



Sociedad Chilena de
Reproducción y Desarrollo

XXXII

REUNIÓN ANUAL DE LA SCHRD

MODALIDAD **ON LINE** 1 AL 3 DE SEPTIEMBRE DE 2021

LIBRO DE RESUMENES

DIRECTORIO SCHR

Héctor Contreras, Presidente

Dolores Busso, Vicepresidenta

Alejandro Tapia, Secretario

Monika Greiner, Tesorera

Jorge Farías, Past President

Bárbara Echiburú, Directora zona Centro

Omar Espinoza, Director zona Norte

Ingrid Carvacho, Directora zona Sur

**COMITÉ ORGANIZADOR
XXXII REUNIÓN ANUAL SCHR**

Héctor Contreras. Universidad de Chile.

Dolores Busso. Universidad de los Andes.

Alejandro Tapia. Universidad de Chile.

Monika Greiner. Universidad Mayor.

Bárbara Echiburú. Universidad de Chile.

Omar Espinoza. Universidad de Tarapacá.

Ingrid Carvacho. Universidad Católica del Maule.

Alfonso Paredes. Universidad de Chile.

Ricardo Moreno. Pontificia Universidad Católica

CONFERENCIAS PLENARIAS

CONFERENCIA 1: ARE WE READY FOR GENOME EDITING IN HUMAN EMBRYOS FOR CLINICAL PURPOSES?

University College London's Brilliant Professor Joyce Harper and I published "ARE WE READY FOR GENOME EDITING IN HUMAN EMBRYOS FOR CLINICAL PURPOSES?" in the European Journal of Medical Genetics:

Gerald Schatten

University of Pittsburgh. USA

Perhaps the two most significant pioneering biomedical discoveries with immediate clinical implications during the past forty years have been the advent of assisted reproductive technologies (ART) and the genetics revolution. ART, including in vitro fertilization (IVF), intracytoplasmic sperm injection and preimplantation genetic testing, has resulted in the birth of more than 8 million children, and the pioneer of IVF, Professor Bob Edwards, was awarded the 2010 Nobel Prize. The genetics revolution has resulted in our genomes being sequenced and many of the molecular mechanisms understood, and technologies for genomic editing have been developed. With the combination of nearly routine ART protocols for healthy conceptions together with almost error-free, inexpensive and simple methods for genetic modification, we debated the question "Are we ready for genome editing in human embryos for clinical purposes?" in the Congress on Controversies in Preconception, Preimplantation and Prenatal Genetic Diagnosis and at the Ovarian Club Meeting. Professor Alan Handyside chaired the debate at which we each presented scientific, medical and bioethical backgrounds as to whether we consider whether genome editing is safe and ethical.

We conclude that we are currently not ready for genome editing to be used in human embryos for clinical purposes, and we call for a global debate to determine if, and if ever credible, then when, this technology could be used in clinical ART.

CONFERENCIA 2: SPERM SELECTION AT THE BEST FUNCTIONAL STATE, IS IT POSSIBLE?

Laura Cecilia Giojalas

Centre for Cell and Molecular Biology & Institute for Biological and Technological Research (UNC-CONICET), Córdoba, Argentina.

Even though more than 1 million infertility treatments are practiced around the world per year, the current efficiency of the reproductive technologies is relatively low (~30%). The success of the infertility treatment depends in part on sperm quality, which influences even beyond fertilization. Then, innovative sperm selection techniques based on physiological sperm features are needed. Spermatozoa ready for fertilization may be selected by following an increasing concentration gradient of picomolar progesterone, a steroid secreted by the cumulus cells at the time of ovulation. By combining the ability of chemotaxis to select good spermatozoa with the use of progesterone as an attractant molecule, we recently developed a new sperm selection assay (SSA) to recruit spermatozoa at the best functional state. The SSA consists of a device with two wells connected by a tube. One well is filled with the sperm suspension and the other with picomolar progesterone, which diffused inside the connecting tube as a gradient. Several sperm parameters indicative of sperm physiological state were determined before and after the SSA: capacitation, DNA integrity and oxidative stress. After the SSA, capacitated spermatozoa increased three times in normal and in subfertile samples. Moreover, after SSA the level of oxidative stress and DNA fragmentation is significantly reduced, while sperm motility and viability are kept constant and high. Surprisingly, exposure to progesterone gradients stimulates the preparation of spermatozoa for fertilization. Thus, the SSA supplies an elite subpopulation composed of spermatozoa that are at the best functional state, which may improve the low efficiency of current ART procedures.

CONFERENCIA 3: STRESS MATERNO Y NEURODESARROLLO: ESTUDIOS EN ANIMALES Y EN MUJERES Y SUS NIÑOS POST-TERREMOTO 2010

Luis Federico Bádiz.

Centro de Investigación e Innovación Biomédica. Universidad de los Andes, Chile.

La exposición a un entorno prenatal adverso puede influir en el desarrollo fetal y provocar cambios duraderos en la descendencia. Diversos estudios en modelos animales y en humanos han demostrado que el estrés psicológico prenatal aumenta el riesgo de complicaciones en el embarazo y perinatales, como así también trastornos conductuales y neurocognitivos en la descendencia. Esta conferencia se divide en dos partes: (i) por un lado, abordaremos la asociación entre la exposición materna a eventos estresantes durante el embarazo y el logro temprano de habilidades precursoras de la lectura en la descendencia, tomando como referencia el terremoto 27F 2010; y (ii) abordaremos los mecanismos de comunicación o transferencia del estrés materno hacia el feto durante la gestación. En la primera parte, analizaremos un estudio de cohorte retrospectivo multinivel con niños que estuvieron expuestos prenatalmente al terremoto. Los resultados muestran que la exposición materna a un evento estresante resulta en un deterioro en el desarrollo de los precursores de lectura, observándose un mayor efecto perjudicial cuando el evento ocurrió durante el primer trimestre de gestación, además de algunas diferencias sexo-dependientes. Estos hallazgos destacan la importancia de programas de intervención temprana para mujeres embarazadas y/o niños expuestos a estrés prenatal como estrategias para evitar o compensar deterioros en el desarrollo de precursores de lectura en los niños. En relación a la segunda parte, los mecanismos que comunican el estrés materno al feto son poco conocidos. Recientemente demostramos que los astrocitos, las células gliales más abundantes del cerebro, pueden comunicarse directamente con células/tejidos periféricos a través de pequeñas vesículas extracelulares (sEVs), cuya carga cambia en condiciones de estrés. En este contexto, abordaremos resultados recientes en modelos animales que sugieren que las sEVs derivados de astrocitos maternos pueden llegar a tejidos fetales y que su transferencia puede aumentar por estrés prenatal. Además, nuestros estudios preliminares in vitro sugieren que sEVs derivadas de astrocitos pueden modificar la biología de las células madre neurales, afectando el proceso de neurogénesis. En síntesis, esta conferencia busca abordar la influencia del estrés psicológico materno (estrés prenatal) en la modulación de la complejidad del ambiente intrauterino y su relevancia en el neurodesarrollo fetal y los resultados neurocognitivos en la vida postnatal.

CONFERENCIA 4: THE ART OF BRINGING EXTINCTION TO A FREEZE - HISTORY AND FUTURE OF SPECIES CONSERVATION, EXEMPLIFIED BY RHINOS

Suzannah Williams.

University of Oxford. London, UK.

Many of the species on our planet are either threatened or under increasing risk of extinction, predominantly due to human activities. As populations decline, so does biodiversity, leading to an increasingly perilous situation for individual species. For those inclined to intervene with the aim of preventing further extinctions, there are numerous options. Captive breeding programs focused on maintaining genetic diversity of future generations are now supported by developments in assisted reproduction technologies (ART) such as artificial insemination, gamete and embryo cryopreservation, and embryo transfer. Where numbers are critically low, efforts to prevent extinction have been bolstered by advanced ART (aART) including stem-cell related approaches such as cloning and the generation of gametes from induced pluripotent stem cells obtained from highly endangered species. All these techniques have their place in preventing the extinction of species, however, to preserve all species on this planet, additional technological advances will be needed.

CONFERENCIA 5: SALUD MENTAL EN TIEMPOS DE PANDEMIA

Graciela Rojas.

Hospital Clínico Universidad de Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Se abordan 4 puntos: la salud mental en Chile antes de la pandemia, la pandemia como evento de vida muy negativo, los efectos de estos en la población y sus distintos subgrupos y algunas recomendaciones para enfrentar el tema.

Chile es reconocido a nivel mundial por presentar cifras altas de prevalencia de trastornos mentales en la población general, lo que se contradice con su nivel de desarrollo existiendo un acceso muy inequitativo a servicios de salud mental especializados.

A pesar que se han desarrollado políticas públicas para enfrentar el problema, las cifras no han mejorado a lo largo de las últimas décadas. La pandemia ha sido una catástrofe mundial pero a nivel individual también tiene efectos devastadores. La incertidumbre, el confinamiento, la desorganización de la vida cotidiana y de las relaciones interpersonales junto al problema financiero son variables que afectan negativamente a los seres humanos. Ha afectado más a los sectores más vulnerables de las poblaciones, a las mujeres y a los niños. Obviamente los funcionarios y funcionarias de la salud han sido particularmente afectados encontrándose cifras muy altas de licencias médicas por problemas de salud mental en este grupo.

La pandemia ha revelado nuestra debilidad en el ámbito de la salud mental pero la ha visibilizado lo que genera oportunidades para cerrar las brechas existentes entre las necesidades de la población y la oferta de servicios.

SIMPOSIO 1.
MODELOS NO CONVENCIONALES PARA EL ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN.

Moderador:
Ricardo Fuentes.
U. de Concepción. CHILE

Ovogénesis en insectos.
Paula Irlés.
U. de O'Higgins. CHILE

Edita tu pez: aplicaciones de CRISPR/Cas en Danio rerio
Leonardo Valdivia.
U. Mayor. CHILE

Control de la diferenciación del linaje de células troncales de la línea germinal
mediante el acortamiento global de 3'UTRs.
Gonzalo Olivares.
U. de Chile. CHILE

OOGÉNESIS EN INSECTOS

Paula Irlles.

Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3), Universidad de O'Higgins, Chile.

La oogénesis es un proceso fundamental para el éxito reproductivo de una especie, en el cual el folículo ovárico crece y se desarrolla en respuesta a una serie de señales externas e internas. Durante la maduración ovárica se distinguen tres etapas: Pre-vitelogénesis, vitelogénesis y post-vitelogénesis (o coriogénesis), las cuales se encuentran bajo un control hormonal diferenciado y se puede identificar procesos celulares característicos. El folículo ovárico está formado por el oocito y las células somáticas que componen el epitelio folicular. Sin embargo, en insectos se pueden reconocer dos tipos de ovariolos en función de la presencia de una segunda línea germinal.

Gran parte de la información sobre la oogénesis en insectos se ha obtenido desde la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*. Nuestro interés se ha centrado en el estudio de los mecanismos moleculares de la maduración ovárica en insectos basales, como son la cucaracha *Blattella germanica* y la tijereta *Euborellia annulipes*, debido al interés que revierten por su posición filogenética y las características estructurales del ovario.

A lo largo de las diferentes fases de la oogénesis, tanto las células de origen germinal como somático presentan un comportamiento dinámico. Durante los últimos años hemos estudiado las vías de señalización celular de Hippo y Notch en el ovario, las cuales determinan el correcto balance entre procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular. Hemos determinado la dinámica de proliferación celular de las células foliculares y caracterizado los patrones de expresión y localización de los principales componentes de estas vías. Además, usando la técnica del RNA de interferencia (RNAi) estamos estudiando funcionalmente las proteínas de Hippo, Yorkie en el ovario de estas especies.

Los resultados obtenidos, a través de la incorporación de otros modelos de estudio con una posición filogenética estratégica, permiten aportar al estudio de las bases moleculares y celulares de la oogénesis en insectos, los cuales podrían también ser extensibles al resto de artrópodos.

EDITA TU PEZ: APLICACIONES DE CRISPR/CAS EN *Danio rerio*

Leonardo E. Valdivia.

Centro de Biología Integrativa. Universidad Mayor. Chile.

El estudio de organismos modelo ha revolucionado nuestra comprensión de los mecanismos que subyacen al desarrollo normal, la homeostasis de tejidos y órganos adultos, y las enfermedades humanas. Gran parte de lo que sabemos sobre la función génica proviene de la eliminación de genes en dichos organismos, explotando la capacidad de mostrar fenotipos análogos tras la inactivación de loci particulares. El pez cebra (*Danio rerio*) se ha convertido en un organismo modelo popular por muchas razones, incluido el hecho de que es susceptible a diversas formas de manipulación genética debido a su fertilización externa. CRISPR/Cas9 es un sistema basado en proteínas y ARNs que funciona como unas “tijeras genómicas” programables y que permiten eliminar, insertar o reemplazar trozos del ADN de manera simple y efectiva facilitando la manipulación de genomas. La mutagénesis dirigida mediada por CRISPR/Cas9 representa entonces una herramienta poderosa para editar el genoma de estos organismos con miras al desarrollo de modelos de enfermedades humanas y a la comprensión de la fisiopatología de éstas. En esta presentación, se mostrarán datos de nuestro laboratorio que ejemplifican el uso de esta tecnología para estudiar las bases genéticas del desarrollo en embriones de pez cebra. Discutiremos algunos modelos de enfermedades humanas y cómo CRISPR/Cas9 puede ser extensible a otros escenarios.

