostatósferas obtenidas presentaron características génicas y funcionales de troncalidad. Los factores transcripcionales de pluripotencialidad SOX2, KLF4 y MYC se encontraron sobreexpresados en las CSCs de CaP. El silenciamiento de estos genes (>60%) resultaron en una sensibilización de las CSCs a Topotecan, un aumento en la apoptosis y disminución en las actividades proliferativa, clonogénica e invasiva. *In vivo*, el silenciamiento de SOX2 resultó en una disminución del crecimiento tumoral (50%) y una inhibición de la metástasis.

CONCLUSIONES: Los genes de troncalidad analizados en este trabajo son relevantes para la mantención de las características de la CSCs de CaP promoviendo la evasión de la apoptosis y las propiedades de proliferación, clonogenicidad, invasión y resistencia a drogas. El gen SOX2 parece ser determinante en la capacidad metastásica de las CSCs y puede ser considerado como un blanco terapéutico interesante en el CaP.

Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1140417 (EAC) y 1151214 (HRC).

CONFERENCIAS

EXTENDING LIFE AND THE BACTERIA OF THE ATACAMA DESERT

Juan A. Asenjo

Centre for Biotechnology and Bioengineering, CeBiB. University of Chile.
Beauchef 851, Santiago, Chile, juasenjo@ing.uchile.cl

Biotechnology is as old as the human species. The first man discovered fermentation as well as the action of enzymes and thus was able to manufacture beer, bread, wine and cheese. At the end of the 18 century Jenner invented vaccination and in the middle of the 19 century Pasteur discovered the action of microorganisms. In the 20th century the discovery and use of antibiotics had an impressive impact on the quality and life expectancy of human beings. This resulted, in the second half of that century, in the discovery and utilization of genetic engineering which resulted in the industrial production of human insulin and thus the worldwide treatment of diabetes today.

Similarly, vaccines have been produced against Hepatitis B, as well as human growth hormone and different treatments for cancer and clearly human health will be revolutionized even more during the 21st century with a profound effect on our lives. Synthetic Biology allows today the mathematical modelling and computational simulation of biological and biotechnological systems with the aim of carrying out biological experiments "in silico" and the study, analysis and optimization of such systems without the need, for as much experimental work. This talk will present the basic principles behind the developments that have allowed the revolution of Biotechnology and Synthetic Biology, including Metabolomics, Proteomics, Genomics and Protein Engineering and Metabolic Engineering. Using such tools we have modelled proteins with unusual properties such as those with high activity at low temperatures found in Antarctica and the metabolism of yeast and bacteria. These models are being used for the "in silico" design of novel bacteria for the efficient production of chemicals, novel antibiotics and anticancer agents. In addition to cold active enzymes from Antarctica with unique properties and potential applications in medical, detergent and biofuels we have isolated bacteria from the Atacama Desert from hyper-arid soils with interesting biodiversity which produce totally new antibiotics and anticancer agents. The use of Synthetic Biology to design and optimize more efficient bacteria and yeast will be shown in this presentation.

SIGNALING PATHWAYS INVOLVED IN MAMMALIAN SPERM CAPACITATION

Pablo E. Visconti

Department of Veterinary and Animal Sciences. University of Massachusetts.

Mammalian sperm become fertilization competent in the female tract in a process known as capacitation. This process is correlated with functional changes in sperm parameters such as the activation of sperm motility known as hyperactivation and the preparation to undergo a physiologically induced acrosome reaction. Taking into consideration the highly differentiated and compartmentalized nature of sperm, it can be postulated that the molecular basis of capacitation should account for independent changes occurring in different sperm compartments such as the flagellum (e.g. hyperactivation) and the head (e.g. preparation for the acrosome reaction). At the molecular level, capacitation is associated with the activation of a PKA-dependent phosphorylation cascade and with hyperpolarization of their membrane potential. It has been shown in multiple species that activation of PKA is needed for hyperactivation and to prepare the sperm for the acrosome reaction. Capacitation is also associated with the increase in intracellular Ca^{2+} concentrations. In this presentation, we will present a series of results in which different knock out model are used to investigate the interaction between cAMP and Ca^{2+} signaling pathways. In addition, we will show experiments designed to identify the tyrosine kinase responsible for the capacitation-associated increase in tyrosine phosphorylation.

ROL DE LAS MITOCONDRIAS EN LOS ESPERMATOZOIDES: MÁS ALLÁ DE LA BIOENERGÉTICA

Joan Enric Rodríguez Gil

Dept. Medicina y Cirugía Animal, Universidad Autónoma de Barcelona. E-08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), España

Generalmente se considera que el principal rol de las mitocondrias en las células eucariotas es el de la producción de energía. Esta consideración, sin embargo, olvida la existencia de otros roles importantísimos gestionados por estos orgánulos subcelulares. En el caso de los espermatozoides de muchas especies de mamíferos, el olvido de estos otros roles es un grave error, considerando que en ellos la mayor parte de la energía obtenida no es de origen mitocondrial. Por tanto, en especies como el cerdo, el rol primordial de las mitocondrias espermáticas no será la producción de energía, tomando preeminencia otros roles como el control del metabolismo del calcio y las modificaciones subcelulares de tipo para-apoptótico esenciales para la consecución del estado de capacitación y la subsecuente reacción acrosómica. Igualmente, otras funciones como el control del patrón específico de motilidad que presenta el espermatozoide dependiendo del momento y función son estrictamente controladas por las mitocondrias espermáticas. No conocemos los mecanismos que se ponen en marcha dentro de las mitocondrias para permitirles ejercer todos estos roles en el momento preciso. Sin embargo, sí que podemos colegir que la modulación se inicia en algunas mitocondrias "centinelas", situadas en los extremos de la pieza intermedia. Estas mitocondrias transmiten las señales oportunas al resto a través de mecanismos relacionados con la red actina-mitofusina que une a todos estos orgánulos en la pieza intermedia espermática. Por lo tanto, resulta necesario entender la función mitocondrial espermática más como un regulador global de su funcionamiento que como una mera fábrica energética.

EL PROCESO DE EXCLUSIÓN DE AMPc ACTIVA VÍAS MOLECULARES ASOCIADAS A LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA EN BOVINOS

(The extrusion of cAMP activates molecular pathways associated with sperm capacitation in bovines)

Carlos Agustín Alonso¹, Claudia Osycka-Salut¹, Luciana Castellano¹, Raquel Lottero¹, Carlos Davio² y **Silvina Perez Martinez**¹.

(1) Lab. de Biología de la Reproducción en Mamíferos, CEFYBO-CONICET, Buenos Aires, Argentina; (2) Lab. de Farmacología de Receptores, Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

La capacitación espermática es un proceso que ocurre dentro del tracto reproductor de la hembra que le confiere al espermatozoide la capacidad de fecundar a un oocito. Ese proceso correlaciona con cambios estructurales y bioquímicos que involucra entre otros, un incremento en la concentración de HCO_3^- y de Ca^{2+} , la activación de la adenilato ciclasa soluble, el incremento en los niveles de AMPc y la consecuente activación de PKA, el incremento de proteínas fosforiladas en residuos tirosina y el desarrollo de la motilidad hiperactivada. La regulación de los niveles de AMPc intracelulares es un evento indispensable para la adquisición de la capacidad fecundante. En esta disertación se expondrán resultados relacionados con la participación del proceso de exclusión del AMPc, a través del transportador MRP4, y las vías de señalización que activa el AMPc extracelular asociadas a la capacitación espermática en el espermatozoide bovino.

FONCyT PICT 2012 1195; PICT 2014 2325

CONTRIBUTION OF FISH SPERM MOTILITY STUDIES TO SPERMATOLOGY: AN UPDATE OF OUR RECENT RESULTS.

J. Cosson

CNRS & Univ. P. M. Curie, Marine Station, Villefranche sur mer, France and University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic

In fish species with external fertilization, spermatozoa are delivered at spawning into the surrounding medium: they immediately activate the movement of their flagella. Therefore, they are submitted to various physical interactions: 1- an osmotic stress is perceived at the sperm membrane level, 2- various trans-membrane exchanges (ions, gas (CO₂) or water transfer). 3- some physical relationships between flagella and surfaces (such as egg surface) leading to significant changes in their movement efficiency. 4- chemical cross-talk between sperm and egg called chemo-attraction.

Fish spermatozoa are very fast swimmers with flagellar beat frequency up to 70 - 100 Hz. Their respiration rate and ATP production by mitochondria are too low compared to ATP consumption by flagellar motors, leading to intracellular ATP level decreases during the motility period, precociously impairing motility and ionic or water pumps. After one to several minutes, the lack of ATP leads to full motility stop, a reversible process.

In the recent past, we have been able obtain, of fish spermatozoa, results contributing to a better understanding in spermatology: osmoregulation in flagella motility signaling; reactive oxygen species; protein phosphorylations involved in this signaling; energetic in the mechano-chemical axoneme in conjunction with biophysical constraints (viscosity, temperature) imposed by the fluid around sperm cell; modelisation and simulation approach. This set of results is discussed in relation with the knowledge acquired in mammal spermatology.

Acknowledgements: We are thankful to FONDECYT for attribution of project 1151315 to Prof. Jorge Farias and for supporting the author.

SIMPOSIOS

Simposio 1
Neuroendocrine Regulation of Female
Reproduction

PARTICIPATION OF GnIH AND STRESS IN THE ONSET OF POLYCYSTIC OVARY AND AGING. RAT AND HUMAN STUDIES

Lara HE

Centre for Neurobiochemical Studies in Endocrine Diseases. Neurobiochemistry Lab, Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile.

This Symposium intends to discuss whether Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH) – a novel neuropeptide that inhibits reproductive function, participates in the onset of polycystic ovary syndrome (PCOS). Bentley's lab in Berkeley CA, was the first to discover the presence and action of GnIH in human brain and in gonads of many species. Lara's Lab, the Chilean counterpart at the U de Chile was the first to demonstrate that sympathetic nerve activity participates in the development of PCOS. It has been established a rat model which involves a chronic exposure to sympathetic stress for studying this reproductive disorder. The goal of this symposium is to present in a combined way the expertise of these two labs and investigate the potential role of GnIH in the onset of PCOS. One of the key symptoms of PCOS is the excessive production of androgens (male sex steroid hormones). This arises partly as a result of excess production of luteinizing hormone (LH) from the pituitary gland, but there might also be local regulation of androgen production from the ovary. Importantly, A related peptide that is also present in the brain and in the ovary is Kisspeptin. This peptide as GnIH does, also regulate GnRH at the brain and it also acts at the ovary to regulate follicular development. GnIH is synthesized in the brain and the gonads, and it acts to inhibit LH release from the pituitary gland and to decrease production of sex steroid hormones, including androgens, from the ovary. Then a complex interaction between both peptides could act locally at the ovary to regulates ovary function. Thus, in this symposium we propose to combine our areas of expertise and investigate the potential for a role of GnIH and Kisspeptin in the etiology of PCOS.

Proyecto REDES CONICYT 140061 Y FONDECYT: N°1130049

GONADOTROPIN-INHIBITORY HORMONE, STRESS AND REPRODUCTION

George E. Bentley, Lance J. Kriegsfeld and Daniela Kaufer.

Department of Integrative Biology and Helen Wills Neuroscience Institute, University of California at Berkeley, USA.

Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) acts to inhibit reproduction at all levels of the hypothalamo-pituitary-gonad (HPG) axis. For example, GnRH neurons express GnIH receptor and decrease firing in response to GnIH application. The anterior pituitary gland of all species studied also expresses GnIH receptor, and GnIH application decreases pituitary gonadotropin synthesis and release. The gonads of all species studied synthesize GnIH and express its receptor, and GnIH can influence gonadal steroid production directly. Exposure to stress causes changes in GnIH expression in the hypothalamus and gonads in birds and mammals *in vitro* and *in vivo*. GnIH neurons also express glucocorticoid receptor. Thus, GnIH may be involved in stress-induced reproductive inhibition. Here I discuss regulation of GnIH in the avian brain and gonads in response to different stressors and compare our findings to those in mammals, including humans. Our data suggest that GnIH responsiveness to stress appears to be conserved across species, but the response of specific tissues and the direction of GnIH regulation can vary according to species, stressor, time of year and ecological context.

PARTICIPATION OF RFRP-3 IN THE PRODUCTION OF POLYCYSTIC OVARY PHENOTYPE INDUCED BY A COLD STRESS MODEL IN THE RAT

Squicciarini V¹, Bentley GE², Sir-Petermann T³, C Miranda⁴ and Lara HE¹

¹Neurobiochemistry Lab, Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile. ² Reproductive Neuroendocrinology Lab, UC Berkeley, California, USA. ³Endocrinology and Metabolism Laboratory, West Division, School of Medicine, University of Chile, ⁴Clinical Hospital, University of Chile, Santiago, Chile Santiago, Chile

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common ovarian disease in reproductive age women. There is an increased secretion of gonadotropin releasing hormone (GnRH), causing changes in ovarian function. In human and rats it is been described an increase in sympathetic activity related to the syndrome. Another neuropeptide regulating GnRH is inhibiting hormone gonadotrophin (GnIH). GnIH inhibits the production of GnRH in the hypothalamus. It has been determined the presence of its receptor (GPR147 or NPFF1, mammalian homolog) and RFRP-3 (mammalian homolog of GnIH) in the ovary and although little is known of its local participation at the ovary, it could act as regulator of ovarian function. We examined whether RFRP-3 is a component in the development and maintenance of PCOS in a model of rats subjected to cold stress to produce over-sympathetic activation. As a human correlative, we analyze the variations of RFRP-3 and NPFF1 in normal ovaries versus PCOS ovaries. In rats, ovarian RFRP-3 was decreased, unlike in the hypothalamus, where there was an increasing trend of this peptide. There were no changes in the NPFF1 levels. On the other hand, an increased content of RFRP-3 in ovaries of women with increasing age (period in which there is spontaneous appearance of ovarian cysts) was observed. This would provide the first evidence of the role of RFRP-3 in the control of ovarian function during stress and the development of PCOS.

Proyecto REDES CONICYT 140061 Y FONDECYT: N°1130049

KISSPEPTIN IS INVOLVED IN THE REGULATION OF FOLLICULAR DEVELOPMENT IN RAT OVARY DURING REPRODUCTIVE LIFE

Paredes A.H., Fernandois D., Na. E., Cuevas F., Las Heras M., Lara H.E.
Laboratory of Neurobiochemistry, Faculty of Chemistry and Pharmaceutical Sciences,
Universidad de Chile,

Kisspeptin regulates of GnRH secretion in the hypothalamus and is present in several regions of the central nervous system and the peripheral organs. Kisspeptin is express in the ovary and celiac ganglion and the distinct changes found through puberty to adulthood strongly suggest a novel circuit that regulates ovarian function. Intraovarian administration of a kisspeptin antagonist (p234) in vivo delays vaginal opening and alters the estrous cycle, further supporting the importance of this peptide in ovarian function. We determined the ovarian kisspeptin expression and its action on follicular development during reproductive aging in rats. Kisspeptin expression in the ovary was increase from subfertile to infertile period and was directly correlate with the increase in ovarian norepinephrine already observed with aging, suggesting that Kisspeptin may be under the control of the sympathetic innervation of the ovary. In fact, we found that either blocking beta-adrenergic receptors in the ovary or sectioning the superior ovarian nerve produces a decrease in kisspeptin levels. In addition, kisspeptin is involved in follicular dynamics. The intraovarian administration of kisspeptin produced an increase in corpora lutea numbers in fertile and subfertile period, which was reverse by p234 administration. We propose that intraovarian kisspeptin negatively participates in the acquisition of FSHR, because the culture of ovaries in the presence of kisspeptin decreased of level de FSHR induced by isoproterenol (agonist beta-adrenergic). In conclusion, intraovarian kisspeptin is regulate by sympathetic nerves via a beta-adrenergic receptor and participates in the regulation of follicular development in the rat ovary during reproductive ageing.

FONDECYT 1120147, PROYECTO REDES 140061

Simposio 2

Investigadores jóvenes

GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) EN EL DIALOGO PARACRINO EMBRIO-MATERNO

(Human chorionic gonadotrophin (hCG) at the embryo-maternal paracrine dialog)

Alejandro Tapia Pizarro

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

La hCG derivada del embrión no sólo participa en el rescate del cuerpo lúteo evitando la menstruación sino que también señala a través de los receptores de LH/hCG endometriales, constituyendo un componente fundamental del dialogo molecular en la interfase embrio-materna. La evidencia aportada por nuestro grupo y por otros, muestran que hCG posee un rol importante en el proceso de implantación embrionaria modulando la función endometrial y remodelación de la matriz extracelular (MEC). HCG señala en células de estroma endometrial humano (ESC) activando la vía Erk1/2, la cual a su vez modula la expresión génica de marcadores de función endometrial como el receptor de progesterona, HOXA-10 y sFRP4. Además, hCG modifica el perfil de secreción de moléculas relacionadas con la remodelación de la MEC en ESC *in vitro*. Esto aumenta el potencial invasivo de células derivadas de trofoblasto extravellocitario (HTR8/SVneo) en presencia de medio condicionado de ESC tratadas con hCG. Por otro lado, la citoquina TGF-beta, que es producida en el endometrio durante la ventana de implantación, paradójicamente inhibe la invasión del trofoblasto en el endometrio. Nuestro grupo ha evidenciado que hCG modula la señalización de TGF-beta en ESC, silenciando la activación de su vía canónica mediada por Smad2/3 en ESC, regulando el perfil de secreción de moléculas involucradas en la remodelación de la MEC y facilitando la invasión de células HTR8/SVneo *in vitro*. De esta manera, se concluye que hCG modula la comunicación entre en embrión y el endometrio e induce cambios que favorecen una implantación embrionaria y placentación adecuadas.

FONDECYT 11100443 y 1140614

HUMAN AMNIOTIC MEMBRANE, FROM BASIC RESEARCH TO CLINICAL APPLICATIONS

(Membrana Amniótica Humana, desde la investigación básica a la aplicación clínica)

San Martín S¹, Garrido M^{1,2}, Párraga M¹, Riegel M¹, Montedónico S^{1,2}

¹Centro de Investigaciones Biomédicas, Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso, Chile. ²Unidad de Cirugía Pediátrica, Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso, Chile.

Amniotic membranes are usually discarded following birth and their use do not elicit ethical debate. This tissue is a good choice for regenerative medicine because of both their phenotypic plasticity and immunomodulatory capability and has been effectively used in both clinical and experimental setting.

We describe two different uses of amniotic membrane: as a therapeutic tool in an animal model of liver fibrosis and as an alternative to contact lenses in a clinical trial in ocular bullous keratopathy (BK).

Animal model: Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: sham surgery, bile duct ligation (BDL) (liver fibrosis model) and bile duct ligation plus amniotic membrane on liver (BDL+AM). The animals were sacrificed on the 2nd, 4th, and 6th postoperative weeks. Histopathological examination of liver tissue was performed with hematoxylin-eosin and Sirius red stainings. On the 6th postoperative week, ductular reaction, portal fibrosis and bile plugs were markedly reduced in the BDL+AM compared to the BDL group on histopathological examination. Collagen surface area was $26.96 \pm 11.63\%$ in BDL group versus $14.57 \pm 9.37\%$ in BDL+AM group ($p < 0.01$).

Clinical Trial: Patients were from the Ophthalmology Unit of Hospital Carlos Van Buren in Valparaíso, Chile. They were randomized into 2 groups: amniotic membrane and therapeutic contact lenses. Eye pain severity (visual analogue scale) was compared among the two groups mentioned, for a period of 6 months.

During the observation period, 20 patients with BK awaiting corneal transplant were studied. Pain from the surgery was statistically significant lower at 7 ($p=0.005$) and 30 days ($p=0.002$) but higher at 90 days ($p=0.042$).

Our studies demonstrate that Amniotic Membrane constitutes an efficient and safe therapy to the use on liver fibrosis model and ocular human diseases.

CI 05/2006 (Universidad de Valparaíso, Chile).

EL TRATAMIENTO PRENATAL CON METFORMINA IMPIDE AUMENTO DE ESTRADIOL ENDÓGENO Y MEJORA PARCIALMENTE LA FUNCIÓN OVÁRICA EN RATAS HIJAS DE MADRES OBESAS

Daniela Álvarez¹, Sofía Olguín¹, Karina Ceballo¹, Daniela Fernandois², Jonathan Martínez³, Ramón Sotomayor-Zárate³ and **Gonzalo Cruz**¹

¹ Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. ² Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile ³ Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

En Chile, un alto porcentaje de mujeres embarazadas tienen obesidad, lo que conduce a alteraciones del embarazo y el parto. Además, hijos de madres obesas tienen mayor probabilidad de sufrir enfermedades cardiovasculares, metabólicas y reproductivas. En nuestro laboratorio hemos demostrado que la obesidad gestacional en ratas se relaciona con obesidad, disfunción hepática, aumento de estradiol sérico, pubertad precoz y alteraciones foliculares ováricas en la progenie. El objetivo de este trabajo fue determinar si la metformina previene estas alteraciones en ratas hijas de madres obesas. Ratas de la cepa Sprague Dawley se distribuyeron en 3 grupos: Dieta control (13% kcal de grasa); Dieta alta en grasas (HF) (60% Kcal en grasas) y HF + Metformina (60% Kcal en grasas + metformina 150-200 / Kg). La dieta se administró durante 1 mes previo a la preñez, durante la preñez y la lactancia. La metformina se administró desde una semana antes de la preñez, durante la preñez y la lactancia. La metformina falló en evitar el aumento de peso en las hijas de madres obesas. Al día postnatal (PND) 14 metformina tendió a evitar el aumento de estradiol, mientras que al PND60 metformina impidió significativamente el aumento estradiol. Coherentemente, CYP3A2 hepática (enzima que metaboliza el estradiol) se redujo en los hijos de madres obesas y esta disminución fue evitada por el tratamiento con metformina. La generación de quistes ováricos también fue prevenida por la metformina en ratas hijas de madres obesas. En conclusión, la metformina previno algunas alteraciones reproductivas provocadas por la obesidad materna en la descendencia.

