Libro de Resúmenes

SOCIEDAD CHILENA
DE REPRODUCCIÓN Y
DESARROLLO

XXXIII REUNIÓN ANUAL SCHRD

MODALIDAD HÍBRIDA
PRESENCIAL / ON-LINE

7 a 9 de septiembre de 2022

Aula Magna Universidad Católica del Maule, Talca / Transmisión vía streaming

Conferencias plenarias, simposios, incorporaciones, comunicaciones libres y pósters

DIRECTORIO SCHRD

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 SCHRD

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

XXXIII REUNIÓN ANUAL SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO

Modalidad *hibrida*. 7 al 9 de septiembre de 2022

Aula Magna. Universidad Católica del Maule. Talca. Chile

Día 1 (miércoles 7 de septiembre de 2022)

Hora	Actividad	Modalidad
15.00- 15.15	Palabras de bienvenida Héctor Contreras Presidente SCHRD	Presencial
15.30- 16:30	Conferencia 1. *Premio* SCHRD 2021 Endometriosis en modelos animales TNFR1 Rocío Ayelem Conforti. UBA. Argentina	Presencial / *on line*
16:30- 17:00	Café 1	Presencial
17:00- 19:00	Simposio 1. Aspectos básicos y clínicos de la fertilidad. Aborto Recurrente / Un Desafío terapéutico Emerson Maldonado Universidad Católica del Maule. Chile Impacto del COVID-19 sobre la fertilidad femenina: SARS-CoV-2 y vacunas. Fernanda Parborell CONICET. Argentina. Cáncer y fertilidad, puntos a considerar Cesar Paredes Universidad Católica del Maule. Chile	Presencial /*on line*
19:00- 20:00	Charla 35 años SCHRD Enrique Castellón Universidad de Chile. Chile	Presencial
20.00- 20:30	Coctel	Presencial

Día 2 (jueves 8 de septiembre de 2022)

Hora	Actividad	Modalidad
9:00-11:00	Simposio 2. Determinantes prenatales y consecuencias en la salud postnatal Efecto de la testosterona sobre el cerebro en el modelo de síndrome de ovario poliquístico". Nicolás Crisosto Universidad de Chile. Chile. Fenotipo masculino del síndrome de ovario poliquístico: más allá de las alteraciones metabólicas. Bárbara Echiburú Universidad de Chile. Chile. Obesidad gestacional y desarrollo prenatal de hígado graso no alcohólico. Manuel Maliqueo Universidad de Chile. Chile.	Presencial
11:00-11:30	Café 2	Presencial
11:30-12:30	Simposio 3: Metabolismo en espermatozoides y en espermatogénesis. Human Sperm Metabolism: From the Clinic, to Biochemistry, to Outreach Joao Ramalho-Santos University of Coimbra. Portugal. Modern life style and sperm function: lesson from mice models Ricardo Moreno PUC. Chile	Presencial / *on line*
12:30-13:30	Conferencia 2: The essential role of cell surface proteins in fertilization and embryo transport. Enrica Bianchi University of York United Kingdom	Presencial / *on line*
13.30-15.00	Almuerzo 1	
15:00-16:00	Novel vasodilator mechanisms controlled by epigenetic mechanisms and the protective role of antioxidants in the developmental origins of health and disease Bernardo Krause Universidad de O'Higgins	Presencial
16.00-16:30	Café 3	
16:30-17:30	Conferencia 3: Estrés post-natal temprano. Consecuencias metabólicas tardías. Rol del Sistema Endocanabinoide. Miguel Llanos U de Chile. Chile	Presencial
17:30-18:30	Comunicaciones Libres I	Presencial

18:30-19:30	Sesión de poster	Presencial
19:30-20:30	cheese and wine	Presencial

Día 3 (viernes 9 de septiembre de 2022)

Hora	Actividad	Modalidad
9:00-11:00	Simposio 4. Nuevos avances en cáncer de ovario Relación entre factores de crecimiento y microRNAs en la progresión del cáncer de ovario. Carmen Romero U de Chile. Chile. Terapia basada en microRNAs y nuevos usos de fármacos existentes como tratamiento de cáncer ovárico epitelial. Maritza Garrido U de Chile. Chile. Quimioresistencia a cisplatino en cáncer de ovario: Desbalance entre la secreción de exosomas y la función lisosomal Manuel Varas U San Sebastián. Chile.	Presencial
11:00-11.30	Café 4	
11.30-12.30	Activación de ovocitos bovinos por inhibidores de la síntesis de proteínas: nuevos hallazgos sobre el rol de MPF y MAPKs María E. Arias UFRO. Chile	Presencial
12:30-13:30	Comunicaciones libres II	Presencial
13.30-15.00	Almuerzo 2	
15:00-16:00	Conferencia 5. El Hiperandrogenismo y la Resistencia a la Insulina promueven alteraciones moleculares en el endometrio Margarita Vega U de Chile. Chile.	Presencial / *on line*
16:00-17:00	Conferencia 6 de Clausura SCHRD Dilemas existenciales…respuestas comunitarias. Francisco Letelier Universidad Católica del Maule	Presencial / *on line*
17:00-18:00	Ceremonia de Clausura Héctor Contreras Presidente SCHRD	
18:00-19:00	Reunión de Socios SCHRD	Presencial

21:00-23:00	Cena	Casino Talca
23:00-02:00	Fiesta	Casino Talca

Conferencias plenarias

Conferencia 1 - Premio SCHRD 2021: Tetratiomolibdato de amonio: un quelante de cobre como tratamiento innovador para la endometriosis. Rocío Ayelem Conforti, Universidad Nacional de San Luis, Argentina.

Conferencia 2: 35 años de la SCHRD. Enrique Castellón, Universidad de Chile, Chile.

Conferencia 3: The essential role of cell surface proteins in fertilization and embryo transport. Enrica Bianchi, University of York, Reino Unido.

Conferencia 4: Novel vasodilator mechanisms controlled by epigenetic mechanisms and the protective role of antioxidants in the developmental origins of health and disease. Bernardo Krause, Universidad de O'Higgins, Chile.

Conferencia 5: Estrés post-natal temprano. Consecuencias metabólicas tardías. Rol del Sistema Endocanabinoide. Miguel Llanos, Universidad de Chile, Chile.

Conferencia 6: Activación de ovocitos bovinos por inhibidores de la síntesis de proteínas: nuevos hallazgos sobre el rol de MPF y MAPKs. María E. Arias, Universidad de la Frontera, Chile.

Conferencia 7. El Hiperandrogenismo y la Resistencia a la Insulina promueven alteraciones moleculares en el endometrio. Margarita Vega, Universidad de Chile, Chile.

Conferencia 8 - Clausura Reunión Anual SCHRD: Dilemas existenciales…respuestas comunitarias. Francisco Letelier, Universidad Católica del Maule, Chile.

Simposios

Simposio 1. Aspectos básicos y clínicos de la fertilidad.

Aborto Recurrente / Un Desafío terapéutico. Emerson Maldonado, Universidad Católica del Maule, Chile.

Impacto del COVID-19 sobre la fertilidad femenina: SARS-CoV-2 y vacunas. Fernanda Parborell, CONICET, Argentina.

Cáncer y fertilidad, puntos a considerar. Cesar Paredes, Universidad Católica del Maule, Chile.

Simposio 2. Determinantes prenatales y consecuencias en la salud postnatal

Efecto de la testosterona sobre el cerebro en el modelo de síndrome de ovario poliquístico. Nicolás Crisosto, Universidad de Chile. Chile.

Fenotipo masculino del síndrome de ovario poliquístico: más allá de las alteraciones metabólicas. Bárbara Echiburú, Universidad de Chile. Chile.

Obesidad gestacional y desarrollo prenatal de hígado graso no alcohólico. Manuel Maliqueo, Universidad de Chile, Chile.

Simposio 3: Metabolismo en espermatozoides y en espermatogénesis

Human Sperm Metabolism: From the Clinic, to Biochemistry, to Outreach. Joao Ramalho-Santos, University of Coimbra, Portugal.

Modern lifestyle and sperm function: lesson from mice models. Ricardo Moreno, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

Simposio 4. Nuevos avances en cáncer de ovario

Relación entre factores de crecimiento y microRNAs en la progresión del cáncer de ovario. Carmen Romero, Universidad de Chile, Chile.

Terapia basada en microRNAs y nuevos usos de fármacos existentes como tratamiento de cáncer ovárico epitelial. Maritza Garrido, Universidad de Chile, Chile.

Quimioresistencia a cisplatino en cáncer de ovario: Desbalance entre la secreción de exosomas y la función lisosomal. Manuel Varas, Universidad San Sebastián, Chile.

TETRATIOMOLIBDATO DE AMONIO: UN QUELANTE DE COBRE COMO TRATAMIENTO INNOVADOR PARA LA ENDOMETRIOSIS *(Ammonium tetrathiomolybdate: a copper chelator as an innovative treatment for endometriosis)*

Conforti Rocío Ayelem[1], Casais Marilina[1] y Delsouc María Belén[1]

[1]Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis (UNSL). Instituto Multidisciplinario de Investigaciones Biológicas de San Luis (IMIBIO-SL-CONICET), D5700HHW, San Luis, Argentina.

La endometriosis (EDT) es una enfermedad ginecológica crónica dependiente de estrógenos, que afecta aproximadamente a 176 millones de mujeres en el mundo. Aún no tiene cura y los tratamientos actuales suelen provocar efectos secundarios indeseados. Niveles elevados de cobre (Cu) se han informado en pacientes con EDT. Además, diferentes estudios muestran el rol crucial de TNF-α y sus receptores (TNFR) en esta patología. Anteriormente, en ratones TNFR1$^{-/-}$ demostramos que la EDT se agrava, acompañada de un incremento en los niveles de estradiol y Cu. En diversos estudios sobre cáncer, el tetratiomolibdato de amonio (TM, quelante de Cu) ha mostrado efectos anti-proliferativos y anti-angiogénicos. Aunque la EDT no es un cáncer, presenta características similares como crecimiento progresivo y tendencia a la metástasis. Por consiguiente, evaluamos si la administración de TM afecta la progresión de la EDT inducida en ratones hembra C57BL/6 *wild-type* y TNFR1$^{-/-}$. Pudimos observar que este fármaco disminuyó los niveles de Cu y estradiol, afectando significativamente el peso y volumen de las lesiones en ambos grupos. Además, la administración de TM provocó efectos anti-angiogénicos y anti-proliferativos, disminuyó la actividad anti-oxidante y aumentó la peroxidación lipídica en el tejido ectópico. En conclusión, este quelante de Cu inhibe la progresión de la EDT, incluso en ratones TNFR1$^{-/-}$ donde la patología se encuentra exacerbada. Estas observaciones apoyan el estudio del TM como un posible tratamiento innovador para esta patología y sugieren que podría ser reposicionado en un futuro no solo para enfermedades proliferativas como el cáncer, sino también para la EDT.

Financiación: PROICO 02-0720 (Universidad Nacional de San Luis), Programa de Investigación Institucional, Resolución N° 238/21 (Universidad Nacional de San Luis), PIP 2021-2023/00969 (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) y PICT-2020-SERIEA-03793 (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, ANPCyT), Argentina.