CONTROL DE LA DIFERENCIACIÓN DEL LINAJE DE CÉLULAS TRONCALES DE LA LÍNEA GERMINAL MEDIANTE EL ACORTAMIENTO GLOBAL DE 3'UTRS

Gonzalo H. Olivares^{1,3,4,5}, Cameron W. Berry¹, Gokul Ramaswami², Alvaro Glavic³, Patricio Olgún⁴, Jin B. Li², Margaret T. Fuller^{1,2}

¹ Department of Developmental Biology, Stanford University. USA

² Department of Genetics, Stanford University. USA

³ CGR, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Chile.

⁴ Departamento de Neurociencia BNI, Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Chile.

⁵ Fly Research Hub, Center for Integrative Biology (CIB), Universidad Mayor. Chile.

Cómo las células madre adultas ejecutan un programa de diferenciación para alcanzar su estado final es una pregunta fundamental en la biología de las células madre. El procesamiento alternativo de los 3'UTRs ha surgido como un mecanismo para lograr la diversidad y regulación de la expresión de los mRNAs en eucariontes. Más del 50% de los genes eucariontes codifican isoformas de mRNA con cambios en el 3'UTR que se generan por selección diferencial de señales de poliadenilación (PAS), un fenómeno conocido como poliadenilación alternativa.

Demostramos que la progresión de la diferenciación de progenitores de línea germinal, acoplado al uso diferencial de PAS, se asocia con un cambio en el patrón traduccional y la expresión de proteínas a medida que las células precursoras cambian desde proliferar a diferenciarse en espermatozoides. Identificamos cambios en el procesamiento de 3'UTRs durante la diferenciación en la línea germinal masculina de *Drosophila*. Sorprendentemente, 429 de los 493 transcritos procesados diferencialmente se expresan con 3'UTRs largos en muestras enriquecidas para espermatozoides en proliferación, pero 3'UTR cortos en los espermatozoides en diferenciación. En algunos casos, el acortamiento del extremo 3' alternativo se correlacionó con cambios en el estado de expresión de las proteínas codificadas importantes para la diferenciación adecuada de las células germinales masculinas. El análisis de los elementos reguladores cis presentes en las 3'UTR reveló un patrón común de uso de PAS canónico en el sitio de corte distal, pero el uso de una variante no canónica en el sitio de corte proximal que estaba presente en las espermatozoides y sugiere que existen factores clave que regulan la elección del sitio de procesamiento. Estos resultados sugieren que el procesamiento de mRNAs alternativo en los 3'UTRs es una estrategia reguladora para crear cambios en la expresión de proteínas durante la diferenciación de células madre adultas.

SIMPOSIO 2.
NEUROENDOCRINE REGULATION OF REPRODUCTIVE FUNCTION.

Moderador:
Alfonso Paredes
U. de Chile. CHILE

Mecanismo Epigenéticos en la Regulación Hipotálmica de la Pubertad.
Alejandro Lomniczi.
Oregon National Primate Research Center, Oregon Health & Science University,
Beaverton. USA

Tanycytes, new tricks for an old GnRh neurons' partner.
Daniela Fernandois.
Inserm, Laboratory of Development and Plasticity of the Neuroendocrine Brain,
Université de Lille, Faculté de Médecine, Lille. FRANCIA

Gonadotropin-Inhibitory Hormone and Reproduction
George E. Bentley
Department of Integrative Biology, UC Berkeley.

USA EPIGENETIC MECHANISMS IN THE HYPOTHALAMIC REGULATION OF PUBERTY

Alejandro Lomniczi

ONPRC - OHSU, Neuroscience, 505 NW 185th Ave, Beaverton, United States.

To attain sexual competence, all mammalian species go through puberty, a maturational period during which body growth and development of secondary sexual characteristics occurs. Puberty begins when the diurnal pulsatile gonadotropin releasing hormone (GnRH) release from the hypothalamus increases for a prolonged period of time, driving the adenohypophysis to increase the pulsatile release of luteinizing hormone (LH) with diurnal periodicity. Increased pubertal GnRH secretion is induced by reduction in inhibitory transsynaptic inputs combined with increased transsynaptic and glial excitatory inputs to the GnRH neuronal network.

During the infantile to juvenile transition, increased Arcuate Nucleus (ARC) Kiss1 expression is needed for activation of GnRH secretion, since humans and animal models with mutations in the Kiss1 signaling pathway show pubertal failure and infertility. Although the pubertal process is known to have a strong genetic component, during the last several years, evidence has emerged suggesting that these genes are regulated by a mechanism of epigenetic control. Using the Kiss1 gene as a molecular readout of reproductive maturation, we demonstrated that the Polycomb group (PcG) of transcriptional repressors is in charge of epigenetically repressing ARC Kiss1 expression during the infantile period. Moreover, as animals approach the juvenile period, the Trithorax group (TrxG) of epigenetic activators counteract the PcG by imposing activating histone marks in the Kiss1 5' regulatory regions, allowing for increased Kiss1 expression and thus puberty to progress. Furthermore, using a model of metabolic alteration of pubertal development we identified NAD-Dependent Protein Deacetylase Sirtuin-1 (SIRT1) as a relay of metabolic information in ARC Kiss1 neurons that controls Kiss1 expression by controlling the levels of histone acetylation and PcG binding in response of metabolic status. Here, we will briefly review these three major epigenetic modifying enzymes expressed in the neuroendocrine hypothalamus, recently shown to be involved in pubertal development and progression.

TANycytes, NEW TRICKS FOR AN OLD GnRH NEURONS' PARTNER.

Daniela Fernandois¹, Eleonora Deligia¹, Florent Sauve¹, Jessica Klucznick¹, Inés Martinez¹, Emilie Caron¹, Françoise Lenfant², Bénédicte Dehouck¹, Vincent Prévot¹

¹. Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Laboratory of Development and Plasticity of the Neuroendocrine Brain, Lille Neuroscience & Cognition, Inserm UMR-S1172, 59000, Lille, France.

². INSERM U1048-I2MC- Equipe 9, CHU Rangueil, 31432, Toulouse, France.

Tanycytes are hypothalamic ependymal cells that participate in the regulation of both reproductive function and energy homeostasis. Tanycytes line the floor of the 3rd ventricle (3V) and send processes into the parenchyma of the arcuate nucleus (ARC) and the median eminence (ME) where they contact fenestrated portal blood capillaries and control the release of hypothalamic hormones such as GnRH into the pituitary portal blood, but also sense and shuttle blood-borne molecules into the brain, including leptin and glucose. Estrogens, which play a major role in the reproductive hypothalamic-pituitary-gonadal axis, are also known to exert metabolic effects such as potent anorexigenic actions. Interestingly, tanycytes respond to estradiol and express estradiol receptor alpha (ER α), but until today, the functions of estradiol and ER α in tanycytes remains unknown. Our work explores the role of ER α in tanycytes in reproductive and metabolic functions using a transgenic ER $\alpha^{Loxp/loxP}$ mouse line. In brief, we assessed reproductive and metabolic functions in mice in which we have selectively knocked-out ER α expression in tanycytes (ER α^{TanKO}). Our results show that females ER α^{TanKO} become acyclic and subfertile, having increased circulating estrogens and LH levels, without any changes in LH pulsatility. Intriguingly, after bilateral ovariectomy (OVX), LH pulsatility is seen to be decreased in ER α^{TanKO} mice, when compared to OVX ER $\alpha^{loxP/loxP}$ control littermates, suggesting that tanycytic ER α is required for estrogens to mediate their negative feedback into the hypothalamus. Furthermore, we found that tanycytes express Kisspeptin receptor (kissR) and that their processes are morphologically associated with kisspeptin-expressing neurons. Because KissR expression in tanycytes projectin to the MBH is seen to be altered in both intact and OVX ER α^{TanKO} mice, our results raise the exciting possibility that ER α signaling in tanycytes may be a third partner in the kisspeptin-neuron-to-GnRH-neuron communication processes regulating pulsatile LH release. Tanycytes are indeed well poised to sense and integrate changes in peripheral signals (i.e., nutrients availability) and could allow a fast and accurate adaptive response to metabolic changes in this glial-neuronal micronetwork controlling reproduction.

Financing: ERC Synergy grant WATCH (n° 810331).

GONADOTROPIN-INHIBITORY HORMONE AND REPRODUCTION IN BATS

George E. Bentley^{1,2}, Mattina M. Alonge¹, Lucas J. Greville³, Paul A. Faure³

¹Department of Integrative Biology, University of California at Berkeley, California, USA.

²Helen Wills Neuroscience Institute, University of California at Berkeley, California, USA.

³Department of Psychology, Neuroscience & Behaviour, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.

Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) acts to inhibit reproduction at all levels of the hypothalamo-pituitary-gonad (HPG) axis in many vertebrates. For example, GnRH neurons express GnIH receptor and they also decrease firing in response to GnIH application. The anterior pituitary gland of all species studied 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. This appears to be a gonadal system that can operate independently of the brain. Exposure to different stressors causes changes in GnIH expression in the hypothalamus and gonads in birds and mammals *in vitro* and *in vivo*, acting via glucocorticoid receptor. Thus, GnIH may be involved in stress-induced reproductive inhibition. Here, I discuss how GnIH is involved in reproduction of standard vertebrate models for the study of reproduction. I then proceed to discuss how we can apply this knowledge to non-standard models that are key to the ecological balance of many ecosystems. I will talk about seasonal reproduction in bats; many species of which are subject to stressful impact from anthropomorphic influence. To date, there have been few studies on the neuroendocrinology of bat reproduction, let alone on the role of stress on the neuroendocrinology of bat reproduction. I will present data on how an acute stressor impacts the reproductive axis of big brown bats (*Epptesicus fuscus*), and the implications of these data for bat ecology and conservation.

SIMPOSIO 3.
SISTEMA ENDOCANNABINOIDES Y REPRODUCCIÓN.

Moderador:
Alfredo Ramirez.
Universidad Austral de Chile. CHILE

Progesterona y Reacción Acrosómica en espermatozoide humano. Función del Sistema Endocannabinoide.
Miguel Llanos
INTA. U de Chile. CHILE

Asociación entre el consumo de marihuana y parámetros espermáticos alterados en sujetos sanos e infértiles
Alexis Parada
IDIMI. U de Chile. CHILE

Consecuencias de la administración de dronabinol (THC sintético) durante la gestación y lactancia en crías machos y hembras
Jorge Manzanares
Universidad Miguel Hernández. ESPAÑA

PROGESTERONA Y REACCIÓN ACROSÓMICA EN ESPERMATOZOIDE HUMANO. FUNCIÓN DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE.

Miguel Llanos

Universidad de Chile. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Santiago. Chile

Los efectos no genómicos de progesterona (P4) sobre el espermatozoide de mamífero, se han estudiado intensamente desde hace poco más de treinta años (1). El rápido aumento de calcio libre intracelular estimulado por progesterona precede al desarrollo de la reacción acrosómica (RA) en varias especies incluida la humana, la que es dependiente de la presencia de calcio extracelular (2). Muchos estudios apuntaron a identificar qué tipo de receptor era el blanco necesario para el inicio de la acción de P4, no produciéndose un consenso integrador. El 2011, estudios de "patch clamp", indicaron que P4 es capaz de activar el canal de calcio CatSper en el espermatozoide humano (3), generando una rápida entrada de calcio, estimulando la hiperactivación de la motilidad y la RA; por un mecanismo que involucra posiblemente CICR y SOCs. Resultados más recientes implican la acción de componentes del Sistema Endocannabinóide (SEC) en la acción de P4 sobre CatSper, particularmente la enzima Proteína 2 con dominio de α/β hidrolasa (ABDH2) que hidroliza el endocannabinóide 2-Araquidonoilglicerol (2-AG) cuya abundancia en el entorno de CatSper sería inhibitorio para la activación del canal (4). Resultados posteriores indican inhibición de la RA inducida por P4 en espermatozoides de ratón tratados con inhibidores de ABDH2 (5). Recién este año, se describe que espermatozoides humanos infértiles presentan una baja expresión de ABDH2 en comparación con los espermatozoides fértiles (6), lo que podría proveer nuevos elementos para el diagnóstico clínico y decisiones de tratamiento de la infertilidad.

ASOCIACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE MARIHUANA Y PARÁMETROS ESPERMÁTICOS ALTERADOS EN SUJETOS SANOS E INFÉRTILES

Alexis Parada Bustamante.

Instituto de investigación Materno-Infantil. Facultad de medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El consumo de marihuana ha aumentado en los últimos años, principalmente en hombres en edad reproductiva. Diversos estudios han mostrado resultados contradictorios en relación al consumo de marihuana y diferentes parámetros espermáticos. En los últimos años, nuestro interés se ha centrado en determinar la asociación entre el consumo de marihuana en hombres que consultan por infertilidad en nuestro instituto y también en una población de hombres sanos para determinar si este factor podría explicar las diferencias observadas en los diferentes estudios previamente publicados.

Para el caso de hombres que consultaron por infertilidad, se realizó un estudio retrospectivo de sujetos quienes se realizaron un espermiograma entre los años 2017-2019 y que habían consumido marihuana al menos en los últimos tres meses (consumidores) y quienes no consumían marihuana (no-consumidores). No se encontraron diferencias significativas en el volumen, la concentración espermática, la motilidad, la vitalidad ni en el porcentaje de espermatozoides con alteraciones morfológicas en el eyaculado entre los sujetos consumidores y no-consumidores. El número de cigarrillos de marihuana consumidos semanalmente sólo se asoció positivamente con el número de células redondas presentes en el eyaculado ($R= 0.31$; $P=0.039$).

