



**XXIV JORNADAS ANUALES
DE LA
SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOLOGÍA**
*“Desde la investigación básica a la salud
pública: un camino de ida y vuelta”*

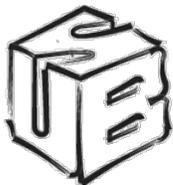
30 de noviembre al 2 de diciembre de 2022

Instituto de Biología y Medicina Experimental

Vuelta de Obligado 2490

CABA - ARGENTINA

Junto a la



Sociedad Uruguaya de Biociencias

Sociedad Argentina de Biología



COMISIÓN DIRECTIVA 2022

PRESIDENTA: Dra. DÉBORA COHEN

VICEPRESIDENTA: Dra. SILVINA PÉREZ MARTÍNEZ

SECRETARIA: Dra. MARÍA EUGENIA MATZKIN

TESORERA: Dra. EVELIN ELIA

VOC. TIT. 1º: Dra. CLARA MARÍN-BRIGGILER

VOC. TIT. 2º: Dr. LEANDRO MIRANDA

VOC. TIT. 3º: Dr. PABLO CETICA

VOC. SUPL. 1º: Dra. PAULA VISSIO

VOC. SUPL. 2º: Dra. GABRIELA JAITA

AGRADECIMIENTOS

CONICET



AGENCIA

NACIONAL DE PROMOCION
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA



CONICET



I B Y M E



SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CUYO

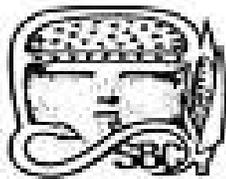


ASOCIACION DE BIOLOGIA
DE TUCUMAN

ASOCIACIÓN DE BIOLOGÍA DE TUCUMÁN



SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE ROSARIO



SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CÓRDOBA

CRONOGRAMA

Martes 29/11	Miércoles 30/11	Jueves 1/12	Viernes 2/12
	8:00-9:00 Acreditación	8:00-9:00 Acreditación	8:00-9:00 Acreditación
	9:00-11:00 Comunicaciones orales <i>DR1</i> <i>BFM</i>	9:00-11:00 Comunicaciones orales <i>DR2</i> <i>VBA</i> <i>BGM</i>	9:00-11:00 Comunicaciones orales <i>DR3</i> <i>FTE</i> <i>BM</i>
	11:00-11:30 Café	11:00-11:30 Café	11:00-11:30 Café
	11:30-11:45 Palabras de bienvenida	11:30-13:00	11:30-13:30
	11:45-12:45 Conferencia Inaugural	Simposio de Expertos	Simposio de Sociedades de Biología
		13:00-15:00 Receso ASAMBLEA	13:30 - 15:00 Receso
15:00-18:00 Jornada Pre-congreso (modalidad virtual)		15:00-17:00 Simposio SUB	15:00-17:00 Simposio de Investigadores Jóvenes
		17:00-19:00 Brindis de bienvenida	17:00-18:30 Conferencia Premio B. Houssay y Entrega de Premios

DR: Biología del Desarrollo y Reproducción; BFM: Bioquímica, Fisiología y Metabolismo; VBA: Veterinaria y Biología Animal; BGM: Biotecnología, Genética y Microbiología; FTE: Farmacología, Toxicología y Ecotoxicología; BM: Biología General, Celular y Molecular.

Detalle de actividades

Martes 29 de noviembre

15:00-18:00 JORNADA PRE-CONGRESO: “DIVULGACIÓN CIENTÍFICA: DEL LABORATORIO A LA SOCIEDAD”

Modalidad: Virtual

UNA (MULTI)DOSIS DE CIENCIA EN TIEMPOS DE POSVERDAD

[Dra. Soledad Gori](#)

Investigadora IQUIBICEN-CONICET, Docente de FCEN-UBA, Coordinadora del proyecto Ciencia Anti Fake News y columnista de ciencia en Feminacida y en Desde el Conocimiento (C5N).

CONTAR LA CIENCIA TAMBIÉN ES COSA DE CIENTÍFIC@S

[Dr. Diego Golombek](#)

Universidad de San Andrés, Universidad Nacional de Quilmes, CONICET.

LA LIGA DE LA CIENCIA: QUÉ APRENDIMOS EN ESTOS 6 AÑOS DE COMUNICAR CIENCIA EN LA TELE

[MSc. María Eugenia Lopez](#) y [Dr. Andrés Rieznik](#)

La Liga de la Ciencia, Televisión Pública.

COMUNICACIÓN DE LAS CIENCIAS EN POSPANDEMIA: ENTRE EL ERROR Y LA CELEBRACIÓN

[Dr. Pablo Esteban](#)

Periodista, docente, e investigador - Universidad Nacional de Quilmes.

PERIODISMO, COMUNICACIÓN, DIVULGACIÓN CIENTÍFICA: ¿DIFERENTES TONOS DE GRIS?

[Dra. Evguenia Alechine](#)

Comunicadora científica independiente.

Organiza: Dra. Evguenia Alechine (Argentina)

Miércoles 30 de noviembre

8:00-9:00 Acreditación

9:00-11:00 Comunicaciones orales (*Sesiones simultáneas*)

Sesión 1 (Aula Biblioteca): BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 1 (DR1)

Coordinadores: Dra. Fernanda Parborell y Dr. Juan Ignacio Fernandino.

Sesión 2 (Aula Comedor): BIOQUÍMICA, FISIOLOGÍA Y METABOLISMO (BFM)

Coordinadores: Dra. Gabriela Meresman y Dr. Pablo Rodríguez.

11:00-11:30 Café

11:30-11:45 Palabras de Bienvenida (Aula Biblioteca)

Dra. Débora Cohen, Presidenta de la SAB

11:45-12:45 Conferencia Inaugural (Aula Biblioteca)

CONTROL DEL “SPLICING” ALTERNATIVO DEL RNA MENSAJERO POR LA CROMATINA Y LA TRANSCRIPCIÓN Y LA CURA DE UNA ENFERMEDAD HEREDITARIA

Dr. Alberto Kornblihtt

Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-UBA-CONICET) y Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Coordinadora: Dra. Débora Cohen.

Jueves 1 de diciembre

8:00-9:00 Acreditación

9:00-11:00 Comunicaciones orales (*Sesiones simultáneas*)

Sesión 1 (Aula Biblioteca): BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 2 (DR2)

Coordinadoras: Dra. Dalhia Abramovich y Dra. Jorgelina Buschiazzo.

Sesión 2 (Aula Comedor): VETERINARIA Y BIOLOGÍA ANIMAL (VBA)

Coordinadoras: Dra. Marta Tesone y Dra. Cinthia Gutnisky.

Sesión 3 (Aula Tercer Piso): BIOTECNOLOGÍA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA (BGM)

Coordinadores: Dra. Eleonora Sorianello y Dr. Claudio Barbeito.

11:00-11:30 Café**11:30-13:00** Simposio de Expertos (Aula Biblioteca)**‘CAPACITATION IN-VITRO MATURATION OF OOCYTES (CAPA-IVM)’ FROM RESEARCH BENCH TO CLINICAL APPLICATION IN THE FERTILITY CLINIC.**

Dr. Johan Smitz

Free Brussels University (VUB), Bruselas, Bélgica.

DE LA INVESTIGACIÓN BÁSICA AL DESARROLLO DE UN PRODUCTO INNOVADOR CONTRA EL SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO.

Dra. Vanesa Zylberman

Inmunova S.A., San Martín, Buenos Aires, CONICET, Argentina.

EL DESAFÍO DE CONVERTIR EL DESCUBRIMIENTO CIENTÍFICO EN UNA STARTUP BIOTECNOLÓGICA Y HACERLA CRECER: NUESTRA EXPERIENCIA EN RADBIO.

Dr. Ricardo Dewey

Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH-CONICET), Universidad Nacional de San Martín, Centro de Medicina Traslacional (CEMET) Hospital de Alta Complejidad en Red El Cruce, Nestor Carlos Kirchner, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina.

Coordinadores: Dra. Clara Marín-Briggiler y Dr. Pablo Cetica.

13:00-15:00 Receso. **ASAMBLEA ORDINARIA SAB (Aula Biblioteca)****15:00-17:00** Simposio de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (Aula Biblioteca)**DE LA MESADA A LOS PRIMEROS ESTUDIOS EN HUMANOS: UN CAMINO DE DESAFÍOS Y NUEVOS APRENDIZAJES.**

Dra. Virginia López

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República; Laboratorio de Biología Vasculare y Desarrollo de Fármacos, Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay.

DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES RARAS A TRAVÉS DE TECNOLOGÍAS DE SECUENCIAS MASIVAS.

Dra. Lucía Spangenberg

Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur; Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

DEL LABORATORIO AL CONSULTORIO: ANÁLISIS DE MICROBIOTA DESDE URUGUAY.

Ing. María Pía Campot

CEO Enteria, Uruguay.

Coordinadoras: Dra. Gianella Facchin y Dra. Silvina Pérez Martínez.

17:00-19:00 Brindis de bienvenida (Salón Comedor)

Viernes 2 de diciembre

8:00-9:00 Acreditación

9:00-11:00 Comunicaciones orales (*Sesiones simultáneas*)

Sesión 1 (Aula Biblioteca): BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 3 (DR3)

Coordinadoras: Dra. María Laura Ribeiro y Dra. Mónica Frungieri.

Sesión 2 (Aula Comedor): FARMACOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y ECOTOXICOLOGÍA (FTE)

Coordinadores: Dra. Mónica Muñoz de Toro y Dr. Héctor Coirini.

Sesión 3 (Aula Tercer Piso): BIOLOGÍA GENERAL, CELULAR Y MOLECULAR (BM)

Coordinadoras: Dra. Susana Rulli y Dra. Carolina Cristina.

11:00-11:30 Café

11:30-13:30 Simposio de Sociedades de Biología (Aula Biblioteca)**APLICACIONES DE LA PCR DIGITAL EN LA SALUD PÚBLICA****Dra. Juliana Sesma**

Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER-CONICET); Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Provincial de Rosario; Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.

Representante de la Sociedad de Biología de Rosario**DE LA BIOFÍSICA DE LÍPIDOS A LA PRIMER PRUEBA EN HUMANOS: LIPOSOMAS Y LEISHMANIASIS CUTÁNEA****Dra. Dolores Carrer**

Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET-UNC), Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Representante de la Sociedad de Biología de Córdoba**OBESIDAD Y MICROBIOTA INTESTINAL: DE LA INVESTIGACIÓN A LA ACCIÓN****Dra. Isabel Quesada**

Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU-CONICET), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

Representante de la Sociedad de Biología de Cuyo**BEBÉ DE PROBETA E INFERTILIDAD: UNA HISTORIA AL SERVICIO DE LA SALUD REPRODUCTIVA****Dr. Eduardo Federico Bonilla**

Laboratorio de Fertilización in vitro, Instituto de Maternidad y Ginecología; Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Representante de la Asociación de Biología de Tucumán

Coordinadores: *Dra. Gabriela Jaita y Dr. Leandro Miranda.*

13:00-15:00 Receso**15:00-17:30 Simposio de Investigadores Jóvenes (Aula Biblioteca)****EL CROSSTALK ENTRE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y EL SISTEMA DE SALUD. RECEPTORES Y LIGANDOS DEL NOROESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES****Dra. Carolina Cristina**

Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas, CIBA-UNNOBA; Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, CITNOBA (UNNOBA-UNSA-CONICET), Junín, Buenos Aires, Argentina.

IMPACTO DE ANTIDEPRESIVOS SEROTONINÉRGICOS EN EL DESARROLLO DE CIRCUITOS PREFRONTALES EMOCIONALES

Dr. Mariano Soiza Reilly

Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-CONICET), CABA, Argentina.

ESTUDIO DEL VIROMA E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS VIRUS EN MURCIÉLAGOS DE ARGENTINA

Dra. Elisa Bolatti

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina.

Coordinadoras: Dra. Silvina Pérez Martínez y Dra. Paula Vissio.

17:00-18:00 Conferencia de Cierre (Aula Biblioteca).

A cargo del/la ganador/a del Premio B. Houssay 2022.

Coordinadora: Dra. Débora Cohen.

18:00 Entrega de Premio E. Charreau, menciones a Comunicaciones Orales y Cierre.

CONFERENCIAS

Conferencia Inaugural

CONTROL DEL "SPLICING" ALTERNATIVO DEL RNA MENSAJERO POR LA CROMATINA Y LA TRANSCRIPCIÓN Y LA CURA DE UNA ENFERMEDAD HEREDITARIA

Kornblihtt AR.

Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-UBA-CONICET) and Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pabellón IFIBYNE, C1428EHA Buenos Aires, Argentina.

E-mail: ark@fbmc.fcen.uba.ar

La evidencia sobre la co-transcripcionalidad del "splicing" del RNA mensajero y sobre el papel de la maquinaria de transcripción produjo un cambio radical en la visión de los mecanismos reguladores del "splicing", originalmente concebido como un evento puramente post-transcripcional. Hemos mostrado que el "splicing" alternativo (SA) está acoplado a la transcripción de la RNA polimerasa II (RNAPII) y propusimos dos modelos no exclusivos: el SA se ve afectado por el reclutamiento de factores de "splicing" al aparato de transcripción (acoplamiento de reclutamiento) o por la velocidad de elongación de RNAPII (acoplamiento cinético). La transcripción por una mutante lenta de RNAPII promueve una mayor inclusión de exones, al favorecer el reclutamiento de factores regulatorios positivos a los sitios de "splicing" en el pre-mRNA. La elongación lenta también puede promover la omisión de ciertos exones alternativos al favorecer el reclutamiento de factores negativos a sus respectivos sitios blanco en el pre-mRNA. Los cambios en la elongación pueden ser provocados por cambios en la fosforilación del dominio carboxilo terminal (CTD) de la RNAPII y/o por cambios en la estructura de la cromatina. Un ejemplo del primer mecanismo es la regulación del SA por daño en el ADN causado por la radiación UV. En cuanto al papel de las marcas de histonas y la estructura de la cromatina en el "splicing", se está escribiendo todo un capítulo fascinante sobre la biología del RNA. Se ha demostrado que las marcas de histonas específicas que afectan la estructura de la cromatina regulan el SA. Este conocimiento fue aprovechado recientemente en nuestro laboratorio para diseñar una terapia combinada para la atrofia muscular espinal basada en un oligonucleótido antisentido corrector de SA e inhibidores de histona-desacetilasas (1).

(1) Marasco, L. E. *, Dujardin, G. *, Sousa Luís, R., Hsiu Liu, Y., Stigliano, J., Nomakuchi, T., Proudfoot, N. J., Krainer, A. R. & Kornblihtt, A. R. Counteracting chromatin effects of a splicing-correcting antisense oligonucleotide improves its therapeutic efficacy in spinal muscular atrophy. *Cell* 185, 2057-2070 (2022).

SIMPOSIOS

Simposio de Expertos

‘CAPACITATION IN-VITRO MATURATION OF OOCYTES (CAPA-IVM)’ FROM RESEARCH BENCH TO CLINICAL APPLICATION IN THE FERTILITY CLINIC

Smitz J.

Follicle Biology Laboratory, Free University Brussels (VUB), Brussels, Belgium.

E-mail: johan.smitz@gmail.com

Today, the IVM technique is less commonly practiced in human ART, for the main reason that pregnancy rates are still lower compared to regular (stimulated) ICSI. IVM might be developed more generally as a first line option to treat infertile patients with a ‘normal and high’ ovarian reserve. Previous studies in animal models have demonstrated the necessity of applying specific pretreatment, retrieval technology, culture media and growth factors for IVM to make it successful. Setting up pre-maturation (named “capacitation”) culture and making use of physiological in vitro additives (follicular growth factors like C-type Natriuretic peptide and Amphiregulin concentrations) can compensate for the ‘immaturity’ of the COC retrieved from small follicles between 2 and 8 mm. Our recent research on human small antral follicles has indicated key factors that could allow the immature oocyte to gain developmental competence in-vitro (Sanchez et al., Hum Reprod. 32: 2056-2068, 2017; Sanchez et al., J. Assist. Reprod. Genet. 36: 2135-2144, 2019). The presentation will cover the most recent scientific and clinical evidence that the in-vitro “capacitation” approach is efficacious, safe (Saenz De Juano et al., Hum. Reprod. 34: 1640-1649, 2019), and cost-effective. The follow-up of children born after CAPA-IVM does not demonstrate any alterations in psychomotor development (Vuong et al., Hum. Reprod. 37: 1871-1879, 2022). Hence it might be suggested as a first-line treatment for patients with a high ovarian follicle count or a high anti-Mullerian (AMH) hormone concentration in blood.

DE LA INVESTIGACIÓN BÁSICA AL DESARROLLO DE UN PRODUCTO INNOVADOR CONTRA EL SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO

Zylberman V.

Inmunova, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: vzylberman@inmunova.com

El síndrome urémico hemolítico (SUH) es una enfermedad huérfana, para la cual no existe hoy tratamiento disponible en el mundo. Dada la magnitud de los problemas sociales y económicos causados por las infecciones por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), existe una urgente necesidad de terapias específicas que impidan el desarrollo de esta enfermedad. Uno de los mayores desafíos para solucionar el problema, es desarrollar un tratamiento seguro, y que tenga capacidad de neutralizar la actividad de la toxina Shiga (Stx) para bloquear la aparición del SUH en pacientes infectados con STEC.

Diseñamos dos nuevos inmunógenos para presentar la Subunidad b de Stx en forma eficiente (BLS-STX1 y BLS-STX2). A partir de los mismos, hemos desarrollado un suero hiperinmune con alto título neutralizante contra 8 variantes de Stx, denominado INM004. Hemos finalizado exitosamente los ensayos preclínicos y de Fase 1 para este producto, el cual demostró ser seguro para su uso en las siguientes etapas de investigación. Durante 2019 se comenzó un ensayo clínico Fase 2/3 destinado a evaluar la eficacia de INM004 para prevenir el desarrollo de SUH en pacientes STEC positivos. El mismo debió ser interrumpido debido a la pandemia de SARS-CoV-2.

Capitalizando los conocimientos obtenidos en el desarrollo de este suero y utilizando la misma plataforma tecnológica, produjimos en tiempo récord un medicamento capaz de disminuir la mortalidad en pacientes COVID-19 severos. Durante la pandemia más de 25.000 pacientes fueron tratados con el mismo, evidenciándose una mejora clínica en el 42% de los pacientes que recibieron el tratamiento completo.

EL DESAFÍO DE CONVERTIR EL DESCUBRIMIENTO CIENTÍFICO EN UNA STARTUP BIOTECNOLÓGICA Y HACERLA CRECER: NUESTRA EXPERIENCIA EN RADBIO

Dewey RA.

Laboratorio de Terapia Génica y Células Madre, Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH), CONICET-UNSAM, Buenos Aires, Argentina. Rad Bio S.A.S., Sunchales, Santa Fe, Argentina. Centro de Medicina Traslacional (CEMET) Hospital de Alta Complejidad en Red "El Cruce", Nestor Carlos Kirchner, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: ricardodewey@intech.gov.ar

RADBIO S.A.S. es una Empresa de Base Tecnológica (EBT) o startup del CONICET, fundada en 2018 mediante inversión del Centro de Innovación Tecnológica, Empresarial y Social (CITES) perteneciente al Grupo Sancor Seguros. RADBIO es una empresa biotecnológica enfocada en el desarrollo de nuevas estrategias de diagnóstico y tratamiento de enfermedades crónicas complejas con necesidades médicas insatisfechas. Nuestra EBT tiene dos líneas de desarrollo, una terapéutica en la que estamos desarrollando un fármaco biológico para el tratamiento de fibrosis pulmonar, fibrosis cutánea, fibrosis hepática y cáncer, y otra diagnóstica en la que estamos validando un test capaz de medir la actividad de artritis reumatoidea y que potencialmente sería aplicable a otras enfermedades inflamatorias. La tecnología de RADBIO tiene su puntapié inicial con el descubrimiento de una nueva molécula que se ha demostrado que actúa como inhibidor de la vía TGF- β . TGF- β es una citoquina clave involucrada en la patogénesis de la fibrosis de órganos, el cáncer y más. Nuestro descubrimiento concretamente es una isoforma soluble del receptor II de TGF- β (proteína T β RII-SE) producida de forma endógena por las células humanas. La propiedad intelectual de la tecnología de RADBIO pertenece al CONICET y a la Fundación Articular, y ha sido desarrollada en el Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH). La misma ha sido licenciada a RADBIO, para su uso exclusivo y explotación comercial mediante convenio de licencia firmado por las partes. En esta presentación se expondrán las bases de la tecnología desarrollada, los pasos realizados hasta la formación de RADBIO y los desafíos de la startup para seguir creciendo y así acercar la tecnología a la cama del paciente. Compartir nuestra experiencia tiene como finalidad estimular a la comunidad científica para convertir los descubrimientos científicos en

desarrollos tecnológicos que puedan llegar a la comunidad y además, generar puestos de trabajo y de divisas que contribuyan al desarrollo del país.

Simposio de la Sociedad Uruguaya de Biociencias

DE LA MESADA A LOS PRIMEROS ESTUDIOS EN HUMANOS: UN CAMINO DE DESAFÍOS Y NUEVOS APRENDIZAJES

López GV.

*Departamento de Química Orgánica. Facultad de Química. Universidad de la República.
Laboratorio de Biología Vascul y Desarrollo de Fármacos. Institut Pasteur de Montevideo.
E-mail: vlopez@pasteur.edu.uy*

Durante los últimos años, nuestro grupo de investigación viene trabajando en el desarrollo de potenciales fármacos para el tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles, con énfasis en enfermedades cardio-, inmuno-, metabólicas. En nuestra región y en el mundo, estas enfermedades constituyen la principal causa de morbilidad y mortalidad. En consecuencia, es altamente relevante doblegar esfuerzos en conocer sus causas, búsqueda de nuevos blancos moleculares y el estudio de nuevas estrategias terapéuticas para disminuir su incidencia. En la base etiopatogénica de estas enfermedades juega un rol central un proceso inflamatorio crónico, estéril, desarrollado a bajo ruido a nivel sistémico. En este contexto, hemos centrado nuestros esfuerzos en el diseño de nuevas estructuras que contengan farmacóforos con reconocida actividad antiinflamatoria tomando en cuenta los principios de la química verde para su síntesis, y su caracterización fisicoquímica y biológica tanto *in vitro* como *in vivo* utilizando diferentes modelos de las principales patologías estudiadas. Este trabajo ha permitido contar con una quimioteca de potenciales fármacos protegidos con un portfolio de patentes internacionales y la consolidación del grupo interdisciplinario.

A fines de 2016, con el sublicenciamiento de las patentes y creación de una startup de base científico-tecnológica, Eolo Pharma, obtuvimos un fondo semilla de Cites (Centro de Innovación Tecnológica Empresarial y Social, Sunchales, Argentina). A partir de entonces comenzamos el proceso de transferencia de la academia a la empresa. En los primeros tres años, estudiamos los pasos a seguir, definimos la molécula líder que podría llegar a fármaco y sus indicaciones terapéuticas, abordando la síntesis a escala de multigramo, estudios *in vitro* e *in vivo* de eficacia y de toxicidad, así como estudios de mercado y plan de negocios. A fines de 2019, con un plan definido para llevar a MVD1, nuestro compuesto líder a los primeros estudios en humanos, cerramos una primera ronda A de inversión privada para financiar las siguientes etapas. En particular, completar el estudio de su mecanismo de acción, la producción del compuesto líder (MVD1) bajo estándares GMP (CMC) y todos los estudios preclínicos solicitados por la agencia regulatoria australiana. Recientemente cerramos una segunda ronda que nos permitirá financiar el primer estudio fase I en humanos en dicho país (último cuatrimestre 2022).

En suma, este camino de desafíos y nuevos aprendizajes nos ha llevado al lugar donde estamos hoy, por concretar el hito de desarrollar un primer estudio en humanos (fase 1) en Australia, con un fármaco diseñado y desarrollado en nuestros laboratorios: MVD1.

DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES RARAS A TRAVÉS DE TECNOLOGÍAS DE SECUENCIAS MASIVAS

Spangenberg L.

Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur; Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

E-mail: lucia@pasteur.edu.uy

7% de la población padece de enfermedades raras. Si bien aisladamente cada patología es muy poco frecuente (1 en 2000), consideradas en conjunto implican una gran cantidad de individuos afectados. La mayoría de ellas afectan a niños, tienen un alto impacto en la calidad y expectativa de vida, la mayoría son crónicas y progresivas, y la enorme mayoría de ellas no tienen un tratamiento específico. Además, por su propia naturaleza de infrecuentes, presentan un desafío diagnóstico. De hecho, se habla en general de una “odisea diagnóstica” que puede durar años e implica decenas de consultas con especialistas y estudios (muchas veces invasivos o que requieren anestesia general), con el consiguiente costo económico y emocional. Los problemas que estos retrasos diagnósticos acarrearán, tanto para el paciente, su familia, sus médicos, el sistema de salud y los equipos de investigación, son de enormes magnitudes.

La mayoría de estas enfermedades, probablemente un 70-80% son de causa genética. Por lo tanto, la gran mayoría de los esfuerzos para mejorar el diagnóstico se centran en las técnicas de estudio sobre el genoma, en especial las técnicas de secuenciación masiva.

En el Institut Pasteur de Montevideo, en conjunto con la Facultad de Medicina (Departamento de genética) en el contexto de un proyecto denominado URUGENOMES, realizamos estudios genómicos para aportar al diagnóstico de enfermedades raras. Esto nos permite, por un lado, llegar a un diagnóstico molecular, lo que es de gran valor para la familia, como por el otro, comprender un poco más los mecanismos subyacentes de las enfermedades. En esta oportunidad presentaré algunos de los trabajos realizados en el URUGENOMES.

DEL LABORATORIO AL CONSULTORIO: ANÁLISIS DE MICROBIOTA INTESTINAL DESDE URUGUAY

Campot Moreira MP.

CEO, Enteria, Uruguay.

E-mail: pia@enteria.uy

El camino de cuatro científicos que salieron del laboratorio y decidieron llevar sus investigaciones a la sociedad de una forma que no fuera la ciencia básica. La incertidumbre y los desafíos de comunicar lo que hacemos, de aplicarlo y ofrecer servicios que se adaptaran a las necesidades de un potencial cliente. Cómo aplicar, cómo comunicar, cómo vender nuestro conocimiento. Qué es lo importante al momento de transformar nuestra ciencia en una potencial empresa con impacto internacional. Enteria es una empresa dedicada al análisis de microbiota intestinal que nace en Uruguay y ofrece servicios en todo Latinoamérica. Surge como forma de aplicar nuestro conocimiento y llevarlo directamente al consultorio de un profesional de la salud. Sin duda ha sido un camino difícil, lleno de éxitos y fracasos que queremos transmitir para aquellos que quieran transitar el mismo camino: el camino de salir del laboratorio llevando la ciencia al consultorio.

Simposio de Sociedades de Biología

APLICACIONES DE LA PCR DIGITAL EN LA SALUD PÚBLICA

Heckel S¹, Pacini A¹, Paredes F^{1,3}, Ibarra G^{1,3}, Petreli MV^{1,3}, Perez M¹, Adriani N¹, Menzella H⁵, Colaneri A⁶, Sesma, J^{1,2,4}.

¹Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Hospital Provincial de Rosario, ²Instituto de inmunología clínica y experimental de Rosario (IDICER-CONICET), ³Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de Rosario, ⁴Facultad de Ciencias Médicas (FCM-UNR), ⁵Instituto de procesos biotecnológicos y químicos Rosario (IPROByQ), ⁶Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

E-mail: sesma@rosario-conicet.gov.ar

La detección de SARS-CoV-2 ha creado una enorme carga de trabajo para los laboratorios de todo el mundo, lo que ha resultado en una restricción a la hora de realizar pruebas masivas. El testeo en pools es una estrategia que reduce tiempo y costos. Sin embargo, más allá de la detección de enfermedades infecciosas en los bancos de sangre, este enfoque rara vez se implementa en los laboratorios de rutina. Por lo tanto, lo que aprendimos de la detección de SARS-CoV-2 por muestras agrupadas, debería representar una oportunidad para aumentar las capacidades de diagnóstico en otros campos. El presente trabajo, realizado en el contexto de un laboratorio de diagnóstico de un hospital público durante la pandemia de COVID-19, representa un aporte a tal fin. La principal limitación de las pruebas en pools es el riesgo de falsos negativos que podrían haber sido identificados por las pruebas individuales. Estas limitaciones son la dilución de muestras con una baja carga de virus durante el agrupamiento y que la integridad de la muestra puede verse afectada por la calidad de la recolección de muestras. Afortunadamente, ambas limitaciones coinciden con las principales fortalezas de la PCR digital de gotas (ddPCR). La ddPCR es una PCR de tercera generación que divide la amplificación en miles de gotitas que funcionan en paralelo, aumentando la sensibilidad y la resistencia a los inhibidores. Por lo tanto, la ddPCR es particularmente útil para las pruebas de muestras en pools. Aquí mostramos cómo factorizar entre la sensibilidad de la prueba y el ahorro en tiempo y recursos de reactivos. Hemos identificado y optimizado parámetros críticos para las pruebas en pools. El presente estudio, que analizó 1000 muestras nasofaríngeas, mostró que los pools podían detectar incluso una sola muestra positiva con un valor CT de hasta 30 en grupos de hasta 34 muestras. Esta prueba se realizó utilizando tres métodos de extracción estándar diferentes, siendo el más simple solo calentamiento, lo que resultó en un ahorro sustancial de reactivos de extracción además de los reactivos de PCR. Además, mostramos que la determinación en muestras agrupadas se puede extender para usar saliva, que es una muestra menos invasiva y permite la auto-recolección, reduciendo el riesgo para el personal de salud. Siguiendo esta línea de pensamiento, recientemente pusimos a punto la determinación de variantes de SARS-CoV-2 por ddPCR en muestras agrupadas. Ver Poster. En este momento estamos trabajando en 3 proyectos más basados en ddPCR. Uno es la puesta a punto de una plataforma de screening no invasivo para cáncer de colon a partir de biopsias líquidas (sangre periférica y heces), otro es el seguimiento no invasivo a partir de muestras de orina de pacientes con cáncer de vejiga no infiltrable recurrente, y el tercero es el testeo de *Legionella sp.* en agua corriente del hospital.

DE LA BIOFÍSICA DE LÍPIDOS A LA PRIMER PRUEBA EN HUMANOS: LIPOSOMAS Y LEISHMANIASIS CUTÁNEA

Peralta MF^a, Guzmán ML^b, Carnevalle C^{a,b}, Marco JD^c, Barroso PA^c, Quipildor M^d, Olivera ME^b, Carrer DC^a.

^a Instituto Ferreyra INIMEC-CONICET-Univ. Nac. de Córdoba, Córdoba, Argentina.

^b Unidad Inv. y Desarrollo en Tecn. Farmacéutica – CONICET and Dpto. Cs. Farmacéuticas, Facultad Cs. Químicas, Univ. Nac. de Córdoba, Córdoba, Argentina.

^c Inst. de Patología Experimental CONICET and Univ. Nac. de Salta, Salta, Argentina

^d Hospital San Vicente de Paul, Orán, Salta, Argentina.

E-mail: dolorescarrer@immf.uncor.edu

La leishmaniasis cutánea (LC) es una enfermedad tropical desatendida endémica en ~ 90 países y con creciente incidencia. La farmacoterapia disponible actualmente implica la administración sistémica de drogas tóxicas. Un tratamiento tópico tendría la gran ventaja de minimizar la circulación sistémica de las drogas, evitando efectos secundarios. Nuestro objetivo ha sido el de diseñar una formulación tópica eficaz contra LC americana en humanos. Preparamos dispersiones de diversas drogas en presencia de liposomas para modular la penetración transepidermal. Estudiamos la flexibilidad de las membranas conteniendo las drogas, la eficacia y toxicidad *in vitro* e *in vivo*, la liberación de droga *in vitro* y la estabilidad temporal de las nanopartículas. Los tratamientos fueron administrados en forma tópica a ratones BALB/c infectados con *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Las dispersiones conteniendo 0,5% de miltefosina eliminaron el 99% de los parásitos y produjeron la cura clínica de los animales. Los liposomas fluidos hicieron más rápida la cura y disminuyeron el tiempo para la completa eliminación de amastigotes viables de la zona de la lesión. No se encontró relapso luego de un mes. Actualmente estamos realizando un ensayo clínico N-de-1 en un paciente del Hospital San Vicente de Paul en Orán, Salta.

BEBÉ DE PROBETA E INFERTILIDAD: UNA HISTORIA AL SERVICIO DE LA SALUD REPRODUCTIVA

Bonilla FE.

Profesor Adjunto Cátedra de Biología. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. U.N.T.

Director del Laboratorio de Embriología. Instituto de Maternidad y Ginecología "Ntra. Señora de las Mercedes", Tucumán.

E-mail: eduardo.bonilla@fbqf.unt.edu.ar

A cuarenta y cuatro años desde la primera fertilización *in vitro* (FIV) exitosa se estima que, a nivel mundial, nacieron aproximadamente 9.000.000 de bebés mediante esta técnica. Áreas como farmacología, biología celular, microbiología, inmunología, genética y ginecología han trabajado de manera conjunta con el fin de generar condiciones altamente controladas que favorezcan los resultados reproductivos. Las ciencias básicas y el trabajo con animales de experimentación sirvieron de plataforma para dar lugar a varios hitos en reproducción humana asistida (RHA) como ser la inyección intracitoplasmática de espermatozoides, el estudio de la apoptosis celular, el conocimiento de la integridad del ADN, la criopreservación de gametas y embriones, etc. Si bien los grandes avances en las técnicas de RHA han permitido mejorar notoriamente el tratamiento en parejas con problemas

reproductivos, la tasa de infertilidad continúa en aumento. Esto representa un desafío para los investigadores, quienes orientan su trabajo a la búsqueda y detección de marcadores bioquímicos capaces de predecir la calidad de gametas y embriones generados en el laboratorio. Entre las causas conducentes al fracaso en la FIV se encuentran activaciones ovocitaria prematuras, activaciones abortivas, alteraciones en el bloqueo de la polispermia, fallo en fusión de gametas, daño del ADN espermático, detención del desarrollo embrionario. Asimismo, modificaciones del estado redox del plasma seminal y líquido folicular favorecerían la generación de embriones de baja calidad, pobre capacidad implantatoria y abortos recurrentes. El conocimiento de la patogénesis de la esterilidad-infertilidad y de su importancia en la biología clínica actuarían a favor del desarrollo de tecnologías orientadas a mejorar los resultados reproductivos como así también a la aplicación de tratamientos personalizados.

Simposio de Investigadores Jóvenes

EL CROSSTALK ENTRE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y EL SISTEMA DE SALUD. RECEPTORES Y LIGANDOS DEL NOROESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Chimento A, Bonadeo N, Werner E, Valla S, Demarchi G, Perrone S, Romano L, Cristina C.

Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas, CIBA-UNNOBA.

Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires CITNOBA, UNNOBA-UNSADA-CONICET.

E-mail: carolina.cristina@nexo.unnoba.edu.ar

La ciudad de Junín tiene un Hospital Interzonal (HIGA A. Piñeyro) y es cabecera de región sanitaria (RSIII), no obstante presenta un déficit de laboratorios de diagnóstico bioquímico y de anatomía patológica de alta complejidad. En este contexto, la investigación en un centro de ciencias médicas de la Universidad y el CONICET en el interior de la provincia, es movilizadora y retroalimentada por las demandas locales en salud. Son muestra de ello:

-La generación de un conjunto de Servicios Tecnológicos de Alto Nivel (STANs) que permitieron estructurar las respuestas a las necesidades de diagnóstico en cáncer e infecciones de la ciudad y la región.

-A comienzos del 2020, declarada la pandemia de Covid-19, el Ministerio de Salud de la Nación designó a nuestro centro con un equipo integrado por investigadores/as y becarios/as del CIBA y bioquímicos/as de HIGA, como integrante de la red de laboratorios de la PBA para el diagnóstico de Covid por PCR en tiempo real para toda la RSIII y en distintas oportunidades para regiones vecinas. El trabajo conjunto entre la coordinación de la RSIII, el HIGA y el CIBA permitió contar con el diagnóstico molecular de manera oportuna para toda la población. Esto resultó de gran impacto para la toma de decisiones socio-sanitarias a nivel local durante la emergencia. El resultado conseguido en la pandemia demostró la fortaleza de integrar el sistema de salud y el sistema académico-científico en objetivos comunes en beneficio de la sociedad.

-Actualmente la Residencia de Bioquímica de HIGA realiza la Rotación en Biología Molecular en nuestro centro complementando la formación de residentes con técnicas que por el momento no puede cubrir el hospital. Asimismo, el Ministerio de Salud PBA ha iniciado un programa de capacitación en Investigación en Salud en HIGA, en el que es clave la articulación con el CIBA y con la Secretaría de

Investigación de UNNOBA, para la formación en investigación de los profesionales de la salud que ejercen en el ámbito hospitalario.

-Junto a la RSIII, el Municipio y el Instituto Provincial del Cáncer dependiente del Ministerio de Salud avanzamos en colaboración con un equipo multidisciplinario de ingenieros, diseñadores industriales y médicos ginecólogos y clínicos, en las estrategias de diagnóstico de HPV en nuestra región.

-Completando el circuito, nuestra investigación en tumores de la hipófisis y el trabajo sostenido con el sistema de salud dieron lugar a un proyecto de investigación y desarrollo clínico de característica multicéntrica nacional que coordina nuestro grupo de investigación desde Junín, y que incluye a los Servicios de Neurocirugía y de laboratorio de más de diez hospitales públicos y clínicas privadas del país.

IMPACTO DE ANTIDEPRESIVOS SEROTONINÉRGICOS EN EL DESARROLLO DE CIRCUITOS PREFRONTALES EMOCIONALES

Soiza-Reilly M.

Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE), CONICET-UBA.

E-mail: msoizareilly@fbmc.fcen.uba.ar

Drogas antidepresivas serotoninérgicas como la fluoxetina tienen como principal acción farmacológica el bloqueo del transportador de serotonina, SERT, el cual media sus efectos terapéuticos. La aplicación temprana de fluoxetina durante las primeras semanas postnatales en roedores produce alteraciones neurales y emocionales persistentes en la vida adulta. Aquí, presentamos evidencias de que la expresión transitoria de SERT en neuronas glutamatérgicas de la corteza prefrontal durante el neurodesarrollo, participa de dichos cambios, controlando la maduración sináptica de circuitos prefrontales descendientes involucrados en las respuestas emocionales. Tal es el caso del circuito que conecta la corteza prefrontal con el núcleo dorsal del rafe, la principal fuente de serotonina del cerebro. Nuestro estudio demuestra la vulnerabilidad de ciertos circuitos corticales específicos que actúan como blancos de antidepresivos serotoninérgicos durante la vida temprana de los individuos, y cuyas alteraciones podrían aumentar el riesgo a desarrollar trastornos mentales como la ansiedad o la depresión en la adultez.

ESTUDIO DEL VIROMA E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS VIRUS EN MURCIÉLAGOS DE ARGENTINA

Bolatti EM^{1,2}, Cerri A¹, Zorec T³, Rimondi A^{4,5}, Hosnjak L³, Montani ME^{6,7,8}, Di Domenica V⁷, Olivera VS⁴, Viarengo G⁹, Casal PE⁹, Saigo G^{6,7}, Chouhy D^{2,9}, Barquez RM^{7,8}, Poljak M³, Giri AA^{1,2}.

¹Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (CONICET), ²Área Virología, FCByF UNR, ³Institute of Microbiology and Immunology, University of Ljubljana, Slovenia, ⁴Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (INTA/CONICET), ⁵Robert Koch Institut, Berlín, Alemania, ⁶Museo Provincial de Ciencias Naturales "Angel Gallardo", ⁷Programa de Conservación de los Murciélagos de Argentina, ⁸Programa de Investigaciones de Biodiversidad Argentina, UNT, ⁹DETxMOL S.A., predio CCT Rosario.

E-mail: bolatti@ibr-conicet.gov.ar

Los murciélagos cumplen un rol fundamental en el ecosistema, sin embargo también son considerados reservorios naturales de virus, muchos de los cuales causan enfermedades en humanos. Conocer los virus presentes en murciélagos de diferentes regiones geográficas es importante para la vigilancia genómica a fin de detectar posibles “saltos” entre especies, y contribuye a la conservación de estos animales. Mediante un enfoque metagenómico, describimos la diversidad viral de cinco especies de murciélagos insectívoros de Argentina que habitan en el centro de Rosario (colonia maternal de *Tadarida brasiliensis*) y en el Parque Villarino (Zavalla, Santa Fe). En breve, muestras seleccionadas de heces se procesaron y agruparon en pooles de acuerdo a especie, sitio y año de colecta; los ácidos nucleicos virales fueron extraídos, enriquecidos y secuenciados (MiSeq y NextSeq, Illumina). Las secuencias virales fueron sometidas a análisis de calidad y ensambladas *de novo* utilizando diversas herramientas bioinformáticas. Los cóntigos mayores a 500 pb fueron clasificados mediante bases de datos virales utilizando BlastN, Centrifuge y DIAMOND. La clasificación obtenida fue resumida mediante Pavian y MEGAN6. Se caracterizaron 35 nuevos virus con genoma ADN agrupados en las familias *Genomoviridae*, *Circoviridae*, *Smacoviridae*, *Papillomaviridae* y *Anelloviridae*. La diversidad y el número de secuencias de virus con genoma ADN fue menor en muestras de individuos de *T. brasiliensis* (colonia) en comparación con los murciélagos de Parque Villarino mostrando una posible influencia del hábitat sobre la composición del viroma. Por otro lado, identificamos secuencias clasificadas en la familia *Coronaviridae* que correspondían a 3 genomas completos y 2 genomas parciales de nuevos Alphacoronavirus. Estos virus representarían nuevas especies, con similitudes entre 60 y 80% en sus secuencias aminoacídicas en el ORF1ab con respecto a otros coronavirus. Este estudio aporta datos relevantes para la vigilancia de virus con potencial zoonótico presentes en murciélagos que viven en estrecho contacto con los humanos y contribuye a determinar su papel como posibles reservorios de patógenos. Financiamiento: ANPCyT PICT 2019-01790.

COMUNICACIONES ORALES

Miércoles 30 de noviembre

SESIÓN 1: BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 1 (DR1)

DR1.1

USO DE LOS AMINOÁCIDOS COMO SUSTRATOS OXIDATIVOS DURANTE LA MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS BOVINOS

Gutnisky C^{a,b}, Martínez S^a, Gadze T^a, Breininger E^{a,b}, Cetica P^{a,b}.

^aUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina. ^bUniversidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: cgutnisky@fvet.uba.ar

En la maduración *in vitro* (MIV) del complejo ovocito-cumulus (COC) bovino, la glucosa (G) es considerada el principal sustrato oxidativo presente en los medios de maduración. Sin embargo, poco se conoce sobre el rol de los aminoácidos (Aa) durante este proceso. El objetivo del trabajo fue estudiar el rol de los Aa como sustratos oxidativos durante la MIV sobre la maduración nuclear y citoplasmática de los ovocitos bovinos y el subsecuente desarrollo embrionario. Los COCs se obtuvieron por punción-aspiración de folículos antrales de ovarios de vacas de faena. Solo se utilizaron COCs con cumulus denso y compacto. La MIV se realizó en mSOF (sin piruvato y lactato) suplementado con FSH, LH, EGF, insulina, PVA y gentamicina, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO₂ en aire humidificado durante 22 h. Los COCs se dividieron aleatoriamente en 5 grupos: a) sin sustratos oxidativos, b) Aa, c) Aa + salicilato (inhibidor de la glutamato deshidrogenasa), d) Aa + G y e) G. La maduración nuclear se evaluó por la tinción fluorescente de Hoechst 33342, observando la presencia de la metafase II. La maduración citoplasmática se evaluó por fecundación *in vitro* (FIV), que fue realizada en IVF-mSOF a 39°C, 5% CO₂ en aire humidificado durante 20 h y el posterior desarrollo embrionario se realizó en IVC-mSOF en atmósfera humidificada con 5% O₂: 5% CO₂: 90% N₂. Se evaluó el porcentaje de clivaje y de blastocistos obtenidos a las 48 h y 7 días de la FIV, respectivamente. Para estudiar el uso de Aa como sustratos oxidativos por los COCs, se determinó en el medio de MIV la producción de amoníaco al finalizar la maduración mediante espectrofotometría. La producción de amoníaco por los COCs fue analizada por ANOVA y los porcentajes de maduración nuclear, clivaje y blastocistos obtenidos por Chi-cuadrado ($p < 0,05$). En el medio suplementado con Aa se obtuvo un mayor porcentaje de maduración nuclear que en el medio sin sustratos oxidativos o Aa + salicilato ($p < 0,05$), no observándose diferencias con G. Sin embargo, se observó un mayor porcentaje de maduración nuclear en Aa + G respecto de Aa ($p < 0,05$). Se detectó un aumento significativo en la producción de amoníaco por los COCs madurados en presencia de sólo Aa ($p < 0,05$). En la FIV, se observó una menor tasa de clivaje con Aa respecto a G o Aa + G ($p < 0,05$), siendo este último grupo significativamente mayor a G ($p < 0,05$). En el medio con Aa + salicilato el clivaje fue menor al de estos grupos ($p < 0,05$). Se observó que solo en el grupo Aa + G hubo desarrollo embrionario hasta el estadio de blastocisto ($p < 0,05$). De estos resultados se desprende que los Aa sostienen en parte el proceso de maduración, los mismos serían desaminados para el uso de sus

esqueletos carbonados como fuente energética. La combinación de Aa + G como sustratos oxidativos es necesaria para el desarrollo embrionario bovino *in vitro*.

DR1.2

LA FAMILIA DE LA PROTEÍNA QUINASA D REGULA EL PROCESO DE CAPACITACIÓN

Martínez-León E¹, Osycka-Salut C², Marin-Briggiler CI³, Jabłoński M³, Buffone MG³, Rey O¹.

1. *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas "José de San Martín," Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.*
 2. *Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO-UNSAM-CONICET), Buenos Aires, Argentina*
 3. *Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Buenos Aires, Argentina.*
- E-mail: eduartinez@gmail.com*

La familia de la proteína quinasa D (PKDs), consta de tres serina/treonina quinasas denominadas PKD1, PKD2 y PKD3. Estas isoenzimas están implicadas en la regulación de una notable variedad de procesos biológicos fundamentales, incluyendo la transducción de señales, remodelado del citoesqueleto, estrés oxidativo, entre otros. Los espermatozoides son células especializadas transcripcionalmente inactivas dependientes de modificaciones postraduccionales, como la fosforilación de proteínas, para llevar a cabo sus funciones. Dichas modificaciones ocurren durante el proceso denominado capacitación espermática. La presencia y función de la PKDs en el gameto masculino, no ha sido descrita en ninguna especie. Nuestro objetivo fue caracterizar la presencia y la(s) función(es) de PKDs en este modelo celular. Mediante inmunofluorescencia indirecta (IIF) y western blot (WB), se observó que PKD1/2 se encuentra presente y de manera activa (p-PKD) en espermatozoides de bovino, equino, ratón y humanos incubados en condiciones no capacitantes (MNC) y capacitantes (MC). Si bien la localización de PKD es muy similar en las células de todas las especies en estudio, de manera homogénea en cabeza y flagelo, el patrón de distribución de p-PKD varía entre estas. En cuanto a PKD3, se observó que está presente y se localiza principalmente en la pieza media del flagelo, observándose una llamativa concentración de la proteína en la pieza conectora. Respecto a la posible función biológica, se determinó si PKD estaría relacionada con la regulación del proceso de capacitación espermática en ratón. Al incubar espermatozoides en MC con inhibidores específicos de PKD (Kb 142-70 [5 μ M] y CRT 0066101 [2,5 μ M]), mediante WB se observó un aumento en la fosforilación de residuos de tirosina y proteínas sustratos de PKA respecto al control (MC). Además, en estas mismas condiciones se observó un aumento significativo del porcentaje de espermatozoides móviles ($p < 0,01$), progresivos ($p < 0,05$) e hiperactivados ($p < 0,01$; $n=6$) (Sistema SCA, Microptic). Además, se evaluó la inducción de la reacción acrosomal (otro evento asociado a la capacitación) con progesterona [30 μ M] mediante citometría de flujo en espermatozoides de ratones transgénicos Green Fluorescent Protein-Acrosina. La inhibición de la PKDs previo al inicio de la capacitación incrementó el porcentaje de espermatozoides reaccionados ($p < 0,05$; $n=7$). Estos hallazgos permiten por primera vez concluir que la PKDs se encuentra presente y activa en espermatozoides de mamífero, y que estaría involucrada en la regulación del proceso de capacitación espermática.