35 AÑOS DE LA SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO (35 years of the Chilean Society of Reproduction and development)

Enrique Castellón

Departamento de Oncología Básico-Clínica. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

La Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo (SCHRD) fue fundada el 30 de abril de 1987. Se constituyó como una corporación sin fines de lucro destinada a promocionar, facilitar, desarrollar y favorecer la realización de estudios acerca de la reproducción y el desarrollo y la colaboración nacional e internacional. De acuerdo a sus estatutos, se excluye expresamente todo tipo de discriminación entre sus asociado/as.

Sin embargo, la SCHRD tiene su "precuela" a fines de los años 70, cuando al amparo de la Sociedad de Biología de Chile, un grupo de investigadore/as forma la Sección "Biología de la Reproducción y del Desarrollo", cuya Primera Reunión Regional se lleva a cabo entre el 14 y 16 de agosto de 1980 en la ciudad de Antofagasta. Desde allí en forma bienal y luego anual, se celebran varias reuniones en distintas regiones del país con el lema "nunca en Santiago", con el objeto de facilitar la asistencia de lo/as investigadore/as de regiones.

Después de 7 años de creciente actividad se acuerda constituirse en una Sociedad propiamente tal, y liderada por el Dr. Eduardo Bustos-Obregón, su primer presidente, se funda nuestra SCHRD. Han pasado 35 años, muchos congresos, reuniones, y avances muy significativos en las distintas áreas de nuestras disciplinas. A muchos de sus socios y socias nos ha correspondido la responsabilidad y el honor de presidirla. Hoy en este 35° Aniversario de nuestra SCHRD, vemos con orgullo y satisfacción a nuestros jóvenes estudiantes, socios y socias exponer con renovado entusiasmo sus investigaciones y progresos.

THE ESSENTIAL ROLE OF CELL SURFACE PROTEINS IN FERTILIZATION AND EMBRYO TRANSPORT

Enrica Bianchi.

University of York. United Kingdom

Fertilization is undoubtedly the most famous among all cellular interactions occurring in the female reproductive tract. Proteins displayed on the surface of gametes are necessary to have a successful sperm-egg interaction that can generate a viable zygote. Recent advances in this field have uncovered different sperm proteins that are required for sperm-egg binding and fusion in mammals. The first to be identified was Izumo1 (10.1038/nature03362) followed by Spaca6 and more recently Tmem95, Fimp, Sof1 and Dcst1/2 (10.1371/journal.pbio.3000953). Adopting a biochemical assay specifically developed to detect low-affinity interactions we were able to uncover the egg binding partner of Izumo, named Juno (10.1038/nature13203). To date, Juno and Izumo remain the only pair of binding proteins known to be essential for fertilization in mammals.

Cell membrane proteins are also involved in the communication of gametes and embryos with the female reproductive tract. We have recently shown that the oviductal embryo transport requires a membrane protein, the adhesion G-protein coupled receptor Adgrd1, to progress effectively. This receptor is expressed on the oviductal epithelial cells and binds to Plxdc2 on the cumulus cells. The absence of Adgrd1 impairs the reduction of the oviductal fluid flow that would allow the embryo passage through the ampullary-isthmic junction, therefore preventing the embryos to leave the ampulla and to reach the uterus (10.1038/s41467-021-21512-w).

Cell surface protein interactions are challenging to investigate due to their intrinsic biochemical characteristics and have sometimes eluded our attention, but their relevance is clearly emerging.

Novel vasodilator mechanisms controlled by epigenetic mechanisms and the protective role of antioxidants in the developmental origins of health and disease

B.J. Krause

Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad de O'Higgins, Rancagua, Chile.

Impaired fetal growth, as occur in the fetal growth restriction (FGR), programs a higher risk for later cardiovascular diseases, an effect that would be mediated by accelerated aging at molecular, structural, and functional levels. FGR remains a leading cause of perinatal morbidity and mortality, affecting ~10% of pregnancies, but ranging from 5 to 25% depending on the population surveyed, with a higher prevalence among pregnant women of low socioeconomic status. In the clinic, FGR is normally defined by a fetal weight below the 10th percentile, however, new evidence shows that impaired intrauterine growth may affect several neonates born over the 10th percentile, especially late in pregnancy, which may be missed from the perinatal survey for preventing adverse outcomes.

Several studies in the placenta show that FGR vascular dysfunction is also found at birth in chorionic and umbilical arteries. It is worth noting that fetal reduced oxygen supply (fetal hypoxia), oxidative stress, and altered blood flow patterns (e.g. shear stress) are key clinical markers in the FGR, independently of the constraints leading to impaired growth, and both factors exert a tight control of vascular development and function across life. However, how these key stimuli interact and impose an epigenetic program on the endothelial function remains elusive.

This presentation will address our studies concerning the presence of functional and molecular markers (e.g. vasodilator mediators and epigenetic changes) of endothelial dysfunction in human FGR umbilical and chorionic vessels, findings that have been further in systemic and umbilical arteries of guinea pigs and chicken FGR models. Furthermore, the induction of alternative vasodilator pathways in response to glutathione precursors prenatal treatments will be discussed. Altogether, our results suggest that umbilical artery endothelial cells (HUAEC), in complement with approaches in animal models, can be used as a surrogate to explore the vascular programming within the fetus, providing the basis for potential clinical preventive applications for promoting healthy vascular function during gestation with consequences in the adulthood.

Acknowledgment to Fondecyt 1220421, Proyecto Multidisciplinario MDM2021004.

ESTRÉS POST-NATAL TEMPRANO. CONSECUENCIAS METABÓLICAS TARDÍAS. ROL DEL SISTEMA ENDOCANABINOIDE.

(Early postnatal stress. Long term metabolic consequences. A role for the Endocannabinoid System).

Miguel Llanos S.

Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, Unidad de Nutrición Humana. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Universidad de Chile.

El estrés postnatal temprano tiene consecuencias nocivas tardías para la salud. Nuestro laboratorio ha estudiado los efectos de un suave estrés nociceptivo (NS) durante la lactancia sobre el peso corporal y parámetros metabólicos y hormonales durante la edad adulta, y si algunos componentes del Sistema Endocanabinoide (SEC), como reguladores de la homeostasis de energía, estuviesen involucrados. El SEC se compone por Receptores Canabinoides/endocanabinoides (RCB1/2), sus agonistas los endocanabinoides, y las enzimas de síntesis/degradación de estos.

Utilizamos un modelo de ratones macho sometidos a NS durante la lactancia con inyección subcutánea de suero fisiológico. Posteriormente evaluamos periódicamente el peso corporal y la ingesta de alimentos de los animales, y el efecto de SR141716A, un antagonista/agonista inverso de CB_1R. Luego del sacrificio se obtienen diversos tejidos para el posterior análisis por RT-PCR y Western blot.

El NS no afectó la ingesta de alimentos, pero provocó aumentos significativos del peso corporal, grasa epididimal y hepática y alteraciones metabólicas y hormonales. El tratamiento con SR141716A normalizó estos parámetros. El estrés nociceptivo aumentó la abundancia de RCB1, disminuyó la abundancia y actividad de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH; una de las enzimas que hidroliza endocanabinoides) en hígado y tejido adiposo en el ratón adulto. Además, ratones NS de 150 días de edad desarrollaron resistencia a insulina.

Se sugiere que la hiperactividad de RCB1 hepático y epididimal por estrés temprano puede estar involucrado en las alteraciones metabólicas y de la homeostasis de energía en el estado adulto, incluido el desarrollo de resistencia a insulina.

Rol del Factor masculino en Aborto Recurrente. (Role of the Male Factor in Recurrent Abortion)

Emerson Maldonado

Universidad Católica del Maule. Chile

El aborto recurrente se define como la pérdida de 2 o más embarazos. Afecta entre un 1-2 % de las mujeres en edad reproductiva. Las causas subyacentes son múltiples, desde anomalías anatómicas, genéticas, metabólicas, inmunológicas e idiopática.

Se estima que un 50% de las parejas que se someten a estudio por aborto recurrente no se detecta una causa que explique dicho diagnóstico, lo cual se ha demostrado tener un impacto psicológico negativo en la pareja. A pesar de lo anterior, se estima que un alto porcentaje de las parejas se embaraza nuevamente. Otro aspecto relevante en el contexto de aborto recurrente es rol que juega la teratozoospermia junto con la fragmentación del DNA espermático.

Reciente evidencia científica muestra que la fragmentación del DNA espermático se asocia a falla en la fecundación y /o detención del crecimiento embrionario, fallas de implantaciòn y abortos tanto en reproducción espontanea como en Tecnologías de reproducción asistida. El mecanismo fisiopatológico implicado es un daño de la cromatina por un aumento del stress oxidativo. La detección de fragmentación del DNA espermático se hace a través del Test de dispersión de la cromática también conocido como Halosperm. Se considera como bajo grado de fragmentación por debajo del 30%, por encima de estos valores es conveniente tratar. El daño del DNA espermático puede disminuir a través de estilos de vida saludable junto con la ingesta de antioxidantes. Se necsitan mas estudios que potencien el beneficio de estas intervenciones.

Impacto del COVID-19 sobre la fertilidad femenina: SARS-CoV-2 y vacunas
(Impact of COVID-19 on female fertility: SARS-CoV-2 and vaccines)

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

Previamente, hemos demostrado que hasta 9 meses post infección por SARS-CoV-2 se pueden observar alteraciones en la función ovárica. Hasta ahora, ningún estudio ha evaluado el efecto de la infección por SARS-CoV-2 en períodos más prolongados y el efecto de las vacunas sobre la gónada femenina. En el presente estudio, planteamos 2 objetivos: a) Evaluar la función ovárica en pacientes que han padecido COVID-19 (síntomas leves) hasta 18 meses post infección y b) Evaluar el efecto de las vacunas contra COVID-19 (virus inactivado y adenovirus) sobre el éxito reproductivo. Se reclutaron un total de 75-80 mujeres (21–43 años) bajo TRA entre noviembre 2020 y mayo 2022 provenientes de 4 clínicas de medicina reproductiva. Para el objetivo a), las pacientes se clasificaron en: grupo control (n = 30) (sin test positivo para COVID-19) y grupo post COVID-19 (n = 45) (al menos un test positivo por PCR). Para el objetivo b), las pacientes se clasificaron en: grupo no vacunado (n = 35) y grupo vacunado para COVID-19 (n = 45). Los resultados mostraron que en pacientes (sin vacunación) el número de ovocitos recuperados, maduros y con 2PN disminuye hasta 12 meses post infección por COVID-19 respecto al control independientemente de la edad ($p<0,01$). Cuando se consideraron pacientes con y sin vacuna en forma conjunta, el número de ovocitos recuperados y maduros disminuye inclusive hasta 18 meses post infección en aquellas pacientes mayores a 35 años. Se observaron niveles de IL-1β en FF reducidos en pacientes hasta 18 meses post infección respecto al grupo control ($p<0,001$) sin observarse cambios en los niveles de IL-10. Por otro lado, el número de ovocitos recuperados y maduros no cambió en pacientes vacunadas respecto a las no vacunadas independientemente del tipo de vacuna y de la infección. En conclusión, nuestros resultados demuestran que la función ovárica se encuentra alterada hasta 18 meses post infección. Además, las vacunas no alteran la fertilidad femenina

Cáncer ginecológico y fertilidad: Aspectos a considerar (Gynecological cancer and fertility: Aspects to consider)

César Paredes

Universidad Católica del Maule

El cáncer ginecológico afecta principalmente a mujeres cercanas a los 50 años. Sin embargo, hay un grupo de pacientes que pueden enfermar durante su vida reproductiva. Si consideramos que paralelamente, muchas mujeres han decidido postergar su búsqueda de embarazo por diversas razones, entonces el cáncer ginecológico en edad fértil se vuelve un problema real.