Financiamiento: FONDECYT Iniciación N° 11130707, Programa FONDECYT-CONICYT

Simposio 3
Cánceres del Tracto Reproductivo
Masculino

CARACTERÍSTICAS CLINICO PATOLOGICAS DEL CANCER DE PENE

(Clinical and morphologic features of penile cancer).

Iván Gallegos Méndez

Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universidad de Chile. Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

El cáncer de pene es muy infrecuente en nuestro medio, Europa y EEUU, alcanzando menos de 1%. En países como Paraguay o Brasil alcanza hasta 10% de los cánceres en hombres. Las lesiones precursoras corresponden a las asociadas a HPV como neoplasia intraepitelial (NIE) no diferenciada y la asociadas a inflamación crónica llamadas NIE diferenciadas. El factor de riesgo más relevante es la falta de higiene de los pacientes y los protectores más conocidos son la circuncisión y buena higiene.

El tipo histológico más frecuente corresponde al carcinoma escamoso en sus diversas variantes y su grado de diferenciación es un factor pronóstico. Las lesiones pueden ser exo o endofíticas según su forma de crecimiento y esto está asociada a mejor o peor pronóstico. La diseminación inicial es a linfonodos inguinales y posteriormente metástasis especialmente a hígado y pulmón. El manejo terapéutico habitual es con cirugía resectiva total o parcial, linfadenectomía y tratamiento adyuvante como radioterapia. El manejo paliativo es con quimioterapia.

El pronóstico de pacientes con y sin compromiso linfonodal es de supervivencia a 5 años de 35% y 85%. Para un mejor control de la enfermedad, los esfuerzos deben focalizarse en la educación para una detección precoz y lograr un mejor manejo clínico.

Financiamiento: Fondecyt # 1151214

FARMACOGENÉTICA DE LA QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER TESTICULAR

(Pharmacogenetics of Chemotherapy in Testicular Cancer)

Luis A. Quiñones Sepúlveda

Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. <https://www.facebook.com/CQFUdeChile>, www.farmacogenetica.cl

En Chile, cáncer testicular (CaT) representa el 1-2% de todos los cánceres en los hombres y su mortalidad corresponde a 1,1/100.000, valor mayor que la tasa mundial (0,3/100.000 hombres). A pesar de su baja incidencia y mortalidad, el CaT afecta principalmente a los hombres jóvenes en edades productivas y reproductivas (7,9/100.000), generando un problema de salud pública y económica al país. El tratamiento estándar para CaT es la orquiectomía inguinal y la quimioterapia. Esta última produce variados efectos adversos, incluyendo la supresión del sistema inmune, toxicidad hematológica y daño pulmonar, con diferencias sustanciales interindividuales.

Nuestro grupo ha dirigido sus esfuerzos hacia la determinación de variantes genéticas de proteínas relacionadas con la biotransformación de quimioterapéuticos y reparación del ADN como variables de respuesta a la farmacoterapia de la patología, con objeto de diseñar tratamientos más efectivos y con menores efectos adversos. Así mismo, se han evaluado algunas de estas variantes como biomarcadores de susceptibilidad a la patología.

Los resultados preliminares de esta investigación muestran asociación entre variantes genéticas de MDR1 y efectos adversos en la terapia con Etopósido + cisplatino, que los pacientes sometidos al esquema Bleomicina + Etopósido + cisplatino que presentan los genotipos GSTM1+/- y BLMHA/G son más propensos a desarrollar leucopenias grado 3-4 y que la toxicidad hematológica es más frecuente en pacientes con genotipo BLMHA/G y ERCC18092C/A. Por otro lado, hemos encontrado que variantes polimórficas de CYP1A1 y GSTM1 serían potenciales biomarcadores de susceptibilidad a la patología y que la exposición medioambiental jugaría un papel relevante.

Agradecimientos: A los pacientes del Instituto Nacional del Cáncer y el Hospital San Juan de Dios por su altruista aporte a la investigación farmacogenómica.

Financiamiento: FONDECYT # 1140434

NUEVOS MARCADORES DIAGNÓSTICOS Y PRONÓSTICOS EN CÁNCER DE PRÓSTATA

(New markers in prostate cancer cells)

Héctor R. Contreras M.

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

El cáncer de próstata (CaP) es la segunda causa de muerte por cáncer en hombres en Chile, y su incidencia ha aumentado en los últimos años. En el CaP, el diagnóstico, pronóstico y tratamiento, están asociados con cambios histopatológicos que ocurren en la glándula. Estos cambios fenotípicos han sido foco de estudio en el marco del programa de reprogramación celular denominado Transición Epitelio Mesénquima (TEM).

Nuestro grupo ha centrado sus esfuerzos en el estudio de algunos marcadores celulares y moleculares que pudieran tener utilidad clínica. Entre estos, hemos estudiado la expresión de moléculas de adhesión celular como E-cadherina y sindecano-1 (SDC-1) y factores transcripcionales (FT) como Snail, Slug, TWIST, ZEB1/2 y que están asociados con la TEM. Nuestros estudios han utilizado plasma y biopsias de pacientes en diferentes estados de progreso del CaP (diferente grado de agresividad de la patología) y modelos celulares para análisis in vitro.

Los resultados obtenidos sugieren que SDC-1/SDC-2 pueden ser utilizados como marcadores de riesgo de recidiva bioquímica de CaP en pacientes con enfermedad clínicamente localizada. Además, al aumentar la malignidad del CaP, mayor es la expresión de FTs como Snail, Slug, ZEB1/2. Sobreexpresión o silenciamiento de estos FTs, incrementan o disminuyen las propiedades agresivas en líneas celulares de CaP. Algunos FTs (ZEB1) pueden asociarse a regiones promotoras de moléculas de adhesión (SDC-1) reprimiendo su expresión en modelos celulares in vitro. La represión de SDC-1 por ZEB1 podría ser relacionada a una etapa inicial del CaP. Los resultados obtenidos indican que la disminución de SDC-1 podría ser utilizado como marcador diagnóstico del CaP y que FTs podrían ser un blanco terapéutico en el CaP, promoviendo la malignización y la TEM.

Financiamiento: FONDECYT # 1110269 y 1151214

Simposio 4

Avances en Reproducción Animal

FACTORES ESPERMÁTICOS Y OVOCITARIOS QUE AFECTAN LA EFICIENCIA DE LA ICSI EN BOVINOS

Dr. Ricardo Felmer D.

Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. Email: ricardo.felmer@ufrontera.cl

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), es una técnica de reproducción asistida utilizada ampliamente en animales de laboratorio. En humanos, esta técnica ha tenido un importante desarrollo en últimos años alcanzado aplicaciones clínicas para resolver problemas de fertilidad asociados al factor masculino. Sin embargo, su aplicación en animales domésticos ha sido menos exitosa, particularmente en la especie bovina, debido a que la eficiencia en la generación de embriones mediante esta técnica es muy inferior a la observada en otras especies. Diversos factores se han identificado que afectan la eficiencia de la ICSI en el bovino, tales como la inadecuada activación ovocitaria, asincronía en la formación del pronúcleo masculino y femenino, inadecuada capacitación del espermatozoide previo a la microinyección, y la introducción de las membranas espermáticas y el contenido acrosomal, que normalmente no ingresan al ovocito durante la fecundación. La ICSI es una valiosa herramienta de investigación para estudiar la interacción entre el ovocito y el espermatozoide durante la fecundación y posee importantes aplicaciones en producción animal para la generación de animales de alto valor genético con el sexo deseado, para recuperar especies de alto valor con problemas de fertilidad o que hayan muerto, y más recientemente, como una herramienta alternativa para la generación de animales transgénicos de interés en biomedicina y ganadería. No obstante, su éxito en el bovino depende de la disponibilidad de un protocolo eficiente que permita la generación de una alta tasa de embriones y de buena calidad.

FONDECYT 1160467, CONICYT, Chile.

ESTRÉS OXIDATIVO EN LA SUBFERTILIDAD DE LOS OVINOS

(Oxidative stress in ovine sub-fertility)

Parraguez VH¹⁻², Cofré E¹, Raggi LA¹, Peralta O¹, González-Bulnes A³

¹Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, ²Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. ³Comparative Physiology Group SGIT-INIA, INIA-Madrid, España.

La especie ovina es un recurso relevante para las poblaciones campesinas que habitan en los territorios altos de América y Asia. Los ovinos fueron introducidos a las tierras altas de Sudamérica hace unos 500 años y hoy cohabitan estos territorios con los camélidos sudamericanos. A pesar de la gran cantidad de generaciones que ha permanecido esta especie en estos territorios, los parámetros involucrados en la eficiencia reproductiva son significativamente inferiores en comparación con ovinos mantenidos a baja altura. En rebaños de ovejas nativas de la altura se ha observado que la fertilidad, evaluada ecográficamente 30 días después de un periodo de montas de 35 días, está disminuida en ~50%, lo que se asocia a alteraciones de la dinámica folicular ovárica y menor desarrollo luteal, donde la baja expresión de IGF-I e IGF-II parecen jugar un papel relevante. Asimismo, el crecimiento intrauterino está significativamente restringido, dando origen a corderos al menos 15% más livianos que a nivel del mar, lo que los hace más vulnerables durante la etapa neonatal. La restricción del crecimiento fetal se evidencia a pesar de las compensaciones morfológicas de la placenta, donde los principales cambios observados son el incremento de la masa total y del tamaño individual de los placentomas, con disminución del número total de ellos. Estas modificaciones ocurren asociadas a una marcada angiogénesis, sobre todo de la porción fetal de los placentomas, con un significativo incremento del lecho vascular. En general, los cambios reproductivos observados en las ovejas nativas de la altura, son acentuados en ovejas que son expuestas de manera aguda a este ambiente. En el caso de los carneros, estos también muestran cambios detrimentales de la función reproductiva por efecto de la exposición a la altura, por largos o cortos periodos. Carneros nativos de la altura presentan menor concentración espermática de sus eyaculados, menor motilidad total y progresiva y menor viabilidad espermática, comparados con eyaculados de carneros mantenidos a baja altura. Asimismo, los carneros expuestos a la altura presentan menor perímetro testicular, característica fuertemente asociada a la fertilidad, y menor tamaño de las glándulas vesiculares, bulbouretrales y próstata. Carneros recientemente expuestos a la altura también muestran cambios con la misma tendencia descrita, pero en mayor magnitud en comparación con los nativos de la altura. Durante los últimos años hemos detectado que los ovinos expuestos a la altura presentan incrementos significativos de los biomarcadores de estrés oxidativo, ya sea a nivel del plasma sanguíneo como del plasma seminal. Para verificar la participación del estrés oxidativo en las alteraciones reproductivas observadas, hemos desarrollado diferentes experimentos, tanto en hembras como en machos, suministrando diariamente vitaminas C y E, vía oral, por diferentes periodos. Como resultado de ello, hemos encontrado que la suplementación oral con estas vitaminas incrementa de manera significativa la concentración sanguínea de ellas y disminuye las concentraciones de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo. Junto con ello, la terapia antioxidante ha permitido revertir parcial o totalmente los efectos de la altura en las diferentes características reproductivas observadas en ovejas y carneros. De esta forma, la suplementación diaria con vitaminas C y E se constituye en una herramienta sencilla y de bajo costo, para el incremento de los índices reproductivos y productivos en rebaños ovinos mantenidos en la altura.

Financiado por Proyectos FONDECYT 1023706, 1070405, 1100189 y 1130181.

SEMINAL PLASMA β -NGF: "THE CHEMICAL SIGNAL FOR OVULATION INDUCTION IN LLAMAS"

Marco A. Berland,¹ Cesar Ulloa-Leal,² Miguel Barría,³ Hollis Wright,⁴ Gregg A. Dissen,⁴ Mauricio Silva,¹ Sergio R. Ojeda,⁴ **Marcelo H. Ratto**⁵

¹Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco Chile, ²Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Ecuador, ³Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, ⁴Division of Neuroscience, Oregon National Primate Research Center, Beaverton, Oregon, USA, ⁵Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Sciences, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

The study was conducted to elucidate if ovulation in llamas is elicited by the physical (copula) or chemical (seminal plasma) stimuli and to determine the association between systemic concentrations of β -NGF and the pre-ovulatory LH surge. Llamas with a pre-ovulatory follicle were randomly assigned to four groups: 1) intrauterine infusion (IUI) of 5 ml phosphate buffered saline (PBS, n=6, negative control); 2) IUI of 5 ml of seminal plasma (n=6); 3) single mating with an urethrostomized male (n=6); or 4) single mating with an intact male (n=7). The ovaries of each female were examined by ultrasonography every 12 hours until ovulation. Blood samples were collected to determine plasma LH and β -NGF concentration. Proportional data was compared using Fisher's exact test and serial data was analyzed using one-way ANOVA for repeated measures in SAS. Ovulations were detected and preceded by an increase in plasma LH concentration in only females treated with an intrauterine infusion of seminal plasma or mated with intact male. Plasma β -NGF concentration was highest in females mated with intact male than that of the remaining groups, from 15 minutes to the end of the sampling period. There was a significant increase in β -NGF and LH at 15 min and 1 hour respectively in females infused with seminal plasma or mated with intact male, however, there was neither an increase in β -NGF nor LH in the remaining groups. We conclude that ovulation in llamas is elicited by a chemical more than a physical stimulus of the penis and that a rapid increase of plasma β -NGF concentration is associated with the pre-ovulatory LH surge and subsequent ovulation.

Supported by the Chilean National Science and Technology Research Council, FONDECYT Regular grant number 1160934.

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

ADAM17 PARTICIPA EN LA APOPTOSIS DE CÉLULAS GERMINALES FISIOLÓGICA E INDUCIDA POR XENOESTRÓGENOS DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS

(ADAM17 is involved in germ cell apoptosis both in physiological and BPA-NP-induced conditions during the spermatogenesis)

Urriola-Muñoz P, Patiño-García D and Moreno RD.

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

ADAM17 es una metaloproteasa relevante para la señalización para/yuxtacrina y autocrina. La inhibición farmacológica de la ADAM17 disminuye la apoptosis de células germinales masculinas tanto en condiciones fisiológicas como en la inducida por los xenoestrógenos Bisfenol A (BFA) y 4-nonilfenol (NF). El objetivo de este trabajo fue determinar si la presencia de ADAM17 es necesaria en la apoptosis de las células germinales tanto en condiciones fisiológicas como inducida por BFA y NF durante la espermatogénesis del ratón.

Creamos un ratón *knock out* para ADAM17 en las células germinales llamado Stra8Cre;ADAM17^{lox/Δ}. Este ratón presenta una disminución en el tamaño testicular, alterando así parámetros histológicos del túbulo seminífero, y una desregulación de los niveles séricos de testosterona y estradiol, a los 21 y 60 días de edad respecto al *wild type*. Por otro lado, se observó una disminución de la apoptosis fisiológica e inducida por BFA y NF en las células germinales en el ratón Stra8Cre;ADAM17^{lox/Δ} y en el Stra8Cre;ADAM17^{+/lox} (heterocigotos) comparado con el *wild type* a los 21 días de edad, evaluado por el número de células caspasa-3 activa positivas (determinado por inmunofluorescencia), el número de células picnóticas (determinado por tinción Pas-He), y el número de células TUNEL positivas.

Finalmente, al utilizar una aproximación *in vitro* determinamos que ambos xenoestrógenos activan a la ADAM17 de una manera dependiente de iRhom2 pero no de iRhom1 (descritas que son necesarias para la activación de la ADAM17).

En conclusión, ADAM17 participa en la apoptosis fisiológica e inducida por xenoestrógenos durante la espermatogénesis

FONDECYT 1110778 y 1150352 (RDM), CONICYT Beca Doctorado Nacional N° 21110211

Premio L'Oréal Chile-UNESCO - For Women in Science 2015

AVANCES EN BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS EN FELINOS DOMÉSTICOS.

(Reproductive biotechnologies advances in domestic cats)

Cheuquemán C¹, Sánchez R^{1, 2}, Risopatrón J^{1, 3}

¹ Centro de Biotecnología de la Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ² Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ³ Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La necesidad de supervisión de la reproducción en el gato doméstico y su aplicación como modelo de estudio en programas de rescate de felinos ha incrementado el interés por el desarrollo de procedimientos de asistencia reproductiva en esta especie. Los objetivos del presente trabajo fueron: evaluación de la función espermática, comparación de procedimientos de criopreservación de espermatozoides, análisis de la sobrevivencia a la congelación entre gatos y evaluación de procedimientos selección espermática en felinos domésticos.

Se colectó semen de 3 gatos mediante electroeyaculación. 1) Se analizó la calidad espermática de cada gato. 2) Se compararon dos protocolos de criopreservación: congelación lenta en medio EYT-FC+7% glicerol+1% Equex, y vitrificación en medio EYT-FC+0.02M de sucrosa. 3) Se comparó la resistencia individual a la congelación entre gatos. 4) Se evaluó la calidad espermática con swim up y gradiente de percoll post-congelación. Se evaluó motilidad en CASA, la viabilidad, integridad de acrosoma, función mitocondrial y nivel de anión superóxido (O_2^-) en citometría de flujo y microscopía de fluorescencia. Se aplicó ANOVA de una vía y comparación múltiple de Tukey en el software GraphPad Prisma 6.0, considerando $P < 0,05$.

Se observaron diferencias individuales en la motilidad y función espermática del semen fresco y se correlacionaron positivamente: viabilidad e integridad del acrosoma, viabilidad y función mitocondrial e integridad de acrosoma y función mitocondrial. Los espermatozoides vitrificados presentaron menores porcentajes de motilidad total e integridad de acrosoma comparado con los congelados y frescos. Además, en ambos procedimientos de criopreservación la viabilidad espermática fue menor comparado con los del semen fresco. Se observaron diferencias significativas en la motilidad y función espermática post-congelación entre los gatos. Se observó correlación inversa entre viabilidad y nivel de O_2^- y correlación positiva entre función mitocondrial y el nivel O_2^- en la descongelación. La MOT fue mayor en ambas técnicas de selección espermática frente al control.

Existen diferencias individuales en la función espermática en gatos. La congelación lenta es el método de elección para crioconservar semen de felino. Swim up y gradiente de percoll permiten recuperar espermatozoides de alta calidad.

El presente trabajo, pionero en nuestro país, representa un gran aporte en las biotecnologías reproductivas aplicadas a felinos domésticos y salvajes.

FONDECYT DE POST-DOCTORADO N°3150320 (C. Ch.).

THE NEUROSTEROID ALLOPREGNANOLONE AS MODULATOR OF REPRODUCTIVE FUNCTION IN THE FEMALE RAT

Laconi, Myriam R

Laboratorio de Fisiopatología ovárica y Neurobiología; Instituto de Biología y Medicina Experimental de Cuyo; IMBECU-CONICET, Argentina. INBIOMED-UM. Adrián Ruiz Leal S/N. Parque Gral San Martín. Godoy Cruz Mendoza, Argentina.

Neurosteroids are steroids synthesized *de novo* in the central nervous system (CNS), performing functions as neuroprotection, neuronal excitability changes, stress modulation, anxiolytic and sedative effects through its action over neurotransmitter receptors (NMDA and GABA). Allopregnanolone (ALLO), a progesterone metabolite is the most abundant in the CNS and its concentrations vary during the estrous cycle. The model used was an i.c.v. administration of ALLO at a pharmacological dose (6 μ M) in rat. We found an increase in the synthesis of dopamine and a drop in the DA / DOPAC turnover rate, which leads to a cascade of events such as a drop in LH levels, ovulation and sexual receptivity inhibition. We studied serum hormone profiles and found an increase of prolactin and progesterone. We observed the ovarian morphology and found that ALLO cause changes in the number and sizes of ovarian structures and augment the number of follicular and luteal cysts. In corpora lutea (CL) the process of apoptosis was inhibited. Angiogenesis, the process of formation of new blood vessels from pre-existing vessels (measured by immunohistochemistry of Von Willebrand factor and α -actin) was increased. ALLO acts as an angiogenic factor both in follicular and luteal structures and as a survival factor of CL. Finally, we propose that ALLO could act as a molecule with potential therapeutic role in pathologies such as polycystic ovary and cancer. We are currently developing models of intra-bursal administration and culture cell lines.

PAPEL DE LOS microARNs EN LAS ALTERACIONES DEL TESTÍCULO EN RATONES INDUCIDOS POR LA EXPOSICIÓN A UNA MEZCLA DEFINIDA DE PERTURBADORES ENDOCRINOS

(Rol of miRNAs in mice testis injury induce by the exposure to defined mixture of endocrine disruptors)

Buñay J¹, Larriba E², del Mazo J², Moreno RD¹.