Para el caso de voluntarios sanos, se realizó un análisis de espermiograma en un total de 35 consumidores y 28 no-consumidores. Tampoco se encontraron diferencias significativas en los diferentes parámetros espermáticos entre estos grupos de sujetos. Sin embargo, se encontró una correlación negativa entre el número de cigarrillos de marihuana consumidos semanalmente y el conteo total de espermatozoides ($R=-0.335$; $P= 0.049$) y el porcentaje de espermatozoides con morfología normal ($R= -0.34$; $P=0.046$)

En conclusión, nuestros resultados indican que el consumo de marihuana sólo se asociaría con efectos negativos sobre los parámetros espermáticos cuando esta droga se consume frecuentemente, siendo este efecto menos evidente en sujetos subfértiles, quienes en general ya presentan parámetros espermáticos alterados.

CONSECUENCIAS DE LA ADMINISTRACIÓN DE DRONABINOL DURANTE LA GESTACIÓN Y LACTANCIA EN CRÍAS MACHOS Y HEMBRAS

Ani Gasparyan^{1,2}, Daniela Navarro¹, Francisco Navarrete^{1,2}, **Jorge Manzanares**^{1,2}

¹Instituto de Neurociencias, Universidad Miguel Hernández-CSIC, Avda. de Ramón y Cajal s/n, San Juan de Alicante, Alicante, España.

²Red Temática de Investigación Cooperativa en Salud (RETICS), Red de Trastornos Adictivos, Instituto de Salud Carlos III, MICINN and FEDER, Madrid, España.

En los últimos años se ha producido un preocupante aumento del consumo de cannabis durante el embarazo y la lactancia. Actualmente existe un gran desconocimiento acerca de sus consecuencias y los fenómenos involucrados.

El objetivo principal de este trabajo ha sido desarrollar un nuevo modelo animal de exposición perinatal a dronabinol (THC sintético), evaluando las alteraciones que se producen en las crías expuestas a dicho modelo.

Se cruzaron ratones C57BL/6J macho y hembra, y tras confirmar la gestación en las hembras se empezó la administración de dronabinol (10 mg/kg/12 h, día gestacional 5 (GD5) a día postnatal 21 (PND21)). En las crías expuestas al dronabinol se evaluaron rasgos de ansiedad, depresión, estado cognitivo y pre-atención, además del nivel de consumo y motivación por el alcohol. Se analizó mediante PCR a tiempo real la expresión génica relativa del factor liberador de corticotropina (CRF) en el núcleo paraventricular (PVN). Asimismo, se estudió mediante inmunohistoquímica la expresión de la proteína NeuN en la corteza.

Las crías expuestas a THC se caracterizaron por mayores rasgos de ansiedad, depresión, problemas cognitivos y déficits pre-atencionales, así como una mayor vulnerabilidad por el consumo y motivación por el alcohol que solo se observó en los machos. Cabe destacar que estas alteraciones conductuales se acompañaron de una reducción significativa de la expresión génica de CRF en PVN. Asimismo, las crías expuestas presentan una alteración en la laminación cortical, por lo que se pone en evidencia que el proceso normal de maduración del cerebro estaría afectado.

Estos resultados preliminares proporcionan información relevante acerca de las graves consecuencias derivadas de la exposición perinatal a THC sobre diferentes aspectos conductuales, pudiendo subyacer alteraciones en mecanismos de desarrollo cortical y regulación del eje del estrés. Es necesario completar las investigaciones para demostrar las alteraciones cerebrales que justifican los cambios en la conducta.

SIMPOSIO 4.
SIMPOSIO SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE INTERACCIÓN MATERNO FETAL Y
PLACENTA (SLIMP)

Moderadora:
Alicia Damiano
Universidad de Buenos Aires. ARGENTINA

Una visión glicobiologica de la preeclampsia.
Julio Bueno.
Universidad Antioquia. COLOMBIA

La membrana amniótica humana como fuente de células madre para su
aplicación en patologías hepáticas
Julieta Maymó.
IQIBICEN, CONICET- FCEN-UBA. ARGENTINA

Alteración del transporte transplacentario de hormonas tiroideas en diabetes
mellitus gestacional.
Enrique Guzmán.
Universidad de Concepción. CHILE

UNA VISIÓN GLICOBIOLOGICA DE LA PREECLAMPSIA

J.C. Bueno-Sánchez

Grupo Reproducción, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Calle 62 #52-59, Torre 2, Laboratorio 534, Medellín, Colombia.

La preeclampsia es considerada la enfermedad de las múltiples teorías. La explicación fisiopatológica de su etiopatogenia se ha enfocado en describir los mecanismos moleculares asociados a la alteración de la invasión de las arterias espirales por el trofoblasto extraveloso, la disfunción endotelial, la inflamación vascular y la respuesta inflamatoria sistémica exacerbada durante el gestación. Nuestro grupo de investigación ha propuesto una visión reeditada de estos mecanismos desde el reconocimiento de glicanos por células del sistema inmune hasta su papel en la barrera de filtración glomerular. En ese sentido, se ha evidenciado que durante la preeclampsia las células NK de sangre periférica producen citoquinas proinflamatorias que exacerbaban la respuesta inflamatoria sistémica de las pacientes. Adicionalmente, la expresión de glicanos en vellosidades placentarias de mujeres gestantes con preeclampsia difiere del perfil de expresión en vellosidades obtenidas de mujeres sanas y algunas proteínas que participan en el intercambio de nutrientes, como el receptor de transferrina 1, presentan modificaciones en la composición del glicoconjugado que puede explicar diferencias funcionales de la captación de hierro por el sincitiotrofoblasto. Adicionalmente, la participación de glicoconjugados de heparán sulfato con ácido siálico terminal pueden relacionarse con la integridad de la barrera de filtración glomerular, particularmente con el endotelio glomerular, y explicar la aparición de la proteinuria, la cual es un signo característico de la enfermedad.

LA MEMBRANA AMNIÓTICA HUMANA COMO FUENTE DE CÉLULAS MADRE PARA SU APLICACIÓN EN PATOLOGÍAS HEPÁTICAS

Rodrigo Riedel¹, Antonio Pérez Pérez², Luciano Pérez¹, Ornella Parolini³, Roberto Casale⁴, Víctor Sánchez Margalet², Cecilia Varone¹ y **Julietta Maymó**¹.

¹QUIBICEN-CONICET-Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

²Depto. de Bioquímica Médica y Biología Molecular, Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

³Centro di Ricerca E. Menni- Fondazione Poliambulanza- Istituto Ospedaliero, Brescia, Italia.

⁴Hospital Nacional Alejandro Posadas, Buenos Aires, Argentina.

La placenta reviste un gran interés como fuente de células para la medicina regenerativa. Los tejidos placentarios son fáciles de obtener, sin necesidad de procedimientos invasivos, proliferan rápidamente, se obtienen en gran masa y su uso no genera debates éticos. Varios tipos de células madre pueden ser aislados de la placenta humana y sus anexos, entre ellas, las células amnióticas epiteliales (hAEC). Las hAECs expresan marcadores de células madre y son pluripotentes. Más aún, poseen propiedades inmunomoduladoras y no son tumorigénicas. Estas propiedades vuelven al amnios una fuente útil y no controversial de células para la medicina regenerativa y de trasplantes. Las enfermedades hepáticas afectan a millones de personas en todo el mundo. Actualmente, la única terapia efectiva para los estadios finales es el trasplante completo del órgano y existen varios obstáculos al respecto. Recientemente, las células madre se han destacado como una fuente alternativa de hepatocitos dada su capacidad de diferenciación.

Los objetivos particulares del presente trabajo fueron: 1-La diferenciación hepática de las células epiteliales de membrana amniótica humana (hAECs) y la caracterización de las células diferenciadas; 2- El estudio de los mecanismos celulares involucrados en la diferenciación hepática de las hAECs; 3- La evaluación in vivo de las propiedades regenerativas de las hAECs diferenciadas, en un modelo murino de fibrosis hepática.

Nuestros resultados demuestran que las hAECs son capaces de diferenciar in vitro a hepatocitos. El protocolo de diferenciación empleado promueve su supervivencia y proliferación, favoreciendo las condiciones cualitativas y cuantitativas de las células ante un eventual trasplante. Hemos demostrado también que las hAECs diferenciadas disminuyen el daño hepático, en un modelo murino de fibrosis, in vitro.

Nuestros estudios sugieren que las hAECs diferencian exitosamente a hepatocitos funcionales, lo que representa un avance fundamental para su futura aplicación en el tratamiento de enfermedades hepáticas.

HORMONAS TIROIDEAS Y DIABETES MELLITUS GESTACIONAL: OPORTUNIDADES EN LA PREDICCIÓN Y EN LA FISIOPATOLOGÍA PLACENTARIA.

Daniela Mennickent^{1,2,3}, Sebastian Gutiérrez¹, Bernel Ortega¹, Andrés Rodríguez^{3,4}, Juan Araya^{2,3}, Andrea Leiva⁵, **Enrique Guzmán-Gutiérrez**^{1,3}

¹ Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile.

² Departamento de Análisis Instrumental, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile.

³ Machine Learning Applied in Biomedicine (MLAB), Chile.

⁴ Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad del Bío-Bío, Chile.

⁵ Carrera de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Sebastián, Chile.

Introducción: La diabetes gestacional (DG) es un estado de hiperglicemia que se diagnostica en el segundo o tercer trimestre del embarazo, sin embargo, para ese entonces el fenotipo fetal ya está alterado. En cuanto a las oportunidades de predicción, el machine learning (ML) ha emergido como una poderosa herramienta para conseguir la predicción de DG en etapas más tempranas del embarazo. De manera interesante, las hormonas tiroideas han surgido como una potencial hormona que podría explicar modificaciones fisiopatológicas observadas en DG; sin embargo, aún no se ha determinado su rol en la predicción de esta patología.

Objetivos: (1) Evaluar variables maternas del primer trimestre de gestación (1T) que permitan la predicción de DG en embarazadas chilenas, con técnicas de ML; y (2) Caracterizar el transporte transplacentario de hormonas tiroideas en DG.

Metodología: Se reclutaron embarazadas de hasta 12 semanas de gestación (SG) en Concepción, Chile. En el 1T, se registraron 63 variables maternas. El diagnóstico de DG se realizó a las 24-28 SG con glicemia post carga (75 g, 2h) \geq 140 mg/dL. Los datos de 54 mujeres con tolerancia normal a la glucosa (TNG) y 12 con DG fueron explorados por análisis de componentes principales (PCA) y luego evaluados para la predicción de DG por regresión logística (LR) y análisis discriminante de cuadrados mínimos parciales (PLS-DA). Además, desde las mismas pacientes se cuantificó la expresión de deiodinasas placentarias por RT-PCR, Westernblots e inmunohistoquímica; mientras que la actividad deiodinasa fue evaluada in vitro, cuantificando la producción de T3 y T3 reversa.

Resultados: PCA permite distinguir las mujeres con DG de las con TNG por PC1 (6.3% de varianza). LR y PLS-DA permiten predecir DG con una tasa de no error de 75.9% y 81.0%, respectivamente. Las 5 variables maternas que más contribuyen a la predicción de DG por PLS-DA son: historial de anemia, genotipo FTO, DG anterior, antecedente familiar de diabetes tipo 2 y tiroglobulina. Además, las placentas de DG mostraron una mayor expresión y actividad para deiodinasa 3, pero una reducida expresión y actividad para deiodinasa 2.

Conclusión: Las variables historial de anemia, genotipo FTO, DG anterior, antecedente familiar de diabetes tipo 2 y tiroglobulina tienen un gran potencial para ser utilizadas en la predicción de DG; y placentas provenientes de embarazos con DG modifican la expresión y actividad de enzimas regulatorias en el transporte transplacentario de hormonas tiroideas. Así, las hormonas tiroideas podrían tener un rol predictivo, como fisiopatológico en la DG.

Comunicaciones libres: Posters

1

CH191NT

Área: Embarazo y desarrollo embrionario

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Luis Aguila Paredes

BOVINE HAPLOID ANDROGENETIC EMBRYOS: PLURIPOTENCY FAILURE AND DEFICIENT CELL DIFFERENTIATION

Luis Aguila Paredes^{1,2}, Jacitnhe Therrien¹, Rafael Sampaio¹, Lawrence Smith¹

¹ Université de Montréal, Centre de Recherche en Reproduction et Fertilité (CRRF), Faculte de Medicine Veterinaire, 3200 Rue Sicotte, St-Hyacinthe, QC, Canada.

² Universidad de La Frontera, Department of Agricultural Sciences and Natural Resources, Faculty of Agriculture and Forestry, Montevideo 0870, Temuco, Chile.