Se presentará alternativas de tratamiento oncológico que permitan conservar el potencial reproductivo para los cánceres más frecuentes y la evidencia que los apoya.

EFECTOS DEL HIPERANDROGENISMO SOBRE EL TEJIDO ADIPOSO Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN EL MODELO DE SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (The effects of hyperandrogenism on adipose tissue and the central nervious system in the model of Polycystic Ovary Syndrome)

Nicolás Crisosto [1,2,3]

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

(2)Unidad de Endocrinologia Hospital San Juan de Dios

(3)Unidad de Endocrinologia Clínica Las Condes

El Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) se caracteriza por la presencia de hiperandrogenismo, oligoanovulación cronica e imagen de ovario poliquístico. Además de los efectos conocidos de los andrógenos a nivel reproductivo, estas hormonas han demostrado recientemente influir sobre otros tejidos tales como el tejido adiposo y el cerebro.

Estudios in vitro han demostrado que la testosterona es capaz de inhibir la replicación de stem cells y preadipocitos del tejido adiposo subcutáneo, inhibiendo la hiperplasia y favoreciendo la hipertrofia de este tejido. El aumento del tamaño de los adipocitos subcutáneos se asocia a inflamación local y generación de insulinoresistencia. Por otra parte, estudios de nuestro grupo han demostrado un efecto proinflamatorio de la testosterona sobre el tejido adiposo visceral, lo que sumado a una lipolisis aumentada en este tejido favorece la aparición de hígado graso.

A nivel de Sistema Nervioso Central modelos animales y humanos sugieren que la exposición prenatal y peripuberal a testosterona podría determinar un desacoplamiento de 2 estructuras esenciales para la Cognición Social: la corteza prefrontal y la amígdala. Esto predispondría a las hijas de mujeres SOP al desarrollo de cuadros de angustia y depresión que podrían presentarse hasta en el 78 % de los casos.

Conocer los mecanismos involucrados en estos efectos androgénicos es fundamental para el diseño de estrategias terapéuticas adecuadas que permitan la prevención del desarrollo de insulinoresistencia y patología mental en estas pacientes.

Financiado por Proyecto FONDECYT Iniciacion 11130126 y FONDECYT Regular 1210261.

FENOTIPO MASCULINO DEL SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO: MÁS ALLÁ DE LAS ALTERACIONES METABÓLICAS (Male phenotype of polycystic ovary syndrome: beyond metabolic alterations)

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

Evidencia clínica y experimental sugiere que el ambiente intrauterino de las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) puede inducir alteraciones metabólicas y reproductivas en su descendencia. Particularmente, hemos observado que la descendencia masculina (SOP_{hijos}) presenta mayor peso corporal desde la niñez, agregándose dislipidemia desde la peripubertad y posteriormente resistencia a la insulina (RI). Los últimos años corroboramos estos hallazgos, pero lo más interesante es que identificamos que estas alteraciones no se atribuyen exclusivamente al peso, dado que en SOP_{hijos} adultos de peso normal se mantiene el aumento del colesterol total y LDL, así como manifestaciones clínicas de RI evaluadas por la presencia de acantosis nigricans. Dentro de los antecedentes mórbidos familiares, presentan mayor prevalencia de diabetes por la línea materna. Recientemente observamos que además, tienen mayor concentración sérica de ácidos grasos saturados y poliinsaturados; y de apolipoproteína B, principal componente del colesterol total, LDL y VLDL. Por otro lado, identificamos que esta población de SOP_{hijos} presenta mayor metilación del ADN en el promotor del receptor de andrógenos (RA) y una menor expresión del gen en leucocitos de sangre periférica. Aparentemente, los parámetros hormonales y seminales son comparables al de hombres nacidos de mujeres sin SOP, aunque no se puede descartar la presencia de alteraciones epigenéticas a nivel espermático, lo que podría comprometer la herencia intergeneracional de disfunciones metabólicas. Nuevos antecedentes parecen indicar que los SOP_{hijos} tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, lo que podría asociarse a una menor acción androgénica producto de una mayor metilación/menor expresión del RA.

Financiado proyecto Fondecyt 1201483

OBESIDAD GESTACIONAL Y DESARROLLO PRENATAL DE HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (Gestational obesity and prenatal development of non-alcoholic fatty liver disease)

Maliqueo M.

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

La obesidad materna, al igual que dietas ricas en grasas y carbohidratos, se han asociado con una mayor prevalencia de hígado graso no alcohólico en la descendencia. Durante el desarrollo intrauterino una parte importante de la sangre que va de la placenta al feto pasa por el hígado, suministrándole nutrientes y otros factores importantes para el crecimiento fetal. Por lo tanto, un desbalance nutricional materno podría afectar la función de este órgano. En este sentido, en un modelo animal en ratones C57BL/6 observamos que una dieta obesogénica previo y durante la gestación afecta el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3 en el hígado fetal, principalmente una disminución de ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA), el cual tiene efectos antiinflamatorios. Además, mediante análisis genómico observamos alteraciones en vías del desarrollo, incluyendo *Wnt,* así como de la expresión de múltiples factores de transcripción. A su vez, en sangre de cordón umbilical de recién nacidos de mujeres con obesidad gestacional observamos una tendencia a menores niveles de omega-3 en lipoproteínas VLDL, las cuales se sintetizan en el hígado fetal. Además, independiente del estado nutricional, la ingesta materna de ácidos grasos de la familia omega-6, los cuales en exceso tienen efectos inflamatorios, se relacionó con la actividad de la enzima gama-glutamil-transferesa (GGT) en la sangre de cordón umbilical. Por lo tanto, estos resultados indican que la obesidad gestacional y los patrones dietarios maternos afectan la composición de ácidos grasos intrahepáticos en el feto con posibles consecuencias para el desarrollo de este órgano.

Agradecimientos FONDECYT 1181798

METABOLISMO DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO: DE LA CLÍNICA, A LA BIOQUÍMICA, A LA DIVULGACIÓN

(Human Sperm Metabolism: From the Clinic, to Biochemistry, to Outreach)

João Ramalho-Santos
Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, Portugal
(jramalho@uc.pt)

Los espermatozoides son las únicas células humanas diseñadas para actuar fuera del cuerpo que las produce. Su estructura hidrodinámica minimalista implica una reducción del citoplasma y la ausencia de muchas estructuras y orgánulos comunes a una célula somática. Por lo tanto, el conjunto de herramientas de los espermatozoides parece reducido si se consideran las muchas funciones que debe realizar en términos de alcanzar y fertilizar un ovocito, así como participar en el desarrollo embrionario temprano. También es una célula particularmente difícil de estudiar, ya que el experimento funcional "perfecto" involucraría ovocitos humanos, lo que rara vez es posible, y se deben considerar alternativas. Nuestra investigación se centra en la actividad mitocondrial y metabólica de los espermatozoides, tanto para estudiar el papel de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y cómo pueden afectar la función de los espermatozoides, como determinando las vías relevantes para su motilidad utilizando enfoques proteómicos y ensayos funcionales, con relevancia para el estudio de la infertilidad masculina idiopática. Además, también estudiamos los efectos de los contaminantes ambientales en la función del esperma humano (es decir, el "exposoma"), utilizando los mismos enfoques. Otro aspecto digno de atención es que los resultados científicos deben ser difundidos, no solo en reuniones científicas, sino a la población en general con el fin de obtener apoyo para las actividades de investigación. Estas estrategias de divulgación se pueden planificar, diseñar, monitorear y dar lugar a publicaciones, como cualquier otro experimento de laboratorio. Este es un aspecto que también hemos trabajado en el grupo.

Spermatozoa are the only human cells designed to act outside the body that produces them. Their minimalistic hydrodynamic structure implies a reduction of cytoplasm and the absence of many structures and organelles common to a somatic cell. Therefore, the sperm toolkit seems reduced if one considers the many functions it must perform in terms of reaching and fertilizing an oocyte, as well as participating in early embryo development. It is also a particularly challenging cell to study, as the “perfect” functional experiment would involve human oocytes, which is rarely possible, and alternatives must be considered.

Our research has focused on sperm mitochondrial activity and metabolic activity, both in terms of studying the role of reactive oxygen species (ROS) and how they can affect sperm function, and determining the pathways relevant for sperm motility using proteomic approaches and functional assays, with relevance to the study of idiopathic male infertility. In addition, we also study the effects of environmental contaminants on human sperm function (i.e. the “exposome”), using the same approaches.

Another aspect worthy of attention is that scientific results need to be disseminated, not only in scientific meetings, but to the general population in order to garner support for research activities. These outreach strategies can be planned, designed, monitored and lead to publications, just like any other laboratory experiment. This is an aspect we have also developed in the group.

MODERN LIFESTYLE AND SPERM FUNCTION: LESSON FROM MICE MODELS

Moreno, R.D.

Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad católica de Chile

Una vez alcanzada la pubertad, la espermatogénesis es un proceso continuo, regulada por diversos factores endocrinos y paracrinos que permiten la formación de millones de espermatozoides diariamente. Sin embargo, ¿Podrá haber variables ambientales que afecten a la espermatogénesis en el ser humano? Esta pregunta se hace relevante en el contexto de nuestra vida moderna en el que estamos expuestos a una gran variedad factores ambientales en particular a diversos tipos de agentes químicos de uso común como cremas faciales, detergentes o envases de plásticos. Estos productos están manufacturados principalmente, pero no exclusivamente, de ftalatos y alquilfenoles, que son compuestos que tienen acciones estrogénicas y androgénicas, es decir pueden interferir con la regulación endocrina, por lo que son disruptores endocrinos. Por lo tanto podrían afectar a la espermatogénesis y esto redundar negativamente en la fisiología del espermatozoide. Estudios clínicos muestran una correlación entre los niveles de ftalatos y alquilfenoles en el líquido seminal e infertilidad. En esta presentación se discutirán las diversas consideraciones y variables a considerar en un modelo murino de exposición disruptores endocrinos. Los resultados en su conjunto sugieren que los disruptores endocrinos afectan negativamente no solo la fisiología del espermatozoide, sino que también a la espermatogénesis en forma directa e indirectas. Estos datos podrían tener gran impacto en poder elucidar posibles causas de infertilidad masculina idiopática y eventualmente elaborar terapias para estos pacientes.