¹Department of Physiology, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile

²Department of Cellular and Molecular Biology, Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid, Spain.

Humans and wild animals are daily exposed to mixtures of endocrine disruptors compounds (EDCs) causing reproductive dysfunctions. Nevertheless, the molecular mechanisms causing these alterations aren't fully understood. In testis, microRNAs are involved in gene regulation. However, the effects of exposure to mixtures of EDCs upon expression and biogenesis of miRNAs weren't addressed.

The aim of this work was to determine the differential expression profiles of the miRNAome in mouse testis exposed to a defined mixture of EDCs.

Pregnant mice from 0.5 post-coital day were exposed with a mixture of 0.3 mg/Kg/day of each phthalates (DEHP, DBP, BBP), and 0.05 mg/Kg/day of each alkylphenols (NP, OP) diluted in the drinking water, until adulthood of male mouse offspring (60 days old).

In mice testis we assessed histopathological features, hormonal and mRNA levels by RT-qPCR of protein coding genes implicated in the biogenesis and function of miRNAs. Patterns of miRNAome were also analyzed by next generation sequencing (NGS).

In mice testis exposed to EDCs mixture, we detected by NGS 2 up-regulated, 8 down-regulated miRNAs and 36 isomiRs differentially expressed; these results were validated by qPCR. Furthermore the levels for *Drosha*, *Adar-1S* and *Tut4* were over-expressed. Functional analysis showed deregulation of testicular hormonal status, spermatogenesis disruption and germ cells apoptosis.

Here we provide (1) the first report of association between deregulation of miRNAs/isomiRs expression and their mechanism of biogenesis, with histopathological and hormonal alterations in adult mice testis exposed to mixture of EDCs, (2) Correlation between miRNAs and mRNAs implicated in estradiol synthesis and germ cells apoptosis.

This work was supported by grants from Fondecyt (1150532), Conicyt (21120505) Chile and MINECO (BFU2013-42164-R), Spain.

DOWN-REGULATION OF TFPI-2 IN THE PROGRESSION OF OVARIAN CANCER

J. Fry^{1,3}, S. Kato², L. Abarzua², P. González¹, C. Ramírez¹, E. Cumsille¹, J.C. Roa², C. Ibañez^{2,3}, M.A. Cuello², G.I. Owen^{1,2,4}, **M.L. Bravo**^{1,3,4}

¹Faculty of Biological Sciences, ²Faculty of Medicine, ³Millennium Institute on Immunology & Immunotherapy, ⁴Biomedical Research Consortium Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Ovarian cancer metastasis occurs when malignant cells migrate from the primary tumor into the ascitic fluid and peritoneal cavity to eventually form secondary tumors within the peritoneum. The cells responsible for this process, Metastases Initiating Cells (MICs), suffer a series of changes in protein expression, with increased Epithelial Mesenchymal Transition and stem cell markers having been reported. Tissue Factor Pathway Inhibitor-2 (TFPI-2) is a serine proteinase inhibitor and potential tumor suppressor gene, whose reduction is correlated with poor prognosis. As the exact stage of TFPI-2 loss is still unknown, our objective was to determine TFPI-2 during ovarian cancer progression.

Protein and RNA levels were assessed in primary tumor and metastatic tissue by immunohistochemistry and qPCR, respectively. TFPI-2 RNA and protein levels were analyzed in cancer cell lines and primary cultured cancer cells isolated from ascitic fluid of advanced ovarian cancer patients and in cancer spheres derived from these cultures.

We report that significantly decreased TFPI-2 protein levels in metastatic tissue compared to the primary tumor, a result confirmed in matched primary and metastatic lesions from the same ovarian cancer patients. Furthermore, cancer spheres (representing potential MICs) displayed significantly lower levels of TFPI-2 than corresponding cell line and some primary cultured cancer cells.

Our results suggest that TFPI-2 loss plays a role in the cancer cell escape from the primary tumor. Future studies will determine the mechanism and the biological consequences of the progressive loss of TFPI-2 in cancer.

Funding: FONDECYT 11140657, 1160800, 1140970, 3140335, 3150028, CORFO L2 13IDL2-18608, IMII-P09/016-F, BMRC 13CTI21526-P6

TRABAJOS LIBRES 1

UNA EXPOSICIÓN CRÓNICA A UNA MEZCLA DE DISRUPTORES ENDOCRINOS (FTALATOS Y ALQUILFENOLES) DISMINUYE LA ESTEROIDOGÉNESIS Y FERTILIDAD EN RATÓN HEMBRA

(A chronic exposure to a low-dose of a mixture of endocrine disrupters (phthalates and alkylphenols) decreases the steroidogenesis and female fertility in mice)

Patiño-García DF y Moreno RD

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

Diariamente, los humanos están expuestos a pequeñas cantidades de disruptores endocrinos (DEs), como ftalatos (DEHP, DBP, BBP) y alquilfenoles (NP y OP). Estos DEs son abundantes en alimentos, productos de cuidado personal y uso cotidiano. Se han encontrado en sangre y líquido folicular humano, asociándose a infertilidad. En murinos, la exposición a dosis altas de DEs altera los niveles de ARNm y proteicos de enzimas esteroidogénicas y microARNs en el ovario, afectando el ciclo reproductivo y comprometiendo la fertilidad, inclusive, transgeneracionalmente. Sin embargo, se desconoce el efecto conjunto de estos DEs sobre el sistema reproductor femenino.

Nuestro objetivo fue determinar el efecto de la exposición crónica de una dosis baja de una mezcla de DEs sobre el ciclo reproductivo, esteroidogénesis y fertilidad del ratón hembra.

En ovarios provenientes de hembras adultas expuestas desde la concepción a 1 mg/Kg/d de una mezcla (administrada en el agua) de DEHP, DBP, BBP, NP y OP, se evaluó el número de folículos preantrales y antrales mediante histología, niveles de ARNm y proteicos para *Cyp19a1*, de pre-microARN-200b y plasmáticos de estradiol e índice de preñez en hembras F1 y F2.

Los resultados muestran que la exposición crónica a la mezcla aumentó el número de folículos preantrales y disminuyó los antrales. Los niveles de ARNm y proteicos de *Cyp19a1* disminuyeron mientras que los del pre-mir-200b aumentaron y los de estradiol disminuyeron. Por otra parte, el índice de preñez disminuyó en las hembras F2, pero no en las F1.

Concluyendo, los DEs alteran la esteroidogénesis y fertilidad femenina.

FONDECYT 1150352 (RD.M.), DPG: Becario Doctorado CONICYT 63140090

MATERNAL ATHEROGENIC HIGH FAT DIET RESULTS IN HEPATIC LIPIDOSIS, POOR BIRTH OUTCOME, GROWTH RESTRICTION, AND SKELETAL ABERRATIONS IN C57BL/6 MICE

Bahamonde J^{1,2}, Brenseke B^{1,3}, Oest M⁴, Prater R^{1,5}

¹Department of Biomedical Sciences and Pathobiology, Virginia Tech, USA. ²(current) Departamento de Fomento a la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Chile. ³Department of Pathology, Campbell University School of Osteopathic Medicine, USA. ⁴Department of Orthopedic Surgery, SUNY Upstate Medical University, USA. ⁵Department of Biomedical Sciences, Edward Via College of Osteopathic Medicine, USA.

Research suggests that pregnant women consuming a Western diet (rich in unhealthy fats and cholesterol) may be placing their unborn children at increased risk of certain chronic diseases in later life. The mechanistic pathogenesis of this process is however, poorly understood. This study aimed to determine the impact of maternal consumption of an atherogenic high fat diet (aHFD) on pregnancy and development of offspring into adulthood. Female C57BL/6 mice were fed a standard rodent diet (RD) or aHFD for 4 weeks prior to breeding and throughout gestation and lactation. Pups were weaned at postnatal day (PND) 21 and placed on RD until PND42. The aHFD dams experienced greater hepatic lipid accumulation and poorer birth outcome (lower litter sizes and higher mortality) compared to RD dams. Offspring exposed to aHFD were smaller than age-matched RD controls. Micro-computed tomography (micro-CT) of aHFD-exposed offspring revealed skeletal aberrations including shorter bone lengths and irregularities of distal femoral trabecular architecture. Histologically, PND42 aHFD offspring had higher numbers of adipocytes in the distal femur compared to their RD counterparts. In this study, exposure to a diet rich in fats and cholesterol resulted in higher incidence of fatty liver in the dams and early mortality, growth restriction, and lesions mimicking human osteoporosis in the offspring. We propose that dietary-induced hyperlipidemia, along with pregnancy-associated factors, produced fatty liver and subsequently reduced litter sizes and increased early offspring mortality. The skeletal aberrations detected in mature offspring may be the consequence of dietary-induced adipogenesis in detriment of osteogenesis.

Supported by Obesity Research Seed Grant #555184 from Fralin Life Science Institute of Virginia Tech

EL INCREMENTO DE CALCIO INTRACELULAR SE ASOCIA CON PERMEABILIZACIÓN DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA EN ESPERMATÓZOIDES BOVINOS CRIOPRESERVADOS

(The increase in intracellular free calcium is associated with the mitochondrial outer membrane permeabilization in cryopreserved bovine spermatozoa)

F. Treulen¹, M. Arias¹, R. Felmer¹

¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de ciencias agropecuarias y Forestales, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

Los espermatozoides son expuestos a una variedad de agentes de estrés físico y químico durante la criopreservación, causando alteración de la integridad de la membrana plasmática, incremento de su permeabilidad y de los niveles de especies reactivas de oxígeno (EROs) y disipación del potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$). A pesar de que recientes investigaciones destacan el rol principal de la mitocondria en muchos procesos fisiológicos y patológicos en espermatozoides y de que ha sido identificada como la estructura más sensible a la criopreservación, no está claro el mecanismo de daño asociado a este proceso. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la criopreservación sobre los niveles de calcio y EROs intracelular y su asociación con la integridad de membrana y actividad mitocondrial. Para ello, espermatozoides de bovino criopreservados fueron descongelados, reconstituidos a una concentración de $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ e incubados por 4 horas a 38°C y 5% de CO_2 , con evaluaciones periódicas cada una hora. Se analizaron los niveles de calcio intracelular con FLUO3-AM, EROs con DHE/SYTOX, permeabilización de la membrana mitocondrial interna (MMI) con el método calceína-AM y cobalto y $\Delta\Psi_m$ con TMRE/SYTOX. Las mediciones fluorescentes se realizaron por citometría de flujo. Los resultados mostraron que la criopreservación provoca un incremento de Calcio intracelular, permeabilización de la MMI y disipación del $\Delta\Psi_m$. No se observó un incremento de los niveles de EROs intracelular post-descongelación. La permeabilización de la MMI por aumento de calcio intracelular podría ser un mecanismo de daño mitocondrial inducido por la criopreservación.

PROYECTO FONDECYT DE POSTDOCTORADO N° 3160214

EFFECTO ANTIMPLANTACIONAL DE ESTRADIOL: ROL DE 2-METOXIESTRADIOL Y F-SPONDINA

(Antimplantational effect of estradiol: Role of 2-methoxyestradiol and F-spondin)

Guajardo E, Díaz P, Orihuela PA

Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile y Centro para el Desarrollo en Nanociencia y Nanotecnología

En el ratón, la administración de 17β -estradiol (E2) altera la implantación. Por otro lado, (E2) es metabolizado a 2-Metoxiestradiol (2-ME) la que aumenta los niveles de la proteína antiangiogénica F-spondina en el útero. Aquí evaluamos si la administración de E2 aumenta los niveles de 2-ME en el útero y si 2-ME afecta la implantación a través de F-spondina. Ratonas en día 3,5 de preñez (DP3,5) fueron tratadas con $1\mu\text{g}$ de E2 o propilenglicol (V) y autopsiadas a las 0,5, 1 y 3 horas para determinar los niveles intrauterinos de 2ME por HPLC. Otro grupo fue tratado con $0,1\mu\text{g}$ de 2-ME o V y a las 3, 6, 12 o 24 horas se determinó el transcrito y localización de f-spondina por Real-time PCR e inmunohistoquímica. Finalmente, un grupo fue tratado concomitantemente con $0,1\mu\text{g}$ de 2-ME o V y un anticuerpo neutralizante contra F-spondina (Abn) o Vehículo (PBS), registrándose el número de sitios de implantación al día 8 de preñez. Los niveles de 2-ME aumentaron con E2 (E2: $3821.09\pm 356.9\text{ pg/mL}$; V: $1126.5\pm 154.2\text{ pg/mL}$) a las 3 horas post-tratamiento. F-spondina se localizó principalmente en el estroma y 2-ME aumentó sus transcrito a las 12 horas (2-ME: 2.68 ± 0.39 ; V: 0.31 ± 0.35) y 24 horas (2-ME: 1.9 ± 0.57 ; V: 0.26 ± 0.19). 2-ME disminuyó los sitios de implantación, lo que fue revertido por el Abn (2ME+PBS: 0.165 ± 0.1900 ; Abn+2-ME: 0.915 ± 0.098 ; Abn+V: 0.29 ± 0.080 ; PBS+V: 0.915 ± 0.098). Se concluye que 2-ME afecta la implantación la que es mediada por F-spondina en el ratón.

DICYT 021543OD y Proyecto Basal FB-0807.

EL RECEPTOR DE PROGESTERONA MEDIA LA EXPRESIÓN DE ADAMTS Y MMP3/10 EN CÉLULAS DE GRANULOSA HUMANA: ROL DIFERENCIAL DE HIF-1 ALPHA

(Expression of ADAMTS and MMP3/10 is mediated by PR expression in human granulosa cells: differential role of HIF-1 alpha)

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

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

El receptor de progesterona (RP) unido a su ligando activa múltiples vías de señalización que regulan la expresión de diferentes factores de transcripción y metaloproteinasas que participan en el proceso ovulatorio. El objetivo de este estudio es determinar las vías de señalización que regulan la expresión de RP en cultivo primario de CG humanas tratadas con hCG, LH y FSH sobre la expresión de HIF-1 alpha y las metaloproteinasas ADAMTS y MMP3-10 péptidos importantes en la ruptura folicular. Las CG se obtuvieron de 22 mujeres que participan del programa de fertilización *in vitro* debido a infertilidad masculina.

Las CG se aíslan del aspirado folicular, se cultivan por 48 horas y luego son estimuladas con FSH, LH, hCG, RU486 y equinomicina por diferentes tiempos para determinar la expresión de RP y HIF-1 alpha por inmunofluorescencia y determinar la activación de las vías PKA, PKC, PI3K y ERK y la expresión de ADAMTS, MMP3/10 por Western blot.

Nuestros resultados muestran que hCG, LH y FSH regulan la expresión de RP (12 hrs post tratamiento) a través de las vías PKA, PKC y ERK en CG humanas. Además hCG, FSH y LH regulan la expresión ADAMTS and MMP3/10 ya que la inhibición de RP por RU486 previene la expresión de estas MMP.

La expresión de HIF-1 alpha también es dependiente de RP, su inhibición afecta la expresión de MMP3/10 y no de ADAMTS. Esto confirma que el RP ejerce una regulación diferencial rio abajo importante para la expresión de estas MMP.

Proyecto FONDECYT POSTDOCTORADO 3130551

Proyecto FONDECYT REGULAR 1140693

ROL DE LAS CÉLULAS UNK EN LA VASCULARIZACIÓN DECIDUAL DURANTE LA ORGANOGÉNESIS MURINA TEMPRANA LUEGO DE LA INGESTA PERIGESTACIONAL DE ALCOHOL

(Role of uNK cells in decidual vascularization during early murine organogenesis after perigestational alcohol ingestion)

Ventureira, M¹; Sobarzo, C²; Barbeito, C³; Palomino WA⁴; Cebal E.¹

¹IFIBYNE-UBA/CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. ²INBIOMED-UBA/CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. ³Lab. de Histología y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional de La Plata. Argentina. ⁴IDIMI, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Las células uNK deciduales participan en la angiogénesis placentaria durante la organogénesis temprana. Previamente, observamos que el consumo murino perigestacional de alcohol hasta el día 10 de gestación reduce la luz vascular materna y la expresión de VEGF y su receptor KDR en la decidua proximal (Dp). Los objetivos fueron analizar: 1) la población de sitios de implantación (SI) con disminución de la luz vascular (HyE); 2) la remodelación de la pared muscular de las arterias espiraladas (inmunohistoquímica actina); 3) la población y morfología de uNK (histoquímica-PAS y lectina DBA-FITC); 4) la expresión de VEGF en células uNK (DBA lectin-inmunofluorescencia VEGF); 5) la proliferación endotelial (PCNA). Se administró etanol al 10% en el agua de bebida a hembras de ratón CF-1 por 15 días previos al apareo y hasta el día 10 de gestación (hembras tratadas (HT). Las hembras controles (HC) recibieron agua. Las HT presentaron mayor número de SI con luz vascular reducida ($p < 0,05$, vs SI de HC), y en la Dp, se detectó inmunomarcación subendotelial actina-positiva y reducido índice proliferativo en el endotelio vascular ($p < 0,01$ vs. HC). El número de células uNK, morfológicamente anormales (lectina DBA-FITC), disminuyó ($p < 0,05$, vs. HC) al igual que su inmunoexpresión de VEGF ($p < 0,01$ vs HC). Estos resultados sugieren que el consumo perigestacional de alcohol hasta la organogénesis lleva a vascularización materna deficiente por cambios en el número, morfología y expresión de VEGF de las células uNK, afectando la placentación temprana en el modelo murino.

FONDECYT 1140688 (PWA)

MV: Becario doctoral CONICET (Argentina)

TRABAJOS LIBRES 2

EFFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZEOLITA CARGADAS CON 2-METOXIESTRADIOL EN CÉLULAS TUMORALES DE PRÓSTATA

Mena D.^{1, 2}, Díaz P.^{1, 2}, Guajardo E.¹, Mena J.¹, Cárdenas H.¹, Orihuela P.^{1, 2}

¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología—USACH. ²Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología (CEDDENA) - USACH

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo diagnóstico oncológico más frecuente en hombres, cuya incidencia ha aumentado en los últimos años. El principal tratamiento es la terapia hormonal, que suele ser efectiva en etapas tempranas. Aun así el CaP evoluciona hacia un estadio hormono-resistente, el cual prolifera a pesar de la terapia hormonal, por lo que surge la necesidad de evaluar nuevas opciones terapéuticas. 2-metoxiestradiol (2-ME) es un metabolito endógeno del estradiol con acción anticancerígena. A pesar de esto, presenta una farmacocinética desfavorable, dificultando así su uso masivo como agente terapéutico. En este trabajo determinamos el efecto de nanopartículas de zeolita cargadas con 2-ME(NPs+2ME) sobre la viabilidad de células LnCaP y cultivos primarios de cáncer de prostata de ratón. Adicionalmente, la expresión de *Bcl2-L10* y F-spondina fue evaluado en células LNCaP. Demostramos que NPs+2-ME 5 μ M disminuyen de forma significativa la viabilidad celular desde las 48 horas en LnCaP y cultivo primario de CaP ($64,79 \pm 7,91\%$ y $72,35 \pm 7,95\%$ en comparación al vehículo, respectivamente). Adicionalmente, en LnCaP se observó un aumento en los niveles de transcrito de *Bcl2-L10* y la proteína F-spondina ($11,28 \pm 4,85$ y $2,17 \pm 0,81$ v.c respecto al vehículo, respectivamente) 24 y 36 horas post tratamiento, respectivamente. En conjunto, los resultados demuestran que NPs+2-ME disminuyen la viabilidad de la línea celular LnCaP e incrementa los niveles de *Bcl2-L10* y F-spondina. Además disminuye la viabilidad del cultivo primario de células de CaP, sugiriendo así la posibilidad de evaluar su efecto en un modelo *in vivo*.

PROYECTO BASAL CEDENNA FB-0807, PROYECTO DICYT 0215430D

LOS TÓXICOS AMBIENTALES ENDOTHALL Y NONILFENOL INDUCEN LA REACCIÓN ACROSÓMICA (RA) VÍA LA PROTEÍNA CINASA A (PKA), EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN.

(The Environmental Toxics Endothall and Nonylphenol, lead to sperm acrosome reaction (AR) through a protein kinase A (PKA) pathway)

Gallardo LM¹, Puga Molina LA², Buffone MG², Moreno RD¹.