DR1.3**EFFECTO DE MORIN SOBRE LA PRODUCCIÓN DE PROGESTERONA DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE COMPLEJOS CUMULUS OVOCITO PORCINOS**

Lorenzo MS^{1,2}, Ghersa J¹, Luchetti CG^{1,2}, Cruzans PR¹, Lombardo DM^{1,2}.

¹ Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. ² CONICET.
E-mail: soledadlorenzo@fvet.uba.ar

Morín (3,5,7,2',4' pentahidroxi flavona) es un flavonoide utilizado en nuestro laboratorio en ensayos de maduración *in vitro* (MIV) de complejos *cumulus*-ovocito (COC) porcinos. Éste redujo los niveles de peróxidos en los ovocitos y a dosis altas afectó la maduración nuclear. Los flavonoides no solo tienen efecto antioxidante, sino que también inhiben la esteroideogénesis en las células del *cumulus*. La progesterona induce la ruptura de la vesícula germinal y su inhibición reduce la maduración ovocitaria. El objetivo de este trabajo fue determinar si Morín agregado al medio de MIV afecta las concentraciones de progesterona durante la MIV de COC porcinos. Los COC se obtuvieron por aspiración folicular de ovarios de faena y se maduraron *in vitro* a razón de 50 COC por well, conteniendo 500 µL de medio 199 suplementado con el agregado de 5, 10, 50 y 100 µM de Morín o sin Morín (grupo control) en atmósfera con 5% CO₂, saturada de humedad, a 39°C. A las 22 y 44 h de MIV se recolectó el medio de cultivo y se criopreservó a -20°C hasta su utilización. La progesterona presente en el medio de cultivo se evaluó por la técnica de inmunoensayo de macropartículas quimioluminiscentes (CMIA) y se realizaron 3 repeticiones para cada medición de cada tratamiento. Los datos se analizaron estadísticamente por medio del test de Kruskal Wallis considerando diferencia estadísticamente significativa con p ≤ 0.05 y se expresan como media ± SEM. En todos los casos, la concentración de progesterona (ng/mL) aumentó significativamente entre las 22 y 44 h y en el grupo 100 µM de Morín fue significativamente más baja (28.75 ± 0.91 a las 22 h y 64.43 ± 6.9 a las 44 h) que en los otros grupos. El grupo 50 µM de Morín (40.77 ± 3.9 a las 22 h y 90.53 ± 10.45 a las 44 h) también mostró una tendencia hacia la disminución en la concentración de progesterona con respecto a los otros grupos (control= 61.48 ± 10.18 a las 22 h y 128.18 ± 33.77 a las 44 h; 5 µM de Morín= 63.74 ± 7.62 a las 22 h y 215.94 ± 42.5 a las 44 h; 10 µM de Morín= 60.37 ± 7.23 a las 22 h y 194.92 ± 28.66 a las 44 h). En conclusión, en nuestro sistema de MIV las células del *cumulus* producen activamente progesterona. La disminución en la producción de progesterona en los grupos tratados con Morín a concentraciones más elevadas podría explicar la disminución en los índices de maduración nuclear hallados en las concentraciones de 50 y 100 µM, reportados previamente por nuestro grupo de trabajo. A futuro, se continuará trabajando con las concentraciones más bajas 5 y 10 µM de Morín para determinar la conveniencia de su agregado durante la MIV en la especie porcina.

DR1.4**EFFECTOS DE LA INHIBICIÓN DE ADENILATO CICLASA SOLUBLE Y DE MEMBRANA EN LA CAPACITACIÓN CON HEPARINA DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS**

Fernández S^{1,3}, Córdoba M^{1,2,3}.

¹ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina. ² CONICET-Universidad de

Buenos Aires. Unidad Ejecutora de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina. ³Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Biológica. Buenos Aires, Argentina.
E-mail: mcordoba@fvet.uba.ar

En la capacitación espermática inducida por heparina se activan señales intracelulares a partir de la unión específica del inductor con su receptor de membrana, que involucran la participación de diferentes enzimas clave como la adenilato ciclasa, provocando un burst respiratorio en las mitocondrias. Las isoenzimas soluble y de membrana de adenilato ciclasa podrían tener un diferente grado de participación en el mecanismo de señalización intracelular durante este proceso. El objetivo de este trabajo fue determinar la participación de las isoenzimas de adenilato ciclasa en el mecanismo de transducción de señales inducido por la capacitación *in vitro* con heparina en espermatozoides bovinos criopreservados. La heparina fue utilizada como inductor de la capacitación, LRE-1 como inhibidor de adenilato ciclasa soluble y 2,5-dideoxiadenosina (2,5-D) como inhibidor de adenilato ciclasa de membrana. Se realizaron 5 tratamientos con el semen descongelado en medio TALP a 38°C: control, heparina, heparina/LRE-1, heparina/2,5-D y heparina/LRE-1/2,5-D. La capacitación fue evaluada por la técnica epifluorescente de clorotetraciclina y la viabilidad e integridad de membranas por la tinción vital de azul tripán con contraste diferencial interferencial. La motilidad espermática fue evaluada por microscopía y analizada con el software ISAS-Prosier. El potencial de membrana mitocondrial fue medido utilizando el fluorocromo JC-1. Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey (P<0,05). Los inhibidores LRE-1 y 2,5-D, individualmente o combinados, inhibieron un 75% la capacitación (P<0,05). La actividad mitocondrial en las muestras capacitadas con heparina fue del 63,67±5,57%, mientras que en los tratamientos con inhibidores decreció significativamente (heparina/LRE-1 31,11±4,15%, heparina/2,5-D 41,50±8,85%, heparina/LRE-1/2,5-D 31,25±8,61%) (P<0,05). También la motilidad total y la motilidad progresiva disminuyeron en los tratamientos con inhibidores respecto a las muestras capacitadas con heparina (P<0,05). Ambas isoenzimas de adenilato ciclasa participan significativamente en el mecanismo de transducción de señales desencadenado por la heparina durante la capacitación *in vitro* de espermatozoides bovinos, que se evidencia en el metabolismo oxidativo y en la motilidad espermática.

DR1.5

ROL DE LA AUTOFAGIA EN EL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO TESTICULAR EN EL HÁMSTER DORADO

Cavallotti Gomez A¹, Calandra RS¹, Matzkin ME^{1,2}, Frungieri MB^{1,3}.

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), ²Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Medicina,

³Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciclo Básico Común (CBC).

E-mail: acavallotti@dna.uba.ar

Nuestro grupo ha establecido previamente que, en el hámster Dorado (*Mesocricetus auratus*), el envejecimiento se asocia a un incremento significativo en los niveles de expresión testicular de marcadores inflamatorios (inflammasoma NLRP3, citoquina proinflamatoria IL1beta) e indicadores de estrés oxidativo (ensayo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico -TBARS- y enzimas del sistema

anti-oxidante), dos procesos estrechamente interconectados. La autofagia es un proceso catabólico evolutivamente conservado que se activa en respuesta a diferentes estresores (especies reactivas del oxígeno, daño al ADN) con el fin de mantener la homeostasis celular a través de la degradación de organelas dañadas y proteínas de larga vida y/o mal plegadas. Se ha asociado una disminución de la autofagia con envejecimiento acelerado y enfermedades dependientes de la edad, mientras que una óptima autofagia protegería parcialmente a las células del proceso de envejecimiento natural. El objetivo del presente trabajo ha sido investigar el impacto de: 1) la inhibición de la vía del inflammasoma NLRP3 y 2) la activación de la autofagia, en el proceso de envejecimiento testicular fisiológico del hámster Dorado. Para ello, fragmentos testiculares provenientes de hámsteres Dorados adultos jóvenes (5 meses de edad) y añosos (22 meses de edad) mantenidos en un fotoperíodo normal fueron incubados *in vitro* en presencia y ausencia de activadores/inhibidores de la vía del inflammasoma NLRP3 y de la autofagia determinándose, a continuación, el grado de peroxidación lipídica a través de la técnica de TBARS. Los niveles testiculares de TBARS fueron significativamente más altos en hámsteres añosos que en animales jóvenes ($p < 0,05$). Sin embargo, cuando testículos de hámsteres envejecidos fueron incubados en presencia de un inhibidor de NLRP3 (MCC950) o activadores de autofagia (rapamicina o metformina), los niveles de peroxidación lipídica fueron similares a los detectados en gónadas de animales jóvenes. Luego, en testículos de hámsteres jóvenes se activó la vía del inflammasoma NLRP3 (empleando ATP, que incrementa el eflujo de K^+ activando el receptor purinérgico P2X7, o un agente infeccioso -LPS-) o bien se inhibió la autofagia (empleando bafilomicina A1) detectándose, en todos los casos, un aumento significativo en la generación de TBARS ($p < 0,05$). Sin embargo, la pre-incubación con rapamicina o metformina bloqueó el incremento de la peroxidación lipídica en respuesta a ATP y LPS, respectivamente. En resumen, nuestros resultados sugieren que la activación del proceso de autofagia ejercería un efecto protector ante la inflamación crónica y estrés oxidativo en el testículo del hámster Dorado envejecido.

DR1.6

DESARROLLO DE UN MEDIO DE CAPACITACIÓN PARA ESPERMATOZOIDES EQUINOS CRIOPRESERVADOS

Arroyo-Salvo C¹, Plaza J², Río S¹, Bogetti E¹, Miragaya M², Caldevilla M², Yaneff A³, Davio C³, Gambini A⁴, Pérez-Martínez S¹.

¹Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET, Buenos Aires, Argentina, ²Facultad de Veterinaria, INITRA, UBA, Buenos Aires, Argentina, ³Instituto de Investigaciones Farmacológicas, UBA-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina, ⁴Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, UBA, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: perezms@fmed.uba.ar

Recientemente se ha reportado el nacimiento de 3 potrillos a partir de la técnica de fecundación *in vitro* (FIV), siendo el primer reporte de una FIV exitosa y repetible en la especie equina. Sin embargo, las altas tasas de fecundación reportadas en este estudio se obtuvieron con espermatozoides frescos y no con criopreservados. La criopreservación de muestras espermáticas es una técnica muy utilizada actualmente en la especie equina debido a las ventajas que presenta respecto a su transporte y almacenamiento. Por ello, determinar las condiciones de incubación específicas y adecuadas para la

capacitación de los espermatozoides criopreservados equinos se torna esencial para el éxito de las biotecnologías reproductivas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de diferentes componentes moleculares en un medio de incubación de espermatozoides sobre la inducción de eventos asociados a la capacitación. Para esto, se descongelaron pajuelas de semen de 3 padrillos y se incubaron 15×10^6 espermatozoides/ml en medio TALP modificado (control), en presencia de Bicarbonato (Bic), combinado con PVA o BSA a 38,5 °C, en aire por 45 minutos. Se observó que la presencia de Bic, Bic-PVA y Bic-BSA en el medio de incubación produjo un aumento del pH del medio respecto al control. A su vez, se produjo un aumento de los niveles de AMPc, evaluado por RIA, en Bic y Bic-PVA respecto al control. Estas condiciones experimentales también incrementaron significativamente los sustratos fosforilados por PKA (pPKA) y los niveles de fosforilación en tirosina (pTyr). Además, se evaluó la motilidad espermática mediante CASA y se observó que la incubación con Bic y Bic-PVA incrementó significativamente el porcentaje de espermatozoides móviles totales y progresivos respecto al control, así como los parámetros cinemáticos VCL ($\mu\text{m}/\text{seg}$) y ALH (μm). En base a estos resultados, se definió la condición Bic-PVA como medio de incubación capacitante (CAP). Por último, los espermatozoides equinos criopreservados fueron incubados en medio CAP o en medio NC e inyectados en ovocitos porcinos en ensayos de ICSI heteróloga. Los resultados indicaron que la incubación de los espermatozoides en medio CAP incrementó significativamente el número de ovocitos activados ($76\% \pm 7,2$) respecto a los incubados en NC ($46,7\% \pm 6,9$). En conjunto, estos resultados sugieren que la presencia de bicarbonato y PVA en el medio de incubación de espermatozoides criopreservados equinos induce eventos asociados a la capacitación espermática, incrementando la motilidad y las tasas de activación de ovocitos en una ICSI heteróloga. Estas condiciones de incubación podrían utilizarse para capacitar espermatozoides equinos previo a un protocolo de ICSI homóloga o para desarrollar protocolos de FIV con espermatozoides criopreservados.

DR1.7

RELEVANCIA DEL SÍNDROME METABÓLICO PARA LA FERTILIDAD MASCULINA: CARACTERIZACIÓN DE LA GRASA GONADAL MURINA

Herzfeld JD, Giaccagli MM, Cuasnicú PS, Toneatto J, Da Ros VG, Cohen DJ.

Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME)

E-mail: jaael.h@gmail.com

La prevalencia del síndrome metabólico (SM) ha aumentado en proporciones alarmantes en los últimos años, coincidiendo con la edad reproductiva y transformándose en un factor de riesgo para trastornos de la fertilidad. Por este motivo, en nuestro laboratorio estudiamos la posible relación entre SM y fertilidad masculina. Para ello, se utilizan ratones machos C57BL/6J alimentados con una dieta rica en grasa (35%) durante 30 semanas, mientras que el grupo control recibe una dieta estándar (6% de grasa). Si bien los ratones tratados desarrollan SM, no encontramos defectos en su fertilidad ni en los parámetros espermáticos. Más aún, el gran aumento en el peso de la grasa gonadal que presentan estos animales, contrariamente a lo esperado por la bibliografía, no logra afectar dichos parámetros reproductivos. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la grasa gonadal de estos animales. Para este fin, aislamos las dos subregiones de la grasa gonadal denominando grasa cercana

(GC) al botón de tejido adiposo adyacente al cauda epidídimo, donde se almacenan los espermatozoides, y grasa lejana (GL) al resto. Al evaluar el peso de dichas regiones, encontramos un aumento significativo de la GL en animales con SM en relación al control ($p < 0,005$) mientras que no observamos diferencias en el peso de la GC. A partir del análisis histológico, se pudo cuantificar el tamaño de los adipocitos así como la presencia de “*Crown-like structures*”, marcadores de procesos inflamatorios. Por un lado, se detectó un aumento significativo en el tamaño de los adipocitos de la GL en los animales con SM respecto al control ($p < 0,05$), no observado en la GC de animales con o sin SM. Asimismo, se encontró una mayor incidencia de “*Crown-like structures*” en la GL de los animales con SM respecto al control ($p < 0,05$), mientras que estas estructuras prácticamente no se encontraron en GC en ninguno de los dos grupos de animales. Como primera aproximación al estudio molecular de estos tejidos, se analizaron por Western blot los niveles de la ATGL (lipasa de triglicéridos, que cumple un rol fundamental en el proceso de lipólisis) y de UCP1 (marcador de grasa parda). Mientras que en la GL se observó una disminución significativa en los niveles de ATGL en animales con SM en relación al control ($p < 0,05$), en la GC no se encontró dicha diferencia. Respecto a UCP1, sorpresivamente, se observó su presencia sólo en la GC, encontrándose además una disminución en los animales con SM en comparación al control ($p < 0,05$). En conjunto, concluimos que hay diferencias en las características de la grasa gonadal cercana y lejana al cauda epididimario, siendo la cercana menos susceptible a la injuria metabólica y generando así un posible microambiente protector alrededor de los espermatozoides.

DR1.8

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON TROLOX Y RESVERATROL SOBRE LAS MITOCONDRIAS ACTIVAS DE OVOCITOS PORCINOS VITRIFICADOS Y ATEMPERADOS

Madrid Gaviria, S^{a,b}, Morado, S^{a,b}, Córdoba ^{a,b}, M, Cetica, P^{a,b}.

^aUniversidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. ^bUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: stephmadridg@gmail.com

El aumento en el uso de biotecnologías reproductivas ha generado la necesidad de desarrollar técnicas confiables para la conservación de gametas. Los ovocitos porcinos presentan un reto mayor para el éxito de estas técnicas debido a su alta susceptibilidad al daño por frío. Las mitocondrias son unas de las organelas metabólicamente más comprometidas en este proceso. Una de las alternativas para aumentar la eficiencia de las técnicas de criopreservación es el uso de antioxidantes. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de los antioxidantes trolox y/o resveratrol sobre la actividad mitocondrial de ovocitos porcinos vitrificados y atemperados. Complejos ovocito-cumulus (COCs) inmaduros fueron madurados *in vitro* en medio 199 suplementado con fluido folicular porcino (FFP), cisteína, FSH y LH, a 39°C, 5% CO₂ en aire humidificado por 44 h. Luego los COCs fueron incubados con hialuronidasa por 5 minutos a 37°C y desnudados con pipeta Pasteur fina. Los ovocitos fueron vitrificados y atemperados por el método de mínimo volumen Cryotech®. Para evaluar el efecto de los antioxidantes, las soluciones de vitrificación y atemperado fueron suplementadas, o no, con resveratrol y/o trolox a una concentración de 2 µM y 50 µM, respectivamente. Luego del atemperado,

los ovocitos se cultivaron en medio 199 + FFP durante 3 h para permitir su recuperación. Cumplido este tiempo se realizó la evaluación de mitocondrias activas mediante la tinción de los ovocitos con 0,5 μ M de MitoTracker Green durante 45 minutos en oscuridad. Después fueron lavados tres veces en medio PBS-PVA y colocados sobre un portaobjetos para su observación en microscopio de epifluorescencia. La fluorescencia exhibida por cada ovocito se analizó utilizando el software IMAGEJ a partir de las imágenes obtenidas. Los datos fueron analizados por ANOVA ($p < 0,05$). Se encontró que el proceso de vitrificación y atemperado genera un aumento significativo de las mitocondrias activas en comparación con los ovocitos frescos ($p < 0,05$). Este aumento también se evidenció en el grupo de ovocitos vitrificados en presencia de trolox, el cual no difirió del grupo vitrificado sin suplementación antioxidante, pero sí fue significativamente mayor que el grupo de ovocitos frescos ($p < 0,05$). Por otro lado, la adición de resveratrol al medio de vitrificación y atemperado, ya sea solo o en conjunto con el trolox, permitió restaurar parcialmente el nivel de actividad mitocondrial, siendo estos dos grupos significativamente menores que aquellos vitrificados en ausencia de antioxidantes o en presencia sólo de trolox, pero significativamente mayores que el grupo de ovocitos frescos ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que la adición de resveratrol a los medios de vitrificación y atemperado puede ser una alternativa para controlar en parte los cambios metabólicos que este procedimiento de criopreservación genera en los ovocitos porcinos. Sin embargo, resta conocer el efecto de estos antioxidantes en el control de la producción de especies reactivas de oxígeno y en la capacidad de los ovocitos de ser fecundados *in vitro*.

DR1.9

EFFECTO DEL ESTRÉS MATERNO SOBRE PARÁMETROS VASCULARES DEL ÚTERO Y LA PLACENTA

De la Cruz Borthiry FL, Scheffer F, Cañumil VA, Cella M, Beltrame JS, Franchi AM, Ribeiro ML.

Laboratorio de fisiología y farmacología de la reproducción; Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: fdelacruz@fmed.edu.ar

El estrés severo afecta negativamente la salud y se ha asociado con el desarrollo de diversas patologías. En particular, el estrés materno se ha correlacionado con cambios moleculares y fisiológicos en la placenta que alteran su correcto desarrollo. Se postula que estas alteraciones están relacionadas con patologías obstétricas e impactan negativamente en el desarrollo fetal. Sin embargo, las consecuencias del estrés crónico, leve y cotidiano sobre la salud reproductiva todavía no son conocidas. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto del estrés crónico leve sobre la gestación y en particular las adaptaciones vasculares de la interfase materno-fetal. Para ello, hembras de ratón BALB/c fueron alojadas en jaulas con un tercio del marlo que las hembras del grupo control. Además, día por medio las hembras del grupo estresado se colocaron sobre una tapa que fue sacudida durante un minuto. Se midieron los niveles séricos de glucosa, triglicéridos y colesterol. Se ligaron los vasos mayores que irrigan los cuernos uterinos, se fotografiaron y se midió la longitud transversal de las arterias uterina y arcuata. Los fetos y las placentas fueron extraídos, pesados y medidos. Se determinaron los niveles proteicos de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en la placenta. A su vez, se cuantificó la actividad de la NOS en la placenta. Los datos se analizaron mediante ANOVA de un factor, seguido del test de Tukey. En los casos de datos no

paramétricos se realizó el test de Kruskal Wallis. Las diferencias se consideraron significativas cuando el valor de p fue menor o igual a 0,05. En primer lugar, observamos que las hembras expuestas al protocolo de estrés presentaron mayores niveles de colesterol total y triglicéridos en suero que las hembras controles. Por su parte, los niveles de glucosa en sangre no se modificaron con el tratamiento. La longitud transversal de las arterias uterina y arcuata fue menor en las hembras estresadas. A su vez, los fetos de esas hembras presentaron menor peso que los controles. Sin embargo, el peso y tamaño de las placentas no varió entre los grupos. Por otro lado, se detectaron menores niveles proteicos de iNOS y VEGF en las placentas del grupo estresado. Además, estas placentas presentaron menor actividad de la NOS total que las del grupo control. En conjunto, estos resultados sugieren que el estrés crónico leve altera la fisiología materna y modula la fisiología vascular del útero y la placenta. Las alteraciones en la formación del lecho vascular uterino podrían afectar el desarrollo de la placenta y por lo tanto la llegada de oxígeno y nutrientes al embrión en crecimiento.

DR1.10

CARACTERIZACIÓN DE EVENTOS RELACIONADOS A LA CAPACITACIÓN Y PATRONES DE MOVILIDAD DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS INCUBADOS EN AUSENCIA DE NUTRIENTES EXÓGENOS

Oscosz-Susino N¹, Luque GM¹, Sierra JM¹, Mondillo C¹, Krapf D², Visconti PE³, Buffone MG¹, Marín Briggiler CI¹.

¹IBYME-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²IBR-CONICET, Rosario, Argentina. ³Department of Veterinary and Animal Science, University of Massachusetts, Amherst, MA, USA.