RELACIÓN ENTRE FACTORES DE CRECIMIENTO Y MICRORNAS EN LA PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE OVARIO (Relationship between Growth Factors and microRNAs in Ovarian Cancer progression)

Carmen Romero Osses
Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva. Hospital Clínico Universidad de Chile. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (cromero@hcuch.cl)

El cáncer de ovario es considerado el cáncer ginecológico más letal tanto en Chile como en el mundo. El 80 al 90% de ellos, corresponden al cáncer ovárico epitelial (COE), con alta angiogénesis. Durante la progresión del COE se encuentran aumentados el Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) y el Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular (VEGF). NGF induce la expresión de VEGF en células epiteliales, a través de la activación de su receptor de alta afinidad TRKA; por lo tanto, es considerado como un factor angiogénico indirecto en COE; adicionalmente, el receptor TRKA se encuentra expresado en células endoteliales y NGF, al ser liberado desde las células epiteliales, actúa en forma paracrina en las células endoteliales como un factor angiogénico directo. Además, durante la progresión del COE, se han encontrado aumentadas varias proteínas consideradas oncogénicas, como c-Myc, COX-2, ADAM17, por la acción de NGF/TRKA. Interesantemente, estas proteínas son reguladas por ciertos microRNAs (miRs), entre ellos el miR-145, el cual se encuentra disminuido durante la progresión del COE. Por lo tanto, al sobre-expresar este miR *in-vitro* por transfección transiente, se encontró disminución de la proliferación, migración e invasión en células de COE, así como de las proteínas oncogénicas. A su vez, al sobre-expresar el miR-145 *in-vivo* por transfección estable, se encontró disminución en la formación de tumores y metástasis en ratones inmunodeprimidos. Resultados similares hemos obtenido *in-vitro* al utilizar nanopartículas de oro (GNP) con miR-145. Estos antecedentes enfatizan la importancia de microRNAs como terapias adyuvantes en COE.

Proyectos Fondecyt Regular: 103061 - 1071036 – 1110372 – 1160139-1220479

TERAPIA BASADA EN MICRORNAS Y NUEVOS USOS DE FÁRMACOS EXISTENTES COMO TRATAMIENTO DE CÁNCER OVÁRICO EPITELIAL (microRNA-based therapy and new uses of existing drugs in epithelial ovarian cancer treatment)

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

El cáncer ovárico epitelial es una de las neoplasias ginecológicas con mayor mortalidad en Chile y el mundo. Es una patología de sintomatología inespecífica y diagnóstico tardío, lo que impacta negativamente en la sobrevida de las pacientes. Un alto porcentaje de las mujeres con cáncer ovárico epitelial desarrolla resistencia a las terapias existentes, por lo que es fundamental contar con nuevas alternativas terapéuticas para esta enfermedad.

Entre las posibles nuevas terapias que podrían ser de utilidad para este cáncer, destacan las terapias biológicas basadas en microRNAs oncosupresores, que son moléculas antitumorales producidas naturalmente en las células, así como también el uso de fármacos que se utilizan clásicamente con otros propósitos (repropósito de fármacos), tales como normoglicemiantes (metformina), antiinflamatorios no esteroidales y fármacos para disminuir el colesterol (estatinas) entre otros. Esto basado en estudios observacionales que han mostrado que el consumo de estos medicamentos reduce el riesgo y/o mortalidad por cáncer ovárico, evidencia que ha sido fortalecida por estudios in-vitro e in-vivo. Se pretende que estos fármacos sean una alternativa más rápida de implementar en el tratamiento del cáncer ovárico, comparado con agentes nuevos en el mercado, así como además, tendrían mayor costo-efectividad. También se ha planteado el uso combinado de quimioterapéuticos, fármacos de repropósito y/o microRNAs utilizando diferentes herramientas para dirigir el tratamiento específicamente a las células tumorales de cáncer ovárico, lo que ha mostrado resultados prometedores en diferentes modelos de este cáncer.

PERFIL DE TRANSCRIPCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS HAPLOIDES EN LA ETAPA DE MÓRULA: PLURIPOTENCIA DESEQUILIBRADA Y DEFICIENTE DIFERENCIACIÓN CELULAR

(Transcript profiling of haploid bovine embryos at the morula stage: unbalanced pluripotency and deficient cell differentiation)

[1,2]Luis Aguila, [1,3]Ricardo Perecin, [1]Jacinthe Therrien, [1]Rafael V. Sampaio, [3]Flavio Meirelles, [2]Ricardo Felmer, [1]Lawrence C. Smith.

[1]Centre de Recherche en Reproduction et Fértilité (CRRF), Université de Montréal, St-Hyacinthe, QC J2S 2M2, Canada. [2]Laboratory of Reproduction, Centre of Reproductive Biotechnology (CEBIOR-BIOREN), Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [3]Department of Veterinary Medicine, Faculty of Animal Sciences and Food Engineering, University of Sao Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brazil.

Las células madre embrionarias haploides (ESC) han sido obtenidas desde embriones androgénicos haploides (AH) en ratones y humanos. Sin embargo, los AH bovinos no alcanzan la etapa de blastocito, lo que impide su uso para derivar ESC. Para mejorar nuestra comprensión de los factores involucrados en su desarrollo, comparamos el perfil transcriptómico en etapa de mórula. Además, realizamos cultivos en condiciones de activación de la via WNT (usando Chir99021) e inmunotinción para pluripotencia. Se produjeron embriones biparentales (BI), partenogenéticos haploides (PH) y AH mediante ICSI, activación partenogenética y enucleación post-ICSI, respectivamente. El transcriptoma de 5 réplicas biológicas generó $373{,}9 \times 10^6$ lecturas con una tasa de mapeo fue del 85%, detectando un total de 21941 transcritos. Usamos DESEQ2 (padj <0.1 y log2foldchang> 0.5) para el análisis de genes expresados diferencialmente (DEG). La correlación de Pearson mostró un valor R de 0,903. El análisis de componentes principales, los gráficos de volcán y heatmaps revelaron un perfil diferencial para AH. El análisis de Pathview destacó los niveles diferenciales de la señalización WNT canónica (GSK3B, TCF/LEF, gamma-catenina y PPAR gamma) en AH. Además, el diagrama de Venn indicó que GSK3B es un gen hub para AH. Finalmente, la activación de WNT mejoró parámetros fenotípicos. Sin embargo, la expresión de SOX2 y CDX2 no se vio afectada. En conjunto, nuestros datos indican que el bajo potencial de desarrollo de embriones bovinos AH se asocia con pluripotencia y diferenciación celular desbalanceada. Además, se confirmó que la androgénesis en bovinos se diferencia preferentemente hacia el linaje trofoectodérmico.

Financiamiento: Proyecto NSERC-Canada with Boviteq inc. (CRDPJ 536636-18 and CRDPJ 487107-45 to LS) y beca de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID) POSTDOCTORADO EXTRANJERO BECAS CHILE/2017 – 74180059 (LA), and Programa de Formación de Investigadores Postdoctorales, Universidad de La Frontera (PDT21-0001).

EFECTO DE LA EXPOSICIÓN MATERNA A MATERIAL PARTICULADO $MP_{2.5}$ DURANTE LA GESTACIÓN SOBRE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA EN SUS DESCENDIENTES MACHOS ADULTOS

(Effect of maternal exposure to particulate matter pm2.5 during pregnancy on the reproductive function in their adult male descendants)

Claudio Arenas[1,2], Jennie Risopatrón[3], Osvaldo Merino[3], Paulo Salinas[1],

[1] Laboratorio de Morfología Animal & Experimental, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. [2] Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. [3] Depto. Ciencias Básicas y Centro de Excelencia de Biotecnología en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

RESUMEN

La contaminación del aire es actualmente una prioridad de investigación debido a sus efectos adversos sobre la salud, incluida la reproductiva. Hipotetizamos respecto al probable efecto a largo plazo de la exposición de madres gestantes sobre la capacidad reproductiva de sus descendientes machos. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la exposición materna a $MP_{2.5}$ durante la gestación sobre el testículo y la función espermática en descendientes machos adultos. Futuras madres ratas fueron expuestas a $MP_{2.5}$ durante los períodos pregestacional y gestacional a aire filtrado (n=12; AF/AF) o no-filtrado (n=12; AnF/AnF) en cámaras de exposición. En la descendencia, machos (3 meses de edad; n=5) fue evaluada la función espermática, testosterona y parénquima testicular. Fueron observadas diferencias en el potencial de membrana mitocondrial (p=0.0025), testosterona (p=0.0007), espacio intersticial (p=0.0131), células intersticiales endocrinas (p=0.0476), espermatogonias (p=0.0388) y espermatocitos (p=0.0018). Los resultados sugieren que la exposición de madres a $MP_{2.5}$ durante los períodos pregestacional y gestacional representa un factor adverso (o dañino?) en la capacidad reproductiva en sus descendientes machos adultos.

Financiamiento Fondecyt N°11200775, Fondecyt postdoctorado N°3210593

LA DINAMICA DE CALCIO INTRACELULAR MODULA LA ACTIVACIÓN Y MUERTE EN OVOCITOS DE RATÓN CON EXCESO DE COLESTEROL: IMPLICANCIA DE LOS CANALES TRPV3 Y CAV3.2

(Intracellular calcium dynamics modulate activation and death in mouse oocytes with excess cholesterol: implication of TRPV3 and Cav3.2 channels)

Andreina Arias[1,2], Hiroki Akizawa[3], Fujiko Saavedra[1], Eugenia Morselli[4], Dolores Busso[1,5], Rafael Fissore[3]

[1]Laboratorio de Nutrición, Metabolismo y Reproducción, Centro de Investigación e Innovación Biomédica, Programa de Biología Reproductiva, Universidad de Los Andes, Santiago, Chile. [2]Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. [3]Departmento de Veterinaria y Ciencias Animales, University of Massachusetts Amherst, Amherst, MA, USA. [4]Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias, Universidad de San Sebastián, Santiago, Chile. [5]IMPACT, Centro de Medicina Intervencionista de Precisión y Terapia Celular Avanzada, Santiago, Chile.

Ovocitos de ratonas SR-B1KO presentan exceso de colesterol libre, alta tasa de activación y menor viabilidad. Cargar ovocitos WT con colesterol-MβCD induce el aumento de calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) y su activación. Los canales CaV3.2 y TRPV3, presentes en membrana plasmática (MP) del ovocito, regulan la entrada de Ca^{2+} durante su maduración y activación. Previamente, observamos que los ovocitos SR-B1KO presentan menos colesterol en su MP; cambios en su composición pueden activar canales. Aquí evaluamos la dinámica de $[Ca^{2+}]_i$ en ovocitos cargados con colesterol-MβCD y la participación de TRPV3 y $Ca_v3.2$ en dicho evento. Se monitoreó el $[Ca^{2+}]_i$ en ovocitos utilizando FURA-2AM mediante microscopía fluorescente y se agregó colesterol-MβCD (0,125µM, col+) durante el monitoreo. Se monitoreó en medio sin/calcio (s/ca^{2+}) para evaluar la fuente del aumento. La implicancia de los canales se evaluó utilizando ovocitos CaV3.2/TRPV3-KO (dKO). Resultados expresados como mediana (1^{er}-3^{er} cuartil), análisis estadístico: prueba-χ^2. Todos los ovocitos col+ [100%(85-100), n=44] mostraron aumento de $[Ca^{2+}]_i$: el 60%(25-68) mostró una única elevación, el 25%(11-40) oscilaciones y muy pocos [0%(0-50%)] aumentaron el $[Ca^{2+}]_i$ irreversiblemente. 100%(67-100) y 100%(83-100) de los ovocitos con un aumento y oscilaciones se activaron; mientras que el 100%(67-100) con aumento irreversible murieron. 70%(30-100) de los ovocitos elevaron $[Ca^{2+}]_i$ en medio s/ca^{2+} ($p<0.0001$ vs col+). Finalmente, pocos ovocitos dKO [3%(0-30)] mostraron un breve aumento de $[Ca^{2+}]_i$, [vs 90%(70-100)WT, $p<0.0001$]. El aumento de $[Ca^{2+}]_i$ inducido por colesterol depende de las reservas de Ca^{2+}-intracelulares como del ingreso de Ca^{2+}-extracelular, y los canales Cav3.2 y TRPV3 desempeñan un papel clave en este último.