Uniparental haploid embryos are efficient models for genome imprinting research and allow studies on the contribution of the paternal and maternal genome to early embryonic development. Although haploid development can be achieved experimentally in mammals, haploid androgenetic embryos (hAE) show poor preimplantation development compared to haploid parthenogenetic embryos (hPE). We have previously shown that the developmental restriction of bovine hAE is linked with the abnormal expression of key factors involved in X chromosome activity and genomic imprinting. Our objective here was to further characterize their developmental constraints of bovine haploid embryos by analyzing the expression levels of pluripotency- and differentiation-related genes by real-time qPCR in morulas and blastocysts, as well as the cell number and their allocation by immunostaining of SOX2 and CDX2 proteins at the blastocyst stage. We produced bovine hAE by oocyte enucleation after ICSI using X chromosome-sorted sperm, which were compared to hPE and biparental (ICSI-fertilized) counterparts. The results showed that, while bovine hAE had altered gene expression of NANOG, CDX2, KFL4, SOX2, AXIN, and GSK3B at the morula stage ($p < 0.05$), only NANOG remained altered (overexpressed) at the blastocyst stage ($p < 0.05$) compared to the control groups (hPE and ICSI). Moreover, assessment of total cell number and allocation indicated that bovine hAE have a lower number of cells (75 for hAE vs 123 and 134 for hPE and ICSI, respectively ($p < 0.05$)) and flawed inner cell mass formation, associated with the deficient immunostaining for SOX2 (6% for hAE vs 27% and 29% for hPE and ICSI, respectively). In conclusion, we demonstrate that hAE show dysregulated expression of pluripotency-related genes and deficient cell differentiation during blastocyst formation, indicating that their poor transition from morula to blastocyst stage is associated with altered pluripotency

Financing: This research was supported by grants from NSERC Canada with L'Alliance Boviteq (Smtih LC) and Conicyt-Chile (Aguila L).

2

TG433HJ

Área: Programación fetal

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Nicole Aguilera

METILACIÓN DEL ADN EN GENES PROMOTORES DE LEPTINA, ADIPONECTINA Y RECEPTOR DE ANDRÓGENOS EN HIJOS PERIPUBERALES DE MADRES CON SOP

Nicole Aguilera¹, Cristián Flores¹, Manuel Maliqueo¹, Nicolás Crisosto¹, Teresa Sir-Petermann¹, Sergio Recabarren², Bárbara Echiburú¹

¹ Universidad de Chile, Departamento de endocrinología, Facultad de Medicina Occidente, Carlos Schachtebeck 299, Santiago, Chile.

² Universidad de Concepción, Departamento de Ciencia animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Avda. Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

Evidencia clínica y experimental sugiere que el ambiente intrauterino de las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) puede inducir modificaciones epigenéticas en su descendencia. Hemos observado cambios en el patrón de metilación de algunos genes metabólicos y reproductivos en hijos e hijas de estas mujeres en el periodo postnatal temprano. No obstante, no está claro si esas alteraciones persisten durante el desarrollo. Objetivo: Evaluar el patrón de metilación del promotor de los genes de leptina, adiponectina y receptor de andrógenos (RA) en hijos e hijas peripuberales de mujeres con SOP. Estudiamos 42 hijas/23 hijos de mujeres con SOP (HSOP) y 38 hijas/34 hijos de mujeres controles (HC), durante la peripubertad (Tanner I-V), con parámetros antropométricos y una prueba de tolerancia a la glucosa oral, con determinación de glucosa, insulina, esteroides sexuales, gonadotrofinas y perfil lipídico. Además, en una muestra de leucocitos de sangre periférica se extrajo ADN genómico para evaluar el patrón de metilación mediante análisis de curvas de disociación de alta resolución (HRM). Las hijas SOP y controles fueron comparables en parámetros antropométricos y bioquímicos, salvo que la concentración de testosterona fue mayor en las HSOP en comparación a las controles ($p=0.031$). Los hijos SOP y controles no presentaron diferencias en parámetros antropométricos y bioquímicos, sólo tendencia a mayor colesterol-LDL en los HSOP en comparación a los controles ($p=0.052$). Los hijos de mujeres con SOP presentaron mayor metilación del promotor del RA ($p=0.005$) y leptina ($p>0.001$) y menor metilación de adiponectina ($p=0.001$) en comparación a los controles. Mientras que las niñas, no mostraron diferencias para estos perfiles entre HSOP y HC. Los datos sugieren que el ambiente intrauterino del SOP predispone a sus hijos a adquirir un patrón de metilación sexo-dependiente, siendo aparentemente los hombres más susceptibles de mantener estos cambios hasta la pubertad.

Financing: Proyecto Fondecyt 1201483 y 1151531.

3

BF555FB

Área: Biología del ovocito

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Sofía Albornoz

EXPRESIÓN DEL CANAL DE PROTONES Hv1 EN OVOCITOS INMADUROS Y LISTOS PARA SER FERTILIZADOS UTILIZANDO COMO MODELO *MUS MUSCULUS*

Sofía Albornoz Muñoz^{1,2}, Fernando Hinojosa^{1,3,4}, Sebastián Vergara^{1,2}, Ian Scott Ramsey⁵, Ingrid Carvacho¹

¹ Laboratorio Fisiología de la Reproducción, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.

² Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.

³ Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule, CIEAM, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad Católica del Maule, Chile.

⁴ Centro de Investigación en Neuropsicología y Neurociencias Cognitivas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.

⁵ Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, Virginia Commonwealth University, Richmond, United States.

El control del pH en el ovocito es un proceso complejo. Durante la transición del estado de vesícula germinal GV, a ovocito en metafase II de meiosis II, ovocito MII, ocurren diferencias de pH entre el medio intracelular y el extracelular, cuya regulación es fundamental para las funciones del ovocito en preparación para la fertilización. Hv1 es un canal de protones (H⁺), que se expresa en diferentes tipos celulares. Se ha descrito su función en espermios y ovocitos humanos, donde su actividad está asociada al control del pH intracelular. La presencia de este canal en ovocitos humanos, sugiere una expresión y función conservada en mamíferos. El propósito de este estudio es evaluar la expresión de canales Hv1 en ovocitos de *Mus musculus*. La extracción y recolección de ovocitos se llevó a cabo desde hembras *Mus musculus* previamente estimuladas hormonalmente. Para evaluar la expresión del transcrito de Hv1, se realizó extracción de RNA de ovocitos y de colon como tejido control obtenido de animales WT y *hvcn1*^{-/-}. El diseño de partidores para el gen *hvcn1* se realizó mediante el software Ampliflix, para posteriormente, realizar RT-PCR de las muestras. Adicionalmente, realizamos inmunofluorescencia en ovocitos GV y MII. Nuestros resultados mostraron la presencia del transcrito para el gen *hvcn1* en ovocitos GV, MII, colon WT; no amplificando en colon KO, confirmando la especificidad de los partidores. Además, mediante inmunotinción, detectamos la presencia de proteína Hv1 en la membrana plasmática de ovocitos GV y MII. Estos resultados indican que el canal de protones regulado por voltaje Hv1 se expresa en ovocitos inmaduros y listos para ser fertilizados. Aunque es necesario experimentos de expresión funcional del canal Hv1 en ovocitos de ratón, los resultados sugieren que Hv1 podría regular cambios de pH en el ovocito, permitiendo la sobrevivencia de éste cuando es ovulado al óvulo.

4

KS736BG

Área: Endocrinología reproductiva

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Luciana Ant Ant

ORGANIZACIÓN TRIDIMENSIONAL DE LA CROMATINA DURANTE EL PROCESO DE DECIDUALIZACIÓN
(3D chromatin organization throughout decidualization)

Luciana Ant¹, François Le Dily², Griselda Vallejo¹, Francisco Pisciotano¹, Miguel Beato², Patricia Saragüeta¹

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Buenos Aires, Argentina

²Centro de Regulación Genómica (CRG), Barcelona, España.

La decidualización es un proceso de transdiferenciación endometrial crucial para la correcta fijación y desarrollo del embrión durante el embarazo. Este proceso se encuentra regulado por las hormonas esteroideas progesterona y estradiol (E2) a través de los factores de transcripción ligando dependiente, el receptor de progesterona (PR) y el receptor de estradiol (ER). En este trabajo utilizamos la tecnología de High-throughput Chromosome Conformation Capture (Hi-C) y RNA-seq con el objetivo de analizar los cambios en la estructura de la cromatina y la expresión génica que tienen lugar en la línea celular endometrial t-HESC durante la decidualización in vitro. La decidualización fue inducida mediante E2, cAMP y progesterona o la progestina sintética R5020. En particular nos enfocamos en la región genómica donde se encuentra el cluster de genes Hox, que juegan un papel muy importante en este proceso. Observamos que dicho cluster aumenta su interacción de manera muy marcada con los promotores de genes cercanos tras 6 días del tratamiento decidualizante. Por otra parte estudiamos las interacciones de largo alcance intercromosómicas en las que participa la zona donde se encuentra el gen marcador de decidualización PRL. Mediante un análisis de componentes principales de las matrices de interacción observamos un remodelamiento a nivel global de los compartimentos A y B (zonas activas e inactivas transcripcionalmente), que acompaña los cambios de expresión observados por RNA-seq. Futuros análisis de la distribución de estos compartimentos cromatínicos podrían proveer una explicación más detallada acerca de los mecanismos que dirigen el cambio en la regulación génica para inducir la decidualización en humanos.

Financing: Proyecto PIP 2015-2017 N° 682 y PICT2015 N°3426 (Dra. Saragüeta)

5

PD443CL

Área: Biología del ovocito

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Andreina Arias

CHOLESTEROL EXCESS AND FEMALE INFERTILITY: CHARACTERIZING SUBCELLULAR LOCALIZATION OF CHOLESTEROL DEPOSITS IN MOUSE OOCYTES

Andreina Arias^{1,2}, Fujiko Saavedra¹, Eugenia Morselli², Dolores Busso¹

¹ Universidad de los Andes, Santiago, Chile, Biomedical Research and Innovation Center (CIIB), Santiago, Chile.

² Pontificia Universidad Católica de Chile, Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Santiago, Chile.

Disturbances in cholesterol metabolism may hinder female fertility. Female SR-B1 KO mice are infertile due to unesterified cholesterol (UC) excess in oocytes with high rate of spontaneous activation and mortality. ABCA1 KO females also have reduced fertility and oocytes with low viability. SR-B1 and ABCA1 KO oocytes stained with filipin, an unesterified cholesterol-specific fluorescent dye, show bright puncta suggestive of cholesterol deposits. Aim: To characterize and describe the subcellular localization of cholesterol deposits in ovulated eggs with cholesterol excess. Methods: Mature ovulated oocytes (eggs) were obtained from adult 129:C57BL/6J SR-B1 KO or DBA ABCA1 KO females and their WT littermates after superovulation. We used filipin staining (0.2mg/ml) combined with specific markers for organelles: 200nM Mitotracker (mitochondria), 100nM BODIPY (lipid droplets, LD), and anti-CD9 (plasma membrane, PM) or anti-LAMP1 antibodies (1:100) (lysosomes). Stained oocytes were visualized using confocal microscopy. Cholesterol co-localization with organelles was analyzed using Manders' coefficient M1. Statistical differences were determined using Student t-test. Results: Cholesterol deposits were brighter in SR-B1 KO (1.0 ± 0.1 WT vs. 2.2 ± 0.4 SR-B1 KO, $p=0.04$, $n=6$) and ABCA1 KO oocytes (1.0 ± 0.1 WT vs. 1.9 ± 0.3 ABCA1 KO, $p=0.01$, $n=8$). Cholesterol subcellular localization was similar in SR-B1 KO and WT ($n=7$) oocytes and matched lowly with mitochondria ($5.7 \pm 0.9\%$ WT vs. $6.7 \pm 1.4\%$ KO) and PM ($8.0 \pm 6.3\%$ WT vs. $2.8 \pm 1.8\%$ KO). The co-localization with lysosomes was higher than in other organelles ($12.0 \pm 1.3\%$ WT vs. $20.4 \pm 3.4\%$ KO). Preliminary results showed that a proportion of cholesterol also co-localized with LD in WT oocytes ($20.6 \pm 3.9\%$, $n=3$). In ABCA1 KO, cholesterol co-localization with lysosomes was similar to WT oocytes ($39.4 \pm 5.3\%$ WT vs. $42.0 \pm 6.8\%$ KO, $n=8$ oocytes). Conclusions: Our results show that UC is accumulated mainly in LD and lysosomes in WT oocytes, suggesting that cholesterol deposits are mainly localized to those organelles. Further studies will allow underscoring the pathophysiological implications of these findings.

Financing: FONDECYT grant 1180347 (DB), VRI-UC and ANID 21211964 fellowships (AA).

6

NQ532GH

Área: Embarazo y desarrollo embrionario

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Gabriela Belledonne

EVALUATION OF THE TRANSCRIPTIONAL PROFILE OF GENES INVOLVED IN AUTOPHAGY AND APOPTOSIS IN SR-B1 KO MICE WITH NEURAL TUBE DEFECTS

Gabriela Belledonne^{1,2}, Ignacio Zaninovic³, Joaquín Salazar⁴, Nicolás Santander⁵, Dolores Busso¹

¹ Universidad de Los Andes, Biomedical Research and Innovation Center, Santiago, Chile.

² Pontificia Universidad Católica de Chile, PhD Program in Medical Sciences, School of Medicine, Santiago, Chile.

³ Universidad de Los Andes, Career of Medicine, School of Medicine, Santiago, Chile.

⁴ Universidad Adolfo Ibáñez, MSc Program in Data Science, Faculty of Engineering and Science, Santiago, Chile.

⁵ University of California, Department of Pediatrics, San Francisco, United States.