E-mail: natioscozita@gmail.com

La capacitación comprende una serie de cambios metabólicos, bioquímicos y estructurales fundamentales para que el espermatozoide logre fecundar a un ovocito. Si bien se sabe que la adquisición de la capacidad fecundante espermática *in vitro* requiere de glucosa, piruvato y lactato en los medios de cultivo, poco se conoce sobre los eventos moleculares y las características de la movilidad en espermatozoides incubados en ausencia de estos nutrientes exógenos. El objetivo de nuestro trabajo fue comparar los distintos eventos relacionados a la capacitación y los patrones de la movilidad espermática en presencia o ausencia de sustratos energéticos. Los espermatozoides provenientes de donantes sanos fueron incubados por 4 h en medio BWW conteniendo glucosa (5,5 mM), piruvato (0,27 mM) y lactato (25 mM) (llamado NUTR, por nutrientes) o depletado de los mismos (STRV, por *starving* o hambreado). Se analizaron el contenido de ATP mediante luminiscencia (kit de Cayman Chemical), los niveles de AMPc por radioinmunoensayo, de Calcio (Ca²⁺) intracelular por citometría de flujo y las fosforilaciones proteicas por Western blot. Además se evaluaron parámetros de la movilidad mediante un análisis computarizado basado en el seguimiento del desplazamiento de la cabeza (SCA, Microptic), un sistema de análisis de parámetros flagelares (FAST, Gallagher et al, 2019) y un registro de las trayectorias en 3 dimensiones (3D) (van der Horst, 2020). Los resultados mostraron que en el medio STRV se obtuvieron niveles de ATP, de AMPc y de fosforilación en sustratos tirosina significativamente menores que en el medio NUTR ($p < 0,05$; $n \geq 4$). En los espermatozoides incubados en STRV, se observaron niveles similares de fosforilación en sustratos de proteína quinasa A y niveles mayores de Ca²⁺ intracelular ($p < 0,05$; $n \geq 4$). En esta condición, el análisis por SCA y FAST mostró valores menores para los distintos parámetros cinemáticos, no se registró la ocurrencia de movilidad

hiperactivada ($p < 0,01$; $n=5$) y se obtuvieron trayectorias en 3D cualitativamente diferentes a las del medio NUTR. En conclusión, en este estudio se realizó una caracterización de los eventos moleculares relacionados a la capacitación y de los patrones de movilidad en ausencia de nutrientes exógenos, y se determinó el requerimiento de estos sustratos energéticos para el desarrollo de la hiperactivación en los espermatozoides humanos.

DR1.11

PARTICIPACIÓN DE LAS PROTEÍNAS CRISP EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO

Sulzyk V, Rebagliatti Cid A, Weigel Muñoz M, Cuasnicú PS.

IBYME-CONICET.

E-mail: sulzykvaleria@gmail.com

Las proteínas CRISP (Cysteine Rich Secretory Proteins) se expresan principalmente en el tracto reproductivo masculino de mamíferos y tienen funciones importantes en la fertilización. Si bien los animales *knockout* (KO) para cada proteína CRISP (1-4) son fértiles, los machos KO para CRISP1 y CRISP3 (DKO1/3) resultaron subfértiles debido a defectos en el desarrollo embrionario temprano. En base a ello, el objetivo del presente trabajo fue dilucidar los mecanismos que conducen a este fenotipo reproductivo. Para investigar si los defectos en el desarrollo embrionario podían deberse a una fertilización tardía mediada por fallas en el transporte espermático a través del tracto femenino, hembras prepúberes superovuladas fueron apareadas con machos DKO1/3 o control, analizándose los porcentajes de ovocitos fertilizados en la *ampulla* solo 4 horas después del apareamiento. Bajo estas condiciones, las tasas de fertilización no fueron significativamente diferentes entre los grupos si bien los ovocitos fertilizados correspondientes al grupo mutante exhibieron claras deficiencias para alcanzar el estadio de blastocisto *in vitro* respecto a los controles ($12,5 \pm 6,3$ vs $41,50 \pm 14$, $n=5$, $p < 0,05$). Como otra aproximación para evaluar si los defectos en el transporte de espermatozoides podrían ser responsables del fenotipo observado en los machos mutantes, hembras prepúberes superovuladas fueron apareadas con machos GFP (Green Fluorescent Protein)-DKO1/3 o GFP-control, analizándose la migración de espermatozoides dentro del oviducto mediante microscopía de fluorescencia. Los resultados confirmaron que los espermatozoides mutantes no presentaban defectos ni para ingresar al *isthmus* ni para migrar hacia la *ampulla* en comparación con los controles. Finalmente, para analizar si los defectos en el desarrollo embrionario de los machos DKO1/3 se originaban durante o luego de la maduración epididimaria, hembras superovuladas fueron inseminadas en los cuernos uterinos con espermatozoides DKO 1/3 o control, determinándose luego los porcentajes tanto de ovocitos fertilizados recuperados de la *ampulla* como de ovocitos que alcanzaban el estadio de blastocisto *in vitro*. Si bien no se detectaron diferencias en las tasas de fertilización *in vivo* entre los grupos, el porcentaje de blastocistos fue nuevamente significativamente menor para los machos mutantes que para los controles ($26,3 \pm 12,7$ vs $59,1 \pm 18,1$; $n=5$, $p < 0,05$), indicando que los defectos espermáticos que conducen a las deficiencias en el desarrollo embrionario de los machos DKO1/3 ya estarían presentes a nivel epididimario. En conjunto, estas observaciones apoyan un rol clave para CRISP1 y CRISP3 durante la maduración epididimaria y su posterior impacto en el desarrollo embrionario temprano.

SESIÓN 2: BIOQUÍMICA, FISIOLOGÍA Y METABOLISMO (BFM)

BFM1

EFFECTO DE LA DELECIÓN NEURONAL DEL D2R SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES DE AUTOFAGIA Y UPR HEPÁTICOS

Méndez García LF, Becú-Villalobos D, Sorianello E.

Laboratorio de Regulación Hipofisaria. Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME) – CONICET.

E-mail: esoriana@gmail.com

La secreción de la hormona del crecimiento (GH) es sexualmente dimórfica en muchas especies incluyendo roedores y humanos, e impacta en la expresión génica hepática de manera diferencial en hembras y machos. Resultados previos de nuestro laboratorio mostraron que la disrupción central del receptor de dopamina D2 (D2R) en los ratones *neuroDrd2KO* disminuye el eje de crecimiento y modifica los niveles de expresión de diversos genes sexualmente dependientes en el hígado, alterando de este modo el dimorfismo sexual hepático. Por otra parte, la autofagia constituye un mecanismo de mantenimiento de la homeostasis celular mediante la eliminación constante de proteínas mal plegadas y organelas dañadas. Estudios previos muestran diferencias sexuales en los niveles de autofagia, las cuales están implicadas en diversas enfermedades que afectan a uno u otro sexo de forma diferencial. Asimismo, una autofagia disfuncional genera estrés de retículo y promueve la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) tendiente a revertir dicha situación mediante la inducción de genes de autofagia. Por lo tanto, es de nuestro interés estudiar el efecto de la depleción central del D2R en la expresión de genes de autofagia y UPR con dimorfismo sexual en el hígado. Para ello, se colectó tejido hepático de ratones *neuroDrd2KO* adultos de ambos sexos y sus controles *Drd2^{loxP/loxP}*, y se realizaron ensayos de PCR en tiempo real para determinar la expresión de los genes sexualmente dimórficos de autofagia *LC3*, *SQSTM1/p62*, *Beclin1* y *Bnip3*, y de UPR *Bip*, *Chop* y *Xbp1* pre y post-splicing (*usXbp1* y *sXbp1*, respectivamente). Los resultados mostraron que en los ratones control los niveles de expresión de *LC3* fueron mayores en machos (T-Test $p=0.033$, $n=6$) corroborando así datos previos de literatura. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas para los demás genes de autofagia ni de UPR estudiados, aunque sí se evidenció una tendencia de mayor expresión para *SQSTM1/p62*, *Bip*, *Chop*, *usXbp1* y *sXbp1* en machos y para *Bnip3* en hembras. La depleción central del D2R no modificó la expresión de los genes de autofagia *LC3*, *SQSTM1/p62*, *Beclin1* y *Bnip3* en ninguno de los sexos (ANOVA ns, $n=6$, 3, 5-6 y 6, respectivamente), aunque mostró una tendencia a un aumento para todos los genes de autofagia analizados en las hembras *neuroDrd2KO*, así como también a una disminución de *Beclin1* en los machos *neuroDrd2KO* en relación a sus controles. Los genes de UPR *Bip*, *Chop*, *sXbp1* y *usXbp1* no evidenciaron diferencias significativas entre genotipos (ANOVA ns, $n=6$, 6, 6 y 3, respectivamente), observándose también en estos genes una tendencia a una mayor expresión en las hembras *neuroDrd2KO* para *sXbp1* y *usXbp1* en relación a los controles y una menor expresión en los machos *neuroDrd2KO* para *Chop* y *usXbp1* en relación a los controles. Estos resultados corroboran la existencia de un dimorfismo sexual hepático en ratón para el gen clave de autofagia *LC3*, y evidencian una posible alteración en el patrón de expresión de todos los genes analizados, a excepción de *Bip*, promovidas por el desbalance del eje GH producido por la ausencia del D2R central. Este trabajo fue financiado por CONICET, ANPCyT, Fundación René Barón y Fundación Williams.

BFM2**ONTOGENIA DEL SISTEMA ACTIVINAS – INHIBINAS HIPOFISARIO. PARTICIPACIÓN EN EL CONTROL DE PROLACTINA. DIFERENCIAS SEXUALES**

*Bornancini D**, *Abeledo-Machado A**, *Peña-Zanoni M*, *Díaz-Torga G*.

IBYME-CONICET.

E-mail: *dana.bornan@gmail.com*

**Igual contribución*

Los niveles séricos de prolactina (PRL) aumentan progresivamente desde el nacimiento hasta la edad adulta en ratas hembra y macho, siendo superiores a los niveles observados en las hembras, desde el nacimiento. Este aumento gradual y las diferencias sexuales observadas no se explican únicamente por la maduración de los mecanismos hipotalámicos y gonadales reguladores de PRL, por lo que se sugiere la participación de factores intrahipofisarios en esta regulación. Es sabido que las activinas inhiben la síntesis y secreción de PRL actuando sobre sus receptores presentes en el lactotrofo, involucrando la inhibición del factor de transcripción Pit-1, a través de la vía de p38MAPK. En el presente trabajo se estudió la participación de las activinas hipofisarias en la regulación de la secreción de prolactina durante el desarrollo posnatal, y sus diferencias sexuales. Se utilizaron ratas hembra y macho, de la cepa Sprague Dawley, de 11, 23 y 45 días de vida. A esas edades se evaluó la expresión génica hipofisaria de las subunidades de activina (*Inhba* y *Inhbb*) y de los receptores de activina (*ActRIB*, *ActRIIA* y *ActRIIB*) por RTqPCR, la expresión proteica de ActRIB específicamente en lactotrofos y la actividad biológica de activinas (mRNA de Pit-1). Las hipófisis de hembras de 11 días de vida presentaron la mayor expresión de *Inhba* e *Inhbb*, siendo significativamente mayor a la observada en machos de la misma edad. En hembras la expresión de *Inhba* e *Inhbb* disminuyó con la edad, mientras que en machos la expresión de *Inhbb* aumentó durante el desarrollo, siendo ésta la subunidad predominante en machos de 45 días. La expresión hipofisaria de *ActRI*, *ActRIIA* y *ActRIIB* también fue máxima a los 11 días en hembras y disminuyó durante el desarrollo, mientras que en machos permaneció estable durante todo el desarrollo. Por otro lado, evaluamos específicamente la proporción de lactotrofos (PRL+) que expresan al receptor (ActRIB+, expresión proteica) por doble inmunofluorescencia. Las hipófisis de hembras de 11 días presentaron la mayor proporción de lactotrofos positivos para el receptor, y la colocalización PRL/ActRIB disminuyó con la edad. Como medida de actividad biológica de las activinas sobre los lactotrofos, evaluamos la expresión génica de *Pit-1*. La expresión de *Pit-1* incrementó durante el desarrollo postnatal sólo en hembras, correlacionando negativamente con la expresión local de activinas. Nuestros resultados evidencian una importante actividad inhibitoria de las activinas en hembras de 11 días, la cual disminuye durante el desarrollo posterior, con un concomitante y gradual incremento en los niveles séricos de prolactina en este sexo. Esta tendencia no se observa en machos. Estos resultados describen un efecto sexo-específico de un factor intra-hipofisario, inhibitorio que contribuye a las diferencias sexuales observadas en el perfil ontogénico de los niveles de prolactina durante el desarrollo postnatal.

BFM3**DIFERENCIAS SEXUALES EN LAS ALTERACIONES METABÓLICAS QUE SURGEN CON LA EDAD EN RATONES QUE CARECEN DE RECEPTORES GABAB EN LAS CÉLULAS *KISS1***

Mastropiero R¹, Bizzozzero Hiriart M¹, Bettler B², Lux-Lantos VA¹. Di Giorgio NP¹.

¹Laboratorio de Neuroendocrinología, IBYME-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²Departamento de Biomedicina, Instituto de Fisiología, Universidad de Basilea, Basilea, Suiza.

E-mail: ndigiorgio@ibyme.conicet.gov.ar

Kisspeptina, codificada por *Kiss1*, y GABA son factores clave en la regulación de la reproducción y también del metabolismo, ya que se expresan en hígado/páncreas/tejido adiposo. Desarrollamos un ratón que carece de receptores GABAB (RGABAB) exclusivamente en las neuronas/células que expresan *Kiss1* (*Kiss1*-GABAB1KO o KO) para estudiar su impacto en la reproducción y el metabolismo. A diferencia de los aspectos reproductivos, encontramos claras alteraciones en parámetros metabólicos. Hembras KO de 3 meses (3M) incrementaron su peso corporal (BW), glucemia basal (NFG), secreción de insulina e índices HOMA-*beta cell* y presentaron reducción en la sensibilidad a insulina. Machos KO 3M mostraron BW y NFG normales, incremento de la glucemia en ayunas (FG), insulina sérica e índice HOMA-IR, respuesta alterada a sobrecarga de glucosa y menor sensibilidad a insulina. Aquí nos propusimos determinar si estas alteraciones metabólicas persistían o empeoraban con la edad en ratones controles y KO de 9 meses (9M) (análisis por Test t). Los machos KO 9M incrementaron su BW ($p < 0.05$), la masa de tejido adiposo blanco (WAT, $p < 0.01$) y la relación WAT/BW ($p < 0.01$). Aunque NFG y FG eran similares entre genotipos, los machos KO tenían un aumento de niveles séricos de insulina en ayunas ($p < 0.05$) y de su contenido pancreático ($p < 0.01$); así como también de los índices HOMA-*beta cell* ($p < 0.01$) y HOMA-IR ($p < 0.05$). Estas alteraciones no se debían a diferencias entre genotipos en el contenido de kisspeptina en el hipotálamo medio basal. No encontramos diferencias entre genotipos ni en los niveles séricos de kisspeptina, colesterol (CH) y triglicéridos (TRI), ni tampoco en el contenido de kisspeptina en WAT, tejido adiposo pardo (BAT) o hígado. Sin embargo, los niveles pancreáticos de kisspeptina disminuyeron un 35% en los machos KO ($p < 0.05$), y esta disminución podría inducir el aumento de los niveles de insulina observados a esta edad. Las hembras KO 9M presentaron BW, NFG, FG, niveles de insulina en ayunas, índices HOMA y niveles séricos de CH y TRI similares a las controles. Los niveles séricos de kisspeptina y el contenido de kisspeptina en hígado, páncreas y BAT fueron similares entre genotipos. Sin embargo, las hembras KO 9M tenían aumentado el contenido de kisspeptina en WAT ($p < 0.01$), lo que podría llevar a la disminución de la masa de WAT y a la normalización del peso, los niveles de insulina y su sensibilidad periférica. En resumen, la falta del RGABAB en las células *Kiss1* presenta claras diferencias sexuales en las alteraciones metabólicas con la edad. La respuesta periférica a insulina y la función pancreática empeoró con la edad en machos, quizás debido a una regulación autocrina/paracrina alterada del islote pancreático. Las hembras KO revirtieron su fenotipo con la edad. Resaltamos el impacto de los RGABAB en la regulación del sistema kisspeptidérgico en páncreas en machos y en WAT en hembras. CONICET, ANPCYT, ISN-CAEN.

BFM4

***Tessaria absinthioides* PREVIENE LOS EFECTOS METABÓLICOS DEL SOBRESUMO DE SACAROSA EN RATAS**

Mendez LB¹, Kruse MS¹, Marriscurrena J¹, Miranda S¹, Tapia A², Feresin GE², Coirini H¹, Rey M¹.

¹Lab. Neurobiología, IBYME-CONICET; ²Instituto de Biotecnología, Fac. de Ing.-UNSJ.

E-mail: mariana.rey@ibyme.conicet.gov.ar

En la región de Cuyo, la especie *Tessaria absinthioides* Gillies (Hook. & Arn.) DC. (Asteraceae; TA) es popularmente para reducir el colesterol total (COL). En un artículo publicado recientemente describimos las propiedades hipocolesterolemicas de TA en un modelo animal de dieta enriquecida en grasa y colesterol, junto con la descripción de su caracterización química, destacando su gran contenido de flavonoides, diterpenos y polifenoles. El objetivo de este trabajo fue evaluar si decocciones de TA también actúan sobre el metabolismo glucídico, evaluando la respuesta al test de tolerancia a la glucosa (TTG) y los niveles de glucemia basal (GLU), COL y triglicéridos (TG) de ratas sometidas a un sobreconsumo de sacarosa 10% P/V durante la etapa juvenil (niñez-adolescencia). Ratas macho (SD) recibieron agua (grupo A), sacarosa (grupo Sac), decocción de TA (5% P/V) sola (grupo TA5) o con sacarosa (grupo TA5Sac) o decocción de TA (10% P/V) sola (grupo TA10) o con sacarosa (grupo TASac10) desde el DPN21 al DPN61. El DPN 62 se realizó el TTG con un ayuno de 6 hs. Se determinó la GLU y se administró una sobrecarga de glucosa (2g/kg animal, vía i.p.). Se determinó la glucemia a los 30, 60 y 120 min post-inyección con un glucómetro, se graficó la curva de respuesta y se calculó el área bajo la curva (AUC). El nivel de COL y TG se determinó mediante kits comerciales en muestras séricas. El peso de las ratas se registró semanalmente. Sac presentó mayor GLU y AUC que A (11,6% y 15,63% respect.; $p < 0,05$). TASac5 exhibió menor GLU y AUC que Sac (17,37% y 22,00% respect.; $p < 0,05$). Mientras que TA5 sólo tuvo menor GLU que A (16,53%; $p < 0,05$). TASac10 presentó menor GLU y AUC que Sac (16,52% y 38,93% respect.; $p < 0,05$). En forma similar, TA10 exhibió menor GLU y AUC que A (16,67% y 21,74% respect.; $p < 0,05$). En Sac se observó mayor COL y TG respecto a A (38,00% y 67,95% respect.; $p < 0,05$). TASac5 presentó menos COL y TG respecto a Sac (62,67% y 61,07% respect.; $p < 0,05$). Mientras que TA5 sólo exhibió menor nivel de COL respecto a A (59,35%; $p < 0,05$). TASac10 presentó menos COL y TG respecto a Sac (63,99% y 69,31% respect.; $p < 0,05$). En TA10 se observó un menor nivel de COL y TG respecto a A (55,49% y 56,15% respect.; $p < 0,05$). Sac no presentó diferencias en el peso corporal respecto a A, sin embargo TASac5, TA5, TASac10 y TA10 pesaron menos que sus controles Sac y A (41,81%; 32,12%; 46,18% y 40,57% respect.; $p < 0,05$). No se encontraron diferencias significativas entre TASac5 y TA5 y entre TASac10 y TA10 en ninguno de los parámetros evaluados. Estos resultados indican que la co-administración de TA previno las alteraciones causadas por el sobreconsumo de sacarosa. Se debe realizar una caracterización más exhaustiva de la composición de estas decocciones para brindar nuevas oportunidades terapéuticas (PICT2019-623; CONICET-PIP00243; PICT2020-1695; CICITCA-UNSJ).

BFM5

ACTIVIDAD DE ANHIDRASA CARBÓNICA BRANQUIAL Y NIVELES DE BICARBONATO EN HEMOLINFA DEL CAMARÓN *Palaemon argentinus* (CRUSTACEA: DECAPODA) LUEGO DE UNA TRANSFERENCIA ABRUPTA A SALINIDADES CONCENTRADAS

Pinoni S¹, Asaro A¹, Maraschi A¹, Ituarte¹ RB.

¹IIMyC, CONICET-UNMDP, Funes 3250, Mar del Plata.

E-mail: sapinoni@gmail.com

El camarón “dulceacuícola” *Palaemon (=Palaemonetes) argentinus* vive y se reproduce en agua dulce, pero también en salinidades cercanas a la del agua de mar, por lo tanto, representa un buen modelo

para estudiar los mecanismos subyacentes que permiten tolerancia a alta salinidad, mecanismos desconocidos aún para la mayoría de los taxa acuáticos. Previamente observamos el efecto de la transferencia a salinidades concentradas en la actividad NKA, aunque se desconoce el posible rol de otras enzimas clave, como la anhidrasa carbónica (AC), en mecanismos osmoionorregulatorios. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad de AC en branquias aisladas y concentración de bicarbonato en hemolinfa de adultos del camarón *P. argentinus* en agua dulce (1‰, T0: control) y transferidos abruptamente a salinidades concentradas (15 y 25‰) durante un plazo corto (6h), mediano (48 h) y largo (>3 semanas). La actividad de AC se determinó colorimétricamente como actividad pNPacetilasa inhibible por acetazolamida (buffer 0,1 M Hepes-Tris pH 7,4; 1 mM pNPA; $\pm 2,5 \mu\text{M}$ acetazolamida) en sobrenadante (10000xg 30 seg) de homogenato de pool de branquias (0,25 M Sacarosa/EGTA-Tris 0,5 mM, pH 7,4). La concentración de bicarbonato se midió colorimétricamente (kit comercial de CO₂; Wiener Lab AA) en agua (A) y hemolinfa (HI). La HI se extrajo mediante punción del pericardio con jeringa. Se poolearon muestras de los tejidos de 3-6 camarones por réplica. Las diferencias estadísticas entre los tiempos de exposición se evaluaron con ANOVAs de una vía (n=5-8; p<0,05) y el test Holm-Sidak para las comparaciones *a posteriori* vs T0; mientras que entre la hemolinfa y su correspondiente medio se realizó con t-test (n=3-4; p<0,05). AC disminuyó alrededor del 50% luego de 48 h de exposición a 15 ‰ con respecto al control 1‰ (T0: $45,5 \pm 13 \text{ nmol pNP min}^{-1} \text{ mg prot}^{-1}$), mientras que los niveles de actividad a corto y largo plazo fueron similares al control. La transferencia a 25 ‰ no afectó la AC. A T0, la concentración de bicarbonato fue mayor que la del medio externo (HI: $12,2 \pm 0,9$; A: $2,5 \pm 0,2 \text{ mmol/L}$), disminuyendo luego de 6 h de la transferencia a 15 ‰ ($5,6 \pm 0,4 \text{ mmol/L}$), mientras que a las 48 h y largo plazo se reestablecieron los valores de T0, siendo, a su vez similares a los del medio. Durante la transferencia a 25 ‰, el bicarbonato fue constante en HI, siendo similar tanto a HI T0 como al correspondiente medio externo a 25 ‰. Los resultados indican que *P. argentinus* es capaz de hiperregular iones bicarbonato en agua dulce. La variación en la actividad de AC en branquias a mediano plazo indica que esta enzima está involucrada en los procesos osmoionorregulatorios y sugieren una respuesta diferencial según el grado de estrés salino.

BFM6

ROL DE LYS-66 EN LA REDUCCIÓN DE FAD POR NADPH EN GLUTATIÓN REDUCTASA

Bonanata J.

Laboratorio de Química Teórica y Computacional, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, y Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de la República, Uruguay.