Financiamiento: ANID-FONDECYT 1221376 y ANID-Basal Impact #FB210024 (DB), beca doctoral y beca de pasantía doctoral ANID 21211964 (AA), Laboratorio del Dr. Rafael Fissore.

EFECTO DE LA ACTIVACIÓN DE PROTEÍNAS GTPASAS RHO SOBRE LA FUNCIÓN Y ESTRUCTURA DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS

(Effect of Rho GTPase protein activation on function and structure of human spermatozoa)

Rivera B[1], Aroca C[1], González B[1], Uribe P[2], Boguen R[1,3].

[1] Laboratorio de Investigación en Salud de Precisión, Departamento de Procesos Diagnósticos y Evaluación, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Temuco.[2] Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.[3] Departamento de Procesos Diagnósticos y Evaluación, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Temuco.

Las infecciones urogenitales pueden alterar la función espermática causando infertilidad. Las GTPasas Rho (Rho) participan en varias funciones celulares y pueden ser activadas por toxinas bacterianas. Hasta la fecha la activación de forma exógena de Rho en espermatozoides humanos se desconoce, por lo tanto, el objetivo del trabajo es determinar el efecto de la activación de GTPasas Rho sobre la estructura y función de espermatozoides humanos. Espermatozoides seleccionados en un medio capacitante y otro no capacitante (NC) fueron expuestos a 0,25 y 1 µg/ml de un activador de Rho y se incubaron por 2 horas a 37 °C. Para ambos medios se incluyó un control basal sin activador de Rho. Al finalizar la incubación se estudió la motilidad, potencial de membrana mitocondrial (PMM), viabilidad, capacitación, reacción de acrosoma, internación de calcio y morfología de los espermatozoides. La motilidad progresiva espermática disminuyó en ambos medios con el activador de Rho, mientras que la viabilidad y el PMM no fueron alterados. Se observó un incremento de espermatozoides con reacción de acrosoma en ambos medios y concentraciones de Rho. La internación de calcio solo fue incrementada en los espermatozoides expuestos a activador Rho en el medio NC. Además, aumentaron las formas morfológicas anormales, predominando la presencia de vacuolas en las cabezas espermáticas. Por lo tanto, la activación exógena de GTPasas Rho provoca alteraciones en la función y morfología de los espermatozoides, lo cual podría explicar las formas como las infecciones alteran a los espermatozoides y provocarían infertilidad.

Financiamiento: Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad Católica de Temuco (código VIPUCT-2018PF-RB-05) y por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT de iniciación N°11201011).

EFECTO DE INDUCTORES DE CAPACITACIÓN EN EL MEDIO BASE SP-TALP DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS CONGELADOS.

(Effect of capacitation inductors in a base Sp-TALP medium of bovine cryopreserved semen).

Castro M[1,2], Águila L[2], Arias ME[2,3], Felmer R[2,4,*]

[1]Programa de Magíster en Ciencias mención Biología de la Reproducción, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
[2]Laboratorio de Reproducción, Centro de Excelencia en Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
[3]Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
[4]Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [*]ricardo.felmer@ufrontera.cl

La capacitación espermática es el proceso final de maduración de los espermatozoides mamíferos mediante el cual estos adquieren la habilidad para fecundar un óvulo. In vitro, estas condiciones pueden ser imitadas incubando a los espermatozoides en un medio base conteniendo BSA y bicarbonato. El objetivo de este estudio es identificar un tratamiento que permita generar un alto nivel de capacitación espermática en un período corto de incubación de 2 horas. Para esto, se evaluó diferentes inductores de capacitación que actúan a distintos niveles de la vía AMPc/PKA incluyendo Heparina, Metil-beta-ciclodextrina (MβCD), Dibutiril AMP cíclico (dbAMPc) o la combinación de estos, en un medio base conteniendo BSA y bicarbonato (Sp-TALP). Los parámetros evaluados incluyeron la integridad de la membrana plasmática (SYBR14/PI), integridad acrosomal (PNA-FITC/PI), nivel de Ca^{2+} intracelular (FLUO 3AM/PI) y fluidez de la membrana (MC540/SYTOX) mediante citometría de flujo. Se observó una disminución de la viabilidad espermática y un aumento en el daño de la membrana acrosomal, fluidez de membrana y niveles de Ca^{2+} en los tratamientos evaluados respecto al control no capacitante ($p<0,05$). Un mayor nivel en los parámetros de capacitación se observó en el tratamiento con Heparina. Los resultados de los tratamientos capacitantes son concordantes con los cambios fisiológicos y estructurales asociados a capacitación espermática, confirmando la factibilidad de incubar estos espermatozoides en un período corto de incubación. En futuros estudios se seleccionarán espermatozoides bovinos capacitados en estas condiciones mediante citometría de flujo y cell sorting (FACS) para generar embriones mediante ICSI a partir de espermatozoides efectivamente capacitados.

Financiamiento: FONDECYT 1201166

GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ORGANOIDES TESTICULARES BOVINOS DERIVADOS DE CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS SOMÁTICAS

(Generation and characterization of bovine testicular organoids derived from primary somatic cell cultures)

Cortez, J.[1,2]; Leiva, B.[2], Torres, C.G.[3]; Parraguez, V.H.[4], De los Reyes, M[2].; Carrasco, A.[5]; Peralta, O.A.[1]

[1]Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, (operalta@uchile.cl) [2]Departamento de Fomento de la Producción Animal, [3]Departamento de Ciencias Clínicas, [4]Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile; [5]Laboratorio de Fisiología Animal y Endocrinología, Departamento de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción.

Los organoides testiculares (OT) son cultivos tridimensionales que permiten recrear condiciones similares a las presentes en el testículo para entender sus mecanismos fisiológicos y fisiopatológicos. En el presente estudio se propuso desarrollar OT bovinos bajo la inducción de BMP4, FGF2 y GDNF. Las células de Leydig, Sertoli y peritubulares fueron aisladas desde testículos bovinos y cultivadas en placas Ultra Low Attachment durante 28 días. Los OT fueron recolectados los días 3, 7, 14 y 28 de cultivo y analizados por microscopia de contraste de fase y confocal. Se detectaron poblaciones celulares inmunopositivas a STAR (Leydig), WT1 (Sertoli) y COL1A o αSMA (peritubulares). Los OT presentaron una forma esférica y un diámetro entre 555.15 - 1272.88 µm ± 38.26. El porcentaje de células positivas para STAR aumentó ($P<0.05$) los días 3 (76 % ± 22,9) y 7 (58 % ± 21,8) de cultivo. Las células inmunoreactivas a WT1 aumentaron ($P<0,05$) desde el día 3 (39% ± 9.4) hasta el día 28 (59% ± 1.8) de cultivo. La expresión de COL1A, se mantuvo ($P<0.05$) en los días 3 (44% ± 9.9) y 7 (38% ± 9.8) y disminuyó en los días 14 (35% ± 5.9) y 28 (19% ± 1.6). Las concentraciones de testosterona producidos por los OT fueron mayores ($P<0.05$) en los días 8 (0.26 ± 0.061) y 27 (0.31 ± 0.09) en comparación con los días 11, 14, 18, 21. En conclusión, las células testiculares aisladas de tejido bovino pueden formar TO con capacidad esteroidogénica bajo condiciones *in vitro*.

Financiamiento: Fondecyt 1191114

EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE INYECCIÓN PIEZOELÉCTRICO PARA MEJORAR LA EFICIENCIA DE LA ICSI EN BOVINOS

(Evaluation of piezoelectric injection system to improve ICSI efficiency in cattle)

Fuentes F[1,2], Muñoz E[1,2] , Águila L[2], Arias ME[2,3], Felmer R2[2,4,*]

[1]Programa de Doctorado en Ciencias, mención Biología Celular y Molecular Aplicada. [2]Laboratorio de Reproducción, Centro de Excelencia en Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [3]Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ([*]ricardo.felmer@ufrontera.cl) [4]Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La eficiencia de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides convencional (ICSI-C) en bovinos es baja. En este estudio se evaluó el efecto del daño a las membranas de los espermatozoides al utilizar un sistema de inyección piezoeléctrica (ICSI-P), con el fin de evaluar la eficiencia de ambos métodos de inyección en el desarrollo preimplantacional de embriones bovinos generados por ICSI. En la primera parte de este estudio se trataron espermatozoides con dos pulsos piezoeléctricos de diferente intensidad y velocidad (I2V2 y I4V7) y se evaluó la integridad de membrana plasmática y acrosomal mediante microscopía de fluorescencia. En una segunda etapa, se evaluó la tasa de desarrollo preimplantacional de embriones bovinos generados por ICSI-P con las condiciones piezoeléctricas identificadas en el experimento anterior e ICSI-C y partenogénesis. La integridad de la membrana plasmática y acrosomal se analizó mediante tinción con PI/Hoechst y PNA-FITC/Hoechst en un microscopio de fluorescencia. Los resultados se analizaron mediante Chi-cuadrado y la prueba exacta de Fisher ($p<0,05$). El tratamiento espermático piezoeléctrico con el pulso I4V7 generó más daño en la membrana plasmática y acrosomal ($p<0,05$) que el tratamiento de menor intensidad I2V2 y el control ($p<0,05$). Al evaluar la ICSI-C e ICSI-P no se observaron diferencias en el desarrollo embrionario a la etapa de blastocisto ($p>0,05$). En conclusión, se determinó un tratamiento óptimo de pulsos piezoeléctricos para la generación de embriones bovinos mediante ICSI, no obstante, ambos sistemas de inyección generan un porcentaje similar (~20%) de blastocistos.

Financiamiento: FONDECYT 1201166, Beca de Doctorado Nacional ANID N°21191408, Frigorífico Temuco S.A., Temuco, Chile.

EFECTO DE UN PROTOCOLO BASADO EN ETANOL SOBRE LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES PARTENOGENICOS HAPLOIDES Y DIPLOIDES.

(Effect of an ethanol-based protocol on the production of haploid and diploid parthenogenic embryos.)

Gallardo V[1], Aguila L[1], Arias ME[1,2], Felmer R[1,3*]

[1]Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco. [2]Departamento de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medio Ambiente, Universidad de La Frontera, Temuco Chile. (*ricardo.felmer@ufrontera.cl) [3]Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Medio Ambiente, Universidad de La Frontera, Temuco Chile.

Uno de los factores de la baja eficiencia de la ICSI en bovinos es la inadecuada activación de ovocitos. Se han estudiado diferentes protocolos de activación empleando ionóforo de Ca^{2+}, ionomicina (IO) o etanol (ET) seguido de un segundo compuesto químico, generalmente dimetil aminopurina (DMAP), cicloheximida (CHX) o anisomicina (ANI). Interesantemente, hasta la fecha se han reportado 40 crías vivas a partir de ovocitos activados con ET, en contraste a los protocolos que emplean DMAP con una única cría viva o CHX y ANI en los que no se ha descrito nacimiento de crías. El objetivo de este estudio fue evaluar la tasa de desarrollo de embriones haploides activados con ET 5 min en distintas concentraciones (rango 1-10%) después de una ventana de 4h de incubación y la tasa de embriones diploides activados con IO 4 min+DMAP 4h (T1); ET 7% 5 min+DMAP 4h (T2); IO 4 min+ANI+Citocalasina B (CB) 5h (T3); ET 7%+ANI+CB 5h (T4). Los resultados muestran que ET no genera blastocistos haploides ET 1%(0%), 3%(0%), 7%(0%), 10%(0%) comparado con el control DMAP (30%). En el caso de la activación diploide, T2 presenta una mayor tasa de blastocistos al día 7, con un 58,2%, seguido de T4 con un 30,3%, mientras que T1 y T3 presentaron una baja tasa de blastocistos (8,9% y 3,7%, respectivamente). En conclusión, ET por sí solo no es capaz de activar a los ovocitos bovinos, sin embargo, combinado con la incubación con DMAP o ANI generan altas tasas de blastocistos diploides.