Neurulation is a complex process that requires the expression of genes in a specific space-time manner. Autophagy and apoptosis play a crucial role in neural tube closure, that occurs between E8.5 and E9.5. Thus, defects on these pathways can disturb proper morphogenesis, leading to neural tube defects (NTD). SR-B1, the main HDL-receptor, participates in bidirectional lipoproteins-to-cells lipid transport and is expressed in early extra-embryonic tissues. SR-B1^{-/-} embryos are vitamin-E deficient and develop cranial NTD with 1:2 prevalence. Maternal pre-conceptual vitamin-E supplementation completely prevents exencephaly. This vitamin regulates diverse signaling pathways including autophagy and apoptosis. Here, we evaluated if the gene expression involved in autophagy and apoptosis is dysregulated in NTD-SR-B1^{-/-} embryos. Gene Ontology Analysis was performed in massive mRNA-sequencing data from female embryos at E9.5 [SR-B1^{+/+}, morphologically normal SR-B1^{-/-} (nSR-B1^{-/-}) and NTD-SR-B1^{-/-}; n=3 pools of 3 embryos]. We compared the transcriptional profile of groups by pairs. The GO slim "cell death" was enriched in both nSR-B1^{-/-} and NTD-SR-B1^{-/-} vs SR-B1^{+/+} embryos ($p < 0.01$ both/Fisher's-Test; $\log_2FC = 1.19$ and 0.49 , respectively), while there was no difference between KO mice phenotypes ($p = 0.24$ /Fisher's-Test). The GO slim "regulation of autophagy" was overrepresented in nSR-B1^{-/-} embryos compared to SR-B1^{+/+} ($p = 0.03$ /Fisher's-Test; $\log_2FC = 2.93$), while NTD-SR-B1^{-/-} embryos did not differ from morphologically normal WT and KO groups ($p = 0.48$ and 0.99 /Fisher's-Test, respectively). Additionally, descriptions of 'child' GO terms of analyzed GO slims in which were differential expressed genes (DEGs) between KO embryos (those with $p < 0.05$ /Wald-Test), suggest that NTD-SR-B1^{-/-} mice may have decreased apoptosis and a similar rate of autophagy than nSR-B1^{-/-}, based on characteristics of individual DEGs. These preliminary results show that SR-B1-KO embryos have an abnormal expression of autophagy and apoptosis genes, which may contribute to the high NTD prevalence in this murine model. Further studies will evaluate the transcriptional profile of apoptosis and autophagy genes in embryos from vitamin-E-supplemented pregnancies.

Financing: FONDECYT #1180347 (to DB).

7

HG729FR

Área: Biología del espermatozoide

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Paulina Cabrera Herreros

EFFECTO DEL PRETRATAMIENTO DE ESPERMATOZOIDES EQUINOS CONGELADOS CON LISOLECITINA EN LA DESESTABILIZACIÓN DE LAS MEMBRANAS Y FRAGMENTACION DEL ADN.

Paulina Cabrera Herreros¹, María Elena Arias^{1,2}, Ricardo Felmer^{1,2,3}

¹ UNIVERSIDAD D ELA FRONTERA, Labotarorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile.

² Universidad de la Frontera., Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales., Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile.

³ Universidad de la Frontera, Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Natural, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile.

INTRODUCCIÓN: En la ICSI se inyecta el espermatozoide completo dentro del ovocito, conteniendo todas sus membranas y el contenido acrosomal con enzimas como lizosima, acrosina, entre otras. Se ha demostrado que las membranas y el contenido acrosomal tienen un efecto perjudicial en el ovocito, lo cual está relacionado con el tamaño del espermatozoide. La remoción del contenido acrosomal se puede lograr mediante diferentes tratamientos incluyendo pronasa, lisolecitina (LL) y tritón X-100. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del pretratamiento de espermatozoides equinos con LL en la desestabilización de las membranas plasmática, acrosomal, la fluidez de membrana y la fragmentación de ADN para utilizar este tratamiento con miras a mejorar la eficiencia de la ICSI en el equino. **MATERIALES Y MÉTODO:** Las muestras de semen se descongelaron incubando a 37°C por 30 segundos, se realizó la permeabilización con LL en diferentes concentraciones con vortex por 1 min, se analizó para cada uno de los tratamientos la integridad de membrana plasmática y acrosomal, fluidez de la membrana y la fragmentación de ADN, mediante citometría de flujo. **RESULTADOS:** La incubación de espermatozoides equinos en diferentes concentraciones de LL disminuyó significativamente ($p < 0,05$) la integridad de la membrana plasmática (las concentraciones oscilan entre 0,00125%-0,08% LL) mientras que se observó sólo un leve daño en la membrana acrosomal. La fluidez de membrana también evidenció un incremento en las concentraciones más altas evaluadas y un aumento en la fragmentación de ADN se observó en la concentración más alta evaluada. **CONCLUSIONES:** El pretratamiento de espermatozoides equinos con LL permeabiliza efectivamente la membrana plasmática, aunque no se evidencia un efecto en la membrana acrosomal. La incubación de espermatozoides equinos con LL también aumenta la fluidez de membrana, confirmando que este tratamiento podría impactar positivamente en la eficiencia de la ICSI en el equino.

Financing: FONDECYT 1160467

8

RS185JK

Área: Biología del ovocito

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Clara Campos

EVOLUCIÓN DE PROTEÍNAS DE INTERACCIÓN ENTRE GAMETAS EN PANTERINOS (gamete interaction protein evolution in pantherines)

Clara Campos, Clementina Penna, Francisco Pisciotano, Patricia Saragüeta

IBYME, CONICET, Vuelta de Obligado 2490, C.A.B.A, Argentina.

El proceso de fecundación en los mamíferos ha sido descrito tanto por la fisiología como por la biología molecular. Las proteínas ovocíticas de la Zona Pelúcida (ZP) y Juno desempeñan un papel clave en este proceso facilitando la interacción y la fusión entre el ovocito y el esperma, respectivamente. Sus interacciones con los espermatozoides constituyen un mecanismo de aislamiento reproductivo precigótico. Debido a la especificidad proteica, estas interacciones están implicadas en la barrera especie-específica. El análisis de introgresión genómica expuso un complejo patrón de hibridación histórica interespecífica en el linaje Pantherinae. Estos hallazgos revelaron tasas inusualmente altas de fecundación entre panterinos, en particular entre *Panthera leo* y *Panthera onca*, lo que indicaría una ausencia de barreras de aislamiento interespecífico. Nuestro objetivo es descubrir las bases moleculares de este cruce interespecífico y la evolución de las capacidades funcionales de las proteínas ZP y JUNO en los panterinos. Utilizamos genomas ensamblados mediante tecnología de HiC a nivel de largo de cromosomas para reconstruir la intrincada filogenia de las proteínas de interacción entre gametos. Este trabajo exploró la evolución molecular de los genes ZP1, ZP2, ZP3, ZP4, IZUM01R entre los mamíferos, centrándose en los carnívoros, caniformes, feliformes y panterinos mediante un análisis sitio-linaje específico realizado con el programa CODEML del paquete PAML. Encontramos que, mientras ZP1, ZP2 y ZP3 mostraban un patrón de evolución similar a lo largo de sus filogenias, ZP4, un gen proveniente de una duplicación reciente de ZP1, mostraba una historia evolutiva diferente. La proteína de fusión IZUM01R se encontró altamente conservada entre todos los grupos filogenéticos estudiados. En conjunto, nuestros resultados indican que la interacción espermatozoide-ovocito y las proteínas de fusión carecen del grado de diversificación necesario para fijar una barrera de aislamiento reproductivo precigótico entre los panterinos.

EFFECTO DE LA QUELACIÓN DE COBRE EN LA PROGRESIÓN DE LA ENDOMETRIOSIS INDUCIDA EN RATONES (Effect of copper chelation on the progression of induced endometriosis in mice)**RA Conforti**^{1,2}, MB Delsouc^{1,2}, PH Pacheco^{1,3}, I Sevic^{4,5}, L Alaniz^{4,5}, A Chimento^{4,5}, C Cristina^{4,5}, SS Vallcaneras^{1,2}, M Casais^{1,2}

¹ Universidad Nacional de San Luis (UNSL), Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, San Luis, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto Multidisciplinario de Investigaciones Biológicas de San Luis (IMIBIO-SL), San Luis, Argentina.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Química de San Luis (INQUISAL), San Luis, Argentina.

⁴ Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas (CIBA), Junín, Buenos Aires, Argentina.

⁵ Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA)-Universidad Nacional de San Antonio de Areco (UNSAaA)-CONICET, Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CITNOBA), Junín, Buenos Aires, Argentina.

La endometriosis (EDT) es una enfermedad sistémica crónica estrógeno dependiente, caracterizada por el crecimiento de tejido tipo endometrial fuera del útero. Aún no tiene cura y los tratamientos hormonales utilizados pueden provocar efectos secundarios indeseados. Niveles elevados de cobre (Cu) se han relacionado con EDT. Cu es capaz de potenciar la acción estrogénica y promover la progresión tumoral. Tetratiomolibdato de amonio (TM) es un quelante de Cu de rápida absorción con buen perfil de seguridad. Estudios en cánceres demostraron que posee efectos anti-proliferativos y anti-angiogénicos. Por consiguiente, nuestro objetivo fue evaluar el efecto de TM sobre el desarrollo de lesiones tipo endometriósicas establecidas en ratones y posibles efectos secundarios sobre hígado y útero. Veinticuatro ratones hembra C57BL/6 se dividieron en tres grupos experimentales: Sham (cirugía placebo), EDT y EDT+TM. La EDT fue inducida por transferencia autóloga de tejido uterino al mesenterio intestinal. El grupo EDT+TM recibió 0,3 mg de TM/día en su agua de bebida desde el día 15 del postoperatorio. El peso corporal y el hematocrito fueron monitoreados periódicamente. Las muestras se recogieron al mes de inducida la patología. La EDT incrementó los niveles de Cu (espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica) y estradiol (electroquimioluminiscencia) en fluido peritoneal, respecto al grupo Sham ($p < 0,01$). La administración de TM disminuyó la concentración de ambos factores (Cu: $p < 0,001$; estradiol: $p < 0,01$), los cuales se correlacionaron positivamente ($p < 0,01$). Además, el tratamiento disminuyó el peso y volumen de las lesiones ($p < 0,05$) y la tasa de proliferación celular (inmunohistoquímica de PCNA; $p < 0,001$), y no afectó la histoarquitectura de hígado y útero (hematoxilina-eosina). En conclusión, TM inhibe el desarrollo de la EDT en ratones, lo que se evidencia en la disminución de Cu y estradiol, y la proliferación celular en el tejido ectópico. Estas observaciones apoyan el estudio del TM como tratamiento novedoso para la EDT.

Financing: PROICO 02-0720 (Universidad Nacional de San Luis) y PIP 00391 (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), San Luis, Argentina.

10

TB551TR

Área: Modelos no convencionales en reproducción y desarrollo

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Fernanda Cuevas

NECROPTOSIS PARTICIPATE IN FOLLICULAR DEVELOPMENT AND CYST FORMATION DURING SYMPATHETIC STRESS IN RAT OVARY

Fernanda Cuevas, Hernán Lara

Laboratory of Neurobiochemistry, Faculty of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Folliculogenesis and ovulation in mammals, is the result of a fine balance between survival and cell death factors undergoing atresia. Necroptosis has emerged as a cell death factor operating in the ovary, but it does not exist studies for the role of this process in vivo. We studied the participation of necroptosis in the control of ovarian follicular development and in pathological process as chronic exposure to sympathetic stress. We chronically exposed the ovary by direct intrabursal administration (Alzet miniosmotic pump) of pharmacological inhibitors of the key step in the necroptotic cascade: a.- necrostatin-1 (NEC-1) and b.- necrosulfonamide (NSA), to inhibit necroptosis. After administration of NEC-1 for 28 days, (a time-period to study follicular cohort), increased the number of small antral atresic follicles, and precystic structures (type III follicles). In addition, increased levels of the necroptotic marker MLKL (western blot analysis) and immunohistochemistry for localization were found, thus necroptosis could participate in the disappearance of atresic follicles and in the transition from type III follicles to cysts. The treatment with NSA did not change the ovarian morphology of the treated animals, suggesting a minor role in inhibiting necroptosis in rat ovaries. Sympathetic stress (characterized by increased atresia and the development of a polycystic phenotype), increased MLKL after chronic treatment with NSA, reinforcing a in vivo role of necroptosis in the transition from healthy to atresic follicles in small antral follicles and in the passage of precyst to cyst follicles suggesting a new target to treat ovarian pathologies.

Financing: This study was supported by grants from Fondo Nacional de Ciencias Fondecyt 1170291 (to HEL). FC was also supported by a scholarship for Doctoral thesis support Conicyt N° 21161032

11

GF276QN

Área: Endocrinología reproductiva

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Julieta Erramouspe

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE LA DECIDUALIZACIÓN DE CÉLULAS DE ENDOMETRIO HUMANO (Transcriptional Regulation of Decidualization in Human Endometrial Cells)

Julieta Erramouspe, Luciana Ant, Patricia Saragüeta

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

El proceso de decidualización consiste en la transformación celular del compartimento estromal del endometrio necesario para el embarazo. Esta diferenciación conlleva una reprogramación en la expresión génica. En este trabajo, se propuso estudiar la regulación, transitoria (1 hora) y estable (3 y 6 días post estímulo) de la expresión génica por hormonas. Para esto, se realizaron RNAseq de células estromales endometriales a las cuales se les aplicaron dos protocolos de decidualización, ambos implican el uso de estrógeno (E2) y cAMP, y progesterona (P4) o la progestina R5020 (un progestágeno sintético no metabolizable) alternativamente. A través de herramientas bioinformáticas, se analizaron genes y vías funcionales claves en los distintos tiempos, para los distintos protocolos. Resultados preliminares mostraron que hay un aumento en la cantidad de genes diferencialmente expresados, respecto del control, entre el tiempo 0 y la hora, y entre la hora y los 3 días, y luego este número disminuye a los 6 días para ambos tratamientos. Se observó que la vía funcional más representada por los genes disparadores de la decidualización, es la de señalización por TNF α vía NFkB, especialmente para los genes upregulados luego de 1h de estímulo hormonal. Por otro lado, se corroboró que las vías funcionales involucradas a tiempos largos presentan un perfil pro-inflamatorio, seguido de uno anti-inflamatorio, con ambos tratamientos. Se vio que los genes downregulados de la fase temprana están, esencialmente, relacionados con el ciclo celular; indicando un freno en la proliferación. Mientras que, para la fase tardía, se vio una preponderancia de vías relacionadas con la diferenciación celular y cambios en la matriz extracelular, representadas por genes que aumentan su expresión a este tiempo, respecto del vehículo. En resumen, tanto P4 como R5020, disparan el programa de decidualización, a través de la regulación de vías de señalización de TNF α .