1 Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

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

La literatura muestra que los contaminantes ambientales afectan la reproducción, pero se desconoce si afectan eventos de la fecundación. Por ello, seleccionamos dos tóxicos ambientales, Endothall, un pesticida que inhibe la fosfatasa PP2A y nonilfenol, un xenoestrógeno con efecto estrogénico. Nuestro objetivo fue investigar si ambos compuestos inducen la RA modulando a PKA. Para ello, se recuperaron espermatozoides de ratón con o sin el inhibidor de PKA H89, se incubaron con Endothall, nonilfenol o progesterona, en condiciones capacitantes o no capacitantes. El rol de PKA se estudió, evaluando los niveles de PKA activada (pT197), de sus sustratos fosforilados y de proteínas fosforiladas en tirosina, mediante Wb. El porcentaje de RA se cuantificó con la tinción azul de Comassie, con la sonda Lysotraker y con citometría de flujo empleando ratones transgénicos acro-EGFP. Nuestros resultados de inmunofluorescencia mostraron que PP2A está en la cola y la región acrosomal del espermatozoide. Endothall y nonilfenol en concentraciones encontradas en el medioambiente, dependiendo del estado de capacitación del espermatozoide, indujeron en un 31% y 19 % la RA, respectivamente, y potenciaron el efecto inductor de progesterona. Por otro lado, H89 previno el efecto de Endothall y nonilfenol. La incubación de espermatozoides con Endothall y nonilfenol incrementó en 4 y 2,5 veces los niveles de PKA activada, respectivamente y aumentó los niveles de sustratos de PKA fosforilados. Por todo lo anterior, actualmente estamos estudiando la localización celular de PKA activada en el espermatozoide. En conclusión, estos tóxicos inducen la RA modulando a PKA y podrían alterar la fecundación.

FONDECYT 1150352 (RD.M), LMG: Becaria Doctorado CONICYT

EXPRESIÓN DE CATEPSINAS B, D Y L EN RELACIÓN AL GRADO DE FLOTABILIDAD EN HUEVOS Y EMBRIONES DEL PEZ DORADO *Seriola lalandi*
(Cathepsins B, D and L expression related with buoyancy degree in eggs and embryos of yellow tail kingfish *Seriola lalandi*)

Rodríguez J, Hernández E, De los Reyes M, Palomino J.
Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

En especies pelágicas como *S. lalandi*, la flotabilidad de los huevos y embriones refleja la viabilidad y calidad de éstos. Esta característica, se adquiere con la proteólisis del vitelo provocando la hidratación y generando nutrientes para el embrión. Las enzimas involucradas en este proceso son las catepsinas, por lo que han sido propuestas como indicadores de calidad en estas especies. Con el objeto de conocer aspectos involucrados en la adquisición de flotabilidad en *S. lalandi*, se evaluó la expresión de las catepsinas B, D y L (CATB, CATD Y CATL) en función del nivel de flotabilidad de huevos y embriones tempranos. Para esto, se colectaron muestras flotantes y no flotantes de diferentes etapas del desarrollo temprano. La expresión se evaluó en forma relativa mediante RT-qPCR utilizando partidores diseñados por alineamiento de secuencias de otros peces. Los niveles de mRNA de CATB fueron mayores ($p < 0,05$) en huevos, mórulas y blástulas y no se presentaron diferencias entre muestras flotantes y no flotantes. Se observó mayor ($p < 0,05$) expresión de CATD en huevos no flotantes en comparación a los flotantes. En otros estadíos, no se detectaron diferencias. CATL presentó mayor ($p < 0,05$) expresión en huevos, gástrulas y embriones de 24 horas con flotabilidad positiva. Estos resultados indicarían que CATB no estaría directamente involucrada en la adquisición de flotabilidad. CATD puede ser un indicador de mala calidad, sólo en huevos de esta especie y por el contrario CATL es un indicador de buena calidad en huevos, gástrulas y embriones de 24H de esta especie.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11140639

COMPARATIVE STUDY OF PRONUCLEAR FORMATION AFTER INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI) BETWEEN BOVINE AND MOUSE ICSI: EFFECT OF GAMETE TYPE AND QUALITY

L. Aguila¹, R. Felmer¹, R. Fissore^{2*}

¹Laboratory of Reproduction, Centre of Reproductive Biotechnology (CEBIOR-BIOREN), Faculty of Agriculture and Forestry Sciences, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

²Department of Veterinary and Animal Science, Integrated Sciences Building, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts, USA.

* Email: rfissore@vasci.umass.edu

The efficiency of ICSI in bovines is low due to inadequate sperm head decondensation and low activating stimulus by the fertilizing spermatozoon. This study evaluated the rate and size of pronuclear formation (PNF), cleavage and calcium oscillations following a mouse-bovine heterologous ICSI procedure. Mouse eggs were collected from 10-weeks-old females. PNF was recorded 4-6 h post-injections. For $[Ca^{2+}]_i$ monitoring, the oocytes were loaded with Fura2-AM. The results showed that PNF rate following mouse ICSI using *in vivo* matured eggs (mMIIe) was 100%, but when *in vitro* matured eggs (mIVMe) were used this decreased to 88%. Heterologous ICSI with mMIIe show a 95% PNF rate, although when performed in mIVMe this decrease to 8%. The size of the female pronucleus (FMP) was similar following mouse ICSI using mMIIe ($118 \pm 41 \mu\text{m}$), mIVMe ($88 \pm 47 \mu\text{m}$) or heterologous ICSI using mIVMe ($151 \pm 58 \mu\text{m}$), although heterologous ICSI using mMIIe produced the largest FMP ($236 \pm 75 \mu\text{m}$) ($P < 0.05$). For male pronucleus (MPN), heterologous ICSI using mIVMe resulted in the smallest MPN ($38 \pm 19 \mu\text{m}$) compared to those produced by mouse ICSI using mMIIe ($118 \pm 41 \mu\text{m}$) and mIVMe ($88 \pm 47 \mu\text{m}$). Heterologous ICSI using mMIIe showed the largest ($338 \pm 78 \mu\text{m}$) ($P < 0.05$). Finally, embryo cleavage and $[Ca_{2+}]_i$ oscillations were impaired when performed in mIMVe. Altogether, these results show that egg quality greatly impacts the initial stages of egg activation, and a suboptimal ooplasm seems incapable of fully reprogramming a sperm nucleus delivered by ICSI.

Becas Pasantías y Cotutelas en el Extranjero CONICYT

LA: Becario Doctorado Nacional CONICYT

LA REGULACION HORMONAL DE LA RESPUESTA INMUNE INMEDIATA ES DISFUNCIONAL EN EL ENDOMETRIO DE MUJERES CON ENDOMETRIOSIS DURANTE EL PERIODO DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

(The hormonal regulation of innate immune response is dysfunctional in endometria from women with endometriosis during embryo implantation phase)

Felipe Argandoña¹, Camila Aguirre¹, María José Miranda¹, Alex Muñoz¹, Paulina Kohen¹, Luigi Devoto¹, Alberto Palomino¹.

¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Departamento de Obstetricia y Ginecología Centro, Universidad de Chile.

El sistema del complemento forma parte de la respuesta inmune y el control de su activación es fundamental para la supervivencia del embrión. La endometriosis es una patología inflamatoria que comprometería la implantación embrionaria. Se comparó la expresión de C3 y las proteínas reguladoras del complemento: CD55, CD46 y CD59 en endometrios de mujeres con y sin endometriosis y se investigó su regulación hormonal. Se obtuvieron 24 biopsias de endometrio en fase de receptividad uterina. Se utilizó inmunohistoquímica para localizar las proteínas y qRT-PCR para determinar los niveles de mRNA. Células epiteliales (CE) o estromales (CS) fueron incubados con estradiol (E2), progesterona (P4), antagonista del receptor de P4 (RU486), Factor de crecimiento epidermal (EGF) o gonadotropina coriónica humana (hCG). CS de mujeres con y sin endometriosis fueron incubados con P4 o hCG y el sobrenadante de cada experimento se incubó con CE. Se utilizó ANOVA para la comparación múltiple.

La expresión de C3 fue elevada y CD55 disminuida en los endometrios con endometriosis ($p=0.003$ y $p=0.02$). El incremento de C3 en respuesta a hCG fue inhibido por RU486. E2 inhibió el incremento de CD55 en respuesta a EGF. La incubación con sobrenadante de CS de mujeres fértiles + P4 o hCG incrementó CD55. La regulación hormonal del complemento es disfuncional en endometrios de mujeres con endometriosis y demuestra resistencia a P4. La respuesta deficiente de CD55 a hCG podría generar un ambiente inmunológico hostil para la supervivencia del embrión afectando la implantación en las mujeres con endometriosis.

Fondecyt 1140688

LA ACTIVACION DE PPAR γ REGULA EL METABOLISMO ENERGÉTICO DE LA CÉLULA DE SERTOLI (CS)

(PPAR γ activation regulates Sertoli cell energetic metabolism)

Agostina Gorga, Gustavo Rindone, Mariana Regueira, Eliana Pellizzari, María del Carmen Camberos, María Fernanda Riera, María Noel Galardo, Silvina Beatriz Meroni
Centro de Investigaciones Endocrinológicas, "Dr César Bergadá", CONICET-FEI-División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez

La CS provee el soporte nutricional para las células germinales (CG) en desarrollo. Su metabolismo tiene características particulares: convierte glucosa a lactato, principal sustrato energético para las CG, y utiliza ácidos grasos (AG) como fuente energética propia. Además es capaz de sintetizar triglicéridos (TAGs) y almacenarlos en gotas lipídicas (GL). Diversos genes participan en estos procesos: el transportador FAT/CD36, las enzimas de que inician la síntesis de TAGs glicerol-fosfato-acil-transferasas (GPATs) y las proteínas involucradas en la formación de GL (PLINs). Se conoce que PPAR γ regula el metabolismo energético en distintos tipos celulares. El objetivo del trabajo fue analizar si la activación de PPAR γ regula simultáneamente los mecanismos moleculares que participan en la síntesis de TAGs y formación de GL y aquellos involucrados en la producción de lactato en las CS. Cultivos de CS de ratas de 20 días de edad fueron estimulados por 48h con Rosiglitazona (R, 10 μ M), activador farmacológico de PPAR γ . Se determinaron los niveles de TAGs y lactato, el contenido de GL y la expresión de FAT/CD36, GPAT1, PLIN1 y GLUT2. Observamos que R estimula la expresión de FAT/CD36: $1.6 \pm 0.2^*$; GPAT1: $1.4 \pm 0.1^*$, PLIN1: $2.3 \pm 0.3^*$ y GLUT2: $1.8 \pm 0.2^*$, veces de estímulo con respecto al basal ($X \pm DS$, $*p < 0.05$). Asimismo, R incrementa el contenido de TAGs, GL y la producción de lactato. Los resultados sugieren que la activación del PPAR γ promovería un aumento en la síntesis de TAGs y su acumulación en GL, asegurando una adecuada reserva energética para la CS, y simultáneamente induciría un aumento en la producción de lactato, metabolito indispensable para las CG.

PIP2011-187 (SM) PICT2014-0945 (SM)

AG: becaria doctoral ANPCYT

LA AUSENCIA PERIFÉRICA DEL RECEPTOR DE KISSPEPTINA ALTERA LA EXPRESIÓN GÉNICA DE FACTORES MOLECULARES ASOCIADOS AL DESARROLLO FOLICULAR Y OVULACIÓN

(The peripheral absence of kisspeptin receptor alters gene expression of molecular factors associated to follicular development and ovulation).

Fernandois D¹, Na A¹, Velásco I², Tena-Sempere M², Lara HE¹ y Paredes AH¹.

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

2 Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Universidad de Córdoba; Instituto Maimónides Biomédica de Investigación de Córdoba (IMIBIC), Córdoba, España

Recientemente se ha descrito que Kisspeptina participa en la ovulación, desarrollo folicular y que su expresión ovárica está regulada por el sistema nervioso simpático. La administración de propranolol disminuye la expresión ovárica de kisspeptina y aumenta la expresión del receptor de FSH (FSHR), aumentando el reclutamiento folicular. Por otra parte, al bloquear el receptor de kisspeptina (Kiss1R) con p234 disminuye el número de cuerpos lúteos y aumenta el número de folículos antrales. Con el fin de evaluar la acción de kisspeptina selectivamente en el ovario, comparamos la expresión de factores involucrados en el desarrollo folicular mediante qPCR y Western-blot en ratones silvestres (WT), ratones deficientes de Kiss1R (Kiss1R-KO) y ratones deficientes Kiss1R-KO con una reinserción selectiva de Kiss1R en las neuronas GnRH (KO-Tg) para recuperar la actividad hipotálamo-hipófisis. Los resultados indican un aumento del mRNA y proteína del FSHR en los ovarios KO-Tg vs WT ($p < 0,05$), una disminución del mRNA del receptor de LH (LHR) en los mismos grupos ($p < 0,05$) y ausencia de expresión en los ovarios Kiss1R-KO para ambos genes. La disminución de LHR en los KO-Tg se relaciona con una tendencia a la baja del número de cuerpos lúteos en el ovario. Por otro lado, se observa un aumento del mRNA y la proteína de la enzima P450_{scc}, y del mRNA de los factores AMH y BMP15 en los ovarios KO-Tg cuando se comparan con ratones WT ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que kisspeptina favorece la ovulación mediando la expresión del LHR en el ovario, pero regula negativamente el crecimiento y desarrollo folicular inicial.

Beca Doctorado Nacional 21120454

DETERMINACION DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE CELULAS MADRE MESENQUIMÁTICAS DERIVADAS DE MEDULA OSEA Y TEJIDO ADIPOSO FETAL BOVINO

(Determination of the *in vitro* antibacterial potential of mesenchymal stem cells derived from bovine fetal bone marrow and adipose tissue)

Cahuascanco B¹, Jervis M¹, Huamán O¹, Cortéz J¹, Cuevas F¹, Bahamonde J¹, Retamal P², Torres CG³, Peralta OA¹

¹Laboratorio de Células Madre, Departamento de Fomento de la Producción Animal,

²Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Medicina Preventiva Animal, ³Laboratorio de Biomedicina y Medicina Regenerativa, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Las células madre mesenquimáticas (MSC) son células indiferenciadas con alta capacidad proliferativa y de diferenciación multipotente. Recientes estudios han reportado su capacidad para producir péptidos antimicrobianos como catelicidinas y hepcidina, que ejercen acciones mediante la permeabilización de las membranas celulares bacterianas y el bloqueo de la disponibilidad de hierro, respectivamente. Este potencial antimicrobiano podría ser de utilidad en el desarrollo de una terapia celular contra enfermedades infecciosas como es el caso de la mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus*. El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial antibacteriano del medio condicionado derivado de cultivos de MSC de medula ósea (MSC-MO) y tejido adiposo (MSC-TA) fetal bovino, en un cultivo *in vitro* de *Staphylococcus aureus*. Las MSC fueron aisladas desde la medula ósea y tejido adiposo fetal bovino, mediante su capacidad de adherencia al plástico. El medio condicionado fue recolectado desde cultivos de cada línea de MSC y de fibroblastos (FB) como control (N=3). Posteriormente, se inocularon 20 µL de suspensión *Staphylococcus aureus* en 2 mL de medio condicionado de MSC-MO, MSC-TA y FB y se cultivaron a 38,5 °C por 24 h. Se cuantificó el porcentaje de supervivencia bacteriana a las 0, 1, 2 y 3 h de cultivo mediante el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/mL). La supervivencia no fue distinta ($P > 0,05$) entre líneas celulares o horas de cultivo. Estos resultados sugieren que el medio condicionado no tiene capacidad antibacteriana en cultivos *in vitro* de *Staphylococcus aureus* en las condiciones experimentales utilizadas en este estudio.

FONDEF ID15I10129 (O.P), BC: Becario Magister PRONABEC, Ministerio de Educación del Perú.

POSTERS

PÓSTER 1

LA EXPOSICIÓN CRÓNICA A UNA MEZCLA DE FTALATOS Y ALQUILFENOLES MODIFICA LOS NIVELES DE LA ENZIMA AROMATASA (*Cyp19a1*), DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENO (*Erβ*) Y DE LOS Pre-MicroRNAs QUE LOS MODULAN, EN ESPERMATOZOIDES Y CELULAS GERMINALES MASCULINAS DE RATÓN

(Chronic exposure to a mixture of phthalates and alkylphenols modifies aromatase(*Cyp 19a1*) enzyme, *Erβ* estrogen receptor and Pre-MicroRNAs modulating levels in spermatozoa and male germ cells in mouse)

Gallardo LM¹, Moreno RD¹.

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los plásticos que contaminan el ambiente contienen disruptores endocrinos como ftalatos y alquifenoles que afectan la acción del estrógeno, los microRNAs y así la espermatogénesis. Por ello, nuestro objetivo fue investigar si la administración crónica de una mezcla de estos compuestos modifica los niveles de expresión de la enzima aromatasa y del receptor *Erβ*, vía la desregulación de microRNAs que los modulan, en espermatozoides de ratón. Con ese fin, tratamos crónicamente ratones con estos compuestos y recuperamos sus espermatozoides para estudiar los niveles de aromatasa, *Erβ* y de microRNAs que los regulan. También cultivamos células germinales masculinas de ratón, con ftalatos y alquifenoles en concentraciones testiculares, para evaluar cambios en los niveles de expresión de las moléculas ya mencionadas. Nuestros resultados mostraron que el tratamiento no afecta la relación macho/ hembra, ni la concentración de RNA. En cambio, el peso al destete, la concentración de espermatozoides, los niveles de testosterona plasmática, la razón testosterona/estradiol son un 40 y 50% menor que en los controles. Los espermatozoides de ratones tratados tienen un aumento de 32 y 2,64 veces en los niveles de RNAm y 7,7 y 32,6 veces en los niveles proteicos de *Erβ* y aromatasa, respectivamente, en relación al control. En los tratamientos *in vitro* disminuye un 1,3; 1,7; 6 y 3 veces los niveles de los PremicroRNAs 200b, 7b y 7g, respectivamente en relación al control. En conclusión, esta mezcla de contaminantes afecta los niveles de expresión de moléculas implicadas en la fecundación en células germinales masculinas y podría afectar la fertilidad masculina.

FONDECYT 1150352 (RD.M), LMG: Becaria Doctorado CONICYT

PÓSTER 2

CONCENTRACIONES DIABÉTICAS DE METFORMINA REDUCE EL AUMENTO EN ANGIOGÉNESIS PROMOVIDA POR PLAQUETAS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE OVARIO

(Diabetic concentrations of Metformin inhibit platelet-mediated ovarian cancer cell angiogenesis)

Erices R^{1,2}, Marquez¹ M., Ramírez C¹, Cubillos S¹, González P¹, Bravo M.L¹, Kato S², Cuello M.A², **Owen G.I**^{1,3}.

¹Facultad de Ciencias Biológicas, ²Facultad de Medicina & ³Centro UC Investigación en Oncología, Pontificia Universidad Católica de Chile. gowen@puc.cl

Existe evidencia que establece a las plaquetas como promovedoras del angiogénesis tumoral y la diseminación del cáncer. Metformina es un fármaco que comúnmente se prescribe para el tratamiento a pacientes con diabetes tipo 2. Estudios epidemiológicos han mostrado que el uso de Metformina en pacientes con cáncer de ovario podría ser beneficioso, especialmente observado en un incremento en la supervivencia libre de la enfermedad. Estos estudios han despertado el interés de los investigadores en determinar el mecanismo de acción por el cual esta droga presenta estos beneficios anti-cancerígenos. Nuestros resultados muestran que la adición de plaquetas directamente sobre líneas de células endoteliales (cultivo primario HUVEC y línea Eahy926) induce un incremento en la angiogénesis y que este efecto es inhibido en presencia de Metformina a concentraciones utilizada en pacientes diabéticos. El inhibidor de AMPK (compuesto C), revierte el efecto inhibitorio de Metformina del incremento de la angiogénesis generada por plaquetas en células endoteliales. Además, demostramos que las plaquetas incrementan la liberación de factores pro-angiogénicos desde células de cáncer de ovario y este efecto es inhibido también por Metformina. Estos efectos sobre la angiogénesis podrían estar explicando los beneficios entregados por Metformina sobre las pacientes diabéticas quienes reducen el riesgo a generar cáncer de ovario o presentan un incremento en la supervivencia libre de enfermedad observada.

BMRC 13CTI-21526-P6, CORFO 13IDL2-18608, CONICYT-FONDAP 15130011, IMII P09/016-F, FONDECYT 3150028, 1140970, 1120292, 11140657.

PÓSTER 3

ROL DE LA VITAMINA E EN TUBO NEURAL DE EMBRIONES Y FETOS DE RATÓN (*Mus musculus*) TRATADOS CON ÁCIDO VALPROICO: ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE SONIC HEDGEHOG

(Role of vitamin E in neural tube embryos and fetus mouse (*Mus musculus*) treated with valproic acid: Immunohistochemical study of Sonic hedgehog)

Conei D^{1,2}, Saint-Pierre G¹, Soler B¹, Rojas M^{1,2}.

¹Laboratorio de Embriología Comparada, Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de la Frontera.

Sonic hedgehog (Shh) es un morfógeno esencial para el desarrollo del tubo neural. Su menor expresión ocasiona alteraciones en el sistema nervioso. Esto lo producen teratógenos, como el ácido valproico (VPA), que aumenta las especies reactivas de oxígeno, pudiendo contrarrestarse con vitamina E (VE). Se buscó determinar la inmunoexpresión de Shh en tubo neural y médula espinal en embriones y fetos de ratones con distintos tratamientos. Se conformaron 8 grupos de ratones hembra. A los 8 días post-coito (p.c.) se les administró a los grupos 1 y 5 suero fisiológico 0,3 ml; grupos 2 y 6 VPA 600 mg/kg; grupos 3 y 7 VPA 600 mg/kg+VE 200 UI/kg; grupos 4 y 8 VE 200 UI/kg, vía oral. A los 12 días p.c., se eutanasiaron los grupos 1 al 4, y a los 17 días los restantes. Se trataron para inmunohistoquímica anti-Shh. En las muestras marcadas positivamente se midió la densidad óptica integrada y porcentaje de área inmunoreactiva. Shh fue inmunopositivo en notocorda y placa del piso del tubo neural en embriones de 12 días p.c. Los grupos tratados con VPA+VE y VE presentaron mayor intensidad inmunohistoquímica y porcentaje de área inmunoreactiva en comparación al grupo tratado con VPA ($p \leq 0,0001$) en la placa del piso. En la notocorda, la intensidad de inmunoreacción fue similar a la placa del piso ($p \leq 0,0001$), pero el porcentaje de área no arrojó diferencias. Los grupos de 17 días p.c resultaron inmunonegativos. La VE regula la expresión de Shh en tubo neural, atenuando los efectos del VPA.