Financiamiento: FONDECYT 1201166, ANID, Chile.

MODALIDAD: PÓSTER

INTERACCIÓN FUNCIONAL DE LOS CANALES DE MEMBRANA TRPV3 Y $Ca_V3.2$ EN OVOCITOS DE RATÓN

(Functional interaction between membrane channels TRPV3 and Cav3.2 in mouse eggs).

Henríquez, C.[1,2], Vergara, S.[1], González, M.[3], Vergara-Jaque, A.[3,4], Fissore, RA[5], Carvacho, I.[1]

[1]Laboratorio Fisiología de la Reproducción, Facultad de Medicina, 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]Center for Bioinformatics, Simulation and Modeling (CBSM), Faculty of Engineering, Universidad de Talca, Talca, Chile. [4]Millennium Nucleus of Ion Channel-Associated Diseases (MiNICAD), Universidad de Talca, Talca, Chile. [5]Department of Veterinary and Animal Science, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts, USA.

La fecundación comienza con la liberación de la Fosfolipasa Cζ espermática en el ovocito, lo que genera, a través de la vía de señalización mediada por IP3, un aumento en el nivel de Ca^{2+} citoplasmático, de patrón oscilatorio en mamíferos, el cual se mantiene por horas luego de que la fecundación ha ocurrido. El aumento de Ca^{2+} intracelular determina procesos como la exocitosis de gránulos corticales y el subsecuente bloqueo de la poliespermia. El mantenimiento de las oscilaciones de Calcio (Ca^{2+}) en el tiempo depende de influjos de Ca^{2+} en el ovocito. En la membrana de esta célula se ha reportado la expresión de canales Cav3.2 de la familia de canales de Ca^{2+} voltaje dependiente tipo T, y de canales TRPV3 pertenecientes a la familia de Transient Receptor Potential (TRP), subfamilia Vanilloide. Nuestros resultados preliminares sugieren una función concertada de estas proteínas para promover influjos de Ca^{2+} tanto locales como globales, sustentando los procesos que determinan el comienzo del desarrollo embrionario. Utilizando electrofisiología e inmunofluorescencia demostramos la función y localización de ambas proteínas en la membrana plasmática de ovocitos MII de ratón. Asimismo, a través de herramientas bioinformáticas, electrofisiológicas y de imágenes de Ca^{2+}, sugerimos interacción física y/o funcional entre ambos canales. Futuros experimentos nos permitirán testear áreas o residuos específicos de interacción física entre las proteínas y el papel funcional de esta interacción durante la activación de ovocitos en mamíferos.

Financiamiento: FONDECYT 1221308.

EFECTO DE LOS METABOLITOS DEL ESTRADIOL SOBRE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE PROGESTERONA EN CÉLULAS DE LA GRANULOSA HUMANA. (Estrogen metabolites effect on progesterone receptor expression in human granulosa cells).

Henríquez S[1, 2], Muñoz A [1], Godoy A[1], Devoto L[1] y Villarroel C[1].

[1]Instituto de Investigaciones Materno Infantil de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.[2]Instituto de Investigación Interdisciplinar en Ciencias Biomédicas (I3CBSEK) Universidad SEK.

La ruptura folicular es clave para la ovulación y depende de la expresión del receptor de progesterona (RP) en las células de la granulosa humana (CG) de folículos pre-ovulatorios. Este proceso está mediado por las gonadotrofinas ováricas, a través de diversas vías de señalización. Se ha estudiado que los metabolitos de estradiol (ME), 2-hidroxiestradiol (2-OHE2) y 2-metoxiestradiol (2-ME2), tienen acciones fisiológicas relevantes durante el ciclo ovárico y están en altas concentraciones en folículos pre-ovulatorios, lo que sugiere que podrían participar durante la ovulación. El objetivo de este estudio es determinar si la expresión del RP es regulada por los ME, 2-ME2 y 2-OHE2, en CG humanas. Se obtuvieron CG de mujeres sanas que participan del programa de IVF, por infertilidad por factor masculino. Las células fueron mantenidas en cultivo y luego incubadas con hCG (10 UI/mL) y los metabolitos 2-OHE2 (0,5 μM) y 2-ME2 (0,5 μM) durante 12 horas, para luego evaluar mediante inmunofluorescencia la expresión del RP. Los resultados muestran que hCG aumenta la expresión de RP en las CG en comparación a la condición basal ($P<0.05$). Las CG estimuladas con hCG y 2-OHE2 mostraron un aumento de la expresión del RP comparada con la condición basal y el estímulo solo con hCG ($P<0.05$), mientras que 2-ME2 redujo la expresión del RP aumentada por hCG en CG ($P<0.05$). Finalmente, nuestros resultados muestran que 2-OHE2 y 2-ME2 regulan la expresión del RP dependiente de hCG, sugiriendo su participación en el proceso ovulatorio.

EFECTOS DE LOS CAMBIOS TEMPERATURA DE ACTIVACIÓN SOBRE LA FUNCIÓN ESPERMÁTICA Y CINEMÁTICA DE LA MOTILIDAD EN ESPERMATOZOIDES DE SALMON DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*) RECOLECTADOS CON DIFERENTES MÉTODOS

(Evaluation of activation temperature on sperm function and kinematics of motility in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) sperm collected with different methods)

Osvaldo Merino[1,2], Jennie Risopatrón[1,2], Iván Valdebenito[3], Elías Figueroa[3], Jorge G. Farías[1,4]

[1]Centro de Excelencia de Biotecnología en Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [2]Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [3]Núcleo de Investigación en Producción de Alimentos, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. [4]Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

La temperatura del agua es un factor importante en la reproducción de peces. Se espera que estos estén expuestos de forma aguda y/o crónica a temperaturas fuera de los rangos térmicos específicos, debido al calentamiento climático antropogénico. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto *in vitro* de la temperatura del medio de activación espermática en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) sobre la función espermática y su motilidad. Las muestras de semen obtenidas por masaje abdominal (T1), y disección testicular (T2) se evaluaron a 4 días de almacenamiento 4°C. Se evaluó integridad de la membrana plasmática (IMP), potencial de membrana mitocondrial (PMM), producción de anión superóxido (O^{2-}) e integridad del ADN. Los parámetros cinemáticos de motilidad (MOT, VCL, VSL, VAP) se evaluaron a 8 y 16°C. El IMP se mantuvo > 70% durante el almacenamiento en ambos grupos. El PMM fue mayor en el grupo T2 ($P<0,05$) en los días 3 y 4. Además, la producción de O^{2-} citoplasmático en T2 fue mayor en los días 2 y 3 ($P<0,05$). Sin embargo, la producción de O^{2-} mitocondrial fue mayor en T1 ($P<0,05$), no hubo diferencias en la integridad ADN. Los parámetros cinemáticos fueron afectados por la temperatura de activación en ambos grupos, 20s post-activación ($P<0,05$). Los resultados indican la importancia de considerar el método de recolección de los espermatozoides para su almacenamiento, la temperatura del medio de activación al caracterizar la motilidad de los espermatozoides y determinar las condiciones óptimas de temperatura para la fecundación *in vitro* en *Salmo salar*.

Financiamiento: Fondecyt postdoctorado N° 3210593. Agradecimiento: Hendrix Genetics Chile.

MÍMICA VASCULOGÉNICA DESENTRAÑADO: PAPEL DE INTEGRINAS, CORTACTINA Y SMIM11A EN LA FORMACIÓN IN VITRO DE ESTRUCTURAS TUBULARES

(Vasculogenic mimicry unraveled: Role of integrins, cortactin and SMIM11A in the *in vitro* formation of tubular structures)

Mingo G[1,5], Babbitt N[1], Santander N[1], González P[1], Bertocchi C[1] Nualart F[4] & Owen GI[1,2,3,5] (gamingo@uc.cl)

[1]Facultad de Ciencias Biológicas & [2]Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. [3]Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia. [4]Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción [5]Centro Avanzado de Enfermedades Crónicas(ACCDiS).

Introducción y objetivos: Mímica vasculogénica (VM) describe un proceso por el cual células de cáncer establecen una vía de perfusión alternativa en una manera libre de células endoteliales. Aunque existe una fuerte correlación con una menor sobrevida de pacientes, el mecanismo por el cual un tumor puede crear este sistema de irrigación todavía es desconocido. El proceso de VM ocurre solamente en Matrigel, sin embargo, las vías de señalización involucradas en este proceso se desconocen. Materiales y métodos: Usando un modelo *in vitro* establecido de VM, de células de cáncer ovárico (HEY) y de mama (MDA-MB-231) sobre Matrigel, se utilizó silenciamiento genético para elucidar las vías de señalización involucradas en el proceso de VM. Secuenciación de RNA fue utilizada para elucidar si existían cambios en los niveles de mRNA durante la formación de estructuras tubulares. Resultados: Silenciamiento de integrina β1, de Cortactina, TKS5 y SMIM11A mediante siRNA y bloqueo de anticuerpo previene este proceso. Análisis de RNASeq sugiere que este proceso tiene poca dependencia de actividad transcripcional *de novo*. Discusión y conclusión: Hemos demostrado que la integrina β1 y SMIM11A son esenciales para VM. El silenciamiento de Cortactina y TKS5 afecta la formación de VM. El RNASeq muestra que no existen muchos cambios en los niveles de mRNA durante la formación de VM, sugiriendo que VM es regulado a nivel traduccional o post-traduccional. Como VM está fuertemente asociado con peor sobrevida en pacientes, entender la formación de esta vía alternativa de irrigación podría entregar nuevos tratamientos.

Financiamiento: FONDECYT 1180241, FONDECYT 1220586, ICN09_016/ICN2021_045, CONICYT FONDAP-1513001, Beca ANID Doctorado Nacional 21210238

Modalidad: Presentación oral.

DERIVACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS PUROS MEDIANTE MICROMANIPULACIÓN

(Derivation of pure primary cultures by micromanipulation)

Muñoz E.[1,2], Pérez F.[1,2], Fuentes F.[1,2], Águila L.[2], Felmer R.[2,3], Arias M.E.[2,4,*]

[1]Programa de Doctorado en Ciencias, mención Biología Celular y Molecular Aplicada.[2]Laboratorio de Reproducción, Centro de Excelencia en Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ([*]mariaelena.arias@ufrontera.cl) [3]Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [4]Departamento de Producción Animal, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

El establecimiento de cultivos celulares primarios representa una valiosa estrategia para generar modelos in vitro con el objetivo de estudiar la biología de los distintos tipos celulares. En el área de la reproducción animal, las células que conforman los diferentes órganos del sistema reproductor femenino mantienen una intrincada comunicación con los gametos y el presunto futuro embrión. Sin embargo, para lograr estudiar de forma adecuada los componentes implicados en dicho proceso, resulta esencial obtener cultivos primarios puros en el laboratorio. La micromanipulación de células resulta un interesante enfoque para poder aislar clones celulares específicos a partir de un cultivo mixto. La finalidad de este trabajo consistió en derivar cultivos primarios puros de células presentes en el sistema reproductor de vacas, mediante micromanipulación. Se aislaron células bovinas endometriales epiteliales (BEEC) y estromales (BECS), y células bovinas oviductales epiteliales (BOEC), mediante micromanipulación. Luego, las células se caracterizaron fenotípicamente mediante inmunofluorescencia por microscopía confocal, detectando proteínas específicas de cada tipo celular. Por otro lado, utilizando un microscopio TissueFaxs I Plus Cytometer, se analizó la pureza de los 3 tipos celulares aislados por micromanipulación. Los datos obtenidos indican que el fenotipo de las BEEC, BECS Y BOEC concuerda con el reportado en la literatura. Además, se observó una pureza del 100% para los 3 cultivos primarios. Por lo tanto, se demostró que el aislamiento de células mediante micromanipulación es una metodología altamente eficiente, que permite aislar tipos celulares con un 100% de pureza, sin afectar la viabilidad del cultivo.

Financiamiento: Proyecto DI21-0040. Universidad de La Frontera, Beca de Doctorado Nacional ANID N°21191434, Núcleo Científico Tecnológico en Biorecursos (BIOREN-UFRO), Proyecto FONDEQUIP EQM200228 y Frigorífico Temuco S.A., Temuco, Chile.

PRODUCCIÓN Y AISLAMIENTO DE VESÍCULAS EXTRACELULARES PEQUEÑAS PROVENIENTES DE CULTIVOS CELULARES PRIMARIOS DE TEJIDO ENDOMETRIAL BOVINO

(Production and isolation of small extracellular vesicles from primary cell cultures of bovine endometrial tissue)

Erwin Muñoz[1], Felipe Pérez[1], Fernanda Fuentes[1], Luis Aguila[1], Ricardo Felmer[1,2], María Elena Arias[1,3]

[1]Laboratorio de Reproducción, Centro de Biotecnología de La Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile (*mariaelena.arias@ufrontera.cl) [2]Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [3]Departamento de Producción Animal, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Las vesículas extracelulares pequeñas (VEPs) son un grupo de nanoestructuras lipídicas liberadas por las células de forma controlada. Las VEPs cumplen un rol fundamental en la comunicación celular mediante el transporte de biomoléculas hacia células blanco para modular diversas vías de señalización. Se ha demostrado la implicancia de las VEPs en los procesos de gametogénesis, fecundación y desarrollo embrionario, lo cual sugiere su utilización en técnicas de reproducción *in vitro* para el mejoramiento de la calidad de los embriones producidos. Este trabajo aborda la posibilidad del uso de VEPs obtenidas de cultivos *in vitro* de células endometriales estromales y epiteliales, conocidas como endometriosomas, como suplemento durante el cultivo *in vitro* de embriones bovinos. Las células endometriales fueron cultivadas en medio condicionado para la liberación de endometriosomas, los cuales fueron aislados utilizando el kit "Total Exosome Isolation" (Invitrogen). La caracterización de los endometriosomas se realizó mediante microscopía electrónica de transmisión, dispersión de luz dinámica y western blot. Finalmente, se realizaron ensayos de interiorización hacia el interior de los blastocistos utilizando tinción de membrana fluorescente y microscopía confocal. La morfología, tamaño de partículas (< 200 nm) y la presencia de las proteínas especificas (CD9, CD63 y TSG101), confirmaron la obtención de endometriosomas. El ensayo de interiorización reveló la presencia de endometriosomas al interior de los blastocistos tras 24 horas de exposición. En conclusión, es posible la obtención de endometriosomas a partir de cultivos celulares primarios conservando su estructura y actividad biológica, permitiendo su implementación en medio de cultivo de embriones. Es necesario realizar análisis adicionales para evaluar los efectos del uso de los endometriosomas obtenidos sobre el embrión.

Financiamiento: Proyecto DI21-0040 Universidad de la Frontera, Beca de Doctorado Nacional ANID N°21191434, Núcleo Científico Tecnológico en Biorecursos (BIOREN-UFRO) y Frigorífico Temuco S.A., Temuco, Chile.

ESTUDIO DE LA LIBERACIÓN DE TRAMPAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS INDUCIDA POR DIFERENTES POBLACIONES ESPERMÁTICAS EN UN MODELO BOVINO *IN VITRO*-RESULTADOS PRELIMINARES.

(Study for the release of neutrophil extracellular traps induced by different sperm populations in a *in vitro* bovine model – preliminary results.)

Rodrigo Rivera-Concha[1,2], Claudia Moya[1], Marión León[1] , Pamela Uribe[1,3], Raúl Sánchez[1,4] y Fabiola Zambrano[1,4]

[1]Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMT-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.[2]Programa de Doctorado en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.[3]Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.[4]Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

La infertilidad es un problema que afecta al 15% de las parejas a nivel mundial. Entre las causas se encuentran patologías infecciosas/inflamatorias. Las células inmunes que se encuentran en mayor cantidad en sangre son neutrófilos (PMN). Éstos eliminan patógenos mediante 3 procesos: fagocitosis, desgranulación de componentes al espacio extracelular, y generación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs). Ha sido descrito que la presencia de espermatozoides humanos, bovinos y porcinos induce la generación de NETs y éstas generan una disminución de la movilidad progresiva. Por tanto, el objetivo es describir la liberación de NETs en presencia de distintas subpoblaciones espermáticas. Para esto, espermatozoides bovinos criopreservados fueron seleccionados por gradiente de densidad y partir de éstas se generaron las distintas subpoblaciones espermáticas: seleccionados, muertos, capacitados y espermatozoides con estrés oxidativo. Los PMN fueron aislados de sangre completa mediante gradiente de densidad. Se co-incubaron PMN con espermatozoides por 4 h y luego se realizó inmunofluorescencia de neutrófilo elastasa y tinción con SYTOX Orange®. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el microscopio TissueFAXS con StrataQuest y el programa estadístico GraphPad© Prism 9. Se observó que los PMN liberan NETs en presencia de espermatozoides, y se distinguen las distintas morfologías de NETs: *diff*NETs, *agg*NETs y *spr*NETs. Existen tendencias a la generación de células NETóticas por parte de espermatozoides viables y sometidos a estrés oxidativo. En conclusión, observamos que espermatozoides viables tienden a generar una mayor proporción de células NETóticas y *diff*NETs.

Financiamiento: FONDECYT DE INICIACIÓN Nº 11200955 que financia los experimentos de este estudio, a la beca ANID de doctorado nacional y al proyecto ANID FONDEQUIP EQM200228 por permitir el uso del microscopio TissueFAXS i Plus.

LA DEFICIENCIA DE VITAMINA E EN CEREBROS FETALES DE RATONES SR-B1-/- SE ASOCIA CON MAYOR LIPOPEROXIDACIÓN Y MENOR PROLIFERACIÓN EN CÉLULAS MADRE DEL NEUROEPITELIO

(Vitamin E deficiency in fetal brains from SR-B1-/- mice associates with higher lipoperoxidation and reduced proliferation in neuroepithelial stem cells)

Saavedra, F.[1,2], Santander, N.[3], Mendez, M.[1,4], Batiz, F.[4] and Busso, D[2].

[1]Program in Biomedicine, Faculty of Medicine, Universidad de los Andes, Santiago, Chile. [2]Program in Biology of Reproduction, Biomedical Research and Innovation Center (CIIB), Universidad de los Andes, Santiago, Chile. [3]Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad de O´Higgins.[4]Program in Neuroscience, Biomedical Research and Innovation Center (CIIB), Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

El déficit de vitamina E (VitE), micronutriente lipofílico con función antioxidante, puede afectar el neurodesarrollo fetal. La VitE es transportada desde las lipoproteínas maternas hasta el embrión a través de receptores ubicados en tejidos extraembrionarios como el receptor de HDL Scavenger Receptor class B type 1 (SR-B1) expresado en placenta. Nuestra hipótesis es que los fetos SR-B1$^{-/-}$ presentan alteraciones en la neurogénesis, asociadas a un déficit de vitamina E en cerebro. La neurogénesis involucra la proliferación, diferenciación y migración de células madre neurales (NSC) desde las zonas ventricular (VZ) y subventricular (SVZ) a la corteza del cerebro, proceso que se puede estudiar con marcadores específicos, como Ki67 (marcador de proliferación), Sox2 (NSC), Tbr2 (progenitores intermedios) y DCX (neuronas inmaduras). Nuestro objetivo fue estudiar la expresión de SR-B1, el contenido de VitE, lipoperoxidación y neurogénesis en cerebros de fetos SR-B1$^{-/-}$ y WT. Los fetos de cruzas de heterocigotas se obtuvieron en los días gestacionales (E) 16 y 18. Se cuantificó VitE en placenta, hígado, cerebro y suero fetal por HPLC. La presencia de SR-B1 fue evaluada por Western Blot. Los marcadores de neurogénesis se estudiaron con anticuerpos específicos por inmunofluorescencia. Se evaluó lipoperoxidación por TBARS. Se detectó SR-B1 en cerebro, placenta e hígado fetal en E16,5. Los cerebros de fetos SR-B1$^{-/-}$ mostraron deficiencia de VitE (305 vs. 1074 pg/µg de proteína en cerebros WT, p=0,021, n=8) e hígados (27,2 vs. 121,1 pg/µg de proteína en WT, p=0,06, n=7), sin diferencias entre KO y WT en placenta y suero fetal. Los cerebros fetales SR-B1$^{-/-}$ mostraron mayor lipoperoxidacion (25,7 vs 18,3 nmol MDA/mg de proteína en WT, p=0.04, n=7) y menor tasa de proliferación (0,05 vs 0,13 KI67^{+}/células totales, p=0,004, n=3). En conclusión, la deficiencia de VitE en cerebro fetal podría resultar un daño oxidativo en lípidos, con repercusión en la proliferación de los progenitores neurales. Estudios futuros permitirán evaluar el impacto de estas alteraciones en el neurodesarrollo y la función cognitiva de estos ratones.

Financiamiento: FONDECYT #1180347 and #1221376 (DB) y beca ANID de doctorado #21201204 (FS).

LA EXPOSICIÓN A MATERIAL PARTICULADO 2.5 EMITIDO POR EL HUMO DE LA COMBUSTIÓN URBANA DE LEÑA AFECTA LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS Y FETALES EN RATAS HEMBRAS

(Exposure to particulate matter 2.5 emitted by smoke from urban wood burning affects reproductive and fetal outcomes in rats)

Paulo Salinas[1] & Nikol Ponce[2,3]

[1] Laboratorio de Morfología Animal & Experimental, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile [2] Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de La Frontera, Chile.[3] Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Universidad de La Frontera, Chile.