Financing: Proyecto PIP 2015-2017 N° 682 y PICT2015 N°3426 (Dra. Saragüeta)

12

MB981BD

Área: Producción animal

Tipo de presentación: Simposio

Enviado por: Rodolfo Farlora

RNAi-INDUCED SILENCING OF RXR, A MEMBER OF THE NUCLEAR RECEPTOR GENE SUPERFAMILY, CAUSES REPRODUCTIVE FAILURE IN THE SEA LICE CALIGUS ROGERCRESSEYI

Paulina Bustos^{1,3}, Daniela Vidal-Pérez¹, Paulina Schmitt⁴, Donald Irving Brown¹, **Rodolfo Farlora**^{1,2}

¹ Universidad de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Gran Bretaña 1111, Valparaíso, Chile.

² Universidad de Valparaíso, Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales (CIGREN), Valparaíso, Chile.

³ Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Doctorado en Acuicultura, Valparaíso, Chile.

⁴ Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Valparaíso, Chile.

Nuclear receptors (NRs) belong to a superfamily of phylogenetically conserved genes implicated in critical physiological functions including reproduction and development. The aim of this study was to get insight into the NR genes in the fish ectoparasite *Caligus rogercresseyi*, and to investigate the effects of RNAi-induced gene silencing of RXR on the reproduction in this sea lice species. The raw sequencing data for egg, copepodid, chalimus adult male and adult female stages was obtained, separately trimmed and de novo assembled in a unique file using the CLC Genomics Workbench software. Following annotation, contigs that showed positive BLAST hits with NR superfamily proteins were extracted for further analysis. Unassembled sequences from each stage were used for RNA-seq analyses. Furthermore, we designed suitable primers and RT-qPCR runs were performed for selected transcripts. Localization of Cr-RXR and Cr-EcR was also examined using in situ hybridization. For each target gene, both antisense and sense (negative control) probes were generated and used to hybridize with *C. rogercresseyi* histological sections. Finally, we designed and synthesized dsRNA for the RXR gene which was delivered via subcuticular microinjection. The transcripts exhibited a distinctive regulation among the different developmental stages analyzed, as revealed using RNA-seq and RT-qPCR data. Higher relative expression was found in females compared to chalimi and male stages for retinoid X receptor (Cr-RXR), ecdysone receptor (Cr-EcR) and hormone receptor 3 (Cr-HR3). Localization of Cr-RXR and Cr-EcR showed strong labelling in ovaries, oocytes in the oviducts and intestine for both transcripts. Furthermore, RNAi-induced gene silencing of Cr-RXR caused germ cell depletion in the ovaries, severely reduced fecundity and generated abnormal gonad and embryo development. Collectively, these results contribute to expand the present knowledge of genes putatively involved in reproduction and development in sea lice, and may be useful for the development of novel antiparasitic treatments aimed at controlling their negative impacts in fish farming.

Financing: Fondecyt 1115091

13

PK611ML

Área: Cánceres del sistema reproductor

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Allison Fredes

LA CO-TRANSFECCIÓN DE MICRORNA-145 MÁS MICRORNA-23B DISMINUYE LA PROLIFERACIÓN, MIGRACIÓN E INVASIÓN EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL.

Allison Fredes, Daniela Vera, Andrea Hernández, Ignacio Torres, Maritza Garrido, Carmen Romero

Hospital Clínico Universidad de Chile, Obstetricia y Ginecología, Medicina, Dr. Carlos Lorca Tobar 999, Independencia, Santiago, Chile.

El cáncer ovárico epitelial (COE) es una de las neoplasias ginecológicas más letales. Se caracteriza por síntomas inespecíficos por tanto, el diagnóstico ocurre en estadios avanzados con baja respuesta a las terapias existentes. El factor de crecimiento nervioso (NGF) y su receptor TRKA están sobreexpresados en COE promoviendo la proliferación, migración, angiogénesis y el aumento de la expresión de proteínas oncogénicas, tales como c-Myc y VEGF. Adicionalmente, NGF regula los niveles de algunos microRNAs (miRs-23b y miR-145), los cuales se encuentran disminuidos durante la progresión del COE. Interesantemente, la sobreexpresión tanto de miR-23b como miR-145 disminuye la proliferación, migración e invasión de células de COE, así como también los niveles de c-Myc y VEGF. EL objetivo de este trabajo fue evaluar si la co-transfección de ambos miRs produce una mayor disminución en la proliferación, migración e invasión en células de COE comparado con la transfección de los miRs en forma separada. Para ello, células de COE se co-transfectaron con miR-145 más miR-23b utilizando Viafect. Los niveles de miRNAs post transfección fueron evaluados por Real Time-PCR. Los ensayos de proliferación se realizaron por conteo celular con equipo automatizado LUNA, MTT e inmunofluorescencia de Ki-67. Los ensayos de migración e invasión se evaluaron con insertos transwell. Los resultados mostraron que la co-transfección de miR-145 más miR-23b produce una disminución en la proliferación de células de COE, efecto que es mayor al sobreexpresar cada miR por separado ($p < 0.05$). Resultados similares fueron observados al evaluar la migración e invasión ($p < 0,005$). Estos resultados sugieren un efecto antitumoral sinérgico de la co-transfección de miR-23b más miR-145 en células de COE, lo que permitiría diseñar futuras terapias complementarias basadas en estos miR en el contexto del COE.

Financing: Proyecto Enlace 2020 VID, Universidad de Chile.

14

BL442CM

Área: Biología del espermatozoide

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Fernando Hinostroza

PHOSPHOLIPASE C ζ H233L MUTATION IMPAIRS PHOSPHATIDYLINOSITOL 4,5-BIPHOSPHATE BINDING UNDERLYING INFERTILITY IN HUMANS

Fernando Hinostroza^{1,2,3}, Sofia Albornoz⁴, Ingrid Araya-Duran⁵, Danilo González-Nilo⁵, Rafael Fissore⁶, Ingrid Carvacho¹

¹Laboratorio Fisiología de la Reproducción, Facultad Ciencias Básicas, Universidad Católica del Maule, Talca 3480112, Chile.

²Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule, CIEAM, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad Católica del Maule, Talca 3460000, Chile.

³Centro de Investigación en Neuropsicología y Neurociencias Cognitivas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica del Maule, Talca 3480112, Chile.

⁴Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica de Maule, Talca 3480112, Chile.

⁵Center for Bioinformatics and Integrative Biology, CBIB, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago 8320000, Chile.

⁶Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA.

Infertility affects 30 million men worldwide. Several causes have been described, and genetic factors are responsible for ~30% of cases. Mutations in a sperm-specific phospholipase, phospholipase C ζ (PLC ζ), have been related to male infertility. This enzyme is transferred to the egg during the sperm-egg fusion. PLC ζ hydrolyzes phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP₂) to produce inositol 1,4,5-triphosphate to induce egg calcium (Ca²⁺) oscillations. The Ca²⁺ oscillations and subsequent egg activation are essential to support egg-to-embryo transition. The histidine exchange for leucine in position 233 of PLC ζ (H233L) causes infertility in humans. Specifically, it impairs Ca²⁺ oscillations and egg activation. The objective of this work is to study the impact of H233L mutation in the human PLC ζ structure and PIP₂ interaction using all-atom molecular dynamics simulations. At a structural level, we found that this mutation alters the position of the EF-hand domains. Moreover, the mutation reduces the number of hydrogen bonds and salt-bridges between PLC ζ and PIP₂. Our results show that there is an impairment in the free binding energy. Therefore, PLC ζ H233L mutation changes PIP₂ binding affinity, preventing proper PIP₂ binding and hydrolysis, and the subsequent Ca²⁺ oscillations, underlying infertility in humans.

Financing: NIH grant R01 HD092499

15

KT688GS

Área: Cánceres del sistema reproductor

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Sebastián Indo

EL SILENCIAMIENTO DE REST REGULA LA EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN EL PROCESO DE TRANSICIÓN EPITELIO-MESÉNQUIMA EN CÉLULAS LNCaP

Sebastián Indo^{1,2}, María José Torres Torres^{1,3}, Enrique A. Castellón¹, Héctor R. Contreras¹

¹ Universidad de Chile, Departamento de Oncología Básico-Clinica, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile.

² Universidad de Chile, Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Santiago, Chile.

³ Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Farmacia, Facultad de Química y Farmacia, Av. Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile.

Introducción: El cáncer de próstata (CaP) es el segundo cáncer más común a nivel mundial y representa la quinta causa de muerte en hombres. Los pacientes que presentan un CaP avanzado son tratados con deprivación androgénica (TDA), y luego de 18 a 24 meses se hacen resistentes al tratamiento, alcanzando un estadio denominado cáncer de próstata resistente a la castración (CPRC). El fenómeno de resistencia se genera por diversos mecanismos, entre ellos dependientes o independientes del receptor de andrógeno (RA). Entre los independientes se encuentra el desarrollo del fenotipo neuroendocrino (CPNE), posiblemente originado por el proceso de transición epitelio mesénquima (TEM) y asociado con la expresión de reguladores maestros de este proceso. REST es un factor represor de características celulares neuronales y se encuentra desregulado en CPNE en conjunto con un aumento en la expresión de marcadores neuroendocrinos, como cromogranina A y sinaptofisina. **Materiales y Métodos:** En el presente trabajo se utilizaron modelos celulares que reflejan diferentes etapas de la progresión del CaP (LNCaP, 22RV1, PC3 y DU145). Se evaluaron los niveles de transcritos y proteínas de reguladores del proceso de TEM (Snail, ZEB1, SLUG y TWIST) en células LNCaP con silenciamiento de REST mediante qPCR y Western blot, respectivamente. **Resultados:** Nuestros resultados indican que las células LNCaP presentan niveles proteicos elevados de REST en comparación a las otras líneas celulares de CaP estudiadas, por lo que éstas se utilizaron para realizar el silenciamiento mediante partículas lentivirales. Interesantemente, hubo un aumento significativo de los niveles de expresión de marcadores de proceso TEM en las células silenciadas en comparación con la contraparte scramble. **Discusión:** Estos resultados refuerzan la propuesta de una acción regulatoria que posee REST respecto al proceso TEM, contribuyendo a la resistencia del CaP a los tratamientos actuales.

Financing: Fondecyt 1151214 (HC) y 1201704 (EC), Proyecto Enlace ENL22/19 (HC) y Beca Conicyt 21160703 (MJT)

16

FB487FS

Área: Biología del espermatozoide

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Raquel Lottero

ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR GPR55 POR ANANDAMIDA Y SU ROL EN LA FISIOLÓGÍA ESPERMÁTICA EN BOVINOS (Activation of GPR55 receptor by anandamida and its role in sperm physiology in cattle)

Raquel María Lottero¹, Camila Arroyo-Salvo¹, Eugenia Bogetti¹, Marcelo Miragaya², Jessica Plaza², Silvina Perez Martinez¹

¹ Centro de estudios farmacológicos y Botánicos (CEFyBO). UBA-CONICET, Laboratorio de biología de la reproducción en mamíferos, Facultad de Medicina. UBA, Paraguay 2155, Buenos Aires, Argentina.

² Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA, Cátedra de Teriogenología, Av. Chorroarín 280, Buenos Aires, Argentina.

Recientemente hemos caracterizado al receptor GPR55, el cual se activa por anandamida (AEA), promoviendo diferentes vías de señalización incluidas cAMP/PKA y PLC/PKC. El GPR55 se localiza en acrosoma, segmento ecuatorial y flagelo del espermatozoide bovino. En este trabajo estudiamos las vías moleculares asociadas a la activación de GPR55 inducidas por AEA y su rol en la fisiología espermática en bovinos. Los espermatozoides criopreservados fueron incubados durante 45 min en medio sp-TALP adicionado con AEA ó AEA+CID (antagonista de GPR55). Se evaluaron sustratos de PKA (pPKA) y PKC (pPKC) por Western-blot. La inducción de pPKA y pPKC por AEA fue prevenida por la presencia de CID ($p < 0.05$). Para determinar el posible crosstalk entre ambas quinasas se realizaron incubaciones con AEA y H89 (inhibidor de PKA) ó GO6983 (Inhibidor de PKC). Los resultados sugieren una interacción de estas vías ya que la presencia de H89 disminuyó pPKC y la de GO6983 redujo pPKA. Luego, se evaluó la activación del GPR55 a distintos tiempos de incubación con AEA y/o CID. Se observó una inducción de pPKA y pPKC a los 5 min de incubación con AEA, y la presencia de CID redujo solamente los niveles de pPKC; a los 45 min, ambos sustratos disminuyeron en presencia del antagonista ($p < 0.05$). El GPR55 está involucrado en el remodelado del citoesqueleto. Evaluamos su participación en la dinámica de actina durante la capacitación. La presencia de CID disminuyó la actina polimerizada inducida por AEA, sugiriendo la activación de GPR55 en dicho proceso. Finalmente, estudios de sistema de análisis computarizado de motilidad y de reacción acrosomal (RA) inducida por LPC en presencia de CID indicaron que GPR55 participa tanto en la motilidad como en la RA en espermatozoides bovinos. En conclusión, la activación de GPR55 por AEA jugaría un rol importante en la función espermática en bovinos.