PÓSTER 4

THE 3' UTRs FROM *Rnf19a* mRNA, HIGHLY EXPRESSED IN SPERMATOCYTES, AND FROM THE *Rnf19aP3* PSEUDOGENE TRANSCRIPT, ARE TARGETS FOR MIRNA BINDING MEDIATED GENE EXPRESSION REGULATION

Smith, D1. Rejas, C1.; Villena, J.1; San Martín, S1; del Mazo, J.2; Párraga, M1.

1Centro de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. Chile. 2Centro de Investigaciones Biológicas. Laboratorio de Biología Molecular de la Gametogénesis.

CSIC. España.

MicroRNAs (miRNAs) have important roles in post-transcriptional regulation of mRNA expression in a plethora of processes. miRNAs exert their function by preferentially binding long 3' untranslated regions (UTRs) of mRNAs. This binding follows sequence specificity, blocking mRNA translation or inducing degradation of the transcript. miRNA mediated regulation is critical in spermatogenesis. *Rnf19a*, a differentially expressed gene during mouse spermatogenesis, gives rise to two transcripts, one of which contains a long 3' UTR. There are three *Rnf19a* processed pseudogenes in the mouse genome, one of which is *Rnf19aP3*. We expected these pseudogenes to have similar 3'UTRs to *Rnf19a* mRNA. Computational analysis of the 3'UTR of *Rnf19a* and *Rnf19aP3* mRNA sequences revealed several microRNA recognition elements (MREs) common to both. To test whether these MREs could interact with miRNAs, we developed plasmid constructs carrying the Enhanced Green Fluorescent Protein (*EGFP*) gene followed by either 3'UTR sequence. These constructs were transiently transfected into NIH 3T3, GC-1 and GC-2 cell lines. Plasmid pEGFP-C1 (*EGFP* alone) was also transfected in each cell line as a positive control. Fluorescence intensity of each transfected cell line was determined by flow cytometry 48 hours after transfection. Presence of *Rnf19a* 3'UTR generated a decreased EGFP fluorescence intensity for all cell types, compared to positive controls. Similar results were obtained with the *Rnf19aP3* 3'UTR construct. In conclusion, predicted *Rnf19a* and *Rnf19aP3* MREs could be involved in *Rnf19a* regulation, mediated by miRNAs directly or by competition between gene and pseudogene regulation.

Proyecto CID 05/06 Universidad de Valparaíso. Magíster en Ciencias Médicas, mención biología celular y molecular. Chile.

MINECO (BFU2013-42164-R), España.

PÓSTER 5

METFORMINA DISMINUYE LA VIABILIDAD DE ESFERAS DERIVADAS DE CÉLULAS DE CARCINOMA MAMARIO CANINO CF41.Mg

(Metformin decreases viability of spheres derived from CF41.Mg canine mammary carcinoma cells)

Romo MA, Cruz P, Arias JI, Torres CG

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

Una de las enfermedades más frecuentes de observar en la hembra canina es el cáncer de glándula mamaria, cuyos tratamientos incluyen la cirugía y quimioterapia adyuvante, las cuales carecen de selectividad. Las células neoplásicas troncales (CNT) corresponden a una subpoblación celular responsables en parte de la iniciación y progresión tumoral, las cuales exhiben autorenovación y quimio-radioresistencia. Metformina es una droga antidiabética que induce citotoxicidad sobre CNT derivadas de cáncer mamario humano, sin embargo en caninos hay escasa información pertinente. En este estudio se evaluó el efecto *in vitro* de metformina sobre la viabilidad de esferas derivadas de células de carcinoma mamario canino CF41.Mg. Se cultivaron esferas de células CF41.Mg en condiciones libres de anclaje y en ausencia de suero fetal bovino. Esta capacidad de formación de esferas se estudió en presencia de metformina. La expresión de CD44/CD24 fue analizada por citometría de flujo. Viabilidad celular en ausencia/presencia de la droga se analizó mediante el ensayo de reducción de MTS. Las esferas celulares exhibieron características de troncalidad como autorenovación y expresión del fenotipo CD44⁺/CD24^{-bajo}. 10 y 20 mM de metformina redujeron la capacidad de formación de esferas ($p < 0,0001$). Sin embargo, las esferas exhibieron resistencia a metformina en comparación a células neoplásicas parentales en períodos cortos de incubación (48 h) ($p < 0,0001$). Estos resultados sugieren que metformina ejercería actividad citotóxica sobre esferas derivadas de células CF41.Mg, siendo este efecto dependiente del tiempo de exposición a la droga. Metformina podría ser considerada como una droga que afecta a CNT mamas caninas.

FONDECYT 11110148

PÓSTER 6

EFFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN SOBRE LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA DE LA MEMBRANA DE ESPERMATOZOIDES DE SALMON DEL ATLANTICO (*Salmo salar*)

(Effect of cryopreservation on sperm membrane lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*))

Díaz R^{1,2}, Figueroa E^{1,2,3}, Ulloa P^{1,2}, Short S^{1,2}, Lee M^{1,2}, Dumorné K^{1,2}, Valdebenito I³, Farías JG^{1,2}

¹Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada (LIBBA), Dpto. Ingeniería Química, Universidad de La Frontera. ²Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR), Universidad de La Frontera. ³Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco.

La criopreservación ha sido ampliamente utilizada para prácticas reproductivas, conservación de germoplasma y mejoramiento de recursos genéticos. Sin embargo, la reducción de la motilidad y capacidad fecundante limitan su uso en espermatozoides de peces de importancia económica para la acuicultura chilena. Durante este proceso, la formación de cristales de hielo junto con el shock osmótico, generan daños celulares que modificarían el perfil lipídico de la membrana espermática. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de ácidos grasos de espermatozoides frescos y descongelados de Salmón del atlántico. El semen (n=4) fue colectado por medio de masaje abdominal y una alícuota de cada eyaculado se congeló en nitrógeno líquido utilizando un diluyente comercial con DMSO y glucosa. Los lípidos fueron extraídos mediante el método de Bligh & Dyer (1959) y posteriormente fueron transesterificados con KOH metanólico para su análisis por cromatografía de gases. Los resultados muestran que existe una variación en el perfil de ácidos grasos, ya que en espermatozoides frescos se identificaron 13 ácidos grasos, mientras que en espermatozoides congelados-descongelados se lograron identificar sólo 9 ácidos grasos. Específicamente, post-descongelación disminuyeron 15% los ácidos grasos saturados (SFA) y 4% los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 con respecto a espermatozoides frescos ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que algunos ácidos grasos son metabolizados durante el almacenamiento de semen, ya que los SFA se asocian con el metabolismo energético del espermatozoide, y que el proceso de congelación-descongelación generaría un gran daño debido pérdida de ácidos grasos omega-3 de la membrana.

FONDECYT N°3160572 (RD), FONDECYT N°1151315 (JF), Becas Doctorado CONICYT (EF, PU, SS, ML)

PÓSTER 7

EL APAREAMIENTO REGULA LOS NIVELES DE GLICOPROTEINAS HNK-1 EN LA MUCOSA OVIDUCTAL DE LA RATA

(Mating regulates the levels of HNK-1 carrier glycoproteins in the rat endosalpynx)

¹**Fábrega FA**, ¹Poveda PM, ¹Maldonado-Michea JR, ¹Díaz ES, ^{1,2}Morales P y ^{1,2}Zúñiga LM.

¹Laboratorio de Biología de la Reproducción. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Antofagasta. Antofagasta – Chile.

²Instituto Antofagasta. Universidad de Antofagasta. Antofagasta – Chile.

El apareamiento provee señales al tracto reproductivo de la hembra para asegurar el éxito reproductivo. Previamente, reportamos que el apareamiento induce la expresión de la enzima Sulfotransferasa de carbohidratos 10 (*Chst10*) en la mucosa oviductal. Esta enzima participa en la síntesis del carbohidrato HNK-1 (*Human Natural Killer-1*); carbohidrato que forma parte de glicolípidos y glicoproteínas que participan en procesos de interacción celular. En el oviducto de la rata, el carbohidrato HNK-1 se localiza en la cara luminal de las células epiteliales y en el lumen, asociado al mucus. En este contexto, el objetivo del presente trabajo es determinar si el apareamiento modifica los niveles de las glicoproteínas-HNK-1 en la mucosa oviductal de la rata. Para ello, ratas de la cepa *Sprague Dawley* fueron enjauladas con macho fértil la noche del pro-estro. Treinta minutos después, se determinó la presencia de espermatozoides en el lavado vaginal para verificar el apareamiento. Tres horas después, las hembras fueron sacrificadas, la mucosa oviductal aislada y procesada para western blot. El grupo control correspondió a hembras en pro-estro que fueron aisladas y mantenidas en una jaula vacía.

Detectamos a lo menos 7 bandas de glicoproteínas-HNK-1 en las células epiteliales y 8 bandas de glicoproteínas-HNK-1 asociadas al mucus. Además, detectamos que el apareamiento disminuye una banda de 130 KDa en las células epiteliales e incrementa una banda de 60 KDa en el mucus del oviducto. En conclusión, el apareamiento regula los niveles de glicoproteínas-HNK-1 en la mucosa oviductal de la rata.

FONDECYT 11121491 (L.Z.), FONDECYT 1120056 (P.M.) y FONDECYT 1130341 (E.D).

PÓSTER 8

METILACIÓN GLOBAL DEL ADN DURANTE LA INFANCIA TEMPRANA EN NIÑAS NACIDAS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP) Y DE NIÑAS CON DISTINTOS PESOS DE NACIMIENTO NACIDAS DE MUJERES NORMALES

(Global DNA methylation during early infancy in girls born to women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and in girls with different birth weight born to normal women)

Echiburú B¹, Pérez-Bravo F², Maliqueo M¹, Crisosto N¹, Flores C¹, Sandoval D³, Recabarren SE³ 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. ³Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán.

La epigenética comprende las modificaciones en la expresión génica, sin alteraciones en la secuencia del ADN, fenómeno involucrado en el desarrollo de diversas patologías. Condiciones adversas durante la gestación, pueden provocar cambios epigenéticos, los cuales pueden expresarse desde el desarrollo fetal hasta la vida postnatal. Tomamos 2 modelos de un posible ambiente intrauterino alterado: niñas con distinto peso de nacimiento (adecuadas (AEG), pequeñas (PEG) y grandes (GEG) para la edad gestacional) y niñas nacidas de madres con SOP (hiperandrogénicas). Caracterizamos el patrón de metilación global del ADN en 19 niñas nacidas AEG, 12 PEG, 8 GEG y 11 SOP entre los 2-3 meses de vida. En todas ellas se tomó una muestra de ADN y se realizó un examen clínico-antropométrico. La metilación global se evaluó mediante un kit colorimétrico (Epigentek) y se expresó como cuantificación relativa (%). Si bien la metilación global no mostró diferencias significativas entre los grupos, se observó un menor grado de metilación en las niñas PEG y GEG (1.22% y 1.02%, respectivamente) y mayor en las SOP (1.70%) en comparación al grupo control (1.48%). Además, observamos una correlación positiva entre la ganancia de peso de la madre durante el embarazo y el grado de metilación del ADN en el grupo total de niñas ($r=0.470$, $p=0.016$). En conclusión, las discretas diferencias en el porcentaje de metilación global del ADN que se presentaron entre los grupos, podrían ser consecuencia de una regulación epigenética diferente, probablemente por condiciones del embarazo, como ambiente metabólico y ganancia de peso.

Fondecyt 1151531, 1071007 y 1030487.

PÓSTER 9

ALMACENAMIENTO DE SEMEN DE RÓBALO PATAGÓNICO (*Eleginops maclovinus*) A 4°C: EFECTO DE LA DILUCIÓN EN LA FUNCIÓN ESPERMÁTICA

(Semen storage of Patagonian blenny (*Eleginops maclovinus*) at 4 °C: Effect of dilution on sperm function).

Contreras P¹, Ulloa P², Cheuquemán C¹, Merino O¹, Figueroa E²⁻³, Valdebenito I³, Farías J², Risopatrón J¹

¹Centro de Excelencia de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera. ²Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de la Frontera. ³Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco.

El róbalo patagónico es un pez marino importante en la pesca artesanal de Chile y Argentina. Debido a la sobrepesca, las poblaciones naturales han disminuido permanentemente, situación que conlleva a desarrollar biotecnologías reproductivas en esta especie para evitar su extinción. En acuicultura, el almacenamiento refrigerado del semen es un procedimiento necesario para enfrentar con logística las operaciones de cría a gran escala. Sin embargo, no existen antecedentes sobre almacenamiento de semen de róbalo. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la dilución del semen de róbalo patagónico (*Eleginops maclovinus*) durante el almacenamiento *in vitro* sobre los parámetros de función espermática. Muestras de semen fueron almacenadas: sin diluir (SSD: Control) y diluidas (SD) 1:3 (v/v) en medio Storfish[®], a 4°C por 7 días. Se analizó la motilidad por observación al microscopio, viabilidad e integridad de membrana plasmática (VIMP; SYBR-14/PI), potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_{Mit}$; JC-1) y fragmentación del ADN (ADN-F; TUNEL) por citometría de flujo. A los 7 días de almacenamiento, al comparar SD con SSD presentó mayores porcentajes de motilidad ($20,0 \pm 3,3\%$ y $0,0 \pm 0,0\%$; $p < 0,05$), VIMP ($81,0 \pm 3,9\%$ y $56,3 \pm 2,9\%$; $p < 0,05$), $\Delta\Psi_{Mit}$ ($56,4 \pm 5,7\%$ y $41,8 \pm 4,9\%$; $p > 0,05$) y menor ADN-F ($35,2 \pm 2,8\%$ y $44,4 \pm 3,8\%$; $p > 0,05$). Se concluye que el almacenamiento a 4°C de semen de róbalo diluido en Storfish[®] preserva adecuadamente la función espermática, parámetros importantes a considerar para el desarrollo del manejo *in vitro* de espermatozoides para la reproducción de esta especie en Chile.

Agradecimientos: FONDECYT 1151315 (J.F.)

PÓSTER 10

COMPARACIÓN DEL POTENCIAL DE MIGRACIÓN *IN VITRO* DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMÁTICAS DERIVADAS DE MÉDULA ÓSEA Y TEJIDO ADIPOSO FETAL BOVINO

(Comparison of the *in vitro* migration potential of mesenchymal stem cells derived from bovine fetal bone marrow and adipose tissue)

Jervis M¹, Cahuascanco B¹, Huaman O¹, Arias JI², Torres CG², Bahamonde J¹, Peralta OA^{1,3}

¹Laboratorio de Células Madres, ² Laboratorio de Biomedicina y Medicina Regenerativa, Departamento de Ciencias Clínicas, ³ Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Las células madres mesenquimáticas (MSC) se caracterizan por su potencial de autorenovación y diferenciación *in vitro* hacia linajes celulares mesodérmicos. Sin embargo, el potencial terapéutico de las MSC se basa principalmente en su capacidad de migración hacia áreas lesionadas y de producción de moléculas bioactivas estimulantes de la regeneración tisular. El objetivo del presente estudio fue comparar el potencial de migración *in vitro* de las MSC fetales bovinas derivadas de médula ósea (MSC-MO) y de tejido adiposo (MSC-TA). Se cultivaron 44×10^3 MSC-MO o MSC-TA / cm^2 hasta alcanzar 70% de confluencia. Fibroblastos (FB) fetales bovinos fueron cultivados en la misma densidad como control (N=6). Luego de 24 horas, se realizó una rasgadura o "scratch" en la monocapa de cada línea celular y el área de migración fue cuantificada en tiempo 0 (momento del scratch) y en tiempo 1 (24 h después del scratch) mediante el software ImageJ. Las áreas de migración de cada línea celular fueron comparadas estadísticamente utilizando ANOVA de una vía y postest de Tukeys. Se detectó un mayor ($p < 0,05$) porcentaje de migración *in vitro* en cultivos de MSC-MO comparado con FB. Sin embargo, los porcentajes de migración no fueron distintos ($p > 0,05$) entre MSC-MO y MSC-TA. En consecuencia, las MSC-MO muestran un mayor potencial de migración comparado con FB, lo que sugiere que este linaje celular puede ser un candidato para uso en terapia celular.

Fondef IDeA ID15I10129

PÓSTER 11

INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS, SUS EFECTOS EN ESPECIES BIOCENTINELES Y EN HUMANOS. CONTROL Y APLICACIÓN EN CHILE

(Organophosphorous pesticides: Their effects on biosentinel species and humans. Control and application in Chile).

Espinoza-Navarro O¹, Ponce-La Rosa C², Bustos-Obregón E³.

¹Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile ² Facultad de Ciencias, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile, ³Facultad de Medicina, Universidad de Chile (In memorian)

Insecticidas organofosforados, malathion y metamidofos son ampliamente usados en control de plagas. El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión de los efectos de estos plaguicidas en el reproductor macho de ratones, ratas y lombrices de tierra, y su proyección en la población humana. La metodología de trabajo se basó en revisión de artículos propios, nacionales e internacionales. Inducción de fallas en el reproductor masculino es un buen biomarcador *in vivo*, para comprobar el grado de toxicidad de los contaminantes. Los modelos de ratas, ratones y *Eisenia foetida*, son muy utilizados como especies biocentinelas en la determinación de efectos por tóxicos. Resultados de nuestros estudios indican que malathion, en ratas y ratones provoca disminución del peso testicular, menor densidad espermática, taponamiento tubular y aumento de la teratozoospermia, afectando los índices de fecundación. En *Eisena foetida*, malathion y metamidofos provocan una baja significativa en el peso corporal y enrollamiento de cola, su sistema reproductivo presenta alteraciones en la espermateca y el estado de mórula, con un aumento significativo inicial de espermatozoides inmaduros seguido de una disminución significativa en el recuento espermático con altos índices de metacromasia. Estos resultados comprueban la toxicidad de organofosforados, alertando a los organismos internacionales y regionales sobre el uso correcto de estos contaminantes en el ámbito laboral, en el uso de las aguas, el alimento y en el hogar, colocando una mayor atención a la población infantil escolar, debido a su alta vulnerabilidad, menor capacidad de destoxificación, sus efectos endocrinos y fisiológicos en general.

Proyecto Mayor Universidad de Tarapacá N° 4712-13

PÓSTER 12

EXPRESIÓN RELATIVA DE RNAm DE *Bmp15* EN LAS CÉLULAS DEL CÚMULO DE OVOCITOS DE PERRAS EN DIESTRO

(Relative expression of *Bmp* 15 mRNA in cumulus cells of oocytes from diestrous bitches)

Ramírez, G.; García, P.; Torres-Fuentes, JL.; Palomino, J.; De los Reyes, M.
Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

La expansión de las células del cúmulo es un proceso crítico para la maduración de los ovocitos en diversas especies; miembros de la familia de transformación beta, como la proteína morfogénica ósea 15 (BMP-15) están relacionados con este proceso. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de RNAm de *Bmp* 15 en células del cúmulo de ovocitos obtenidos de folículos antrales de perras en etapa de diestro antes y después de la maduración *in vitro* (IVM), comparando entre aquellos cúmulos que lograron expandirse y los que no mostraron expansión. Se trabajó con cúmulos complejos ovocitos (COCs) obtenidos de folículos antrales pequeños (~0.2-0.39 mm) y medianos (~0.4-5.9 mm). Los niveles de expresión de este gen se determinaron usando la técnica de qRT-PCR, usando como genes de referencia a β -actina ARN e Histone 2A ARN. Los resultados preliminares mostraron que las células del cúmulo de ovocitos antes del cultivo expresaron más RNAm *Bmp* 15 que aquellos después de la IVM. Adicionalmente, las células del cúmulo que estaban en estado expandido luego del cultivo presentaron menor expresión relativa del gen de esta proteína en comparación a aquellas no expandidas. Estos resultados podrían indicar que la disminución de la expresión génica de *Bmp15* después de la maduración en cultivo, así como en los cúmulos que lograron expandir, se relacionaría a una mayor tasa de traducción, lo que requiere ser confirmado.

Financiado Proyecto FONDECYT 1140658

PÓSTER 13

LA VÍA AMPc/PKA REGULA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL PROTEASOMA DURANTE LA CAPACITACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO

(The cAMP/PKA pathway regulates the enzymatic activity of the sperm proteasome during human sperm capacitation)

Cikutović, R.¹ Zapata, H.¹ Barón, L.¹⁻² Díaz, ES.¹ Morales, P.¹⁻²

¹Laboratorio de Biología de la Reproducción. Departamento Biomédico. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad de Antofagasta. ²Instituto Antofagasta. Universidad de Antofagasta. Chile.