La polución del aire es un factor de riesgo para la salud que puede resultar en efectos negativos gestacionales y reproductivos. Investigamos los efectos de dos momentos diferentes de exposición (antes de la fecundación y durante la gestación) a material particulado 2.5 ($MP_{2.5}$) emitido por el humo de la combustión de leña sobre los resultados reproductivos y de gestación en ratas. Utilizamos cámaras de exposición que recibieron aire filtrado (AF; n=24) y no filtrado (AnF; N=24). Los folículos en crecimiento y antrales disminuyeron un 32% (p=0.0125) y 27.5% (p=0.0020) en ratas AnF, respectivamente. Nuestros resultados gestacionales indican una reducción en el índice de implantación (p=0.0149), en el tamaño de la camada (p=0.0125) y en la longitud del periodo gestacional (p=0.0111) en hembras AnF. El peso fetal fue mayor en las ratas expuestas a AF en comparación con los otros grupos (p=0.005), con un peso 12% mayor en el grupo AF/AF (5.09 g ± 0.5) respecto a AnF/AnF (4.11 g ±0.5). Además, la longitud corona-rabadilla fetal se evidenció influida por la exposición durante los períodos pregestacional y gestacional, y se encontró una interacción significativa entre estos dos factores (p=0.001). Este estudio demostró que la exposición a $MP_{2.5}$ emitido por humo de la combustión de leña afecta negativamente diferentes funciones y etapas del proceso reproductivo. Nuestros resultados refuerzan que la exposición a la polución del aire está relacionada con resultados negativos de la gestación, incluso si la exposición ocurre exclusivamente antes de la fecundación.

Financiamiento: Fondecyt N°11200775 y Beca CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2019-21190655

EXPLORANDO EL ROL DEL COLESTEROL EN LA ANGIOGÉNESIS CEREBRAL EN EL DESARROLLO

(Exploring the role of cholesterol on developmental brain angiogenesis)

Nicolas Santander[1], Fujiko Saavedra[2], Dolores Busso[2]

[1]Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad de O`Higgins, Rancagua. [2]Centro de Innovación e Investigación Biomédica, Universidad de los Andes.

La vasculatura cerebral está compuesta de una intrincada red de vasos que nutre y protege al cerebro. El desarrollo de esta red depende de múltiples vías de señalización, aunque los mecanismos que lo controlan no han sido completamente dilucidados. En otros lechos vasculares se ha demostrado que el colesterol puede tener un rol regulatorio sobre el crecimiento vascular. Aquí, exploramos el posible rol del colesterol sobre el desarrollo vascular cerebral, usando un modelo *in vitro* de células endoteliales cerebrales y un modelo *in vivo* deficiente en SR-B1, un receptor que incorpora colesterol hacia las células. En el cultivo celular, la reducción del colesterol con metil-β-ciclodextrina se asocia a un aumento en la migración celular en un ensayo de herida. Este fenotipo es acompañado por cambios transcriptómicos masivos, caracterizados por un incremento en la expresión de genes pro-angiogénicos y una disminución de genes anti-angiogénicos, determinados por RNA-Seq. En embriones de ratón *in vivo*, la deficiencia de SR-B1 se asocia con defectos morfológicos de los vasos sanguíneos en el cerebro. Usando RNA-Seq en la vasculatura cerebral embrionaria aislada, se observaron cambios en la expresión de genes relacionados con el metabolismo de colesterol y con el proceso de angiogénesis. Estos estudios sugieren que el colesterol tiene un rol importante en la regulación de la angiogénesis cerebral durante el desarrollo.

Financiamiento: American Heart Association y Universidad de O`Higgins (NS), FONDECYT 1180341 (DB)

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL POTENCIAL DE DIFERENCIACIÓN GERMINAL DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) Y CÉLULAS TRONCALES ESPERMATOGONIALES BOVINAS (SSC) EN SISTEMAS DE COCULTIVO CON CÉLULAS DE SERTOLI

(Comparative analysis of the potential for germ cell differentiation of bovine mesenchymal stem cells (MSC) and spermatogonial stem cells (ssc) in coculture systems with Sertoli cells)

Segunda, M.N.[1,2] ;Torres, C.G[3]; Parraguez, V.H.[4]; Leiva, B.[5]; Peralta, O.A.[5]

[1]Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, Universidad de Chile; [2]Faculdade de Medicina Veterinaria, UJES, Angola; [3]Departamento de Ciencias Clínicas; [4]Departamento de Ciencias Biológicas; [5]Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

Las células troncales mesenquimáticas (MSC) pueden ser candidatas para la derivación de gametos *in vitro*, debido a su capacidad multipotencial y de diferenciación mesodérmica. Las células troncales espermatogoniales (SSC) representan el estándar de diferenciación hacia la línea germinal y la espermatogénesis. La diferenciación de las células germinales ocurre en un nicho testicular regulado de forma endocrina y paracrina por las células de Sertoli (SC). En el presente estudio, se compararon los potenciales de diferenciación germinal *in vitro* de MSC y SSC bovinas en co-cultivos 3D con SC. Las MSC, SSC y SC fueron aisladas y caracterizadas mediante expresión de genes específicos (*CD73, CD105, UCHL1, WT1* y *RA*). Ambos tipos celulares fueron co-cultivados en forma separada con SC en agar blando 3D (SACS) y analizados por QPCR cada 7 días por un total de 21 días. Los niveles de mRNA de *PIWIL2, FRAGIL, STELLA y STRA8* aumentaron (P<0,05) el día 14 en SSC+SC (0,54, 0,59, 0,57 y 0,5 veces). En comparación, solo los niveles de mRNA DAZL y PIWIL2 aumentaron (P<0,05) en co-cultivos de MSC+SC (0,81 y 0,77) en el día 14. Los niveles de mRNA de *NANOG, OCT4 y SOX2* fueron activados en co-cultivos SSC+SC luego de 14 días (0,5, 0,5 y 0,5). Sin embargo, en co-cultivos de MSC+SC los niveles de mRNA *OCT4* fueron activados en el día 7 (0,61). En conclusión, SSC y MSC presentan distintos perfiles de expresión génica que alcanzan su máximo nivel a los 14 días en sistemas de co-cultivo con SC en SACS 3D.

Financiamiento: Fondecyt 1191114; Beca Doctorado ANID 21210138; FMV/UJES/Angola

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE ENZIMAS QUE PARTICIPAN EN LA SÍNTESIS DE LEUCOTRIENO B_4 Y EL RECEPTOR BLT_1 EN DIFERENTES ETAPAS DEL CÁNCER DE PULMÓN

(Differential expression of enzymes involved in leukotriene B_4 synthesis and the BLT_1 receptor in different stages of lung cancer)

María José Torres[1#*], Alexandra Valle[1#], Sebastián Indo[2], Enrique A. Castellón[2], Héctor R. Contreras[2], Mario Faúndez[1].

[1]Laboratorio de Farmacología y Toxicología Molecular, Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Química y de Farmacia, Pontificia Univerdidad Católica de Chile, Santiago, Chile. [2]Laboratorio de Oncología Celular y Molecular, Departamento de Oncología Básico-Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. [#] Ambos autores contribuyeron igualmente.

Los leucotrienos son una familia de mediadores lipídicos asociados a procesos inflamatorios agudos y crónicos. El leucotrieno B_4 (LTB_4), corresponde a unos de los productos de la cascada de la vía 5-lipoxigenasa, y es un poderoso agente quimioatrayente, cuya síntesis es catalizada por la leucotrieno A_4 hidrolasa. Estudios previos han demostrado que LTB_4 está asociado con la inducción de un microambiente tumoral a través de la interacción con BLT_1, promoviendo la sobrevida de las células malignas de cáncer de pulmón. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la expresión de enzimas que participan en la síntesis de LTB_4 y BLT_1 en células de cáncer de pulmón. La expresión proteica de enzimas de la vía de 5-lipooxigenasa ($cPLA_2$, 5LOX, FLAP, LTA_4H) y BLT_1 fue evaluado en líneas celulares A549 (células epiteliales basales alveolares adenocarcinómicas humanas) y H1975 (células no pequeñas de cáncer de pulmón) a través de *western blot*. Paralelamente, se cuantificó los niveles de mRNA de $cPLA_2$, 5LOX, FLAP, LTA_4H y BLT_1 por RT-qPCR en todas las líneas celulares.
Nuestros resultados indican que las células A549 expresan elevados niveles proteicos de $cPLA_2$, 5LOX, FLAP, LTA_4H y BLT_1. Adicionalmente, los niveles de mRNA de enzimas de la vía de 5-lipooxigenasa son mayores en células de menor agresividad y origen escamoso (células A549) en comparación con las células H1975 de mayor agresividad.
Estos hallazgos muestran que células de cáncer de pulmón expresan enzimas de la vía de 5-lipooxigenasa, sugiriendo que la producción de LTB_4 puede participar en la en diferentes etapas del cáncer de pulmón.

Financiamiento:Fondecyt Postdoctorado 3210213 (MJT), Fondecyt Regular 1201704 (EC y HC).

LA EXPOSICIÓN A MATERIAL PARTICULADO ($PM_{2.5}$) EMITIDO POR EL HUMO DE LA COMBUSTIÓN URBANA DE LEÑA PRODUCE CAMBIOS VASCULARES EN EL DISCO PLACENTARIO Y DISMINUYE EL PESO FETAL EN UN MODELO MURINO

(Exposure to fine particulate matter ($PM_{2.5}$) produced by smoke from wood combustion produces vascular changes in the placental disc and decreases fetal weight in a murine model)

Francisca Villarroel[1], Nikol Ponce[2,3,4], Fernando A. Gómez[5] y Cristián Muñoz[5] & Paulo Salinas[1]

[1] Laboratorio Morfología Animal & Experimental, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. [2] Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de La Frontera, Chile. [3] Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Universidad de La Frontera, Chile. [4] Becario CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2019-21190655[5] Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

Este estudio propone que variaciones en la morfología vascular placentaria contribuyen a la reducción del peso fetal (PF) asociado a exposición a $PM_{2.5}$ emitido por el humo de la combustión de leña (HCL). Investigamos los efectos de dos momentos diferentes de exposición (antes de la fecundación y durante la gestación) a $MP_{2.5}$ sobre el sistema vascular y expresión génica de factores angiogénicos Flt1, Kdr, Pgf y Vegfa en discos placentarios (DP) de ratas. Utilizamos cámaras de exposición que recibieron aire filtrado (AF;n=24) y no filtrado (AnF;n=24). Ratas hembras fueron expuestas a $PM_{2.5}$ durante la etapa pregestacional y/o gestacional. A los 22 días postfecundación fueron obtenidos DP mediante cesárea. Se realizó morfometría fetal. En DP fue calculado el vol_total, vol_compartimentos y estimadores estereológicos en la zona del laberinto con énfasis en los capilares. El PF (p=0.005) y la longitud corona-rabadilla (p=0.022) en fetos de ratas AF presentaron diferencias con fetos de madres AnF. Los volúmenes del DP, capilar fetal, espacio sanguíneo materno y trofoblasto disminuyeron un 40% (p<0.0001), 45% (p<0.0001), 50% (p<0.0001) y 32% (p<0.0001) en ratas AnF, respectivamente. El ambiente AF durante la gestación provocó un aumento en la expresión génica placentaria de Flt1 (p<0.0001), Kdr (p<0.0001) y PGF (p<0.0001) exclusivamente cuando las ratas estuvieron expuestas a AnF previamente. Este estudio demostró que la exposición a $PM_{2.5}$ influye en la salud fetal de ratas preñadas, afectando al DP y a sus capilares repercutiendo en el intercambio de oxígeno y PF, incluso si la exposición ocurre exclusivamente antes de la fecundación.

Financiamiento Fondecyt N°11200775