Financing: PICT 2016 0870/PICT 2018 01681

17

HF324SG

Área: Cánceres del sistema reproductor

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Gabriel Mingo

CANCER VASCULOGENIC MIMICRY: INTEGRIN SIGNALING AND CORTACTIN ARE REQUIRED FOR TUBULAR FORMATION IN OVARIAN CANCER CELLS.

Gabriel Mingo^{1,4}, Javiera Pradenas¹, Nicole Babbitt¹, Pamela González¹, Cristina Bertocchi¹, Gareth Owen^{1,2,3,4}

¹ Pontificia Universidad Católica de Chile, Fisiología, Ciencias Biológicas, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile.

² Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Medicina, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 340, Santiago, Chile.

³ Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia (IMI), Santiago, Chile.

⁴ Advanced Center for Chronic Disease (ACCDiS), Santiago, Chile.

Introduction and objectives: Vasculogenic mimicry (VM) describes a process by which cancer cells establish an alternative perfusion pathway in an endothelial cell-free manner. Despite the strong correlation with reduced patient survival, the mechanisms by which a tumor can create this self-generated irrigation system are still not fully understood. The initiation of the process of VM in vitro requires the presence of extracellular matrix proteins (contained in Matrigel), however, the downstream signaling pathways are currently unknown. **Material and methods:** Using an established in vitro model of VM, of ovarian cancer cells (HEY) on Matrigel coating, we utilized siRNA and antibody inhibition to elucidate the signaling pathways involved in the process of VM. RNA sequencing evaluated changes in mRNA levels during tubular formation. **Results:** Silencing of integrin $\beta 1$, but not $\beta 3$, prevents the laminin 1 initiation of VM formation. The silencing of cortactin affects the early development of tubular structures. RNAseq analysis, while identifying novel candidate genes, suggests that VM has minimal dependence on de novo transcriptional activity. **Discussion:** Our results suggest that the extracellular protein laminin 111 signals through integrin $\beta 1$ to activate the PI3K pathway leading to cortactin-dependent rearrangement of the cytoskeleton. As VM is strongly associated with poor patient survival, a further understanding of the formation of this alternative irrigation system may deliver new druggable cancer targets.

Financing: FONDECYT 1180241, ANID PIA192015, CONICYT FONDAP-15130011, ICM-MINECON IMII P09/16F, Beca ANID Doctorado Nacional 21210238.

18

SP495JN

Área: Embarazo y desarrollo embrionario

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Ricardo Daniel Moreno Mauro

HERITABLE HUMAN GENOME EDITING: BEYOND RISKS AND BENEFITS

Ricardo Daniel Moreno Mauro¹, Graciela Moya², Paulina Ramos¹

¹ Pontifical Catholic University of Chile, Bioethics Center, Medicine, Alameda 340, Santiago, Chile.

² Pontifical Catholic University, Bioethics Institute, Medical Sciences Faculty, Argentina.

In 2015 a quick, easy, and cheap technique that precisely change DNA sequence in every organism including human, known as CRISPR/CAS9, was published. Among of many applications in health care, as the design of somatic gene therapies for untreatable conditions, the considerations for heritable human germline genome editing has prompted ethical, legal, and social concerns. In reply, in July 2021 the WHO Expert Advisory Committee on Global Development Standards for the Governance and Supervision of the Human Genome Editing World Health Organization published the “Human Genome Editing: Recommendations: A FRAMEWORK FOR GOVERNANCE”. This document provides advice and recommendations on appropriate institutional, national, regional, and global framework governance on human genome editing. This document encourages human embryo research but does not recommend its use in clinical application based only in safety and benefits. In this work, we review ethical, normative, legal, governance aspect of heritable human germline genome editing, in Chile and Argentina. This assessment considers recommendations of other documents as the Oviedo Convention and the CIOMS Clinical research in resource-limited settings. The existence of policies on and permissibility of heritable human germline genome editing is quite different among Latino American countries. Despite the existence of regulation policies regarding human embryo manipulations, there are legal gaps that may not complain about the WHO recommendations.

Financing: Pastoral Pontifical Catholic University of Chile

LA SOBREEXPRESIÓN DE DAZL, STRA8 Y BOULE Y EL TRATAMIENTO CON BMP4 Ó ACIDO RETINOICO MODULAN LA EXPRESIÓN DE GENES DE CÉLULAS GERMINALES EN MSC FETALES BOVINAS

Paloma Cordero^{1,3}, Jahaira Cortez^{1,3}, Moises Segunda^{1,3}, Mónica De los Reyes¹, Manuel Varas-Godoy², Cristian Torres¹, Victor Parraguez¹, **Oscar Alejandro Peralta T**¹

¹ Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Santiago, Chile.

² Universidad San Sebastián, Centro de Biología Celular y Biomedicina (CEBICEM), Facultad de Medicina, Santiago, Chile.

³ Universidad de Chile, Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias (DCSAV), Santiago, Chile.

La derivación in vitro de gametos desde células troncales tiene potenciales aplicaciones en la difusión de genética de animales de élite, la producción de animales transgénicos y la conservación de especies amenazadas. Las células troncales mesenquimáticas (MSCs) pueden ser candidatas para la derivación de gametos in vitro considerando su capacidad de diferenciación y su potencial uso para terapia celular. En el presente estudio, se utilizaron vectores policistrónicos que contienen combinaciones de genes de GCs, incluyendo DAZL, STRA8, y BOULE y la posterior exposición a BMP4 o RA para inducir la diferenciación GCs en MSCs derivadas de tejido adiposo fetal bovino (AT-MSCs). Las AT-MSCs se analizaron el día 14 de diferenciación para la cuantificación de la expresión de genes de pluripotencia NANOG y OCT4 y genes de GC DAZL, STRA8, BOULE, PIWI, c-KIT y FRAGILIS mediante Q-PCR. El testículo fetal y adulto y las AT-MSCs también fueron analizados para detectar la expresión de DAZL, STRA8, y NANOG mediante inmunofluorescencia. Los niveles de expresión génica y la inmunolocalización de DAZL, STRA8 y NANOG durante el desarrollo testicular sugieren que son componentes importantes de la red reguladora que controlan la diferenciación in vivo de las GCs bovinas. La sobreexpresión de DAZL y STRA8 en un vector bicistrónico y de DAZL, STRA8 y BOULE en vectores tri-cistrónicos permitió aumentar la expresión de OCT4, NANOG, y PIWIL2 en AT-MSCs. La posterior exposición a BMP4 redujo la expresión de NANOG, sin embargo, aumentó los niveles de expresión de DAZL y c-KIT y activó la expresión de FRAGILIS. El tratamiento con AR aumentó la expresión de DAZL y FRAGILIS y mantuvo los niveles de ARNm de STRA8. En conclusión, la sobreexpresión de DAZL, STRA8, y BOULE y el tratamiento con BMP4 y RA indujo la expresión de los marcadores pluripotentes y de PIWIL2 en AT-MSCs bovinas fetales.

Financing: Fondecyt 1191114 y 1161251

20

GR959LD

Área: Endocrinología reproductiva

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Sara Peña

EL FACTOR INHIBITORIO DE LEUCEMIA REGULA LA FOLICULOGÉNESIS EN UN MODELO IN VIVO DE RATA (Leukemia Inhibitory Factor Regulates folliculogenesis In Vivo Rat Model)

Sara Peña, Alfonso Paredes

Universidad de Chile, Laboratorio de Neurobioquímica, Centro de Estudios Neurobioquímicos de Enfermedades Endocrinas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Olivos 1007, Santiago, Chile.

El Factor Inhibitorio de Leucemia (LIF) es una citoquina proinflamatoria perteneciente a la familia de interleuquina 6 con actividad pleiotrópica. LIF se expresa en ovario en distintas especies y estudios *in vitro* la han relacionado con el crecimiento de folículos preantrales y estudios *in vivo* con el proceso de ovulación. Hasta la fecha, no hay estudios *in vivo* del efecto crónico de LIF sobre las diferentes etapas del desarrollo folicular y esteroidogénesis en ovario de rata. El objetivo de este trabajo fue determinar si LIF promueve el desarrollo folicular y la ovulación. Para comprobar esto, se administró LIF en la bursa del ovario de ratas Sprague-Dawley durante 28 días mediante una minibomba Alzet cargada con 20ng/200ul, para liberar LIF a un flujo continuo de 0.25 ul/h. Animales Sham implantados con cánula en el ovario fueron considerados como controles. Se evaluó la ciclicidad estral y a final del tratamiento, los animales fueron eutanasiados en estro, se colectó el suero para la determinación de hormonas esteroidales por ELISA, los ovarios fueron fijados, incluidos en parafina, cortados en 6um y teñidos para el análisis morfométrico de los diferentes tipos de folículos y cuerpo lúteo. Los resultados muestran que el tratamiento con LIF no afecta la ciclicidad estral. Sin embargo, induce un aumento significativo en progesterona sérica, sin cambios en testosterona y estradiol, y un aumento en el número de cuerpos lúteos mayores a 800 μ m (40%), sugiriendo un aumento en la ovulación. El análisis morfométrico mostró una disminución significativa del número de folículos primarios (30%), secundarios (40%) y antrales sanos (55%), sin cambios en los folículos antrales atrésicos, indicando que LIF promueve la foliculogénesis. En conclusión, estos resultados sugieren que LIF participa en la regulación de la foliculogénesis, ovulación y esteroidogénesis. Esto podría ser considerado para una aplicación farmacológica en diferentes patologías reproductivas.

Financing: Beca ANID 21201326.

21

PM364JM

Área: Cánceres del sistema reproductor

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: María Lorena Oróstica Arévalo

EFFECTO DE EXOSOMAS SÉRICOS PROVENIENTES DE MUJERES CON OBESIDAD SOBRE LA AGRESIVIDAD DE CELULAS TUMORALES DE CÁNCER DE VESÍCULA BILIAR

Bastián Pozo¹, Renato Burgos³, Ricardo Huilcaman³, María Lorena Oróstica²

¹ Universidad Diego Portales, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Ejercito 141, Santiago, Chile.

² Universidad Diego Portales, Centro de Investigación Biomédica (CIB), Facultad de Medicina, Ejercito 141, Santiago, Chile.

³ Universidad de Chile, Laboratorio de Comunicaciones Celulares (ICBM), Centro Avanzado de Enfermedades Crónicas (ACCDiS), Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile.

El Cáncer de Vesícula Biliar (CVB) tiene una incidencia preocupante sobre todo en la población chilena femenina. Es un cáncer altamente metastásico y letal, siendo esta la principal causa de muerte del paciente. La obesidad se ha asociado a la progresión o metástasis del CVB. Sin embargo, los mecanismos celulares que asocian a ambas patologías aún se desconocen. Se sabe que la obesidad altera la expresión y excreción de moléculas y estructuras por parte del tejido adiposo, como, por ejemplo, las vesículas extracelulares. **Objetivo:** El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la obesidad a través de la comunicación celular vía vesículas extracelulares sobre el comportamiento agresivo de células de CVB. **Materiales y Métodos:** Líneas celulares de CVB (GB-d1 y PUC-2) de baja agresividad fueron tratadas con vesículas extracelulares llamadas exosomas obtenidas a partir de muestras de suero provenientes de dos grupos de estudio: mujeres normo-peso (IMC < 25, grupo control) y mujeres con obesidad (IMC > 30). Luego, a través de ensayos in-vitro se evaluó la invasión por 24 h, usando cámaras Boyden con matrigel, y la migración por 2 h usando cámaras Transwells (n=3 en duplicado). **Resultados:** Células de CVB tratadas con exosomas séricos provenientes de mujeres con obesidad inducen una mayor capacidad de invadir y migrar por parte de las células de CVB, comparado con las células tratadas con exosomas controles (normo-peso). **Conclusión:** La obesidad puede inducir un fenotipo más agresivo de las células tumorales del CVB a través de un mecanismo dependiente de exosomas séricos. Esto podría sugerir la existencia de un mecanismo eficiente de comunicación celular a distancia que, en este caso, estaría relacionando dos patologías: la obesidad y el cáncer.