E-mail: jbonanata@fcien.edu.uy

El glutatión es el principal antioxidante y capturador de electrófilos del medio intracelular, y puede encontrarse en dos formas reducida (GSH/GS⁻; activa) y oxidada (GSSG; inactiva). Se desprende entonces, que es crucial mantener altos los niveles de GSH/GS⁻, función llevada a cabo por la glutatión reductasa (GR), miembro de la familia de las flavoproteína disulfuro reductasas (FDRs) que cataliza la reducción de GSSG a GSH/GS⁻ usando NADPH como reductor. El ciclo catalítico propuesto para la GR consta de: (a) reducción del FAD a FADH⁻ por NADPH; (b) ataque nucleofílico del FADH⁻ sobre el disulfuro ⁶³Cys-SS-Cys⁵⁸, dando el tiolato ⁵⁸Cys-S⁻ y el aducto-4a ⁶³Cys-S-FADH; (c) disociación, catalizada por una base, del aducto-4a dando ⁶³Cys-S⁻ y regenerando el FAD; (d) ataque nucleofílico

de $^{58}\text{Cys-S}^-$ sobre el GSSG dando $^{58}\text{Cys-SSG}$ y GS^- ; y (d) ataque nucleofílico de $^{63}\text{Cys-S}^-$ sobre $^{58}\text{Cys-SSG}$ regenerando $^{63}\text{Cys-SS-Cys}^{58}$ y liberando GS^- . Estudios cristalográficos muestran un par Glu-201:Lys-66 —con análogos en otras FDRs— que se ha sugerido que tiene un rol catalítico, pudiendo actuar como un par iónico que guiaría la etapa (a), sin embargo, Lys-66 en su forma neutra, podría actuar como base en la etapa (c). En este trabajo se caracterizó la etapa (a) del ciclo catalítico de la GR mediante modelado QM/MM, considerando a Lys-66 en forma neutra y protonada. Los resultados arrojan valores de entalpía de activación a 298 K de 13.9 (Lys-66 protonada) y 11.7 kcal/mol (Lys-66 neutra), y valores de entalpía de reacción de 6.3 (Lys-66 protonada) y -8.9 kcal/mol (Lys-66 neutra). Estos resultados sugieren que en GR —y posiblemente en otras FDRs— el par Glu:Lys no es un par iónico, sino que el residuo Lys debe encontrarse en forma neutra para que se dé la reducción de FAD a FADH.

BFM7

EFECTO DE LA METFORMINA SOBRE LAS ALTERACIONES DE ANSIEDAD ASOCIADAS AL SOBRECOSUMO DE SACAROSA

Marchena A¹, Rey M¹, Coirini H¹, Kruse MS¹.

¹Lab. Neurobiología, IBYME-CONICET.

E-mail: sol.kruse@conicet.gov.ar

El sobreconsumo de bebidas azucaradas impacta negativamente al cerebro en desarrollo, produciendo trastornos de la ansiedad, de aprendizaje y de memoria. Aquí estudiamos si el tratamiento con el antihiperoglucemiante metformina, revierte algunas de las alteraciones del tipo ansioso y de memoria producidas por sacarosa en bebida (10% P/V). Ratas Sprague-Dawley fueron expuestas a una botella conteniendo sacarosa (grupo sacarosa) o agua (grupo control) durante 30 días. Paralelamente, un grupo de animales del grupo sacarosa fueron tratados diariamente con metformina (25 mg/kg o 50 mg/kg, vía oral; grupos MET25 y MET50, respectivamente). Al finalizar los tratamientos, los animales fueron testeados para las pruebas de campo abierto (OF), laberinto en cruz elevado (EPM) y localización novedosa de un objeto (NOL). En el OF los animales del grupo sacarosa estuvieron más en las zonas centrales, evidenciado por un aumento en el número de entradas a dichas zonas ($p= 0.0069$) y mayor tiempo de permanencia ($p= 0.0339$) y distancia allí recorridas ($p= 0.0412$). En EPM, los animales del grupo sacarosa estuvieron más tiempo en los brazos abiertos ($p= 0.0298$) y menos tiempo en el cuadrado central respecto del control ($p=0.0003$). El tratamiento con metformina afectó el comportamiento de los animales que consumieron sacarosa. En el OF, MET25/50 disminuyó el número de entradas ($p= 0.0013$) y la distancia recorrida en las zonas centrales ($p= 0.0121$), mientras que en el EPM, redujo el tiempo de permanencia en los brazos abiertos ($p= 0.0189$) y restableció el tiempo en el cuadrado central al nivel del control ($p= 0.0006$). En la prueba de NOL, los animales del grupo sacarosa, presentaron menor interés por la novedad ($p= 0.0100$) y el tratamiento con metformina no revirtió dicha alteración ($p= 0.1208$). Estos resultados demuestran que el consumo crónico de sacarosa produce una reducción de la inhibición a un ambiente ansiogénico, que puede ser revertido por el tratamiento con metformina (PICT-623/2019; PICT-1695/2020).

BFM8**EFFECTOS DEL BLOQUEO DEL RECEPTOR DE MINERALOCORTICOIDES (MR) SOBRE LA INFLAMACIÓN EN LA ENCEFALITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL (EAE)***Álvarez Quintero G¹, Meyer M¹, Lima A¹, Roig P¹, De Nicola AF^{1,2}, Garay LI^{1,2}.**¹Laboratorio de Bioquímica Neuroendócrina, Instituto de Biología y Medicina Experimental**²Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.**E-mail: laurainegaray@gmail.com*

Diversos estudios relacionan la activación del receptor de mineralocorticoides (MR) con actividad proinflamatoria a nivel periférico y central. La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad crónica, inflamatoria y desmielinizante del Sistema Nervioso Central (SNC). En este trabajo, se estudió el rol del MR sobre la performance clínica, parámetros inflamatorios, así como también la expresión de los receptores MR y GR en la médula espinal e hipocampo de ratones con encefalitis autoinmune experimental (EAE), modelo animal de EM. Se analizaron tres grupos experimentales: Control (CTRL), EAE tratado con vehículo (EAE+VEH) y EAE tratado con Eplerenona (bloqueante selectivo del MR) 100mg/kg/día i.p a partir del primer día de inducción de la enfermedad (EAE+EPL) empleando técnicas de qPCR, ELISA e inmunohistoquímica. En concordancia con resultados previos, en la fase aguda de la enfermedad el grupo EAE+VEH mostró síntomas clínicos más severos asociados a un mayor grado de neuroinflamación en la médula espinal vs el grupo CTRL. Por el contrario, los animales que recibieron Eplerenona mostraron una mejoría vs EAE+VEH en la performance clínica y una disminución significativa en la expresión del ARNm para el receptor tipo toll 4 (TLR4) ($p < 0.05$) acompañados de una tendencia a la menor expresión transcripcional de la proteína adaptadora Myd88 de la vía TLR4, del inflammasoma NLRP3, del factor de transcripción NF κ B y del marcador microglial CD11B en la médula espinal. A nivel plasmático, los animales EAE+EPL mostraron menores niveles de IL-1 β en comparación con los EAE+VEH ($p < 0.05$). El análisis cuantitativo de la expresión de los receptores MR y GR en la médula espinal e hipocampo mostró una disminución significativa de la inmunoreactividad en los EAE+VEH vs CTRL ($p < 0.05$) en coincidencia con un mayor grado de neuroinflamación, mientras que el tratamiento con EPL revirtió la baja expresión del MR ($p < 0.05$ vs EAE+VEH; ns vs CTRL) pero no del GR. Estos resultados sugieren un efecto antiinflamatorio moderado de la EPL en el SNC de animales EAE conduciendo a una mejoría en los síntomas neurológicos. Considerando la capacidad de unión de los glucocorticoides a ambos receptores MR y GR, sugerimos que en el grupo EAE+ EPL, un incremento de los glucocorticoides endógenos asociados al estado inflamatorio active en mayor grado el GR atenuando los efectos indeseables de la activación del MR. Futuros estudios combinando inhibidores del GR y MR contribuirán a dilucidar el rol diferencial de ambos receptores en la inflamación del SNC.

BFM9**EL OLIGONUCLEÓTIDO IMT504 MEJORA LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y EL ESTADO DEL TEJIDO ADIPOSO VISCERAL EN UN MODELO MURINO DE SÍNDROME METABÓLICO Y DIABETES TIPO 2 INDUCIDO POR UNA DIETA ALTA EN GRASA***Domé L¹, Riaño JM¹, Whale C², Maletta C², Montaner AD³, Lux-Lantos VAR¹, Bianchi MS¹.**¹IBYME-CONICET, ²Escuela ORT y ³ICT Milstein-CONICET; Bs As, Argentina.*

E-mail: msbianchi@ibyme.conicet.gov.ar

Previamente hemos demostrado que el tratamiento con el oligonucleótido inmunomodulador IMT504 restablece la homeostasis de la glucosa, disminuye el peso corporal y la ingesta de alimento en un modelo murino de síndrome metabólico (SM) y diabetes tipo 2 (DT2) asociado a obesidad, inducido por una dieta rica en grasas. Acá evaluamos el efecto de IMT504 sobre la secreción de insulina, la resistencia periférica a insulina y el tejido adiposo visceral (TAV) en este modelo.

Ratones machos C57BL/6LP fueron alimentados con una dieta estándar (SD) o una dieta rica en grasas (HFD: ResearchDiet, D12492) durante 12 semanas. Los animales HFD presentaban glucemias post-prandiales elevadas (Gly: $p < 0.01$) y mayor peso corporal ($p < 0.01$). Los ratones HFD recibieron una dosis de IMT504 (ip IMT: 2 mg/kg/día, 6 mg/kg/día o 20 mg/kg/día) o de solución fisiológica durante 12 días consecutivos. Se realizaron test de secreción de insulina (TSI, día 10). El día 12; luego de 3 horas de ayuno, se midieron las Gly y los ratones fueron sacrificados. Se recolectaron muestras de sangre y VAT. Se determinaron los niveles de insulina sérica (INS por ELISA), la resistencia a insulina (por HOMA-IR) y la expresión de genes clave en TAV (por qPCR).

La INS fue mayor en los ratones HFD y el tratamiento con IMT indujo una disminución dosis-dependiente de la misma [ANOVA: $p < 0.01$; SD, IMT6 e IMT20 diferentes de HFD, $p < 0.01$]. El IMT también revirtió la resistencia a insulina en los animales HFD [TSI: ANOVA de medidas repetidas: interacción, NS, efecto principal: tratamiento, $p < 0.01$; HFD diferente de SD, IMT6 e IMT20, $p < 0.02$], [HOMA-IR: ANOVA, $p < 0.01$; HFD diferente a SD, IMT2, IMT6: $p < 0.02$]. La expresión de la lipoproteína lipasa fue menor en el TAV de todos los ratones HFD [ANOVA, $p < 0.001$, SD diferente de todos: $p < 0.001$]. Los tratamientos con IMT6 e IMT20 revirtieron parcialmente la expresión incrementada de leptina de los ratones HFD [ANOVA, $p < 0.05$, SD diferente de HFD: $p < 0.05$] y normalizaron los niveles elevados del marcador de macrófagos F480 [ANOVA: $p < 0.01$, HFD diferente de SD, IMT6 e IMT20, $p < 0.01$].

Estos resultados muestran que el IMT504 promueve una mejora significativa, dependiente de la dosis, en la condición diabética al mejorar la resistencia a insulina y alteraciones del TAV que están asociadas al SM y DT2 en ratones HFD. Se necesita más investigación para comprender su mecanismo de acción. CONICET, ANPCYT, F. R Barón, F. Williams, Johnson & Johnson.

BFM10

ACCIÓN DE *Oxalis erythrorhiza* SOBRE RATAS SOMETIDAS A UN SOBRECONSUMO DE SACAROSA

Mendez LB¹, Kruse MS¹, Miranda S¹, Marriscurrena J¹, Tapia A², Feresin GE², Coirini H¹, Rey M.¹

¹Lab. Neurobiología, IBYME-CONICET; ²Instituto de Biotecnología, Fac. de Ing.-UNSI.

E-mail: mariana.rey@ibyme.conicet.gov.ar

La caracterización química de la especie *Oxalis erythrorhiza* Gillies ex Hook. & Arn. (Oxalidaceae; Oe) reveló la presencia mayoritaria de la benzoquinona bioactiva embelina, que produce efectos antidiabetogénicos. Recientemente, describimos que Oe mejora la respuesta en el test de tolerancia a la glucosa (TTG) y la conducta de tipo ansioso evaluada en un test de campo abierto (OFT) en ratas sometidas a un sobreconsumo de sacarosa. El objetivo de este trabajo fue repetir el ensayo para validar los resultados previos y evaluar la ansiedad en un laberinto en cruz elevado (EPM). Ratas macho

(SD) recibieron sacarosa (10% P/V, grupo SAC) o una decocción de Oe (5% P/V) con sacarosa (grupo SACOe) desde el DPN21 al 61. El DPN 62 y con un ayuno previo de 6 hs, se determinó la glucemia basal y se realizó el TTG, administrando una sobrecarga de glucosa (2g/kg animal, vía i.p.). La glucemia se determinó a los 30, 60 y 120 min post-inyección con un glucómetro, se graficó la curva de respuesta y se calculó el área bajo la curva (AUC). En los DPN63 y 64 se realizaron el OFT y el EPM respectivamente. Los videos se analizaron con el programa ANY-Maze®. Este programa determina el tiempo de permanencia (TP), la distancia recorrida (DR) y el número de entradas (NE) en las zonas del dispositivo OFT (central: zona 1; intermedia: zona 2 y periférica: zona 3) y en los brazos abiertos (BA) y cerrados (BC) del EPM. Dos observadores que desconocían el tratamiento de los animales evaluaron las conductas de “grooming” (GROOM) y de “rearing” (REAR) en el EPM. SACOe presentó un menor AUC respecto a SAC (24,10%; $p < 0,05$) de igual modo que en el estudio anterior. En cuanto al OFT, no se observaron diferencias entre los grupos. El nivel de ansiedad en SAC fue menor que en el ensayo previo, observándose un aumento en TP, DR y NE en las zonas 1+2 ($p < 0,05$). Mientras que SACOe presentó un mayor nivel de ansiedad que en el estudio anterior, encontrándose un aumento en TP y DR en la zona 3 ($p < 0,05$). Con respecto al EPM, SACOe presentó menor TP y DR en BA respecto a SAC (72,47% y 72,60%, respect.; $p < 0,05$). No se registraron diferencias en las conductas de GROOM y REAR entre ambos grupos. En ambos tests conductuales no se observaron los efectos esperados por la administración de Oe. La diferencia en las respuestas conductuales podría atribuirse a la época del año en la que se realizaron los ensayos (octubre-noviembre y marzo-abril) o a las modificaciones en las condiciones ambientales de los animales (ruidos, cambio de cama, entre otros). Si bien nuevamente se observó una respuesta favorable en cuanto al metabolismo de la glucosa, no se encontraron las propiedades ansiolíticas esperadas. Estudios adicionales son necesarios para proponer a la decocción de Oe como una nueva fuente de fitocompuestos terapéuticos (PICT2019-623; CONICET-PIP00243; CICITCA-UNSJ).

BFM11

EFFECTO DEL AGONISTA DOPAMINÉRGICO CABERGOLINA SOBRE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS *IN VITRO*

Etcheverry-Boneo L, Méndez García LF, Becú-Villalobos D, Sorianello E.

Laboratorio de Regulación Hipofisaria. Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME) – CONICET.

E-mail: esoriana@gmail.com

La autofagia es un mecanismo que permite la homeostasis celular mediante la eliminación constante de proteínas ubiquitinadas potencialmente tóxicas y organelas dañadas. Su desregulación en células beta pancreáticas contribuye al desarrollo de diabetes, por lo que los moduladores de la autofagia son potenciales agentes terapéuticos para el tratamiento de la diabetes humana. Literatura previa indica que la activación del receptor D2 de dopamina (D2R) puede alterar la autofagia en diversos tipos celulares. Por ende, el objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de la activación del D2R por su agonista Cabergolina (CAB) sobre el proceso autofágico en células beta pancreáticas. Con este propósito, estimulamos cultivos de la línea celular beta pancreática murina MIN6B1 con CAB 10^{-5} M durante 1, 6 y 24h para evaluar la cinética de formación de vesículas autofágicas, y por otra parte con

CAB 10^{-5} M en presencia o ausencia de Cloroquina (CQ), un inhibidor en etapas tardías del proceso de autofagia, durante 1, 6 y 24h con el fin de estudiar el flujo autofágico. Mediante Western Blot e inmunofluorescencia y microscopía confocal se analizaron los marcadores de autofagia LC3 (marcador de vesículas autofágicas) y p62/SQSTM1 (receptor del cargo a ser degradado mediante autofagia y sustrato de degradación por autofagia). CAB provocó un incremento en la nucleación de LC3 en función del tiempo de estimulación, mostrando diferencias significativas relativas al control a partir de las 6hs (ANOVA de un factor con medidas repetidas $p=0,0038$; Tukey: Control vs CAB6h $p<0,05$; Control vs CAB24h $p<0,01$). A su vez, se evidenció un aumento significativo de los niveles de p62/SQSTM1 a las 24hs de estimulación con CAB (ANOVA de un factor con medidas repetidas: $p=0,0157$; Tukey: Control vs CAB24h $p<0,05$). Al estudiar el efecto de CAB sobre el flujo autofágico se observó que CQ incrementó significativamente los niveles de LC3 y p62 a 24h de incubación (ANOVA de dos factores (CQ y CAB), con medidas repetidas: para LC3: interacción $p<0,05$; Tukey: CQ vs Control $p<0,0001$; para p62/SQSTM1: efecto pretratamiento CQ $p<0,05$). En forma interesante, CAB disminuyó la acumulación de LC3 (Test-T Delta (CQ-Control) vs Delta (CQCAB-CAB): $p=0,04$) y de p62/SQSTM1 (Test-T Delta (CQ-Control) vs Delta (CQCAB-CAB): $p=0,01$) provocada por CQ a las 24h. Por lo tanto, concluimos que CAB es capaz de incrementar la formación de vesículas autofágicas y, a su vez, disminuir el flujo autofágico luego de 24h de estimulación en la línea celular beta pancreática MIN6B1. Este trabajo fue financiado por CONICET, ANPCyT, Fundación René Barón y Fundación Williams.

Jueves 1 de diciembre

SESIÓN 1: BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 2 (DR2)

DR2.1

UTILIZACIÓN DE LÍPIDOS ENDÓGENOS DURANTE LA CAPACITACIÓN Y REACCIÓN ACROSOMAL *IN VITRO* DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS REFRIGERADOS

Satorre M^a, Rodríguez P^a, Cetica P^{a,b}, Breininger E^{a,b}.

^aUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina. ^bUniversidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: msatorre@fvet.uba.ar

El espermatozoide porcino utiliza una amplia variedad de sustratos energéticos para el mantenimiento de sus funciones metabólicas. Sin embargo, los mecanismos de producción, control y uso de diferentes sustratos oxidativos para generar la energía que requieren para lograr una fecundación exitosa no están completamente dilucidados. El objetivo de este trabajo fue estudiar el rol de los lípidos endógenos en la capacitación y la reacción acrosomal (RA) *in vitro* de espermatozoides porcinos refrigerados. Las muestras (n=6) fueron fraccionadas e incubadas a 37°C en TBM en diferentes condiciones: a) con glucosa y piruvato, b) sin glucosa y piruvato, c) con glucosa y piruvato + bicarbonato (inductor de la capacitación), d) sin glucosa y piruvato + bicarbonato, e) sin glucosa y piruvato + bicarbonato + etomoxir (inhibidor de la beta-oxidación de ácidos grasos) y f) sin glucosa y piruvato + bicarbonato + L-carnitina (estimulador de la beta-oxidación de ácidos grasos). Luego de la capacitación

y de la RA (inducida con 30% de fluido folicular) se evaluaron: la motilidad (microscopia óptica), la viabilidad (tinción vital de eosina-nigrosina), la capacitación (técnica fluorescente de clorotetraciclina) y la RA verdadera (contraste diferencial interferencial con azul tripán). Los datos fueron analizados estadísticamente por ANOVA y comparados con el test de Bonferroni ($p < 0,05$). Los espermatozoides conservaron sin diferencias significativas su motilidad y viabilidad en todos los tratamientos. En el medio sin sustratos oxidativos (d), los espermatozoides no respondieron a la inducción de la capacitación ni de la RA, a diferencia del medio con glucosa y piruvato (c, $p < 0,05$). La presencia de L-carnitina (f) produjo un incremento significativo en el porcentaje de espermatozoides capacitados y de la RA (versus d, $p < 0,05$), sin alcanzar los valores logrados en el medio con sustratos oxidativos (c, $p < 0,05$). Estos resultados sugieren que los espermatozoides porcinos, durante la incubación en un medio capacitante libre de sustratos oxidativos, pueden utilizar los lípidos endógenos como fuente energética para producir la capacitación espermática y la RA. La energía obtenida por la oxidación de ácidos grasos no sería indispensable para el mantenimiento de la motilidad espermática, dado que en presencia de etomoxir no se afecta este parámetro. Futuros estudios sobre la utilización de otros sustratos oxidativos complementarán estos resultados y contribuirán a dilucidar las vías metabólicas utilizadas por los espermatozoides porcinos para obtener la energía requerida para dichos procesos.

DR2.2

EL LIPOPOLISACÁRIDO DE *E. coli* ALTERA EL CRECIMIENTO FETAL EN UN MODELO DE INFECCIÓN SUBCLÍNICA EN RATA

*Scheffer F, De la Cruz Borthiry FL, Bogetti ME, Cañumil VA, Franchi AM, Beltrame JS, Ribeiro ML.
Centro de Estudios de Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO, CONICET-UBA)
E-mail: frida.scheffer@gmail.com*

Las infecciones subclínicas provocan un desequilibrio del balance inmune que podría tener graves consecuencias para el embarazo. Se ha postulado que alteraciones en la respuesta inflamatoria de la interfase materno-fetal podrían ocasionar disfunción placentaria impactando sobre el desarrollo de la descendencia. Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que la administración de lipopolisacárido de *E. Coli* (LPS) a ratas durante la gestación temprana se asocia con un aumento del diámetro de las arterias uterinas y arcuatas en día 9 de gestación. El objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de una infección subclínica sobre las placentas y los fetos de día 15 de gestación y sobre la descendencia. Para esto, ratas preñadas de la cepa Wistar recibieron vehículo (solución salina, control) o LPS intraperitoneal como estímulo infeccioso (20 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en el día 6 + 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en los días 7, 8 y 9 de gestación). Los animales fueron eutanasiados el día 15 de gestación o se les permitió llegar a término. Se realizaron determinaciones sobre los fetos, las placentas, las madres y las crías. Los datos se analizaron mediante ANOVA de un factor y prueba t-Student. Las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0,05$. Observamos que el tratamiento con LPS no produjo síntomas macroscópicos de infección en las ratas preñadas: no se observó piloerección, aumento de la temperatura corporal, disminución en la ingesta o falta de movimiento. A nivel microscópico tampoco se observaron infiltrados leucocitarios en órganos como el riñón, pulmón e hígado. Por otro lado, no se encontraron diferencias en el número de fetos viables ni en el porcentaje de reabsorción embrionaria entre las hembras controles y las inyectadas con LPS. Sin embargo, el LPS disminuyó el

peso de los fetos sin modificar el peso de las placentas. Además, las ratas inyectadas con LPS presentaron una coloración más intensa y violácea de la sangre de las arterias uterinas y arcuatas. Las crías de ratas tratadas con LPS nacieron a término en el día 22 de gestación y el tratamiento no modificó el tamaño de la camada, ni el peso de las crías en los días 1 y 4 post-natal. Nuestros resultados muestran que las dosis administradas de LPS afectan el crecimiento de los fetos intra-útero sin modificar el número de los mismos ni de crías, así como tampoco el peso de las placentas y el porcentaje de reabsorción embrionaria. Además, no produce síntomas visibles de infección. Por lo tanto, proponemos que una infección subclínica podría afectar la estructura y función de las placentas lo que provocaría una disminución en los pesos fetales.

DR2.3

IMPACTO DE LA OBESIDAD SOBRE LA *PERFORMANCE* REPRODUCTIVA EN RATONES HEMBRA

Koutsovitits C, Anselmi SK, Elias M, Depino AM, Elia EM.

Universidad de Buenos Aires (UBA)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)- Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE); Buenos Aires, Argentina.