Durante la capacitación espermática ocurre una activación de la vía AMPc/PKA. La PKA fosforila proteínas que poseen residuos de Ser y Thr. Sin embargo, en espermatozoides humanos las proteínas dianas de PKA no son conocidas, aunque en otros modelos celulares se ha planteado que el proteasoma es una de ellas. Aun así, no hay información sobre la relación que existe entre PKA y el proteasoma durante la capacitación temprana. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la vía AMPc/PKA regula la actividad enzimática del proteasoma espermático durante la capacitación de espermatozoides humanos.

Con este propósito, espermatozoides humanos fueron obtenidos en un gradiente doble de percoll e incubados en medio capacitante (2,6% BSA y 25 mM bicarbonato). Luego, diferentes alícuotas fueron incubadas a 37 °C y 5% CO₂ por diferentes tiempos (0, 1, 10, 15, 30 y 60 minutos) y con distintos inhibidores de la vía AMPc/PKA o del proteasoma. La actividad quimotripsina del proteasoma y el porcentaje de espermatozoides capacitados se analizaron usando el sustrato fluorogénico Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC y el ensayo de clortetraciclina (CTC), respectivamente.

Los resultados indican que el tratamiento con epoxomicina disminuye el porcentaje de espermatozoides capacitados. La actividad quimotripsina del proteasoma incrementa significativamente a los 10 min de capacitación, manteniéndose alta durante el tiempo de incubación ($p < 0.01$; $n = 6$). Por otro lado, el tratamiento con 10 μ M KH7 (inhibidor de la adenililciclase soluble) o 50 μ M H89 (inhibidor de PKA), disminuye significativamente la actividad tipo quimotripsina del proteasoma ($p < 0.01$; $n = 4$). Estos resultados sugieren que la vía AMPc/PKA regula la actividad enzimática del proteasoma durante la capacitación.

FONDECYT: 1120056 (P.M.), Becario Doctorado CONICYT:21120844 (H.Z.) y Beca de Tesis de Pregrado Universidad de Antofagasta (R.C.)

PÓSTER 14

EFFECTOS DE METFORMINA SOBRE LA FUNCIONALIDAD DE LAS CELULAS DE SERTOLI (CS)

(Metformin effects on Sertoli cell function)

Gustavo Rindone, Agostina Gorga, Mariana Regueira, María del Carmen Camberos, Eliana Pellizzari, María Noel Galardo, Silvina Beatriz Meroni y María Fernanda Riera
Centro de Investigaciones Endocrinológicas, "Dr César Bergadá", CONICET-FEI-División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez

Se conoce que las CS proliferan durante el periodo fetal y neonatal en la rata y que dejan de proliferar a los 15-18 días coincidentemente con la formación de la barrera hematotesticular (BHT). El número de CS alcanzado en los periodos proliferativos determinará la capacidad espermatogénica de los animales adultos. Se ha demostrado que Metformina (Met) disminuye la proliferación de varios tipos celulares. Recientemente Met ha sido aprobada para el tratamiento de la diabetes en niños donde las CS proliferan y aún no han formado la BHT. Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar si Met es capaz de alterar la proliferación de CS y la formación de la BHT. Para ello, evaluamos la incorporación de BrdU, la expresión de ciclinas e inhibidores de ciclinas y la resistencia transepitelial (TER). Observamos que en cultivos de CS de rata de 8 días de edad, células con capacidad proliferativa, Met (10mM) disminuye la incorporación de BrdU tanto en ausencia como en presencia de FSH (B:13,9±1,8%; Met:8,2±3,3%*; FSH:25,6±4,3%; FSH+Met:10,4±2,7%#; X±DS; *p<0.05vsB; #p<0.05vsFSH). Met también disminuye los niveles de ARNm de ciclinas D1 y D2 e incrementa los del inhibidor p21CIP en presencia de FSH. Por otro lado, en cultivos de CS de 18 días de edad, capaces de formar la BHT, observamos que Met disminuye la TER en presencia de Testosterona. En conjunto, los resultados sugieren que Met podría inhibir la proliferación de la CS y modificar la formación de la BHT, lo que alerta sobre su utilización en pacientes pediátricos.

PIP2011-187 (SM) PICT2014-0945 (SM)
GR: becario doctoral CONICET

PÓSTER 15

DIFFERENTIAL RESPONSE OF TWO PUTATIVE Wnt/ β -CATENIN TARGET GENES, *cx43* and *dax1* in 42GPA9 (MOUSE ADULT SERTOLI) CELL LINE

López C¹, Aguilar R², Montecino M², Meisterernst M³, Slebe JC¹, **Concha I**¹.

¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile;

²Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB), Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. ³Institute for Molecular Tumor Biology (IMTB), Muenster University, Germany.

camila.lopezmoreno@gmail.com

Sertoli cells are the nutritional and metabolic support of germ cells. Wnt/ β -catenin signaling is important for the development of the seminiferous epithelium during embryonic age, however after birth this pathway is downregulated. Transgenic mice where β -catenin is constantly activated have altered spermatogenesis. *Cx43* and *Dax1* are important proteins for testicular development. These genes have TBEs (TCF binding elements) within their promoters and in transgenic mouse models, *cx43* and *dax1* are deregulated possibly affecting Sertoli cell functionality.

We evaluated whether this signalling pathway induces upregulation of *cx43* and *dax1* gene expression in 42GPA9 cells and the possible molecular mechanism involved in the differential response of these genes.

Nuclear translocation of β -catenin was evaluated by immunodetection. mRNA abundance was determined by RT-qPCR and histone marks and β -catenin promoter occupancy at the reported TBEs and two additional TBEs found in *cx43* gene was assessed by ChIP analysis. Luciferase assays in a heterologous system (HEK293 cells) was used to study *cx43* as a direct target.

Sertoli cells responded to treatments, accumulating β -catenin within the nucleus and activating *axin2* transcription. Stimulated 42GPA9 cells showed a 2-fold increase of *cx43* mRNA and a 2-fold increase of luciferase units in the heterologous system, while *dax1* mRNA was not affected. Histone marks of activation such as H3K9Ac and H3K4me3 were found only in *cx43* TBE although β -catenin was recruited in both *cx43* and *dax1* TBEs.

These findings suggest that *cx43* gene is a direct target of β -catenin upon activation of this signaling pathway in 42GPA9 cells.

FONDECYT 1141033, Becario Doctorado CONICYT (CL) and Scholarship Internship MECESUP AUS 1203

PÓSTER 16

LOS CANALES DE PANNEXINAS ESTÁN INVOLUCRADOS EN EL INCREMENTO EN LA PERMEABILIDAD AL IP LUEGO DE CONGELAMIENTO Y DECONGELAMIENTO EN ESPERMATÓZOIDES DE PERRO

(Pannexin channels are involved in freezing/thawing IP-permeability increase in dog spermatozoa)

Torres-Fuentes, JL^{1,2}; Palomino, J.¹; Moreno, RD.²; De los Reyes, M.¹

¹ Laboratorio de reproducción animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. ² Departamento de fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El yoduro de propidio (IP) es una prueba ampliamente utilizada y de elección para la evaluación de integridad de membrana plasmática en espermatozoides criopreservados debido al daño y estrés severo ocasionado con la congelación/descongelación. Sin embargo, esta molécula es permeable a las pannexinas (Panx1-3), proteínas que forman canales de membrana funcionales no descritos en perros. Este estudio buscó detectar las Panx por citometría de flujo e inmunofluorescencia, evaluando la relación entre estas proteínas y la exclusión de PI en espermatozoides congelados/descongelados. Para esto eyaculados de diferentes perros fueron congelados, descongelados y preincubados con inhibidores de Panx o vehículo y PI y evaluados por citometría de flujo. Los resultados mostraron la presencia de las 3 Panx, estando Panx1 y 3 mayormente localizada en el segmento ecuatorial y acrosomal mientras que, Panx2 en la región posterior de la cabeza y cola. El porcentaje de células PI positivas post-descongelación, se redujo al preincubar inhibidores de Panx antes del IP. Demostrando que las pannexinas están presentes en el perro y que participan en el incremento de la permeabilidad de membrana a IP en espermatozoides congelados/descongelados, sugiriendo que el porcentaje de espermatozoides IP positivos evaluados como células no viables podría estar sobrestimado.

Financiamiento FONDECYT 1140658

PÓSTER 17

PACIENTES SOMETIDOS A HIPOBARIA INTERMITENTE CRÓNICA PRESENTAN UN MAYOR ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DEL DNA ESPERMÁTICO QUE PACIENTES QUE TRABAJAN A NIVEL DEL MAR

(Patients undergoing chronic intermittent hypobaria have a higher rate of sperm DNA fragmentation patients who work at sea level)

Pérez, B.¹; García, V.¹; Pacheco, V.¹; Signorelli, J.¹; Silva-Urra, J.²; Cikutovic M.²; Díaz, E.S.¹.

¹Centro de Estudios en Medicina Reproductiva (CEMER-UA). ² Centro de Investigación en Fisiología y Medicina de Altura. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Antofagasta.

Es sabido que los ambientes hipóxicos causan una disminución de la calidad espermática, sin embargo, es difícil determinarlo pues los parámetros que se evalúan en un espermiograma no siempre se correlacionan con la capacidad reproductiva del individuo. Recientemente, se está midiendo el índice de fraccionamiento del DNA (IDF) para evaluar la integridad genética del espermatozoide, y determinar problemas de subfertilidad masculina, pero aún no es una técnica rutinaria. El objetivo de este trabajo es comparar el IDF espermático, con la calidad espermática, en hombres expuestos a hipobaria intermitente crónica (HIC) o no. Para ello, se les realizó un espermiograma a 160 pacientes que consultaron por problemas de infertilidad, sin causa femenina detectada. Paralelamente, fueron clasificados de acuerdo a si trabajan sometidos a HIC o trabajan a nivel del mar. Se evaluaron los parámetros según la OMS y se determinó el IDF por microscopía de fluorescencia. Los resultados demostraron que no existen diferencias entre el tipo de infertilidad (primaria o secundaria) vs. el tipo de ambiente. Por otra parte, los pacientes sometidos a HIC presentan un mayor IDF y un mayor porcentaje de espermatozoides teratozoospermicos, oligozoospermicos y astenozoospermicos que los pacientes que trabajan a nivel del mar. De los pacientes con espermiogramas normales, los sometidos a HIC, presentan mayor IDF que los pacientes que trabajan a nivel del mar ($p < 0,001$). Estos resultados sugieren que la exposición a hipobaria intermitente crónica genera mayor daño en el ADN espermático y que el IDF podría ser un buen parámetro para determinar problemas de infertilidad masculina.

Fondecyt 1130341

PÓSTER 18

LA EXPOSICIÓN PRENATAL A TESTOSTERONA INDUCE MÍNIMOS EFECTOS EN LA MADURACIÓN PULMONAR DE FETOS OVINOS PREVIOS A LOS 120 DÍAS DE GESTACIÓN (dg)

(Prenatal testosterone exposure produced minimal effects on lung maturation in fetal sheep before 120 days of gestation (dg))

Sandoval, D.^{1,2}, Gutierrez, M.¹, González, M. J.¹, Recabarren, MP.¹, Recabarren, S.E.¹

¹Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal. Departamento de Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Concepción, Chillán. ² Departamento de Patología y Medicina Preventiva. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Concepción, Chillán.

Se ha demostrado que la exposición *in utero* a un ambiente hiperandrogénico durante el desarrollo fetal induce un efecto reprogramador a nivel metabólico, neuroendocrino y reproductor. Sin embargo, se desconoce su efecto en el sistema respiratorio en el que los niveles de estrógenos y andrógenos regulan el proceso de maduración estructural y capacidad de síntesis de surfactante pulmonar. En este sentido, el objetivo del presente estudio, fue evaluar el efecto de la exposición prenatal a testosterona (EPT) sobre la maduración estructural y su capacidad de respuesta mediada por la expresión de receptores de andrógenos y estrógenos. A partir de biopsias de lóbulos pulmonares de fetos control (machos-C=5 y hembras-C=9) y EPT (machos-T= 7 y hembras-T= 5)(120 de destación:dg) se analizaron el número y área de alveolos; área de bronquios y bronquiólos; cantidad de neumocitos. Paralelamente, se evaluó la expresión del ARNm para AR1, AR2, ER α y ER β por qPCR. Los resultados indican que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) en los parámetros morfológicos, excepto en el área bronquiolar donde machos-T y hembras-T presentan menores áreas que sus controles respectivos ($p<0,05$). Los niveles de expresión de AR y ER, no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) en hembras-T en relación a hembras-C. Sin embargo, para AR2 se presentó una leve tendencia incremental ($p=0,0738$). Estos resultados permiten concluir que la exposición a testosterona no modifica directamente el grado de maduración estructural del pulmón durante el período fetal antes de los 120 dg. No obstante, el incremento parcial en los niveles de expresión del ARNm de AR2 podría influir en una alteración en la señalización intracelular de los andrógenos en neumocitos II afectando la maduración estructural y funcional final del tejido pulmonar.

Financiado por Fondecyt 1140433 y FISENLAB-UdeC

PÓSTER 19

EL MICROAMBIENTE HIPERANDROGÉNICO INTRAUTERINO IMPACTA EL DESARROLLO Y FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS FETALES EN HEMBRAS OVINAS

(Impact of the hiperandrogenic intrauterine microenvironment on development and function of fetal beta cells in females)

Sandoval, D.^{1,2}, Carrasco, A.¹, Rojo, M.P.¹, González, M. J.¹, Recabarren, MP.¹, Sir-Petermann T³, Recabarren, S.E.¹

¹Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal. Departamento de Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Concepción, Chillán. ² Departamento de Patología y Medicina Preventiva. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Concepción, Chillán. ³ Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Santiago.

La exposición prenatal a un exceso de testosterona (EPT), en el modelo ovino, ha mostrado severas alteraciones metabólicas, reproductivas y neuroendocrinas como consecuencia del efecto de la reprogramación fetal por testosterona. Desde el punto de vista metabólico, se ha demostrado la presencia de resistencia insulínica durante la vida postnatal temprana y adulta. En este sentido, las alteraciones bioquímicas y metabólicas observadas se asemejan a lo ocurrido en mujeres con síndrome de ovario poliquístico. La homeostasis glucosídica depende inicialmente, del desarrollo y funcionalidad del páncreas endocrino durante la vida fetal, debiendo considerar la apropiada diferenciación de las células beta con capacidad para secretar insulina en respuesta a la internalización de glucosa por GLUT2. En este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar las modificaciones morfológicas del páncreas endocrino fetal y determinar el perfil de expresión de GLUT2 en las células beta de fetos ovinos hembra EPT. Secciones de páncreas fetal de 120 dg (hembras-C=3 y hembras-T=3) se analizaron histológicamente y posteriormente los islotes pancreáticos se aislaron por microdissección láser para ensayos de qPCR. Los resultados muestran que los páncreas de hembras-T (n=5) presentaron menor peso (grs) que hembras-C (p<0,05). De igual manera, tanto el área total de los islotes, el área de los islotes reactivos para insulina y la proporción porcentual de la población celular de células beta fue menor en hembras-T (p<0,05). Paralelamente, la expresión del ARNm para GLUT2 fue menor en hembras-T (p<0,05). Estos resultados permiten sugerir que la EPT altera la configuración estructural y poblacional del páncreas endocrino fetal, además de modificar negativamente la expresión de GLUT2, esencial para la secreción de insulina en respuesta a los niveles de glucosa plasmática.

Financiado por Fondecyt 1140433 y FISENLAB-UdeC

PÓSTER 20

CARACTERÍSTICAS DEL ESPERMATOZOIDE DE RÓBALO PATAGÓNICO (*ELEGINOPS MACLOVINUS*) Y EL EFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN FRÍO SOBRE LOS CONTENIDOS DE ATP BASAL Y CONSUMO DE OXÍGENO EN EL TIEMPO

(Spermatozoa characteristics of Patagonian blenny (*Eleginops maclovinus*) and the effect of cold storage on basal ATP and oxygen consumption over time)

Ulloa P¹, Contreras P², Figueroa E^{1,3}, Risopatrón J², Valdebenito I³, Farías JG¹

¹Laboratorio de Ingeniería, Biotecnología y Bioquímica Aplicada, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de La Frontera. ²Centro de Excelencia de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR), Universidad de La Frontera. ³Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco.

La población de *Eleginops maclovinus* ha disminuido debido a la sobreexplotación. Los espermatozoides de muchos teleósteos están descritos en la literatura, pero no en esta especie. El objetivo de este trabajo es estudiar la morfología del espermatozoide de *E. maclovinus* y evaluar contenido de adenosín-trifosfato (ATP) y consumo de oxígeno (OCR) durante almacenamiento *in-vitro* en frío (ICS), como primera etapa de evaluación del efecto de ICS. Muestras de semen de diez machos fueron seleccionadas, dispuestas en pool y almacenadas en una cámara fría a 4°C-14 días. En el día 0, 5, 7 y 14 se tomaron muestras almacenadas para ser tratadas para microscopía electrónica de barrido (SEM). La morfología del espermatozoide fue determinada por SEM y se realizaron medidas mediante ImageJ[®]. En el día 0, 3, 5, 7, 10 y 14, se tomaron muestra para análisis de contenido de ATP y OCR utilizando los kits CellTiterGlo[®] y MitoXpress[®] respectivamente en un lector multimodal. La forma y medida de la cabeza, pieza media y cola mostró patrones acordes a la descrita en bibliografía. El análisis de SEM reveló daño severo en la membrana plasmática después del día-7, mostrando signos de debilitamiento de la pieza media. 1×10^9 espermatozoides contenían alrededor de 10.000 nm ATP donde la mayoría está reservada para la activación de la motilidad. Sin embargo, durante las condiciones de ICS este nivel de ATP decrecía junto con un aumento de OCR. En conclusión, los espermatozoides de *E. maclovinus* tienen morfología similar a los de Lábridos y el semen es almacenable, manejo el cual puede mejorarse.

FONDECYT 1151315 (Farías, JG). Beca CONICYT Doctorado Nacional 21140852 (Ulloa, P).

PÓSTER 21

COMPARACIÓN DEL POTENCIAL DE PROLIFERACIÓN *IN VITRO* DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DERIVADAS DE MÉDULA ÓSEA Y TEJIDO ADIPOSO FETAL BOVINO

(Comparison of the *in vitro* proliferative potential of mesenchymal stem cells derived from bovine fetal bone marrow and adipose tissue)

Huaman O¹, Jervis M¹, Cahuascanco B¹, Cortez J¹, Torres CG², Bahamonde J¹, Peralta OA¹.

¹Laboratorio de Células Madre, Departamento de Fomento de la Producción Animal,

²Laboratorio de Biomedicina y Medicina Regenerativa, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Las células madre mesenquimales (MSC) son una herramienta prometedora para uso en terapia celular, debido a su potencial de auto-renovación, capacidad de diferenciación multipotente, potencial inmunomodulador y baja inmunogenicidad. Su aplicación en la especie bovina aún es desconocida a pesar de los potenciales usos terapéuticos en diversas patologías en esta especie. En el presente ensayo se comparó el potencial de proliferación *in vitro* de MSC derivadas de médula ósea (MO) y tejido adiposo (TA) fetal bovino. Las MSC fueron aisladas desde MO (MSC-MO) y TA (MSC-TA) en base a su capacidad de adherencia al plástico y a su morfología fibroblastoide. El potencial de proliferación de MSC se determinó durante cultivo *in vitro* (n=5) en un periodo de 10 días. Para cada línea se sembraron 8600 células/cm² de 2^{do} o 3^{er} pasaje y su proliferación fue cuantificada cada 48h mediante hemocitometría. El tiempo de doblaje de la población (PDT) se determinó en fase logarítmica para ambas líneas celulares. Las MSC-TA alcanzaron su fase estacionaria a una menor densidad celular (27.300 células/cm²) comparado con las MSC-MO (49.460 células/cm²). El potencial de proliferación para MSC-MO fue mayor (P<0.001) comparado con MSC-TA a partir del día 6 de cultivo. Las MSC-TA doblan su población en menor (P<0.001) tiempo en comparación a las MSC-MO. En conclusión, utilizando una alta concentración de siembra, las MSC-MO poseen un mayor potencial de proliferación que las MSC-TA, probablemente debido a que las MSC-TA detienen su proliferación al alcanzar una alta confluencia en la placa de cultivo.

FONDEF Idea ID15I10129 (O.P), OH: Becario Magister PRONABEC, Ministerio de Educación del Perú.

PÓSTER 22

INHIBICIÓN DE BMP-15 DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE OVOCITOS DE PERRA

(BMP-15 inhibition during *in vitro* maturation of bitch oocyte)

García, P.; Ramírez, G., Torres-Fuentes, JL; Palomino, J.; De los Reyes, M.
Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias,
Universidad de Chile.