Financing: PAI-ANID #77190041 (MLO)

22

SB395GH

Área: Embarazo y desarrollo embrionario

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Fujiko Saavedra

LOW VITAMIN E CONTENT IN BRAINS OF SR-B1 KO MOUSE FETUSES: INFLUENCE ON OXIDATIVE STATUS AND NEUROGENESIS MARKERS

Fujiko Saavedra^{1,3}, Maxs Mendez¹, Alonso Quiroz², Luis Federico Batiz³, Dolores Busso³

¹ Ph.D. Program in Biomedicine, Faculty of Medicine, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

² Ph.D. Program in Medical Sciences, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

³ Program in Biology of Reproduction, Center for Biomedical Research and Innovation (CIIB), Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

In mice, after neurulation at gestational day 9.5 (E9.5), neural stem cells self-renew in the ventricular zone and progenitor cells migrate to the sub-ventricular zone to differentiate into neurons, in a process known as neurogenesis. Specific transcription factors are expressed in different cell types: Sox2 (NSCs), Pax6 (RGCs), Tbr2 (INPs) and DCX (immature neurons). Gestational vitamin E (VE) deficiency has been shown to affect fetal neurodevelopment. VE, a lipophilic-micronutrient with antioxidant function, is transported in maternal lipoproteins and taken up by the embryo/fetus through lipoprotein-receptors in extraembryonic tissues. The HDL Scavenger receptor class B type 1 (SR-B1) is expressed in placenta and adult blood-brain barrier. Objective: We studied if SR-B1 is involved in VE provision during neurodevelopment by evaluating levels of SR-B1, VE, lipoperoxidation and neurogenesis markers in brains from SR-B1^{-/-} and SRB1^{+/+}E16.5 fetuses. We also evaluated VE content in other tissues. Methods: VE was quantitated in placenta and fetal liver, brains or serum by HPLC. In fetal brains, the presence and localization of SR-B1 and neurogenesis markers was studied using specific antibodies in WB and IF (40 µm cryosections); lipoperoxidation was evaluated by TBARS. Results: SR-B1 was detected in fetal brain. Significantly lower levels of VE were detected in SR-B1^{-/-} vs. WT E16.5 brains (330.8 vs 1,260 µg/µg protein, p=0.024, n=6) and livers (20.92 vs 77.20 µg/µg protein, p=0.0097, n=4-5), with no differences in placenta or fetal serum. MDA levels tender to be higher in SR-B1^{-/-} vs WT brains (n=6, 21.40 vs 17.57 nmol/mg protein, p=0.322). SR-B1^{-/-} brains also showed lower Tbr2 levels by WB (0.79 vs 1.07 RU in WT, p=0.005) and was localized to INPs. Conclusions: Low VE levels in SR-B1^{-/-} fetal brains, associated to a tendency to higher lipoperoxidation and lower levels of Tbr2 marker, supports the use of SR-B1^{-/-} mice as a model to study VE influence on neurodevelopment.

Financing: FONDECYT #1180347 (DB) and Ph.D. fellowship ANID #21201204 (FS).

23

FN381MQ

Área: Embarazo y desarrollo embrionario

Tipo de presentación: Conferencia

Enviado por: Rodrigo Sentis

IN SILICO ANALYSIS OF GENES POTENTIALLY INVOLVED IN FEMALE PUBERTY DEVELOPMENT IN A HYPERANDROGENIZED-INDUCED MURINE MODEL

Rodrigo Sentis, Bárbara Echiburú, Manuel Maliqueo

Universidad de Chile, Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Las Palmeras 299, Santiago, Región Metropolitana, Santiago, Chile.

Modelos animales han mostrado que la androgenización prenatal induce alteraciones neuroendocrinas durante el desarrollo puberal de la descendencia que se asemejan a las observadas en hijas de mujeres con síndrome de ovario poliquístico. Estas alteraciones podrían estar asociadas a cambios en la expresión del receptor de andrógenos (RA) con un potencial efecto en redes de genes hipotalámicos. Herramientas bioinformáticas permiten generar modelos in silico que predicen redes de genes asociadas a procesos biológicos. Nuestro objetivo del trabajo fue identificar, mediante un modelo in silico, cambios inducidos por el RA en redes de genes hipotalámicos relevantes para el desarrollo puberal en ratones hembra. Mediante el algoritmo “((mice[MeSH Terms]) AND (transcriptome[MeSH Terms])) AND (hypothalamus[MeSH Terms])) AND (female[MeSH Terms])” se obtuvieron 35 artículos en Pubmed, de los cuales uno (Hum Mol Genet. 2017;26:3585-3599) contenía una lista de genes hipotalámicos que fueron introducidos a la plataforma DAVID Bioinformatics para la obtención de vías de señalización que incluyera o no al RA. Éstas se analizaron en la plataforma STRING adicionando 200 y 300 nodos para visualizar redes proteicas que se exportaron al software Cytoscape para establecer, en presencia y ausencia RA, clusters que incluyeran, por su importancia en el inicio puberal, a GnRH. Los genes identificados fueron filtrados en DAVID Bioinformatics para predecir la red más probable. La adición de 200 y 300 nodos en STRING determinó 16 y 17 clusters, respectivamente. Uno de ellos contuvo a GnRH, incluyendo 30 nuevos genes determinados por la presencia del RA. Estos genes predijeron la vía “Neuroactive ligand-receptor interaction” que incluyó a Avpr1a, Brs3, Cckbr, Chrm1, Grpr, Gcgr, Grm5, Ghser, Htrb2, Mchr1, Mlnr, Nmb, Nmur1, Nmur2, Oxtr y P2ry11. Los resultados indican que el RA modificaría redes de genes hipotalámicos durante el desarrollo puberal que debe ser comprobado a través de un modelo experimental.

Financing: Financiado por proyecto Fondecyt 1201483 y 1181798.

24

HR957TH

Área: Cánceres del sistema reproductor

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: María José Torres Torres

EL BLOQUEO DE LA SEÑALIZACIÓN DE ENDOTELINA INCREMENTA LA PROLIFERACIÓN Y VIABILIDAD EN CÉLULAS DE CÁNCER DE PRÓSTATA

María José Torres Torres^{1,2}, Beatriz Del Valle³, Antonio García De Herrero³, Mireia Duñach³, Fernanda López-Moncada¹, Sebastián Indo^{1,4}, Enrique A. Castellón¹, Héctor R. Contreras¹

¹ Universidad de Chile, Oncología Básico-Clínica, Medicina, Avenida Independencia 1027, Santiago, Chile

² Pontificia Universidad Católica de Chile, Farmacia, Química y de Farmacia, Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile.

³ Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas, Carrer del Dr. Aiguader, 88, 08003, Barcelona, España.

⁴ Universidad de Chile, Tecnología Médica, Medicina, Avenida Independencia 1027, Santiago, Chile.

Introducción. Endotelina-1 (ET-1) es producida por el epitelio prostático interactúa con sus receptores específicos el receptor A (ETAR) y el B (ETBR) de endotelina. Se ha reportado que elevadas concentraciones plasmáticas de ET-1 y ETAR en pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración. Dentro de las funciones descritas para ET-1 en diferentes tipos de cánceres destaca su activación de quinasas involucradas en la regulación de la proliferación celular. Actualmente, son desconocidos los efectos de ET-1 sobre la proliferación y viabilidad en el cáncer de próstata (CaP). El objetivo de este proyecto es estudiar el efecto de ET-1 sobre la proliferación y viabilidad en líneas celulares de cáncer de próstata. Materiales y métodos. Para determinar el efecto que ejerce ET-1 sobre la proliferación, viabilidad y niveles de expresión de c-myc en células de CaP. Se determinó la proliferación y viabilidad células LnCaP (células de CaP provenientes de metástasis linfonodal), DU145 (células de CaP provenientes de metástasis cerebral) y PC3 (células de CaP provenientes de metástasis ósea) en presencia o ausencia de antagonistas de ETAR y ETBR a través del conteo celular en cámara de Neubauer y ensayos de MTT, respectivamente. Adicionalmente, los niveles de mRNA de c-myc a través de RT-qPCR. Los resultados fueron expresados como el promedio +/- desviación estándar (n>3) (Kruskal-Wallis o Tukey multiple comparisons Test). Resultados: Nuestros resultados mostraron que al bloquear los receptores de endotelina aumenta la proliferación, viabilidad y los niveles de mRNA de c-myc en células de CaP. Conclusión. Estos hallazgos muestran que bloqueo de los receptores de endotelina aumenta la proliferación y viabilidad en células de cáncer de próstata e incrementa los niveles de mRNA de c-myc, sugiriendo que la activación de la señalización de ET-1 inhibe la translocación de b-catenina al núcleo lo que nos permitiría explicar los resultados mostrados anteriormente.

Financing: Proyecto Fondecyt 1151214 (HC), Uredes URC-007/17, Enlace ENL22/19 (HC), Proyecto Fondecyt Postdoctorado 3210213 (MJT). Beca ANID 21160703 (MJT), 21160886 (FLM).

25

SF943RT

Área: Biología del ovocito

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Sebastián Vergara Gómez

EXPRESIÓN DE CANALES CAV3.2 TIPO T DURANTE LA MADURACIÓN DEL OVOCITO UTILIZANDO COMO MODELO MUS MUSCULUS

Sebastián Vergara Gómez^{1,2}, Ingrid Carvacho Contreras¹

¹ Universidad Católica del Maule, Laboratorio Fisiología de la Reproducción, Facultad de Ciencias Básicas, Av San Miguel 3605, Talca, Chile.

² Universidad Católica del Maule, Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Av San Miguel 3605, Talca, Chile.

La fecundación ocurre con la fusión de espermatozoide y ovocito, sin embargo, para que esto suceda se requiere que ambas células hayan adquirido competencias meióticas a través de la maduración. En mamíferos, la maduración del ovocito, que ha comenzado durante el desarrollo embrionario, se reanuda, en respuesta a cambios hormonales, cuando la hembra alcanza la pubertad. Es en este momento cuando el ovocito comienza a prepararse para la fertilización almacenando calcio (Ca^{2+}) en el retículo endoplasmático. Una vez que ocurre la fusión de los gametos, el Ca^{2+} almacenado es liberado al ooplasma a través de una serie de aumentos de Ca^{2+} intracelular que son sostenidos en el tiempo ("oscilaciones de Ca^{2+} "). La permanencia de las oscilaciones es dependiente de influjos de Ca^{2+} provenientes del medio extracelular, y son requeridas para la activación del ovocito y el comienzo del desarrollo embrionario. Los mecanismos que abastecen de Ca^{2+} al ovocito no han sido totalmente caracterizados. Se ha reportado la expresión del canal $\text{CaV}3.2$ en la membrana de ovocitos MII. $\text{CaV}3.2$ es un canal de Ca^{2+} dependiente de voltaje cuya función es transportar Ca^{2+} hacia el medio intracelular. El objetivo de este trabajo es caracterizar la expresión del canal $\text{CaV}3.2$ durante la maduración del ovocito. A través de PCR convencional, probamos la existencia de transcritos del gen *Cacna1h* que codifica para la subunidad $\alpha 1$ del canal $\text{CaV}3.2$, tanto en el ovocito inmaduro (Germinal Vesicle, GV) como en el ovocito listo para ser fecundado (MII). Adicionalmente, utilizando inmunocitoquímica, mostramos la distribución de la proteína en ovocitos GV y MII. Utilizando patch-clamp, registramos las corrientes mediadas por este canal en distintos estados de maduración. Nuestros resultados sugieren que el canal tiene una expresión diferencial durante la maduración, apoyando distintas funciones fisiológicas en el ovocito, y durante la activación de este.

Financing: Proyecto Interno SAPERE AUDE cod434229 (Sebastián Vergara)RO1HD092499 (I. Carvacho, co-investigadora).

26

GD699QR

Área: Endocrinología reproductiva

Tipo de presentación: Panel

Enviado por: Hugo Soto

CARACTERIZACIÓN DEL CICLO MENSTRUAL OVULATORIO, EN BASE A BIG DATA (characterization of the menstrual cycle with the use of big data)

Hugo soto^{1,2}, Jaime Melendez¹, Juan Del Río^{1,3}, Pilar Vigil¹

¹ Reproductive Health Research Institute, Lira 140, of. 201, Santiago, Chile.

² Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina, Lota 2465, Santiago, Chile.

³ Clínica Psiquiátrica Universidad de Chile, La Paz 1003, Santiago, Chile.

La tecnología móvil brinda una oportunidad para que la mujer reconozca las características de su ciclo menstrual. El objetivo del presente trabajo fue determinar la duración del ciclo menstrual y fase lútea utilizando, el biomarcador del moco cervical, en mujeres que auto-reportaron sus parámetros mediante una aplicación móvil. Este estudio observacional prospectivo contempló mujeres de 14 a 50 años que utilizaron la aplicación FEMM. Se generaron estadísticas descriptivas sobre los datos anónimos utilizando STATA 17.0, para estimar la longitud del ciclo menstrual, duración del periodo menstrual y fase lútea. Se identificaron 326.071 ciclos, de 44.549 sujetos únicos con un rango de mediana sin distribución normal de 6 (3-13) ciclos por usuario informado. Del total de ciclos, se consideraron 88.752 ciclos ovulatorios de acuerdo a una duración de fase lútea entre 9 y 18 días y que fueron correctamente registrados. La longitud del ciclo menstrual osciló entre 24 y 37 días con un promedio de 29,6 días y una mediana de 28 días. La longitud de la fase lútea osciló entre 9 y 17 días con un promedio y una mediana de 13 días. La duración del periodo menstrual osciló entre 2 y 6 días, con una mediana de 4 días. Estos datos son consistentes, en longitud y mediana de fase lútea, con aquellos publicados previamente por nuestro grupo de trabajo, utilizando mediciones diarias en orina de glucurónidos de estradiol y progesterona con el Monitor Ovárico de Brown. Se concluye que los datos auto informados de biomarcadores como el moco cervical, generados en la aplicación móvil FEMM, son consistentes con el conocimiento clínico establecido.