E-mail: catekoutsovitits@gmail.com

La obesidad es la pandemia del siglo XXI. Todos los países han visto aumentar el nivel de índice de masa corporal de su población, en especial la femenina, desde finales de los años 70. La obesidad o el sobrepeso repercute en distintos aspectos de la vida reproductiva de la mujer, asociándose con diversos problemas reproductivos como infertilidad y disfunción ovulatoria. La obesidad inducida por dieta de cafetería (CAF) en ratones es un modelo animal muy utilizado debido a que refleja los hábitos de la dieta occidental. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la obesidad sobre la *performance* reproductiva de ratones hembra. Para ello, ratones hembra CF1 de 21-23 días de edad se dividieron en dos grupos: Control y CAF. Ambos fueron alimentados *ad libitum* con dieta estándar y el grupo CAF recibió, además, CAF hasta detectar un aumento significativo en el peso corporal con respecto al Control. Luego, se les realizó una curva de tolerancia a la glucosa (GTT), fueron puestas en apareo, se permitió el nacimiento de las crías y se registraron sus pesos corporales desde el día posnatal 7 (P7) hasta el destete (P21). Las hembras CAF presentaron un peso corporal significativamente mayor que las controles luego de 75 días de protocolo dietario, sin mostrar alteraciones en la glucemia basal ni en la GTT. Los índices de fertilidad y fecundidad, como el tiempo de concepción y el número de crías nacidas fueron similares entre ambos grupos. El peso corporal de las gestantes CAF fue significativamente mayor que el de las Control luego del día 18,5 de gestación ($p=0,022$). Las crías macho de madres CAF mostraron pesos corporales significativamente mayores que las Control tanto en P7, 14 y 21 ($p<0,05$), mientras que el peso de las crías hembras CAF fue mayor que el de las Control a P21 ($p=0,003$). Se puede concluir que la dieta de cafetería induce obesidad en ratones hembra CF1 luego de 11 semanas de administración, sin alterar el metabolismo de los glúcidos ni la *performance* reproductiva. Sin embargo, la ganancia de peso de las hembras durante la gestación fue mayor en el grupo CAF que en el Control, a pesar de ser todas alimentadas con dieta estándar en este período. El peso corporal de la descendencia CAF fue mayor que las crías Control,

independientemente del sexo. En machos esto se manifestó en los primeros días post natales, mientras que en hembras esto fue evidente al destete.

DR2.4

RELACIÓN ENTRE LA FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA MURINA Y LA COMPOSICIÓN DE LOS MEDIOS DE CAPACITACIÓN

*Giaccagli MM**, *González LN**, *Herzfeld JD*, *Cuasnicú PS*, *Cohen DJ*, *Da Ros VG*.

**Ambos autores contribuyeron por igual. IBYME-CONICET.*

E-mail: giaccaglimilagros@gmail.com

Para fertilizar al ovocito, los espermatozoides de mamíferos sufren cambios funcionales y estructurales en el tracto femenino conocidos como capacitación. Este proceso puede ser llevado a cabo *in vitro*, y para el ratón se han descrito diversos medios de cultivo en la bibliografía. En base a ello, el objetivo de este trabajo fue determinar para cada uno de los indicadores de capacitación y capacidad fertilizante comúnmente utilizados, cuál es el medio de cultivo más adecuado. Para ello, se recuperaron espermatozoides del cauda epididimario de machos adultos C57BL/6 x BALB/c y se capacitaron en los medios: Fraser y Drury (FD), Toyoda–Yokoyama–Hosi TYH (TYH), TYH modificado con HEPES (TYH-HEPES) o Human Tubal Fluid (HTF). Mediante Western Blot de extractos de espermatozoides capacitados demostramos que los patrones de fosforilación de sustratos de PKA y de residuos de tirosina, eventos importantes que ocurren durante la capacitación, fueron similares en los distintos medios. Por otro lado, en la motilidad total observamos sutiles diferencias entre los medios, siendo TYH-HEPES el de peor rendimiento ($p < 0,05$), lo que sugiere que el HEPES podría tener un efecto negativo sobre la motilidad. El porcentaje de reacción acrosomal espontánea fue mayor en los espermatozoides capacitados en medio HTF o TYH-HEPES ($p < 0,05$) mientras que la inducida por progesterona fue mayor sólo en medio HTF ($p < 0,05$). A continuación, para analizar la capacidad fertilizante de los espermatozoides, se realizaron ensayos de fertilización y de desarrollo embrionario *in vitro* inseminando ovocitos sin zona pelúcida (ZP) y ovocitos con ZP rodeados o no del cúmulus. En cuanto a los ovocitos sin ZP, observamos que las mayores tasas de fertilización se obtuvieron cuando los espermatozoides habían sido capacitados en medio FD o HTF ($p < 0,05$). Esto podría ser consecuencia de que estos dos medios cuentan con glucosa, lactato y piruvato como fuentes de carbono, a diferencia de los medios TYH que solo tienen glucosa y piruvato. Más aún, en el caso de ovocitos con ZP, la capacitación en medio FD, el cual posee la mayor concentración de las tres fuentes de carbono, arrojó la mayor tasa de fertilización ($p < 0,05$). Además, al cultivar a todos los embriones en un único medio que permite el desarrollo embrionario, el porcentaje de blastocistos se vio disminuido cuando los espermatozoides habían sido capacitados en medio TYH ($p < 0,05$). Por el contrario, cuando el cúmulus estaba presente no se observaron diferencias en las tasas de fertilización y desarrollo embrionario temprano, confirmando su efecto beneficioso para la fertilización. En conjunto, si bien los parámetros espermáticos analizados se vieron sutilmente modificados en los distintos medios, demostramos que el medio FD sería el más adecuado para ensayos de fertilización *in vitro*. Más aún, estos resultados refuerzan la idea de que los parámetros espermáticos estándar no son un reflejo inequívoco de la capacidad fertilizante de los espermatozoides.

DR2.5**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON RESVERATROL SOBRE UN POOL DE SEMEN PORCINO REFRIGERADO**

Madrid Gaviria S^{ab}, Cetica P^{a,b}, Córdoba M^{a,b}.

^aUniversidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. ^bUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: stephmadridg@gmail.com

La especie porcina representa un reto mayor para la conservación de espermatozoides debido a su gran sensibilidad al daño por frío, siendo las mitocondrias unas de las organelas más afectadas en este proceso. Una alternativa para mejorar el éxito de la preservación es el uso de antioxidantes. El objetivo fue evaluar el efecto de suplementar con resveratrol a pools de muestras de semen porcino refrigerado en medio comercial de larga duración, enfocado en el metabolismo mitocondrial. Pools de semen refrigerado de fertilidad probada fueron suplementados a su llegada al laboratorio con 50 μ M de resveratrol y conservados a 17°C durante 7 días. Se analizaron un total de 5 pools de semen. Para cada tratamiento se utilizó una alícuota de 6 ml suplementada, o no, con resveratrol dentro de las primeras 24 h de refrigeración, es decir el momento en el cual la muestra llegaba al laboratorio. En los días 0, 3 y 7 de refrigeración, alícuotas de 1 ml de cada grupo fueron atemperadas a 37°C, lavadas y resuspendidas en medio TALP. En cada alícuota se evaluó la motilidad y la funcionalidad de la membrana plasmática (test hipo-osmótico) con un microscopio óptico. El potencial de membrana mitocondrial y el nivel de pre-capacitación espermática se evaluaron con los fluorocromos JC-1 y clorotetraciclina, respectivamente, mediante microscopio de epifluorescencia. La viabilidad y la integridad acrosomal fueron evaluadas por el colorante azul tripán y su patrón acrosomal con un microscopio de contraste diferencial interferencial, respectivamente. Los datos fueron analizados mediante ANOVA ($p < 0,05$). En el día 0 las muestras presentaron 76,4% de espermatozoides vivos con acrosoma intacto, con un 84,6% de alto potencial de membrana mitocondrial y un 60,0%, 66,3% y 1,3% de motilidad progresiva, funcionalidad de membrana y de espermatozoides pre-capacitados, respectivamente. No se observaron diferencias significativas para el porcentaje de pre-capacitación debido al tiempo de conservación o la adición del resveratrol. Los porcentajes de espermatozoides vivos con acrosoma intacto, mótils y con membranas plasmáticas funcionales decrecieron a lo largo del tiempo de conservación ($p < 0,05$), independientemente de la presencia de resveratrol. Por otro lado, el porcentaje de espermatozoides con alto potencial de membrana mitocondrial disminuyó tanto debido al tiempo de conservación ($p < 0,05$) como a la presencia de resveratrol ($p < 0,05$). Esta disminución significativa del porcentaje de espermatozoides con alto potencial de membrana mitocondrial respecto al control, podría indicar que la refrigeración de espermatozoides con resveratrol permitiría mantener un estado de oxidación-reducción favorable para preservar el metabolismo mitocondrial, pudiendo contribuir a mantener la capacidad fecundante del espermatozoide refrigerado. Para comprobar esta hipótesis, estamos evaluando el efecto de la adición de resveratrol en la producción de anión superóxido mitocondrial y en la capacidad fecundante del semen mediante fertilización *in vitro*.

DR2.6

VASCULARIZACIÓN DECIDUAL TEMPRANA EN UN MODELO MURINO DE INGESTA PERIGESTACIONAL DE ALCOHOL: ALTERACIÓN ENDOTELIAL Y REMODELACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR Y CAMBIOS EN EL PATRÓN DE EXPRESIÓN DEL SISTEMA VEGF-MMP-9 Y DE UNK

Barril C¹, Gualdoni GS¹, Sobarzo C², Jacobo P¹, Pacheco Rodríguez L¹, Cebal E¹.

¹Laboratorio de Reproducción y Fisiología Materno-Embrionaria (LARFIMAE), Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA-CONICET/UBA), Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental (DBBE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), UBA.

²Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED), Facultad de Medicina, UBA.

E-mail: camilabarril1995@gmail.com

La vascularización decidual involucra procesos de proliferación, diferenciación, migración, tubulogénesis, expansión luminal y remodelación de los tejidos y de la matriz extracelular (MEC), a través de mecanismos moleculares entre los que destaca el sistema VEGF/KDR-MMPs, donde las células uNKs cumplen un rol crucial en el control de estos procesos. Previamente, demostramos que el consumo perigestacional de alcohol en el ratón hasta el día 10 de gestación produce alteraciones en la angiogénesis/vascularización decidual de los sitios de implantación (SI), asociadas con disminución en la expresión de VEGF y de la población de uNKs. El objetivo fue determinar el origen temprano de estas alteraciones durante los D7-8-8.5 de gestación, y evaluar potenciales cambios en mecanismos angiogénicos. Hembras murinas fueron tratadas (HT) con etanol 10% en el agua de bebida por 15 días previos y hasta los días 7, 8 u 8.5 de gestación para extraer los SI. Las hembras control (HC) recibieron agua durante todo el período del tratamiento. Los SI-D7 y 8.5 de HT presentaron menor área de expansión luminal ($p < 0,01$ y $p < 0,05$) (HyE-PAS, *ImageJ*) e índice de proliferación endotelial (Nro. céls. PCNA+/mm²) vs SI-HC ($p < 0,05$). Los SI-D8-8.5 de HT mostraron alteraciones histológicas y menor deposición de MEC (histología PAS), lo que se vio acompañado por un incremento en la inmunoexpresión de MMP-9 vs los SI-HC ($p < 0,05$). Mientras la población de uNKs (Lectina-DBA) se incrementó en los SI-D7 y D8.5 de las HT vs HC ($p < 0,05$), el nro. céls. VEGF+/mm² en la decidua vascular ($p < 0,001$, $p < 0,05$) y el nro céls. KDR+/mm² en estroma y endotelio ($p < 0,05$) aumentó en los SI-D8-8.5 de HT vs HC. Estos resultados sugieren una importante desregulación de los procesos celulares y mecanismos angiogénicos que controlan la vascularización temprana del tejido decidual, inducida por la exposición perigestacional a alcohol en el modelo murino.

DR2.7

EXPOSICIÓN A SERTRALINA DURANTE LA LACTANCIA: IMPACTOS REPRODUCTIVOS Y NEUROCOMPORTAMENTALES EN RATAS

Quiarato Lozano AF, Silva Moura M, Batisoco Dinhani TR, Valencise L, De Grava Kempinas W.

Laboratorio de Biología y Toxicología de la Reproducción y del Desarrollo, Departamento de Biología Estructural y Funcional, Instituto de Biociencias, Universidad Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

E-mail: anaquiarato@gmail.com

La sertralina se ha convertido en los últimos años en una excelente alternativa terapéutica para el tratamiento de la depresión. A pesar de ser considerado uno de los antidepresivos más seguros en el período de lactancia, aún existen pocos estudios que evalúen sus impactos en el desarrollo infantil. Por lo tanto, el presente estudio, además de verificar la salud materna, tuvo como objetivo aclarar el efecto de la sertralina en el desarrollo neurocomportamental y reproductivo de ratas machos. Así, 30 ratas Wistar lactantes se dividieron en 3 grupos experimentales (n=10/grupo): CO- recibieron agua filtrada (vehículo), grupos S10 y S20 que recibieron, respectivamente, 10 y 20 mg/kg/día de sertralina (diluida en el vehículo). El tratamiento se realizó por sonda, del 1 al 20 día de lactancia (DL). Durante este período se observó el desarrollo reflejo y somático de las crías. En DL 5 y 10 se evaluó el comportamiento materno, y en DL 21 se realizó la eutanasia de las madres y 1 macho de cada nidada para la recolección de órganos. En el día postnatal (DPN) 23-25 y DPN 80-85 se realizaron análisis de comportamiento (a través del laberinto en cruz elevado y campo abierto). Se verificó la evolución del peso corporal, la distancia anogenital (DAG) y el tiempo de inicio de la pubertad. A los 45 y 100 DPN se realizó la eutanasia de 1 macho de cada camada para análisis histológico de epidídimo y testículos. En DPN 100, se observó la calidad espermática (motilidad y morfología), comportamiento sexual y la fertilidad natural. Análisis estadístico: ANOVA o Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$). Los resultados mostraron que las madres expuestas a sertralina no mostraron alteración del comportamiento materno ($p > 0.05$). Sin embargo, el grupo S20 mostró un aumento en el peso de la tiroides (CO= 13.9 ± 0.9 y S20= 16.9 ± 0.9 , $p = 0.006$). La descendencia masculina presentó menor peso corporal en DL 7 (CO= 17.3 ± 0.4 y S20= 15.5 ± 0.4 , $p = 0.01$), menor DAG en DL 7 (CO= 2.0 ± 0.02 y S20= 1.8 ± 0.04 , $p = 0.03$) y 14 (CO= 2.8 ± 0.02 y S20= 2.6 ± 0.04 , $p = 0.04$), además de presentar alteraciones en el desarrollo de los reflejos ($p = 0.02$). Las células de Leydig mostraron un menor volumen nuclear (CO= 89.05 ± 5.6 y S20= 67.93 ± 3.1 , $p = 0.007$) y hubo un menor porcentaje de túbulos seminíferos normales en DL 21 (CO= 90.1 ± 1.4 y S20= 79.4 ± 2.6 , $p = 0.02$). En la edad adulta, la mayoría de los parámetros analizados se normalizaron, sin embargo, se observó un aumento de los espermatozoides inmóviles en los animales tratados con sertralina (CO= 11.6 ± 1.0 y S10= 21.6 ± 2.8 , $p = 0.02$), sin comprometer la fertilidad natural ($p > 0.05$). Aunque las concentraciones de sertralina en la leche materna son bajas, el presente estudio encontró alteraciones importantes en el desarrollo neural y reproductivo de la descendencia masculina, además de mostrar compromiso en la salud materna.

DR2.8

ESTUDIO DE LAS PROTEÍNAS CRISP COMO BLANCO PARA UNA VACUNA ANTICONCEPTIVA CANINA

Sulzyk V, Weigel Muñoz M, Cuasnicú PS.

IBYME-CONICET.

E-mail: sulzykvaleria@gmail.com

El crecimiento descontrolado de las poblaciones de perros causa un impacto negativo tanto en la salud pública como en el bienestar animal. Dado que las proteínas CRISP (Cysteine Rich Secretory Proteins) están conservadas evolutivamente y son relevantes para el proceso de fertilización en diferentes especies, y teniendo en cuenta la previa identificación de al menos una proteína CRISP canina en nuestro laboratorio, el objetivo de este trabajo consistió en caracterizar dicha proteína como posible blanco para el desarrollo de una vacuna anticonceptiva canina. En ese sentido, el epidídimo se considera un excelente blanco anticonceptivo masculino por no afectarse la función testicular y por la

permeabilidad de la barrera hemato-epididimaria. Con el fin de estudiar el origen epididimario de la proteína CRISP canina identificada, testículos y epidídimos provenientes de esterilizaciones quirúrgicas de 8 perros fueron analizadas por *Western Blot*, utilizando el anticuerpo anti-CRISP3 humana con el cual se había identificado la CRISP canina. Los resultados mostraron la presencia de CRISP canina en todos los extractos epididimarios analizados y su ausencia en los correspondientes extractos testiculares, confirmando el origen epididimario de la CRISP canina. Para investigar si la proteína CRISP se encuentra presente en el espermatozoide fresco y permanece en el mismo aun luego de la capacitación, espermatozoides caninos eyaculados fueron incubados durante 4 horas a 37°C y 5% de CO₂ en dos medios de capacitación diferentes. Los resultados obtenidos confirmaron la capacidad de ambos medios de capacitar a los espermatozoides caninos a juzgar por los niveles de fosforilación de proteínas en tirosina, motilidad progresiva, reacción acrosomal e hiperactividad. Por su parte, estudios de inmunofluorescencia indirecta utilizando anti-CRISP3 humana revelaron la presencia de la CRISP canina en la superficie de la región acrosomal de los espermatozoides caninos frescos y su relocalización a la región del segmento ecuatorial de los espermatozoides capacitados en ambos medios, indicando la accesibilidad de CRISP canina a los anticuerpos que se generen luego de una inmunización. Asimismo, dado que el segmento ecuatorial es la región por la cual ocurre la fusión de gametas, estos resultados apoyan la posible participación de CRISP canina en la etapa de fusión durante la fertilización. En conjunto, estos resultados indicando el origen epididimario de la proteína CRISP canina y su localización en la superficie de espermatozoides frescos y capacitados apoyan el empleo de CRISP canina como blanco para el desarrollo de vacuna anticonceptiva para perros de ambos sexos.

DR2.9

SOBRECONSUMO DE *Stevia rebaudiana* Y SUS EFECTOS SOBRE EL CICLO ESTRAL, LA REPRODUCCIÓN Y LA PROGENIE DE RATAS

Miranda S., Kruse MS, Mendez LB, Marriscurrena J, Coirini H, Rey M.

Laboratorio de Neurobiología, IBYME-CONICET.

E-mail: mariana.rey@ibyme.conicet.gov.ar

El sobreconsumo de sacarosa durante la juventud es perjudicial para la salud. Una alternativa para reemplazar a la sacarosa es el edulcorante no calórico stevia que proviene de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae), nativa de la zona tropical de Sudamérica. La administración de stevia produjo efectos a nivel gonadal en ratas macho (M), generando alteraciones en la capacidad reproductiva. En un estudio previo observamos que la administración de stevia a ratas hembra (H) desde el DPN21 produjo cambios en el ciclo estral y en la cantidad de H preñadas. El objetivo de este trabajo fue validar los resultados previos y evaluar cambios en la progenie. Ratas H (SD) recibieron agua (grupo CON, n=16) o agua endulzada con stevia (grupo STE, n=16) desde el DPN21. El ciclo estral se evaluó entre DPN50-71 observando diariamente exudados vaginales. Al DPN72, la mitad de las H de cada grupo se sacrificó en un mismo estadio estral y se registró el peso corporal y uterino. El resto de las H se aparearon con M en edad reproductiva entre el DPN72-76 (2:1). El día 1 de preñez se determinó por observación de espermatozoides en el exudado vaginal. Se evaluó el éxito de preñez (H

preñadas/H totales) y la duración de la gestación. En las camadas se estudió la cantidad, la proporción de sexos, la sobrevida (crías vivas/crías totales) y los pesos de las crías. Las madres STE y CON fueron sacrificadas luego del destete de las crías (DPN21) en un mismo estadio estral, registrándose el peso corporal y uterino. Al igual que lo observado en el ensayo previo, STE presentó una menor cantidad de ciclos (15,20%), ciclos normales (25,73%) y proestros (18,03%) que CON ($p < 0,05$). No se registraron diferencias entre los pesos corporales de STE y CON, sin embargo STE presentó un menor peso uterino (24,40%; $p < 0,05$). En las STE puestas en apareo se observó una reducción de 25% en el éxito de preñez respecto a CON. No se observaron diferencias en la duración de la gestación, pero una de las seis ratas STE presentó un período de preñez más prolongado (24 días). Las madres STE parieron una menor cantidad de crías respecto a CON (42,75%; $p < 0,01$), sin observarse diferencias en la proporción de sexos. La progenie de STE presentó una menor tasa de sobrevida respecto a la progenie de CON (71,43% para H y 74,07% para M; $p < 0,05$). Las madres STE presentaron menor peso que las CON (11,73%; $p < 0,05$), sin embargo no se observaron diferencias en los pesos uterinos. Estos resultados respaldan a los obtenidos previamente e indican que el sobreconsumo de stevia en ratas H afecta la capacidad reproductiva y la sobrevida de la progenie (CONICET-PIP00243; PICT2019-623).

DR2.10

INTERACCIÓN CALTRIN – ESPERMATOZOIDE, EN BÚSQUEDA DEL RECEPTOR PERDIDO

Sottile AE^{1,2}, Coronel CE^{1,2}, Guidobaldi HA¹.

¹Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIBYT), ²Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA).

E-mail: aesottile@unc.edu.ar

Caltrin es una proteína secretada en la vesícula seminal de mamíferos, que se une a los espermatozoides en el momento de la eyaculación y regula el ingreso de calcio en estas células durante el tránsito en el tracto reproductor femenino. En ratas, caltrin se une exclusivamente en la región acrosomal de la membrana plasmática de espermatozoides de la región cauda del epidídimo. Esta distribución, observada por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) sugiere la participación de un receptor de caltrin. El objetivo de este trabajo es estudiar el mecanismo de interacción de caltrin con los espermatozoides murinos. En primera instancia, observamos mediante cromatografía de afinidad la interacción de caltrin con HongrES1, una proteína soluble secretada en la región *cauda* del epidídimo de rata. Mediante bioinformática se realizaron simulaciones de interacción proteína-proteína usando el servidor HADDOCK, donde se identificaron distintas regiones de afinidad entre caltrin y HongrES1. Luego, se determinó si esta interacción ocurre *in vivo* y para ello espermatozoides de *cauda* fueron tratados con soluciones de fuerza iónica creciente (NaCl 0; 0,25; 0,5 y 1M) para remover HongrES1. Luego se incubaron con caltrin y se determinó su presencia en espermatozoides por IFI. Los resultados muestran una disminución de un 50% de células marcadas con caltrin a partir del tratamiento con NaCl 0,5M. Luego, las células lavadas con NaCl 1M se incubaron con contenido de lumen de *cauda* (CLC, obtenido por retroflushing) y luego fueron incubadas con caltrin. Este tratamiento recuperó los porcentajes de células marcadas con caltrin similares al control sin lavados. Por otro lado, espermatozoides de la región *caput* (que poseen un grado de maduración diferente que los de *cauda*) fueron tratados con CLC y caltrin. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas respecto de

las muestras sin tratar con CLC. En conjunto, estos resultados preliminares sugieren que caltrin se uniría al espermatozoide a través de HongrES1, que interactuaría con la membrana de espermatozoides dependiendo de su composición lipídica.

DR2.11

ENDOSULFÁN ALTERA LAS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN QUE REGULAN LA ADENOGÉNESIS OVIDUCTAL DEL YACARÉ OVERO (*Caiman latirostris*) Y MODIFICA EL PATRÓN TEMPORAL DE LOS CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS

Tavaliere YE, Schueri FD, Luque EH, Galoppo GH, Muñoz-de-Toro M.

Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL, UNL-CONICET).

E-mail: ytavaliere@fbc.unl.edu.ar

La adenogénesis es un proceso crítico en la diferenciación posnatal del oviducto del yacaré overo. La regulación de la adenogénesis depende de vías moleculares, moduladas por esteroides sexuales, que pueden ser afectadas por exposición a perturbadores endócrinos (PE). Endosulfán (END), es un contaminante orgánico persistente clasificado como PE con acción xenoestrogénica. Nuestros objetivos fueron: caracterizar cambios en el epitelio y subepitelio durante la adenogénesis oviductal; evaluar el efecto de la exposición *in ovo* a END (20 ppm) sobre este proceso; y establecer los niveles circulantes de E₂ y T. En oviductos de hembras juveniles prepuberales (VEH y END), establecimos el *score* histomorfológico y la organización de colágeno subepitelial, evaluamos la expresión de genes de moléculas involucradas en la remodelación del subepitelio (metaloproteinasas y sus inhibidores), en las uniones intercelulares (CTNNB1, gen que codifica para β-catenina y la proteína) y en la promoción de las invaginaciones epiteliales (wnt-7a). El *score* histomorfológico se evaluó en función de la frecuencia de características tisulares y celulares indicativas de diferenciación oviductal. La organización de colágeno se cuantificó como el porcentaje de grosor de la región con fibras pobremente organizadas y la región con fibras organizadas respecto del total. La expresión de los genes se evaluó por qPCR, usando L8 como *housekeeping*. La expresión proteica se evaluó por inmunohistoquímica y se cuantificó en imágenes digitalizadas. La exposición *in ovo* a END aumentó significativamente el *score* histomorfológico (VEH 14.5 ± 2.38 vs END 19.63 ± 1.40) evidenciando una aceleración de la adenogénesis, favorecida por una mayor expresión de metaloproteinasas MMP2 (VEH 3.20 ± 0.98 vs END 6.63 ± 2.26), MMP9 (VEH 2.36 ± 0.47 vs END 3.65 ± 0.95), TIMP1 (VEH 1.74 ± 0.17 vs END 2.61 ± 0.24) y CTNNB1 (VEH 1.23 ± 0.35 vs END 1.96 ± 0.53). No hubo cambios en los niveles de E₂ y T. Los resultados (x ± SEM) muestran que las vías de señalización que regulan la adenogénesis oviductal están afectadas por la exposición *in ovo* a END, modificando el patrón temporal de los cambios histomorfológicos, lo cual podría derivar en alteraciones en la fertilidad.

SESIÓN 2: VETERINARIA Y BIOLOGÍA ANIMAL (VBA)

VBA1

REMODELADO TISULAR DEL OVARIO DE VIZCACHA DE LLANURA

González Gómez DR^{*1}, Scardigno V^{*1}, Portiansky E^{2,3}, Barbeito CG^{1,2}, Flamini A¹, Gomez Castro G^{#1,2},
Acuña F^{#1,2}.

¹Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada. FCV-UNLP,

²CONICET, ³Laboratorio de Análisis de Imágenes. FCV-UNLP.

* y # indican igual contribución en el trabajo

E-mail: facunalp@gmail.com

Durante la dinámica folicular y la ovulación hay remodelado tisular. En él participan enzimas entre las cuales se destacan las metaloproteasas 2 y 9 (MMP-2 y MMP-9), que degradan componentes de la matriz extracelular (MEC) tales como el colágeno tipo IV y la fibronectina. Para analizar este proceso se utilizó como modelo a la vizcacha de llanura (*Lagostomus maximus*) por presentar la mayor tasa poliovulatoria conocida hasta el momento entre los mamíferos. El objetivo del trabajo fue determinar y comparar la expresión de las MMP-2 y 9 mediante inmunohistoquímica, y cuantificar el colágeno, en hembras con diferentes estados reproductivos. Se utilizaron ovarios de vizcachas en diferentes estadios de preñez (temprana y media) y no preñadas (n=15), capturadas en la ECAS (Ministerio de Agroindustria, Pcia. de Bs. As.), que fueron procesados para su inclusión en parafina y, cortados cada 3 µm de espesor. Para realizar la técnica de inmunohistoquímica indirecta se utilizaron anticuerpos primarios anti-MMP-2 y anti-MMP-9. La marcación se clasificó en: negativa, débil, moderada e intensa. Por otro lado, mediante la técnica de Picosirius se identificó el colágeno de la MEC para su posterior observación empleando microscopía de luz polarizada y cuantificación con el software Image-Pro Plus. La inmunomarcación en ovocitos en los diferentes estadios foliculares, y en todas las hembras, fue moderada para MMP-2 y 9 en el citoplasma. El mismo patrón se observó en células foliculares de folículos primordiales y primarios; y células de la granulosa en secundarios y terciarios. La marcación para MMP-9 fue moderada en las tecas interna y externa de folículos secundarios y terciarios, como así también en la MEC circundante a estas estructuras. MMP-2 resultó moderada en la teca interna, y débil en la teca externa. La marca de MMP-9 en los cuerpos lúteos (CL) varió entre negativa, moderada e intensa en el citoplasma de las células luteales, y fue negativa en el tejido conectivo periférico en preñez temprana y débil en preñez media. MMP-2 mostró una marca característica en el centro de los CL de las hembras preñadas, disminuyendo en zonas cercanas a la periferia. Esto no se observó en los CL de hembras no preñadas. Los vasos sanguíneos de estas estructuras fueron negativos para ambos anticuerpos. Además, MMP-9 fue positiva, de forma inconstante, en el núcleo de células de la granulosa en distintos estadios foliculares. En todas las hembras el epitelio superficial se marcó intensamente, mientras que la túnica albugínea fue moderada y el tejido conectivo medular débil para ambos anticuerpos. En la túnica media de los vasos arteriales de la médula, la marca para MMPs 2 y 9 fue intensa. Además, MMP-9 marcó débilmente algunos endotelios de estos vasos en preñez media. Ambos anticuerpos no marcaron los vasos venosos y linfáticos. La cantidad total de colágeno no mostró diferencias significativas entre los grupos analizados. La presencia de MMPs en las estructuras ováricas se correlacionarían con la necesidad de la remodelación y disponibilidad de un mayor espacio en la MEC que acompaña al desarrollo folicular y la posterior formación de los CL. Se requieren futuros estudios para profundizar la comprensión del remodelado tisular durante la foliculogénesis y la preñez.

VBA2**CARACTERIZACIÓN DE LAS CLUB CELLS EN LA PIEL DEL PEZ CÍCLIDO NEOTROPICAL *Cichlasoma dimerus*.**

Rincón L, Pozzi A.

Laboratorio de Neuroendocrinología y Comportamiento de Peces y Anfibios, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA-CONICET), Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEN, UBA.

E-mail: laura.rinconc27@gmail.com

En el super orden de los Ostariofisios (Cypriniformes, Siluriformes, Characiformes, Gonorhynchiformes y Gymnotiformes), la epidermis contiene cuatro tipos de células: epidérmicas o células de malpighian, células mucosas, células granulares y club cells (CCs). Se ha demostrado que la presencia de CCs en la epidermis se relaciona con la capacidad de mostrar reacciones de alarma frente a un individuo lesionado de la misma especie. Sin embargo, se le han adjudicado otras funciones distintas que intentan explicar evolutivamente su presencia en peces, como lo son la atracción de predadores secundarios o función inmune. En los peces cíclidos el panorama es más complejo, en algunas especies no se han encontrado CCs, pero sí respuestas antipredatorias frente a raspados de piel de conspecíficos. Y en otras especies de cíclidos no se han encontrado respuestas antipredatorias a las lesiones de piel de conspecíficos. Sin embargo, recientes publicaciones plantean que la ausencia de CCs en algunas especies de peces podría ser consecuencia de una falta de identificación correcta, ya que su morfología puede variar entre algunas especies, así como de un bajo esfuerzo de muestreo. Teniendo en cuenta este contexto, se plantea como objetivo caracterizar mediante técnicas histológicas, histoquímicas e inmunohistoquímicas la presencia y la distribución de CCs en machos y hembras adultos de *Cichlasoma dimerus*. Las CCs en *C. dimerus* son células esféricas o elipsoidales con un núcleo basal y un diámetro entre 26-45 μm , cuyo citoplasma permanece sin coloración con coloraciones de Tricrómico de Masson (TM) y ácido periódico de Schiff (PAS). Se encuentran localizadas en la capa media de la epidermis, generalmente más cerca de la superficie. Las CCs de *C. dimerus* son similares en su morfología a las descritas en el pez perciforme, *Sander vitreus*, el pez Cyprinodontiforme *Empetrichthys latos* y el pez Characiforme *Aphyocharax anisitsi*. Y diferentes a las descritas para el pez Cypriniformes *Danio rerio* y el pez Characiforme *Paracheirodon axelrodi*. En cuanto a la distribución: 1) Se confirmó la presencia en la piel de todo el cuerpo; 2) Se observó distribución continua a lo largo de epidermis en la zona dorsal y la zona ventral del cuerpo de individuos adultos de *C. dimerus*. 3) Se observó mayor densidad en las áreas de las inserciones de las escamas y los radios de las aletas y sobre la epidermis que cubre las mismas. Esta caracterización sirve como punto de partida, para posteriores estudios sobre: el efecto de las señales de alarma y otras señales químicas provenientes de individuos conspecíficos del mismo sexo o de distinto sexo sobre la agresividad y el establecimiento de las jerarquías, y las respuestas antipredatorias en machos y hembras de esta especie de cíclido neotropical.

VBA3

ACTIVIDAD E INMUNOLocalIZACIÓN *in situ* DE LA H⁺-ATPasa TIPO V EN BRANQUIAS DEL CAMARÓN *Palaemon argentinus* (CRUSTACEA: DECAPODA) LUEGO DE UNA TRANSFERENCIA ABRUPTA A SALINIDADES CONCENTRADAS

Asaro A¹, Pinoni S¹, Maraschi A¹, Ituarte RB¹.

¹IIMyC, CONICET-UNMDP, Funes 3250, Mar del Plata.

E-mail: aasaro@mdp.edu.ar

Evaluamos la actividad enzimática de la H⁺-ATPasa tipo V (VHA) en branquias aisladas de adultos del camarón *Palaemon argentinus* en agua dulce (1‰, T0: control) y transferidos abruptamente a salinidades concentradas (15 y 25‰) durante un plazo corto (6h); mediano (48h) y largo (>3 semanas). La inmunolocalización *in situ* y semi-cuantificación de la VHA se realizó en camarones mantenidos largo plazo en las 3 salinidades. Actividad enzimática: usamos sobrenadante (10000xg 30 seg) de homogenato de pool de branquias (sacarosa 0,25 M/EGTA-Tris 0,5 mM, pH 7,4). Medimos la hidrólisis de ATP (5 mM) en un medio de reacción: 1 mM NaN₃, 1 mM Ortovanadato en 50 mM buffer Tris-HCl (pH 7,4) y en presencia/ausencia de 1µM de Bafilomisina A₁. La actividad (nmoles P_i min⁻¹ mg de prot⁻¹) se determinó como la diferencia entre ambos ensayos. Inmunolocalización: secciones transversales (4 µm) de branquias de adultos fijados en Bouin (n=3) se recogieron en portaobjetos recubiertos de poli-L-lisina, se revelaron los sitios antigénicos (citrato de sodio y microondas), y se sumergieron durante 10' en Tween 20 al 0,01%, NaCl 150 mM, PBS 10 mM, pH 7,3. Tras tres lavados en PBS, los portaobjetos se incubaron 2h a temperatura ambiente en una cámara húmeda con una mezcla del anticuerpo primario policlonal de cobaya contra la VHA (1/100, SM-PBS 0,5%); se montaron en un medio antiblanqueo (Gel/Mount) y se observaron con un microscopio Zeiss Axioimager® equipado con un filtro fluorescencia (380-770 nm) y software AxioVision 4. Se utilizó ImageJ para analizar la inmunofluorescencia *in situ*. Las variaciones en la actividad específica se evaluaron con ANOVAs de una vía entre los tiempos de exposición y el test Holm-Sidak para las comparaciones *a posteriori* vs T0. Las variaciones en la inmunofluorescencia se testearon con ANOVA anidado mixto con individuo (factor aleatorio) anidado al tratamiento de salinidad, seguido del test SNK. La transferencia abrupta a 15‰ indujo cambios en la actividad específica ($P < 0,002$). Respecto del control (T0 = 1.604 ± 119,194 nmol P_i min⁻¹ mg prot⁻¹), la actividad VHA de las branquias disminuyó un 53% a las 48 h ($P = 0,017$) y un 44% tras la exposición a largo plazo ($P = 0,025$). Por el contrario, luego de la transferencia abrupta a 25‰ la actividad VHA no difirió de la condición control ($P = 0,048$). Se observó inmunotinción positiva para la VHA en las células pilares que, además, fue más alta en 15‰ ($P = 0,015$) a pesar de la variabilidad entre individuos ($P < 0,0001$). La mayor abundancia de proteína en conjunto con su menor actividad específica tras un largo plazo en 15‰, sugieren que la VHA podría estar modulada por la activación/inactivación de proteína preexistente. Además, los resultados indican que la VHA tendría un rol clave en el mantenimiento de la homeostasis en salinidades bajas e intermedias, pero no así en salinidades concentradas.

VBA4**CAMBIOS ESTACIONALES EN EL OVARIO DE *Myiopsitta* (PSITTACIFORMES, AVES)**

Netri MC¹, Arias MN¹, Barbeito CG², Carril J².

¹Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de Aves y Pilíferos, LaDEAP FCV UNLP, cecinetri@gmail.com, nancyariasfcv@gmail.com

²CONICET, Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada, LHYEDEC FCV UNLP, barbeitocg@gmail.com, julyetacarril@gmail.com

Una de las diversas adaptaciones asociadas a la disminución del peso corporal y al vuelo de las aves es la aplasia de ovario y oviducto derechos durante el desarrollo embrionario. El ovario izquierdo remanente puede cambiar notablemente su aspecto en función de la estacionalidad reproductiva. La cotorra *Myiopsitta monachus* es una de las pocas especies de Psittaciformes que es considerada plaga agrícola y que se ha dispersado en su rango nativo en Argentina y el resto del mundo. Se propone estudiar la morfohistología del ovario de *Myiopsitta* en las épocas de reposo (enero-agosto) y de actividad reproductiva (octubre-diciembre). Se analizaron cuatro ejemplares adultos (dos de cada época) y se diseccionaron los ovarios que fueron fijados en formaldehído 4% y preservados en alcohol 70%. Los ovarios se mensuraron con calibre (precisión 0,01mm) y balanza (precisión 0,001g) y se procesaron para las técnicas histológicas de hematoxilina-eosina, tricrómico de Gomori, ácido peryódico de Schiff/hematoxilina (PAS) y orceína. En época de reposo, los ovarios miden 6,3mm largo por 5,78mm ancho y pesan 0.087g en promedio, y adoptan una forma triangular con folículos poco delimitados entre sí y separados por finos surcos. Mientras que en época reproductiva, los ovarios aumentan su tamaño, llegan a medir 8,87mm de largo por 6,35mm ancho y a pesar 0,113g en promedio, y adoptan un aspecto de racimo de uvas con folículos que sobresalen de la superficie y están bien delimitados por surcos profundos. Histológicamente, los ovarios están recubiertos por un epitelio cúbico simple y presentan dos zonas diferenciadas: una parenquimatosa externa con folículos en diferentes estadios de desarrollo, separados por una delgada red de tejido conectivo con fibras colágenas y escasas fibras elásticas; y una vasculosa interna de tejido conectivo denso altamente vascularizado e innervado. Los folículos en crecimiento muestran PAS positividad en la membrana basal y en el epitelio folicular, y en sus tecas externa e interna se observan fibras colágenas dispuestas en capas concéntricas. Ovarios en época de reposo presentaron folículos primordiales, primarios, en crecimiento previtelínicos y atrésicos sin estallido (lipoidal y lipoglandular-invasivo). Mientras que ovarios en época reproductiva presentaron el máximo desarrollo folicular con numerosos folículos en crecimiento previtelínicos y vitelínicos, y escasos folículos preovulatorios, postovulatorios, atrésicos sin estallido (lipoglandular-invasivo) y con estallido. El ovario de *Myiopsitta* es similar al de otras especies de aves con ciclos reproductivos estacionales marcados. Este estudio representa el primero de una serie que se espera sienten las bases para estudios futuros de utilidad en el campo de la medicina veterinaria y el control de plagas.

VBA5**ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE LOS VASOS PLACENTARIOS DE LA GATA (*Felis catus*)**

Gomez Castro G^{1,2}, Fiorimanti M^{2,3}, Barbeito C^{1,2}, Casas L⁴, Merkis C^{3*}, Diessler M^{1*}.

¹Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada (LHYEDEC). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV, UNLP), La Plata. Argentina; ²CONICET

³Área de Microscopía Electrónica. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto. Argentina. ⁴Cátedra de Clínica de Pequeños Animales. FCV, UNLP, La Plata.

Argentina.

*Estas autoras contribuyeron de igual manera en este trabajo.

E-mail: gimenagomezcastro@gmail.com

La interfase materno fetal de la placenta de la gata es endoteliochorial. La capacidad de la placenta para afrontar la demanda fetal creciente de nutrientes y oxígeno depende de la ampliación de las redes vasculares placentarias. El objetivo del trabajo fue determinar, mediante un estudio morfométrico, los cambios que suceden en esas redes durante la placentación de la gata. Se recolectaron por ovariectomía requerida y autorizada por sus propietarios 14 muestras de placentas de gatas en distintos momentos de la gestación; luego, fueron procesadas mediante la técnica histológica de rutina. Se analizaron tres zonas de la placenta (Z1: zona fetal; Z2: laberinto laminar; Z3: zona de unión). Se obtuvieron 10 imágenes (40x) por zona y por muestra, que fueron analizadas con el software AxioVision 4.6.3 (Zeiss, Alemania), y se determinaron las variables: cantidad de vasos, área vascular total y densidad vascular. Los datos fueron analizados estadísticamente con el software Infostat Versión 2020. Nuestros resultados demostraron diferencias significativas en el número de vasos entre las placentas tempranas, medianas y tardías, resultando ampliamente más numerosos los vasos sanguíneos en las gestaciones avanzadas ($p < 0.05$). Así mismo, el área y la densidad vasculares fueron significativamente mayores en estas placentas con respecto a las tempranas y medianas; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre estas últimas dos ($p > 0.05$). En cuanto al estudio de los vasos por zonas, solo se encontraron diferencias significativas entre las tres etapas en la cantidad de vasos de la Z2. Es posible inferir que la mayor cantidad de vasos registrada en las placentas medianas con respecto a las tempranas corresponde a un proceso de intensa angiogénesis mediante ramificación, ya que el área vascular no se modifica. El incremento registrado para todas las variables en el último tercio de la gestación coincide con una etapa de gran crecimiento fetal y, por lo tanto, mayores demandas nutricionales.

VBA6**EFICIENCIA MATERNA EN VACAS PRIMERIZAS DE RAZA CRIOLLA ARGENTINA**

Topayan MV¹, Estevez DY², Gonzalez C¹, Ernetta L¹, Género ER¹ y Martínez RD¹.

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora.

²Grupo de citogenética de Insectos, Instituto de Ecología Genética y Evolución de Buenos Aires, Departamento de Ecología Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CONICET.

E-mail: victoriatopayan@gmail.com

La raza bovina Criolla es la fundadora de la ganadería argentina. Actualmente se encuentra distribuida en todas las regiones del país y se destaca por su diversidad genética y adaptación a distintos ambientes. En la Cuenca del Salado, provincia de Buenos Aires, se encuentra la mayor concentración de vientres para la producción de terneros de todo el país. En esta región, el inicio de la vida reproductiva de las vacas puede realizarse a los 15 ó a los 27 meses de edad, según la raza, las condiciones ambientales, el sistema de manejo o las preferencias del productor. La eficiencia materna (EM), se mide como el cociente entre el peso de la cría al destete y el peso de la madre en el mismo momento, de manera que el resultado nos indica qué proporción del peso de la vaca se traduce en kilos de ternero producido. A mayor valor, mejor eficiencia materna. El objetivo del trabajo fue evaluar la eficiencia materna al primer parto (EM1) en dos grupos de vacas de raza Criolla Argentina, el primero inició su vida reproductiva a los 15 meses (IVR15) (n = 145) y el otro a los 27 meses de edad (IVR27) (n= 107), en un establecimiento ubicado en la localidad de 25 de Mayo, provincia de Buenos Aires. A efectos de calcular las EM1, se ajustaron los pesos al destete de las crías a 220 días de vida y por sexo. Los resultados indican que no existen diferencias significativas (nivel de confianza del 95%) entre ambos grupos para la EM1, siendo la media de IVR15 = 0,565 ± 0,072 y la de IVR27 = 0,568 ± 0.074. Los valores encontrados de EM1 en la raza Criolla, son muy buenos en general, ya que valores superiores a 0,45 se consideran adecuados en vacas de cría.

VBA7

EXPRESIÓN DE VEGF-A Y VEGFR-2 EN EL OVARIO DE LA VIZCACHA DE LLANURA (*Lagostomus maximus*)

Scardigno V*¹, González Gómez DR*¹, Barbeito CG^{1,2}, Flamini MA¹, Acuña F^{#1,2}, Gomez Castro G^{#1,2}.

¹Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada. FCV-UNLP, ²CONICET.

* y # indican igual contribución en el trabajo

E-mail: gimenagomezcastro@gmail.com

La vizcacha de llanura, *Lagostomus maximus*, es el mamífero con la mayor tasa ovulatoria conocida hasta el momento (200-800 ovocitos/estro). Algunos procesos relacionados con la poliovulación en esta especie, entre ellos la angiogénesis, aún no han sido estudiados con profundidad. Este proceso se encuentra regulado por numerosos factores, entre ellos, el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A), que actúa mediante la interacción con sus receptores VEGFR-1 y VEGFR-2. El objetivo de este trabajo fue determinar y comparar la expresión de marcadores de angiogénesis en ovarios de vizcachas en diferentes estadios reproductivos. A partir de material proveniente de animales capturados en la Estación de Crías de Animales Silvestres del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires, se obtuvieron ovarios de 9 hembras en distintos momentos de preñez (temprana y media) y no preñez, que fueron procesados para su inclusión en parafina. Se realizaron cortes cada 3 µm de espesor y se utilizó la técnica de inmunohistoquímica indirecta con los anticuerpos anti VEGF-A y su receptor VEGFR-2. Para determinar la intensidad de marcación observada se utilizó la siguiente escala cualitativa: negativo, débil, moderado e intenso. La marcación de VEGF-A fue moderada en el citoplasma de las células luteales, de la granulosa y de la teca interna tanto de folículos secundarios como terciarios. La teca externa de estas estructuras tuvo una marcación que varió entre débil y

moderada. La expresión de VEGFR-2 se observó en las mismas estructuras, pero con mayor intensidad que VEGF-A en las células de la granulosa. En la periferia de los folículos primordiales la inmunomarcación de la mayoría de las muestras fue positiva con una intensidad débil; aunque en algunas muestras fue negativa. La marca del epitelio superficial fue intensa para ambos anticuerpos en todos los estadios. Tanto en la médula como en el parénquima ovárico, principalmente en las cercanías a folículos en distintos estadios de desarrollo, la marcación de la túnica media de las arterias fue intensa para ambos anticuerpos, observándose negativa a nivel del endotelio. Vasos venosos de distintos calibres y linfáticos fueron negativos en todas sus capas. El patrón de expresión del ligando y su receptor fue similar en los distintos estadios, en estructuras foliculares, luteales y vasculares. Estos resultados pueden relacionarse con la necesidad de una activación de la angiogénesis que acompañe al desarrollo de los folículos y a la persistencia de los cuerpos lúteos en la preñez.