BMP-15 pertenece a la familia de factores de transformación beta y tiene importantes funciones a nivel del folículo y del ovocito. Este factor ha sido descrito también en perras en distintas etapas del desarrollo folicular y en cultivos de ovocitos *in vitro*. Su efecto en la maduración *in vitro* (IVM) no es del todo claro en esta especie, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la inhibición de esta proteína durante la IVM de ovocitos caninos obtenidos durante diferentes etapas del ciclo estral. Los ovocitos se obtuvieron desde folículos antrales de perras en anestro, proestro/estro y diestro, los que se cultivaron en medio estándar de maduración (TCM-199 Suplementado) con o sin anticuerpos anti BMP-15, en una dilución de 1/100 por un período de 72 h bajo condiciones de cultivo. Los resultados mostraron que los ovocitos incubados con el Ac anti BMP-15 detuvieron su desarrollo principalmente en el reinicio meiótico (VGBD) en las distintas etapas del ciclo (anestro: 47% y 75%; proestro/estro: 33% y 62%; diestro: 20% y 71% entre los controles y los tratados respectivamente). Asimismo, los porcentajes de Metafase (MI/MII) fueron menores significativamente en los grupos de ovocitos tratados versus los controles en todas las etapas (anestro: 19% y 31%; proestro/estro: 30% y 58%; diestro: 14% y 76% respectivamente). Los resultados indican que BMP-15 sería un factor relevante en la maduración de ovocitos caninos independiente de la etapa del ciclo estral.

Financiado Proyecto FONDECYT 1140658

PÓSTER 23

EVALUACION DE LA EXPRESION DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO EN RESPUESTA A LA SEÑAL EMBRIONARIA EN ENDOMETRIOS DE CICLOS DE REPRODUCCION ASISTIDA

(Expression of complement system proteins in response to early embryo signal human chorionic gonadotropin in endometria from women with assisted reproduction)

Camila Aguirre¹, Felipe Argandoña¹, Camila Paredes¹, Paulina Kohen¹, Sonia Dittus¹, Alberto Palomino¹.

¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Departamento de Obstetricia y Ginecología Centro, Universidad de Chile.

La implantación embrionaria es un proceso limitante de la reproducción asistida. El control de la activación del sistema del complemento es fundamental para la supervivencia del embrión y el desarrollo del embarazo. El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión de C3 y las proteínas reguladoras del complemento: CD55, CD46 y CD59 en respuesta a la señal embrionaria temprana, la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) en endometrios de ciclos de reproducción asistida. Se obtuvieron biopsias de endometrio de mujeres en ciclos de estimulación ovárica para fertilización asistida (IVF) sin transferencia embrionaria debido al riesgo del síndrome de hiperestimulación ovárica severa (n=6), ciclos de preparación endometrial hormonal (PE) para transferencia embrionaria (n=6) y de mujeres fértiles durante la fase secretora media (n=10). Se utilizó inmunohistoquímica (IHQ) para localizar las proteínas del complemento. Explantes de endometrio fueron cultivados con o sin hCG por 24hrs. Se utilizó Western blot para determinar la abundancia de las proteínas. Se utilizó el test Kruskal-Wallis para la comparación múltiple. C3 se localizó en el estroma y las proteínas reguladoras de complemento en las células epiteliales. En respuesta a hCG, Los niveles proteicos de C3 y DAF se incrementaron concomitantemente en los endometrios de mujeres fértiles y PE (p=0.03 y p=0.01), mientras que en los ciclos IVF, la expresión de DAF no se modificó. La expresión disfuncional del sistema del complemento en respuesta a la señal embrionaria, en los ciclos IVF, podría generar un ambiente inmunológicamente hostil comprometiendo la supervivencia embrionaria y afectando su implantación.

FONDECYT 1140688.

PÓSTER 24

ALTERACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE INSULINA Y SU RELACIÓN CON LA SEÑALIZACIÓN DE ADIPONECTINA EN ENDOMETRIOS DE PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS)

(Alteration of insulin signaling pathway and its relationship with adiponectin pathway in endometria of patients with Polycystic Ovary Syndrome)

Poblete CE^{1,2,3}, Oróstica L¹, Astorga I¹, García V^{1,4}, Carvajal R¹, Romero C¹, Vega M¹.

¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina Universidad de Chile. ² Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³ Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor. ⁴ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

El PCOS, presente en el 5-15% de mujeres en edad fértil, es una alteración endocrino-metabólica caracterizada por hiperandrogenismo, oligo o amenorrea y/u ovarios poliquísticos. Además, 60-80% de las pacientes con PCOS presentan obesidad, siendo adiponectina (insulino sensibilizante) un marcador de esta condición; adiponectina se encuentra disminuida al igual que su señalización, en diversos tejidos incluyendo al endometrio, favoreciendo la condición de insulino-resistencia. Este trabajo evalúa si la condición hiperandrogénica e hiperinsulínica presente en PCOS, altera niveles de moléculas participantes en las vías de señalización de adiponectina e insulina, en endometrio humano y en líneas celulares de estroma endometrial. Se utilizaron endometrios obtenidos de pacientes Obesas-PCOS e hiperinsulinémicas y de controles Delgadas y Obesas sin hiperinsulinemia y ensayos *in-vitro* en líneas celulares endometriales (T-HESC y St-T1b). Se determinó, por inmunohistoquímica e inmunocitoquímica (IOD), los niveles de APPL1, S6K, IRS e IRS fosforilado. Los resultados muestran que el grupo Obesas-PCOS presentó niveles disminuidos de APPL1, IRS total y de su fosforilación activante (p-IRS-Y612) ($p < 0.05$) vs. controles (Delgadas y Obesas); sin embargo, el contenido de p-IRS-S270 (fosforilación inactivante) aumentó significativamente ($p < 0.05$). El nivel de S6K fue similar en todos los grupos estudiados. El tratamiento en condiciones hiperinsulínicas e hiperandrogénicas de las líneas celulares provocó un aumento de los niveles proteicos de p-IRS-S270 ($p < 0.01$) y disminución de p-IRS-Y612 ($p < 0.001$), confirmando los resultados obtenidos en tejidos. En consecuencia, la hiperinsulinemia y obesidad en mujeres con PCOS disminuirían la señalización de adiponectina, afectando negativamente la señalización de insulina en células endometriales, comprometiendo así la función endometrial en estas mujeres.

Financiamiento : FONDECYT N°1130053 (MVB)

PÓSTER 25

COMPACTACIÓN DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA: POSIBLE EXPLICACIÓN DE LA INFERTILIDAD IDEOPÁTICA ASOCIADA A SEMEN DE POTROS "BUENOS CONGELADORES"

(Compaction of sperm chromatin: possible explanation of idiopathic infertility associated with sperm foals "good freezability")

Hartley, R¹; Alvarenga, M²; Ramírez, C²; Romero, F³, Ramírez-Reveco, A¹

¹Laboratorio Criobiología y Análisis de Funcionalidad Espermática, Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile

²Laboratorio de Neurociencia y Biología de Péptidos (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

³Universidad Estadual de Sao Paulo UNESP, Botucatu, Sao Paulo, Brazil.

Contar con técnicas que orienten un manejo eficiente de reproductores equinos de alto valor, es una constante problemática en el área. En el caso de la evaluación espermática, diversos son los estudios que han indicado la importancia de la compactación de la cromatina nuclear, tanto como un indicador de la correcta espermatogénesis y maduración epididimaria, como también en la formación del pronúcleo post fecundación. En el presente estudio evaluamos 21 potros cuyos eyaculados presentaban óptimos valores de congelabilidad, y que agrupados presentaban diferencias significativas (un orden de magnitud) en la tasa de gestación al día 15 post inseminación, 74,33% para el grupo fértil (n=10) y 7,45% para el sub-fértil (n=11). Al evaluar la calidad seminal post congelación, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) tanto en su integridad de membrana, morfología, motilidad (total y progresiva), estado acrosomal, peroxidación lipídica, estabilidad de membrana y activación de caspasa. Por otra parte en la evaluación de la integridad nuclear, que contemplo los ensayos de fragmentación de DNA (Halomax) y test de tioglicolato (Hartley et al, 2016), solo se obtuvieron diferencias significativas entre los dos grupos, en el parámetro que evalúa el estado de compactación de la cromatina ($p < 0,05$). Nuestros resultados sugieren poner especial atención en estado de la compactación nuclear como un factor de calidad seminal crítico asociado a la fertilidad en equinos.

Financiamiento:

Beca Conicyt Tesis Doctoral Ricardo Hartley, Folio 21120861.
Proyecto Fondef D08I1076.

PÓSTER 26

FACTORES APOPTÓTICOS RELACIONADOS CON LA FLOTABILIDAD DE EMBRIONES TEMPRANOS DEL PEZ *Seriola lalandi*

(Apoptotic factors related with buoyancy of the early embryos in the fish *Seriola lalandi*)

Gómez-Pérez CA, Rodríguez J, Torres-Fuentes JL, Hernández E, Dettleff P, Palomino J.

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

La flotabilidad en los embriones tempranos de peces pelágicos se asocia a la calidad y sobrevivencia. Las altas mortalidades observadas en cautiverio, se han relacionado con la pérdida de flotabilidad de los embriones y en la cual se ha propuesto la participación de mecanismos apoptóticos. El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre la flotabilidad de embriones tempranos de *Seriola lalandi* y la expresión de genes relacionados con la apoptosis. Para esto, se evaluó mediante RT-qPCR la expresión relativa de Bax, Bcl-2, Caspasa3 y Caspasa9 en 5 estadíos embrionarios previamente clasificados como flotantes y no flotantes. En todos los estadíos se observó una mayor expresión de Bax en muestras no flotantes. Bcl-2 presentó mayores niveles de mRNA en embriones flotantes hasta el estado de blástula. Desde gástrula, la expresión de este gen fue mayor en las muestras no flotantes. Los niveles de expresión de Bax y Bcl-2 concuerdan con su rol anti y proapoptótico descrito para estos genes. Con la excepción de los huevos, en todos los estadíos embrionarios Caspasa3 presentó mayor expresión en las muestras no flotantes. Por su parte, Caspasa9 se expresó en altos niveles desde el inicio del desarrollo en muestras no flotantes, lo cual se relacionaría con sus características de iniciadora de la reacción que lleva a la apoptosis. Estos resultados, proveen evidencia que factores proapoptóticos son altamente expresados en embriones no flotantes, lo cual sugiere que estos embriones podrían estar programados a morir en diferentes etapas del desarrollo embrionario de esta especie pelágica.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11140639

PÓSTER 27

SENSIBILIDAD A LA INSULINA EN OVEJAS OOFERECTOMIZADAS EXPUESTAS PRENATALMENTE A TESTOSTERONA

(Insulin sensitivity in ovariectomized female sheep prenatally exposed to testosterone)

Carrasco A¹, Recabarren MP¹, Sandoval D¹, Montalbán A¹, Gutiérrez M¹, Sir-Petermann T², Recabarren SE¹.

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

El síndrome de ovario poliquístico se caracteriza por hiperandrogenemia e hiperinsulinemia. Ambas condiciones podrían reprogramar la fisiología reproductiva y metabólica en la descendencia de estas mujeres y perpetuar el síndrome. Los esteroides de origen ovárico incidirían en la presentación de resistencia a la insulina, lo que sumado a las alteraciones en la funcionalidad de las células β pancreáticas, agravaría la reprogramación fetal de la insulino-resistencia. Se evaluó el efecto de los esteroides ováricos sobre la sensibilidad a la insulina en hembras expuestas prenatalmente a un exceso de testosterona (EPT) se realizó el test de tolerancia a la glucosa endovenosa (TTGEV), en ovejas nacidas de madres controles (ovejas-C) y nacidas de madres inyectadas con testosterona durante la preñez (ovejas-T), a las 26 semanas de edad. Luego de ello, algunas de las hembras de ambos grupos se ooforectomizaron y, a las 30 semanas, se realizó un segundo TTGEV. Se comparó la secreción de insulina durante los primeros 20 min del TTGEV en ovejas-C y ovejas-T antes de la ooforectomía y 4 semanas post-ooforectomía. La secreción de insulina estimulada por glucosa durante ambos TTGEV fue similar entre ovejas-T y ovejas-C. De la misma forma, el área bajo la curva basal, estimulada e incremental de la concentración plasmática de insulina fue similar tanto en hembras ooforectomizadas como enteras de ambos grupos y entre grupos. Los resultados sugieren que entre ambas edades, 26 y 30 semanas, la ausencia de esteroides de origen ovárico no incidiría sobre la sensibilidad a la insulina en ovejas-T y ovejas-C.

Financiado por Proyecto FONDECYT #1140433 y Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Campus Chillán. AC: Becario Doctorado CONICYT

PÓSTER 28

EFFECTO DE LA TRANSFECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES TRANSGÉNICOS MEDIANTE TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES

(Effect of sperm transfection on the production of bovine transgenic embryos by sperm-mediated gene transfer)

Arias ME^{1,2}, Sánchez E¹, Águila L¹ 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.

*ricardo.felmer@ufrontera.cl

La transgénesis mediada por espermatozoides (SMGT) es una herramienta útil para la producción de ratones transgénicos pero ineficiente en animales de granja. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la transfección de espermatozoides bovinos sobre la producción de embriones transgénicos utilizando SMGT vía inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) y fecundación *in vitro* (FIV). La transfección de espermatozoides se realizó utilizando complejos de 0,5 µg de ADN plasmidial (pCAG-HcRed) con Lipofectamina durante 1 hora a 37°C. Posteriormente, los espermatozoides fueron ya sea inyectados en el citoplasma de ovocitos-MII (ICSI) o co-incubados con ovocitos maduros (FIV), respectivamente. En los embriones generados mediante ambas técnicas se evaluó la presencia de la proteína roja fluorescente (HcRed) mediante microscopía de epifluorescencia. Adicionalmente, en embriones generados por FIV-SMGT, se evaluó la presencia del gen *HcRed* mediante Q-PCR, luego de un doble tratamiento de los embriones con *DNasa*. Los resultados preliminares indican que los espermatozoides transfectados transfirieron el ADN exógeno al 100% de los embriones, no obstante, ninguno de estos embriones expresó la proteína HcRed. La utilización de espermatozoides transfectados en la técnica ICSI-SMGT permitió generar un 32 y 8% de embriones bovinos transgénicos expresando la proteína HcRed a las 72 horas y al estadio de blastocisto, respectivamente. En conclusión, los resultados confirman la factibilidad de generar embriones bovinos transgénicos utilizando espermatozoides transfectados en la técnica ICSI-SMGT. FONDECYT 11130724. CONICYT, Chile.

PÓSTER 29

GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (HCG) MODULA LA SEÑALIZACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE β (TGF- β) EN CELULAS DE ESTROMA ENDOMETRIAL HUMANO (ESC) FACILITANDO LA INVASION DEL TROFOBlasto IN VITRO

(Human Chorionic Gonadotropin (hCG) modulates Transforming Growth Factor β (TGF- β) signaling in human endometrial stromal cells (ESC), promoting extravillous trophoblast invasion in vitro).

Zavaleta K.¹, Gonzalez R.¹, Johnson M.C.¹, Tapia-Pizarro A.¹

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

La invasión del trofoblasto en el estroma endometrial es esencial para la implantación y placentación embrionaria. TGF- β se expresa en el endometrio humano secretor sin embargo inhibe la invasión del trofoblasto in vitro. Por otro lado, hCG secretada por el embrión, tiene un efecto opuesto, facilitando la invasión. El objetivo del presente trabajo fue determinar la posible modulación de hCG sobre la señalización de TGF- β en ESC y su efecto en la secreción de componentes de remodelación de matriz extracelular e invasión del trofoblasto extravellositario. La señalización canónica de TGF- β fue evaluada por la detección inmunofluorescente de fosfo Smad2/3 en cultivos de ESC estimulados con TGF- β (10ng/ml) y/o hCG (10UI/ml) a los 80 min. La MMP-2 secretada al medio condicionado (MC) por ESC estimuladas por 48 h se analizó por zimografía de gelatina. El potencial invasivo de una línea celular derivada de trofoblasto extravellositario humano fue evaluado por ensayos de invasión in vitro por 48h en presencia de los MC de las ESC. La presencia de hCG en los cultivos estimulados con TGF- β , disminuyó los niveles de fosforilación de SMAD2/3 y aumentó un 70% (n=5; p<0,05) la secreción de MMP-2, que se redujo en 20% con TGF- β . Consistentemente, el porcentaje de invasión de las células HTR8/SVneo disminuyó un 30% con TGF- β , el cual aumento un 40% en presencia de hCG (n=3; p<0,05). Estos resultados muestran un efecto modulador de hCG sobre TGF- β en ESC, facilitando la invasión de células de trofoblasto extravellositario, lo cual tendría implicancias directas en la implantación embrionaria y placentación.

FONDECYT 1140614 (A.T)

PÓSTER 30

ESTUDIO DEL EFECTO DE CRIOPRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO EN FRÍO SOBRE LA SECUENCIA DE DNA MITOCONDRIAL DE ESPERMATOZOIDES DE SALMON DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*)

(Study of the effect of cryopreservation and cooled storage on the sequence of mitochondrial DNA from spermatozoa of Atlantic salmon (*Salmo salar*)).

Manuel Lee-Estevez, Giovanni Larama, Elías G. Figueroa, Jorge G. Farías.
Laboratory of Engineering, Biotechnology and Applied Biochemistry (LIBBA).
Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Aquaculture in Chile has been an important sector in the last decades, with a fast growth in both production volumes and exports, which require achieving high reproduction efficiency as a key factor. In this regard, cryopreservation has been used to preserve gametes, increasing longevity of spermatozoa for long time periods. However, the procedure reduces sperm quality and increase the rate of malformed embryos. Injury caused by freezing/thawing processes include disruption of mitochondrial structure and function, with evidence of increased production of ROS, which might damage mitochondrial proteins, lipids and DNA. Although different studies have focused on the effects of cryopreservation to the sperm nuclear DNA, very few works have addressed the cryodamage to mtDNA in spermatozoa. In this work, the effects on mtDNA of Atlantic salmon's sperm caused by cryopreservation and cooled storage were studied. mtDNA-enriched samples were obtained from *S. salar* spermatozoa in three conditions: fresh, stored at 4°C for 7 days, and cryopreserved. High quality sequencing and assembly was carried out and the resulting sequences were compared. Results showed no differences between samples nor with previously published sequence used as reference, indicating that neither cryopreservation nor storage at 4°C induced major alterations in spermatozoa mtDNA. Nevertheless, further study is necessary in order to confirm this results and to look for possible gene-specific or base-specific modifications caused by cryopreservation procedures.

FONDECYT 1151315 (Farías, JG). Beca CONICYT Doctorado Nacional 21140852 (Lee-Estévez M., Ulloa, P., Figueroa E.).

PÓSTER 31

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE INMEDIATA EN EL ENDOMETRIO DE MUJERES CON FALLA REPETIDA DE IMPLANTACIÓN EN CICLOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

(Complement system expression on endometria from women with recurrent implantation failure during assisted reproduction)

Camila Paredes, Camila Aguirre, Felipe Argandoña, Karina Sequeira, Alberto Palomino.

Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Universidad de Chile.

Se considera falla recurrente de la implantación (RIF) en los ciclos de reproducción asistida al fracaso de la obtención del embarazo a pesar de 3 o más transferencias de embriones de óptima calidad. El equilibrio en la respuesta inmune inmediata y el control de la activación del sistema del complemento son fundamentales para asegurar la supervivencia del embrión y el desarrollo inicial del embarazo. Este estudio determinó la expresión de C3 y las proteínas reguladoras del sistema del complemento: CD55, CD46 y CD59 en endometrios con preparación endometrial hormonal (PE) para transferencia embrionaria en mujeres con RIF (n=6) y con antecedente de embarazo (PE-control receptivo n=8). Las muestras de endometrio fueron obtenidas 5 días posteriores a la administración de progesterona. Adicionalmente se incluyeron muestras de endometrio de mujeres fértiles obtenidas durante la fase receptiva endometrial (n=12). Se utilizó inmunohistoquímica para localizar las proteínas asignándoles un valor a su expresión mediante score digital (D-score). Los niveles de mRNA fueron determinados mediante qRT-PCR. Se utilizó ANOVA para la comparación múltiple. De acuerdo a D-score y los niveles de mRNA, la expresión de C3 y DAF fue mayor en los endometrios PE-controles receptivos y de mujeres fértiles comparado con los endometrios de mujeres con RIF (p=0.02 y p=0.03 respectivamente).

La expresión del sistema del complemento es disfuncional en las pacientes con RIF revelando alteraciones de receptividad endometrial relacionados con la respuesta inmune inmediata en la mucosa endometrial. La expresión anormal del complemento comprometería la supervivencia del embrión afectando su implantación.

FONDECYT 1140688

PÓSTER 32

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE METFORMINA SOBRE MOLÉCULAS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE ADIPONECTINA EN ENDOMETRIOS DE MUJERES HIPERINSULINÉMICAS CON OBESIDAD Y SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS)

(Effect of Metformin oral administration on Adiponectin signaling molecules in endometria from hyperinsulinemic obese women with PCOS)

Torres M¹, Astorga I¹, Carvajal R^{1,2}, Oróstica L¹, García V^{1,3}, Romero C^{1,2}, Vega M^{1,2}.
¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. ²Dpto. Obstetricia/Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. Chile.

El PCOS es caracterizado por un hiperandrogenismo ovárico, afectando principalmente la fertilidad. Además, un alto porcentaje de mujeres-PCOS presenta hiperinsulinemia, las cuales son tratadas con metformina (MTF), fármaco con efecto insulino-sensibilizante. Además, la mayoría de estas mujeres presenta obesidad, afectándose la vía de señalización de Adiponectina. En efecto, trabajos de nuestro laboratorio señalan que en endometrios de mujeres PCOS-obesas, existe una disminución de la razón APPL1/APPL2 y de los niveles de p-AS160 y GLUT-4; en tanto, se observa un aumento de p38MAPK y NF- κ B a nivel nuclear. El objetivo de esta investigación fue evaluar si la administración oral de MTF altera los niveles proteicos de moléculas participantes en la señalización de Adiponectina - APPL1/APPL2/p-AS160/GLUT-4/NF- κ B - en tejido endometrial. Las muestras fueron obtenidas de pacientes hiperinsulinémicas (IR): Obesas (OB-IR), Obesas-PCOS (OB-PCOS-IR), OB-IR-MTF y OB-PCOS-IR-MTF y los niveles de moléculas señaladas se determinaron por Inmunohistoquímica (IOD). Los resultados señalan que el tratamiento con MTF disminuye los niveles endometriales de APPL2 ($p < 0,001$), y aumentan los de APPL1 ($p < 0,001$) en OB-IR y OB-PCOS-IR, siendo mayor la razón APPL1/APPL2 con MTF vs sin tratamiento ($p < 0,001$). Además, los niveles proteicos de p-AS160 y GLUT-4 aumentaron ($p < 0,001$) en ambos grupos con MTF. Por otro lado, el contenido nuclear de NF- κ B disminuye en ambos grupos-OB-IR y PCOS bajo tratamiento con MTF ($p < 0,001$). En consecuencia, MTF restablecería los niveles de APPL1, lo cual mejoraría la señalización de adiponectina a nivel endometrial en mujeres OB-IR y con PCOS, disminuyendo las fallas reproductivas observadas en estas mujeres.

Financiamiento: FONDECYT # 1130053 (MV)

PÓSTER 33

THE Rnf19a GENE, HIGHLY EXPRESSED IN SPERMATOCYTES, AND THE Rnf19aP3 PSEUDOGENE SHOWED DIFFERENTIAL EXPRESSION AND CELL-DEPENDENT RESPONSE TO HEAT SHOCK

Rejas, C¹; Villena, J.¹; San Martín, S¹; del Mazo, J.²; Párraga, M¹.

¹Centro de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. Chile.

²Centro de Investigaciones Biológicas. Laboratorio de Biología Molecular de la Gametogénesis. CSIC. España.

During spermatogenesis, one of the most important ways to maintain the homeostasis and progression of the germ line differentiation and development is the Ubiquitin-Proteasome Pathway (UPP). In this selective proteolytic mechanism three different marker enzymes are involved. The last one, E3 Ubiquitin ligase, is substrate-specific. It has been previously described that many E3 Ubiquitin ligases are co-expressed with heat shock proteins (HSPs). The Rnf19a gene encodes a conserved E3 Ubiquitin ligase well characterized in mouse testis. This gene is located in chromosome 15 in the mouse and in recent *in silico* studies we identified three processed pseudogenes in chromosome 9. Each pseudogene is under the regulation of a different promoter, but all of them contain heat shock elements (HSE) consensus sequences, suggesting that they should respond under heat shock conditions. However, we hypothesized that Rnf19a gene and pseudogenes could respond differentially to heat or other stressful conditions in germ *versus* somatic cells. To assess this hypothesis, we have determined through RT-qPCR the expression rate of the parental gene Rnf19a and one of its pseudogenes Rnf19aP3 in a cell model system. In NIH-3T3, GC-1 and GC-2 cultured cells gene expression was evaluated at six different periods after *in vitro* heat shock. Results showed that both Rnf19a and Rnf19aP3 were overexpressed. Nevertheless, NIH-3T3 cells overexpressed gene and pseudogene earlier than GC-1 and GC-2 cell cultures. This provides a first insight to understanding possible differential regulation and potential differential functions of gene and pseudogenes after heat shock stress in germ *versus* somatic cells.

Proyecto CID 05/06 Universidad de Valparaíso. Magíster en Ciencias Médicas, mención biología celular y molecular. Chile.

MINECO (BFU2013-42164-R), España.

PÓSTER 34

RELACIÓN ENTRE OBESIDAD Y MOLÉCULAS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE ADIPONECTINA, (APPL1/APPL2) EN ENDOMETRIOS DE MUJERES HIPERINSULINÉMICAS CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (PCOS)

(Relationship between obesity and adiponectin signaling molecules (APPL1/APPL2) in endometria from hyperinsulinemic PCOS-women)

Astorga I¹, Orostica L¹, Torres M¹, Carvajal R^{1,2}, Gabler F³, Garcia V^{1,4}, Romero C^{1,2}, Vega M^{1,2}. ¹Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. ²Dpto. Obstetricia/Ginecología, ³Dpto, Anatomía Patológica, Hospital San Borja de Arriarán, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁴Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Chile.

Financiamiento: FONDECYT # 1130053 (MV)

El PCOS, patología endocrino-metabólica caracterizada por hiperandrogenismo ovárico, afecta a un alto número de mujeres infértiles en edad reproductiva. Alrededor del 70% de estas mujeres son obesas e hiperinsulinémicas. La obesidad se caracteriza por un estado inflamatorio crónico, donde el patrón de secreción de adipocinas como la Adiponectina, se ve afectado. La transducción de la señal de Adiponectina involucra APPL1/APPL2, siendo APPL1 una molécula insulino-sensibilizante y APPL2 represora de la señal (Yin-Yang). El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de moléculas de la vía de señalización de adiponectina, como APPL1/APPL2/TAK1/MEK3/p38MAPK/NF- κ B/GLUT4, en endometrio humano. Las muestras de tejido fueron obtenidas de 5 grupos de pacientes: Delgadas (DEL), DEL-PCOS, Obesas (OB), OB-insulino-resistentes (OB-IR), OB-IR-PCOS (n=6 en cada grupo); los niveles de las moléculas señaladas fueron determinadas por Inmunohistoquímica (IOD) y/o Western-Blot (WB). Los resultados indican disminución de los niveles de APPL1 y aumento de APPL2 en endometrio de mujeres OB, OB-IR y OB-PCOS ($p < 0,001$), sugiriendo que la condición de obesidad, hiperandrogenismo e hiperinsulinismo altera la razón de ambas proteínas. Además, en endometrios de estos mismos grupos se observó una disminución de moléculas de la vía de señalización modulada por APPL1: TAK1/MEK3 ($p < 0,001$) y GLUT-4 relacionadas con la captación de glucosa, y un aumento de p38MAPK/NF- κ B ($p < 0,001$) involucradas en estados inflamatorios. Estos datos sugieren que la condición PCOS y obesidad sumada a la insulino-resistencia, provocaría alteraciones en la señalización de adiponectina y en la homeostasis energética y favorecería la condición pro-inflamatoria, con la consecuente alteración de la función endometrial presente en estos sub-grupos de pacientes.

PÓSTER 35

EFFECTO DE FSH SOBRE LAS CÉLULAS DE GRANULOSA HUMANAS CULTIVADAS EN UN AMBIENTE HIPERANDROGÉNICO E HIPERINSULÍNICO

(Effect of FSH on human granulosa cells in Hyperandrogenic and hyperinsulinic environment)

Quilaqueo L¹, Henríquez S¹, Kohen P¹, Devoto L¹.

¹Instituto de Investigaciones Materno Infantil, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En el Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP), las células de la granulosa (CG) del folículo ovárico están generalmente expuestas a un ambiente hiperandrogénico e hiperinsulínico el cual desregula las vías de señalización de FSH alterando la producción de hormonas esteroidales y la angiogénesis. El complejo FSH-receptor estimula las vías PKA/CREB, MAPK/ERK1/2, entre otras, observándose una menor fosforilación de ERK1/2 en CG de pacientes SOP. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de FSH sobre las vías de señalización PKA y MAPK, la esteroidogénesis y angiogénesis en CG en ambiente hiperandrogénico e hiperinsulínico y normal. Se utilizaron CG obtenidas de la aspiración folicular de mujeres del Programa de Fertilización *in vitro* debido a infertilidad por factor masculino. Las CG, fueron cultivadas en ambiente normal (control), hiperandrogénico e hiperinsulínico (testosterona e insulina 20nM), y estimuladas con FSH (10 UI) por 24 horas. La activación de las vías PKA y MAPK, determinadas mediante western blot, fue menor en ambiente SOP comparado con el control. La producción de progesterona, determinada por RIA, fue menor en ambiente SOP tanto en CG basales como estimuladas (B:124,7; FSH:228,5 ng/ml) comparado con el control (B:351,6; FSH:641,4 ng/ml) (P<0,05). Sin embargo, los niveles de VEGF, cuantificados mediante ELISA, fueron mayores en CG en ambiente SOP estimuladas con FSH v/s control (585,8 v/s 206,7 pg/ml). Estos resultados contribuirían a comprender como el exceso de andrógenos e insulina modifican el efecto de FSH sobre las vías de señalización que regulan la biosíntesis esteroideal y la angiogénesis.

FONDECYT 1140693 (L.D), L.Q: Tesista Postgrado

PÓSTER 36

EFFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN EN LA ULTRAESTRUCTURA Y FUNCIÓN MITOCONDRIAL EN ESPERMATOZOIDES DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*).

[Effect of cryopreservation on the ultrastructure and mitochondrial function in sperm Atlantic salmon (*Salmo salar*)]

Figueroa E^{1,2}, Lee-Estevez M¹, Ulloa P¹, Valdebenito I² Risopatrón J³, Farias J.G¹

¹Departamento de Ingeniería, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile ²Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. ³BIOREN-Centro de Biotecnología en Reproducción, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Actualmente existen pocos antecedentes del efecto de la criopreservación sobre la morfología y función mitocondrial en espermatozoides en peces. El objetivo es evaluar el efecto de la criopreservación sobre la ultraestructura y función mitocondrial en espermatozoides de salmón del Atlántico. Los espermatozoides fueron congelado en medio Cortland[®]+ 1,3M DMSO+ 0,3M glucosa+ 2% BSA para el tratamiento (T) y se utilizó semen fresco como control. Pajuelas de 0,5mL de suspensión fueron congeladas a 68°C/min en vapores de N₂L. La descongelación se realizó a 35°C (1x10⁹esp/mL). Post-descongelación se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM) y transmisión de alta resolución (TEM) para evaluar la ultraestructura espermática, las muestras fueron fijadas con 2,5% de glutaraldehído para su posterior análisis. Además, se utilizó un lector multimodal para evaluar en tiempo real el metabolismo mitocondrial: se determinó [ATP] con el kit CellTiter-Glo[®] y [O₂] con el kit MitoXpress[®]Xtra, para estos análisis se utilizaron inhibidores y desacoplantes de la cadena transportadora de electrones como: rotenona (R,10μM), antimicina (A,10μM), cianuro (C,10mM) y 2,4 dinitrofenol (D,0,5mM). Se identificó por SEM y TEM en espermatozoides T alteraciones significativas en el ancho (0,81±0,02μm/0,45±0,02μm), largo (0,77±0,02μm/0,69±0,01μm) y forma de la estructura de pieza media y mitocondria respectivamente al control (p<0,05). En T la [ATP] basal fue 5,7±1,2 nmoles/10⁹esp presentando diferencias significativas con control (7,4±0,64 nmoles/10⁹esp, p<0,05), de igual forma las células incubados con R (2,9±0,78 nmoles/10⁹esp), A (3,98±0,92 nmoles/10⁹esp), C (1,37±0,66 nmoles/10⁹esp) y D (1,59±0,48 nmoles/10⁹esp) presentaron diferencias estadísticamente significativas durante los primeros 10 segundos de incubación en relación al control (5,5±0,84 nmoles/10⁹esp; 6,1±0,56 nmoles/10⁹esp; 4,1±0,99 nmoles/10⁹esp y 4,9±0,79 nmoles/10⁹esp, respectivamente. p<0,05). De igual forma, la [O₂] basal en espermatozoides controles fue 4230±520 UFR/10⁹esp presentando diferencias significativas con T (3040 UFR/10⁹esp), también los tratamientos incubados con R (3508±320 UFR/10⁹esp), A (3627±480 UFR/10⁹esp) y D (4290±429 UFR/10⁹esp) presentaron diferencias significativas con el control (R:2704±298 UFR/10⁹esp; A:2852±570 UFR/10⁹esp y D:3442±612 UFR/10⁹esp, respectivamente. p<0,05). Los Resultados sugieren que la criopreservación induce alteraciones en la ultraestructura y función mitocondrial en espermatozoides de salmón del Atlántico.

FONDECYT 1151315 (F.JG); F.E, L-E.M y U.P: Becarios Doctorado CONICYT

PÓSTER 37

EFFECTO DE LA ESTREPTOLISINA SOBRE ESPERMATOZOIDES BOVINOS PARA MEJORAR LA TRANSGENESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES (SMGT)

(Effect of streptolysin-O on bovine sperm to improve the sperm mediated gene transfer)

Sánchez-Villalba E¹, Arias ME¹, Loren P¹, 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.

La transferencia de genes media por espermatozoides (SMGT) es un método que consiste en incubar espermatozoides con ADN exógeno aprovechando la capacidad que tienen los espermatozoides para unir e internalizar ADN para después utilizarlos como vectores para introducir nueva información genética al ovocito durante la fecundación. Ha sido una herramienta útil para la producción de ratones transgénicos, pero sigue siendo bastante ineficaz en bovinos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de distintas concentraciones (5, 10, 20, 30 U/ml) de estreptolisina (SLO) al incubar los espermatozoides con ADN exógeno sobre la integridad de la membrana plasmática (SYBR/IP), el estado del acrosoma (PNA/FITC), motilidad (CASA), integridad del ADN (TUNEL) y finalmente, la capacidad de unión del ADN exógeno y lugar de ADN (Nick Translation) por medio de citometría de flujo y microscopio confocal. Nuestros resultados mostraron que el 99% de los espermatozoides unieron el ADN, incluyendo el control, la localización del ADN se observó principalmente en la región-post acrosomal en el grupo control, al utilizarse SLO la unión del ADN se mostró en toda la estructura del espermatozoide. En cuanto la calidad espermática disminuyó al utilizarse ADN exógeno ($P < 0.05$). Los espermatozoides incubados con SLO disminuyeron la viabilidad de una manera dependiente de la dosis ($P < 0.05$). Sin embargo, esta disminución no afecta los estándares de calidad espermática previstos en bovinos. Nuestros resultados demuestran que el uso de la SLO sobre los espermatozoides puede ser utilizada como una estrategia para mejorar la eficiencia de la SMGT.

FONDECYT 11130724. CR: Becario Doctorado CONICYT

ÍNDICE DE AUTORES

- Abarzúa L, 50
Aguila L, 62, 95
Aguilar R, 82
Aguirre C, 63, 90, 98
Alonso CA, 25
Alvarenga M, 92
Álvarez D, 36
Argandoña F, 63, 90, 98
Arias JI, 72, 77
Arias ME, 54, 95, 104
Asenjo, JA, 22
Astorga I, 91, 99, 101
Bahamonde J, 53, 66, 77, 88
Barbeito C, 57
Barón L, 80
Barría M, 44
Bentley G, 30, 31
Berland MA, 44
Bravo ML, 50, 69
Brenseke B, 53
Buffone MG, 60
Buñay J, 49
Bustos Obregón E, 78
Cahuascanco B, 66, 77, 88
Camberos M, 64, 81
Cárdenas H, 59
Carrasco A, 86, 94
Carvajal R, 91, 99, 101
Castellano L, 25
Castellón EA, 20
Castillo V, 20
Ceballo K, 36
Cebra E, 57
Cheuquemán C, 47, 76
Cifuentes F, 20
Cikutovic M, 84
Cikutovic R, 80
Cofré E, 43
Concha I, 82
Conei D, 70
Contreras HR, 20, 40
Contreras P, 76, 87
Cortez J, 66, 88
Cosson J, 26
Crisosto N, 75
Cruz G, 36
Cruz P, 72
Cubillos S, 69
Cuello MA, 50, 69
Cuevas F, 32
Cuevas F, 66
Cumsille E, 50
Davio C, 25
De los Reyes M, 61, 79, 83, 89
del Mazo J, 49, 71, 100
Dettleff P, 93
Devoto L, 56, 63, 102
Díaz ES, 74, 80, 84
Díaz P, 55, 59
Díaz R, 73
Dissen GA, 44
Dittus S, 90
Dumorné K, 73
Echiburú B, 75
Erices R, 69
Espinoza-Navarro O, 78
Fábrega F, 74
Farías JG, 73, 76, 87, 97, 103
Felmer R, 42, 54, 62, 95, 104
Fernandois D, 32, 36, 65
Figueroa E, 73, 76, 87, 97, 103
Fissore R, 62
Flores C, 75
Fry J, 50
Gabler F, 101
Galardo MN, 64, 81
Gallardo LM, 60, 68
Gallegos I, 38
García P, 79, 89
García V, 84, 91, 99, 101

Garrido M, 35
 Godoy A, 56
 Gómez Pérez CA, 93
 González Bulnes A, 43
 Gonzalez MJ, 85, 86
 González P, 50, 69
 González R, 96
 Gorga A, 64, 81
 Guajardo E, 55, 59
 Gutiérrez M, 85, 94
 Hartley R, 92
 Henríquez S, 56, 102
 Hernández E, 61, 93
 Hauman O, 66, 77, 88
 Ibañez C, 50
 Jervis M, 66, 77, 88
 Johnson MC, 96
 Kaufer D, 30
 Kato S, 50, 69
 Kohen P, 56, 63, 90, 102
 Kriegsfeld LJ, 30
 Laconi MR, 48
 Lara HE, 29, 31, 32, 65
 Larama G, 97
 Larriba E, 49
 Las Heras M, 32
 Lee Estévez M, 73, 97, 103
 López C, 82
 Loren P, 104
 Lottero R, 25
 Maldonado-Michea JR, 74
 Maliqueo M, 75
 Marquez M, 69
 Martínez J, 36
 Meisterernst M, 82
 Mena D, 59
 Mena J, 59
 Merino O, 76
 Meroni SB, 64, 81
 Miranda C, 31
 Miranda MJ, 63
 Miyaoka F, 20
 Montalban A, 94
 Montecino M, 82
 Montedonico S, 35
 Morales P, 74, 80
 Moreno RD, 46, 49, 52, 60, 68, 83
 Muñoz A, 56, 63
 Na A, 32, 65
 Oest M, 53
 Ojeda SR, 44
 Olguín S, 36
 Orge F, 56
 Orihuela PA, 55, 59
 Oróstica L, 91, 99, 101
 Osycka Salut C, 25
 Owen GI, 50, 69
 Pacheco V, 84
 Palomino J, 61, 79, 83, 89, 93
 Palomino WA, 57, 63, 90, 98
 Paredes AH, 32, 65
 Paredes C, 90, 98
 Párraga M, 35, 71, 100
 Parraguez VH, 43
 Patiño-García DF, 46, 52
 Pellizzari E, 64, 81
 Peralta OA, 43, 66, 77, 88
 Pérez B, 84
 Pérez Bravo F, 75
 Pérez Martínez S, 25
 Poblete CE, 91
 Ponce La Rosa C, 78
 Poveda PM, 74
 Prater R, 53
 Puga Molina LA, 60
 Quilaqueo L, 102
 Quiñones L, 39
 Raggi LA, 43
 Ramírez C, 50, 69, 92
 Ramírez G, 79, 89
 Ramírez Reveco A, 92
 Ratto MH, 44
 Recabarren MP, 85, 86, 94
 Recabarren SE, 75, 85, 86, 94
 Regueira M, 64, 81
 Rojas C, 71, 100

Retamal P, 66
Riegel M, 35
Riera MF, 64, 81
Rindone G, 64, 81
Roa JC, 50
Risopatrón J, 47, 76, 87, 103
Rodríguez Gil J, 24
Rodríguez J, 61, 93
Rojas M, 70
Rojo MP, 86
Romero C, 91, 99, 101
Romero F, 92
Romo MA, 72
Saint Pierre G, 70
San Martín S, 35, 71, 100
Sánchez E, 95
Sánchez R, 47
Sánchez Villalba E, 104
Sandoval D, 75, 85, 86, 94
Sequeira K, 98
Signorelli J, 84
Silva Urra J, 84
Sir-Petermann T, 31, 75, 86, 94
Short S, 73
Silva M, 44
Slebe JC, 82
Smith D, 71
Sobarzo C, 57
Soler B, 70
Sotomayor-Zárate R, 36
Squicciarini V, 31
Tapia Pizarro A, 34, 96
Tena Sempere M, 65
Torres CG, 66, 72, 77, 88
Torres Fuentes JL, 79, 83, 89, 93
Torres M, 99, 101
Treulen F, 54
Ulloa P, 73, 76, 87, 103
Ulloa Leal C, 44
Urriola Muñoz P, 46
Valdebenito I, 73, 76, 87, 103
Valenzuela R, 20
Vega M, 91, 99, 101
Velasco I, 65
Ventureira M, 57
Villena J, 71, 100
Visconti P, 23
Wright H, 44
Zapata H, 80
Zavaleta K, 96
Zúñiga LM, 74