VBA8

HISTOLOGÍA DE ESÓFAGO Y BUCHE DE *Myiopsitta* (PSITTACIFORMES, AVES)

Arias MN¹, Netri MC¹, Barbeito CG², Carril J².

¹*Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de Aves y Pilíferos, LaDEAP FCV UNLP, nancyariasfcv@gmail.com, cecinetri@gmail.com*

²*CONICET, Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada, LHYEDEC FCV UNLP.*

E-mail: barbeitocg@gmail.com, julyetacarril@gmail.com

La cotorra *Myiopsitta monachus*, especie distribuida a nivel mundial y asociada a ambientes urbanos, es considerada como plaga debido a su abundancia y a los problemas económicos que genera por su dieta principalmente granívora que afecta a los cultivos. Sobre el sistema digestivo de *Myiopsitta*, solamente se conoce un estudio de 1983 sobre la porción craneal del tracto digestivo en ejemplares de sexo indeterminado y únicamente de época reproductiva. La estructura general del sistema digestivo es similar entre las aves, aunque existen diversas especializaciones asociadas principalmente a los distintos tipos de dietas, como es el caso del buche (*i.e.*, dilatación de la porción media del esófago que sirve como sitio de almacenamiento transitorio del alimento y que está presente en algunas especies). Nos proponemos estudiar la histología de esófago y buche de hembras adultas de *Myiopsitta*, al comparar los resultados aquí obtenidos con aquellos del estudio previo disponible de la especie, y establecer posibles diferencias que pudieran evidenciarse entre las épocas reproductiva y no reproductiva. Para ello, se utilizaron cuatro ejemplares (dos de cada época), se realizaron las necropsias y se extrajeron los órganos que fueron fijados en formaldehído 4% y preservados en alcohol 70%, y se procesaron las muestras mediante las técnicas histológicas Hematoxilina-Eosina y coloración tricrómica de Gomori. El esófago presenta tres de las cuatro capas fundamentales del tubo digestivo: las túnicas mucosa, muscular y adventicia (la submucosa se encuentra ausente). La mucosa tiene un epitelio plano estratificado cornificado cuyo espesor se engrosa en el buche, donde además se observa una descamación celular en bandas; tiene una capa delgada de tejido conectivo por fuera y carece de glándulas excepto en la porción torácica del esófago donde se observan glándulas alveolares simples ramificadas. La muscular es gruesa y tiene dos capas de tejido muscular liso separadas por tejido conectivo laxo con abundantes plexos nerviosos y vasos sanguíneos. Finalmente, la adventicia contiene

fibras colágenas y está muy vascularizada e innervada. De nuestra interpretación de los resultados surgen dos aspectos remarcables: (1) la ausencia de la muscular de la mucosa descrita como presente en estudios previos, y (2) la disposición de las capas musculares de la túnica muscular: una longitudinal interna que se pierde en el buche y una circular externa de mayor grosor, disposición inversa a la encontrada en la mayoría de las aves. Futuros estudios sobre el desarrollo embrionario del tubo digestivo podrían aclarar ambos aspectos. No se observa la descamación en acúmulos de la mucosa asociadas a la 'secreción láctica', ni diferencias relevantes entre ejemplares de las épocas reproductiva y no reproductiva, sugiriendo que las hembras de esta especie no producen la 'leche de buche' postulada para algunos Psittaciformes. Futuros estudios de inmunohistoquímica con marcadores anti-prolactina (hormona vinculada a la producción de la leche de buche) ayudarán a corroborar esta hipótesis.

VBA9

MORFOHISTOQUÍMICA Y EXPRESIÓN DE GLICOCONJUGADOS EN LA GLÁNDULA OVIDUCTAL DE UN RECURSO PESQUERO DE IMPORTANCIA COMERCIAL: *Callorhinchus callorhynchus*.

Tschering J¹, Conte O¹, Acuña F², Fuentes S¹, Moya AC¹, Barbeito CG², Díaz Andrade MC¹.

1. Lab. de Histología Animal, INBIOSUR-UNS-CONICET, Bahía Blanca; 2. Lab. de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada; Dto. de Ciencias Básicas; Fac. de Ciencias Veterinarias; UNLP.

E-mail: joseatschering@gmail.com

Callorhinchus callorhynchus (Linnaeus, 1758) (n.v. pez gallo) habita el cono Sur americano, distribuyéndose desde el suroeste Atlántico al sureste Pacífico. En Argentina, es el único representante dentro de los Holocéfalos y es explotado comercialmente en todo su rango de distribución. Es una especie ovípara y deposita sus huevos envueltos en una compleja y resistente cápsula, secretada por una glándula exclusiva de Condrictios: la glándula oviductal (GO). La estructura de las GOs guarda relación directa con la morfología de las cápsulas y con el modo reproductivo. A su vez, se ha observado que la GO puede actuar como sitio de reserva espermática en algunos condrictios. En este trabajo se utilizaron técnicas histoquímicas y lectinohistoquímicas para analizar la estructura histológica de la GO, determinar si existen variaciones en la expresión de glicoconjugados en las distintas zonas de la glándula y si existe reserva espermática en la especie. El material provino del desembarque de la flota pesquera del golfo San Matías. Para el análisis histológico y tratamiento con lectinas, se seleccionaron hembras maduras. Se fijaron las GO en formol o en solución de Bouin, en agua de mar y se procesaron según técnicas histológicas de rutina. La GO presenta tres túnicas: mucosa, muscular y serosa. Se observaron las cuatro zonas características: de craneal a caudal, Club (ZC), Papillary (ZP), Baffle (ZB) y Terminal (ZT). La ZC presenta lamelas extendidas apicalmente y angostas en su base, separadas por surcos donde desembocan glándulas tubulares simples mucosas PAS y AB pH 2,5 (+). La ZP posee lamelas en forma de papilas, separadas por surcos donde desembocan los túbulos glandulares mucosos PAS y AB pH 2,5 (+). En los adenómeros más caudales de esta región se observó una mayor reacción al AB pH 2,5. Las ZC y ZP son las encargadas de secretar la "gelatina" que recubre al huevo. La ZB es la más desarrollada y tiene glándulas tubulares que producen gránulos serosos, PAS y AB pH 2,5 (-), que van a formar la cápsula del huevo. La ZT no presenta lamelas y contiene túbulos glandulares

simples, con reactividad diferente al PAS y AB pH 2,5, dependiendo de la altura de los mismos. En esta zona se pudo constatar la presencia de reserva espermática. Todas las zonas de la OG resultaron positivas para cada una de las lectinas empleadas, pero con variaciones en la intensidad de cada una y para cada zona. Este trabajo aporta la primera información histológica e histoquímica de la GO y el primer registro de indicios de reserva espermática en la especie. PGI 24/B286.

VBA10

EFFECTOS DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL GESTACIONAL SOBRE PARÁMETROS CONDUCTUALES EN CRÍAS ADOLESCENTE DE RATA MACHO y HEMBRA

Baretta FD¹, Salvatico C¹, Toselli AP¹, Villegas AB¹, Mir FR^{1,2}, Rivarola MA^{1,3}.

¹ Cátedra de Fisiología Animal, FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba. ² Cátedra de Fisiología Animal, DACEfyN, Universidad Nacional de La Rioja. ³ Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, CONICET, Universidad Nacional de Córdoba.

E-mail: francodbaretta@mi.unc.edu.ar

El ambiente perinatal es importante para el desarrollo neurofisiológico y conductual de las crías. Existen evidencias de que tanto estímulos positivos como el Enriquecimiento Ambiental (EA) materno, y estímulos negativos como la exposición a estresores posnatales, generan cambios neuroestructurales y conductuales en roedores. Por otro lado, el cerebro es una estructura sexualmente dimórfica y se han descrito efectos diferenciales del EA en función del sexo en respuestas neuroendocrinas y comportamentales de los animales. En este trabajo se analizó si el EA durante la gestación es capaz de influir en forma sexualmente dimórfica sobre la conducta social y emocional de ratas adolescentes, y si es capaz de modular las respuestas frente a estresores en la etapa posnatal temprana. Se utilizaron ratas Wistar vírgenes de dos meses de edad a las que se apareó con un macho fértil. Luego fueron alojadas durante la gestación (días 1 al 20) en cajas de enriquecimiento ambiental (mayor tamaño, presencia de juguetes, ruedas de entrenamiento, túneles, rampas, etc.) en grupos de 8 hembras gestantes o en cajas estándar en grupos de 2. En los días posnatales (DPN) 1 al 21, se aplicaron alguna de las siguientes condiciones de estrés: presencia de macho intruso (MI), separación materna (SM) o sin estrés. En el DPN 21 se realizó el destete, separando a las crías por sexo en cajas estándar. Entre los DPN 45-50 se realizaron ensayos comportamentales incluyendo Open Field (OF), Elevated Plus Maze (EPM) y Social Preference (SP) sobre la progenie. Se observó que las hembras, independientemente de la condición gestacional o postnatal, presentan un mayor número de cruces y alzamientos, pasan más tiempo en el centro del OF y en los brazos abiertos del EPM en comparación a los machos. No obstante estos últimos presentan mayores índices de SP. Llamativamente, en los animales sujetos a estrés temprano se observó un aumento del número de cruces, número de entradas al centro y mayor índice de SP. Por otro lado, las crías de madres con EA presentaron mayor número de entradas y tiempo de permanencia en brazos abiertos, y mayor índice de SP. Estos resultados indicarían que los estímulos perinatales tienen efectos diferenciales en el comportamiento de ratas machos y hembras adolescentes; las hembras presentan menos conductas de tipo ansiosas y sociales, pero más comportamientos exploratorios que los machos. Por su parte, el EA gestacional previene algunos de los efectos deletéreos de la exposición temprana al estrés. Estos

resultados indican que el EA gestacional puede constituirse como una prometedora estrategia para el futuro bienestar de los y las adolescentes.

VBA11

PERCEPCIÓN SOCIAL SOBRE LA TOXOPLASMOSIS EN EL NORESTE DE PATAGONIA: LA CULPA NO ES DEL GATO

Cifuentes S^{1,2}, Birochio DE¹, Vercelino S³, Gibelli, T³ Moré G^{2,4}.

¹Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro-CIT RIO NEGRO (CONICET-UNRN). ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ³Centro Interdisciplinario de Estudios sobre Derechos, Inclusión y Sociedad, Universidad Nacional de Río Negro (CIEDIS UNRN). ⁴Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

E-mail: scifuentes@unrn.edu.ar

La toxoplasmosis se produce por una infección causada por *Toxoplasma gondii*, parásito intracelular obligado, que tiene un ciclo de vida en el que el ser humano y otros animales como el jabalí (*Sus scrofa*) son huéspedes intermediarios, siendo los felinos los huéspedes definitivos. Con la finalidad de explorar la percepción sobre la enfermedad que posee la población del noreste de Patagonia (Comarca Carmen de Patagones- Viedma) y en el marco de un proyecto que estudia el rol del jabalí en la transmisión de dicha enfermedad, se realizó un estudio descriptivo. El diseño del instrumento requirió la articulación con investigadoras del campo de las ciencias sociales y la estadística. Para ello se utilizó una encuesta online anónima utilizando un formulario de Google Forms© distribuido a través de las redes sociales (Facebook) y “WhatsApp” desde noviembre del año 2020 a enero del 2021. El formulario consistió en 5 secciones de preguntas, principalmente de respuestas cerradas, relacionadas con datos personales y sociales, tenencia de mascotas, seguridad alimentaria y consumo de carne, especialmente de jabalí. Se obtuvieron un total de 172 respuestas, de las cuales en su mayoría (85%) eran de sexo femenino; el 42% (n=49) fue del grupo etario comprendido entre 37 y 56 años de edad. Además, si bien los resultados obtenidos indican un alto porcentaje de noción sobre el tema (85% sabe de la existencia de la enfermedad y 157 conoce que se transmite por los gatos) 25 personas respondieron que desconocían la existencia de la toxoplasmosis. Finalmente, un 62% indicó que tiene al menos un gato en su hogar y, en relación al consumo de carne de jabalí, el 79% alguna vez lo hizo.

Se concluye que, aunque existe un conocimiento sobre la enfermedad, sería oportuno profundizar políticas públicas sobre seguridad alimentaria, zoonosis y tenencia responsable de mascotas.

VBA12

CÉLULAS RODLET Y CÉLULAS EOSINÓFILAS GRANULARES, COMPONENTES PRESENTES EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA FRENTE A METACERCARIAS DE *Ascocotyle* SP

Di Cesare L^{1,3}, Barbeito CG^{1,3}, Montes MM^{2,3}, Plaul SE¹.

¹Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada (LHYEDEC), FCV, UNLP. ²Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), UNLP. ³CONICET.

E-mail: lucadicesare013@gmail.com

En América Latina, el género *Ascocotyle* (Digenea, Heterophyidae), está ampliamente distribuido y es de importancia zoonótica. Los trematodos de este género son parásitos comunes de aves y mamíferos piscívoros y sus metacercarias se enquistan en diversos tejidos de los peces. Estos agentes generan una amplia respuesta inflamatoria, encontrándose a las células *rodlet* (CR), un tipo celular único, con cápsula y gránulos citoplasmáticos característicos, solo presente en algunos peces teleósteos. Las células eosinófilas granulares (CEG), también forman parte de la respuesta inflamatoria frente a agentes parasitarios, poseen gránulos citoplasmáticos con diversos mediadores y factores inflamatorios. En un relevamiento parasitológico realizado en el Río de la Plata, Punta Lara, se encontraron quistes de metacercarias del género *Ascocotyle* sp. en el bulbo aórtico y branquias de ejemplares adultos de *Jenynsia lineata*. El objetivo de este trabajo fue describir los componentes celulares presentes en la respuesta inflamatoria. Para ello, branquias de cuatro ejemplares y dos corazones con quistes fijados en formol bufferado al 10% fueron procesados mediante la técnica histológica tradicional de inclusión en parafina. Se efectuaron cortes de 5 μ m, que posteriormente se colorearon con Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson, PAS y Naranja de Acridina. La observación de las secciones histológicas reveló que las metacercarias estaban rodeadas por una fina cápsula de tejido conectivo y se hallaban enquistadas en los filamentos branquiales, las laminillas secundarias y en el bulbo aórtico. En las zonas enquistadas de los filamentos branquiales se observó acortamiento de la longitud de las laminillas secundarias, dilatación y congestión de los capilares laminillares y descamación celular. Además, en la base de los filamentos branquiales parasitados y en el bulbo aórtico se observó un abundante infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos, CEG y CR. La técnica de PAS demostró en la cápsula de las CR la presencia de glicoproteínas neutras, mientras que con el naranja de Acridina se identificó la presencia de heparina en los gránulos de las CEG. Las consecuencias del proceso inflamatorio producto de estos tipos celulares podrían relacionarse con alteraciones en distintos procesos fisiológicos de los órganos infestados.

SESIÓN 3: BIOTECNOLOGÍA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA (BGM)

BGM1

EMPLEO DE ESPECTROSCOPÍA DE RMN PARA IDENTIFICAR SEROGRUPOS DE *E. coli* AISLADAS DE CASOS DE MASTITIS BOVINA Y DIARREA EN TERNEROS

Cuchman S¹, Rodriguez V², Figueira S², Cremona M², Corvo I³, Giannechini E⁴, Rivero R⁴, Fontana C¹.

*¹Laboratorio de Espectroscopía y Fisicoquímica Orgánica, Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte, UdelaR, Paysandú, Uruguay, ²Laboratorio de Microbiología, UTEC, Paysandú, Uruguay. ³Laboratorio I+D Moléculas Bioactivas, Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, UdelaR, Paysandú, Uruguay. ⁴División Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino", Laboratorio Regional Noroeste, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Paysandú, Uruguay.
E-mail: scuchman@fq.edu.uy*

En la superficie de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas se encuentra el antígeno O-específico (O-Ag), el cual define los 182 serogrupos de *E. coli* que se reconocen hasta la actualidad. Si bien la mayoría de las cepas de *E. coli* no son patogénicas, algunas pueden causar enfermedades como

mastitis bovina y/o diarrea en terneros, generando grandes pérdidas económicas en países ganaderos. La identificación de serogrupos por métodos serológicos es el método más utilizado, pero solo está disponible en algunos pocos laboratorios a nivel mundial, por lo que métodos basados en tipificación molecular por qPCR han ganado popularidad en los últimos años. Si bien este último método es más accesible para un mayor número de laboratorios, requiere acceso a numerosos kits de detección. En laboratorios como el nuestro (que cuentan con acceso a espectrómetros de RMN) identificar los serogrupos a través de las señales de ^1H y ^{13}C RMN de sus O-Ag puede resultar una metodología accesible, siempre y cuando se disponga de información espectroscópica de estos antígenos en literatura. Este procedimiento se basa en la extracción de los lipopolisacáridos (LPS) a partir del pellet celular con una mezcla de fenol/agua en caliente, seguido por una remoción del lípido A e hidrólisis de grupos ésteres. Este material es luego analizado por espectroscopía de RMN, y el serogrupo se determina por comparación de los desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C RMN con información disponible en bases de datos como ECODAB, BCSDb y/o bibliografía. En nuestro grupo de investigación estamos trabajando en el diseño de vacunas polisacáridicas, y por consiguiente es de interés contar con información sobre los serogrupos de *E. coli* más prevalentes en la región que causan problemas en la producción ganadera. En este aspecto hemos podido optimizar este procedimiento para reducir el volumen de los cultivos celulares a ~100 mL. La gran ventaja de esta técnica es que no solamente permite identificar los serogrupos definidos clásicamente, sino también aquellos no tipificables por métodos serológicos, y detectar la aparición de bacterias que producen O-Ag no reportados previamente. En este trabajo nos hemos encontrado con cepas de *E. coli* aisladas de necropsias de terneros y leche de casos de mastitis bovina que producen O-Ag típicos de los serogrupos O1C, O88 y O146, así como dos aislados que producen O-Ag con estructuras químicas novedosas que no se corresponden con las de ningún serogrupo de *E. coli* reportado hasta la fecha, así como tampoco con los de ninguna otra especie.

BGM2

TRANSFERENCIA DE GENES MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES (SMGT) EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN BOVINOS (*Bos taurus*)

Díaz Pumará P¹, Vazquez-Levin M¹, Verón G¹, Visca H², Udaquiola M².

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET); ²Centro Genético Las Lilas

E-mail: diazpumara@biozotec.com

La modificación del genoma en vertebrados mamíferos superiores se encuentra en desarrollo precario, en gran parte, debido al alto costo, baja eficiencia y alto riesgo biológico de los métodos utilizados. Buscamos estandarizar métodos que, utilizando el espermatozoide, como vector de construcciones génicas heterólogas, produzcan transgénesis en el acto de la fecundación en diferentes especies ya sea por la Fecundación In-Vitro (FIV), como por Inseminación Artificial (IA). En este trabajo nos propusimos lograr embriones genéticamente modificados en la especie bovina por IA. Dos toros donantes de semen del Centro Genético Las Lilas fueron evaluados en cuanto a su capacidad de internalizar ADN en el espermatozoide (SPZ) debidamente tratado, utilizando dos concentraciones del plásmido comercial (*pEGFP N-1 4,7kb*), marcado con Cy3. Se analizaron alícuotas de suspensiones espermáticas tratadas y no tratadas bajo microscopio de captura láser (Nikon TE 2000). Uno de los toros evidenció

mejores índices de captación. El toro y la concentración elegidos, fueron utilizados para tratar alícuotas de SPZs en cantidad suficiente para inseminar un total de 4 hembras bovinas adultas, estimuladas hormonalmente (TSOV) para lograr la superovulación. El TSOV se realizó mediante inserción de pesario vaginal de progesterona (DIB de 1 g) el día "0", por siete días, asociado, desde el día "4" del tratamiento, a una secuencia de 4 dobles dosis/día de hormona Folículo Estimulante porcina (FSHp), más doble dosis de PGF2 α el día 6 y una dosis de GnRH el día 8, día del celo. Los días "8" y "9" desde el inicio del tratamiento, ocho dosis de semen de 5 x 10⁶SPZs, dos sin tratar y seis tratadas, fueron utilizadas para inseminación intrauterina profunda, en doble dosis, mitad cuerno derecho, mitad cuerno izquierdo, con doce horas de intervalo en cada animal experimental. El día 15 desde el inicio del TSOV (D "0") se realizó colecta embrionaria no-quirúrgica transcervical. Las tres vacas inseminadas con semen tratado y la vaca inseminada con semen no tratado (control) dieron 24 estructuras embrionarias (ES). Se obtuvieron 18 embriones (E) y 6 huevos no fertilizados (UO). 15 E de 3 vacas del grupo tratado mostraron fluorescencia verde (GF) y roja (RF), 3 E del grupo control fueron negativos a GF y RF, así como, 3 UO obtenidos de ambas categorías. Los resultados mostraron eficiencia de transfección positiva de los espermatozoides a los óvulos, ya que todos los embriones logrados del grupo tratado, en las tres vacas, muestran fluorescencia verde y roja en alguno, o todos, los blastómeros, mientras que los embriones obtenidos de la vaca control, y los ovocitos no fertilizados no mostraron fluorescencia.

BGM3

EVALUACION DE UN ANTIVENENO BOTROPICO EXPERIMENTAL PRODUCIDO CON VENENO TRATADO CON EDTA-Na₂

López G, Leiva L, Fusco LS.

Laboratorio de Investigación en Proteínas (LabInPro), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE).

E-mail: giselopezyaccuzzi@gmail.com

El envenenamiento por serpientes es un problema médico grave en los países tropicales en desarrollo y los antivenenos son el principal tratamiento. Los antisueros se producen mediante la inmunización de caballos con el veneno de serpiente utilizando adyuvantes. Los venenos botrópicos contienen metaloproteinasas (SVMPs), responsables de los efectos locales del envenenamiento, como hemorragia, edema, miotoxicidad, así como también sangrado sistémico. Las SVMPs representan el 34,2% de la composición proteica del veneno de *B. diporus* y causa lesiones locales durante la inmunización de los animales. En búsqueda de nuevos procesos enfocados en el bienestar animal, para la producción de inmunobiológicos y teniendo en cuenta que la acción tóxica de las SVMPs es inhibida por el EDTA-Na₂, en el presente trabajo se evaluó la respuesta inmune de animales inmunizados con veneno de *B. diporus* pretratado con EDTA-Na₂. Para esta propuesta, el veneno de *B. diporus* (1,9 mg/mL) fue tratado con EDTA-Na₂ (200 mM, v.B.d/ EDTA-Na₂) y este complejo se utilizó como antígeno. Previo a la inoculación el exceso del quelante fue eliminado por cromatografía de exclusión molecular (Sephadex G-25). Asimismo, el veneno sin inhibidor (v.B.d) recibió el mismo tratamiento cromatográfico y, en ambos casos, la neutralización efectiva de las SVMPs fue determinada usando azocaseína como sustrato. El v.B.d ó v.B.d/ EDTA-Na₂ (7-30 μ g ó 14-60 μ g) se emulsionó con adyuvante

de Freund (completo y refuerzo incompleto) y se inoculó en grupos de 5 ratones CF-1 por vía subcutánea en un periodo de 45 días. Los días 14, 29 y 37 se tomaron muestras de sangre de la punta de la cola de los ratones y el día 45 se realizó el sangrado final y la separación de los respectivos sueros. Estos, fueron destinados para realizar los ensayos de inmunoanálisis y ensayos de neutralización de la actividad proteolítica, hemolítica indirecta, y coagulante. Los resultados de enzoinmunoensayo, demostraron que tanto el suero anti-v.B.d como suero el anti-v.B.d/EDTA obtuvieron títulos de anticuerpos elevados (1/74.850 – 1/186.150) al finalizar el protocolo de inmunización. Respecto al Western Blot, el suero anti-v.B.d/EDTA reconoció las principales bandas, correspondiente a las proteínas del veneno, de modo similar que el suero anti-v.B.d. Adicionalmente los sueros experimentales producidos presentaron capacidad neutralizante de las principales actividades tóxicas *in vitro* ensayadas. Este resultado deja en evidencia que el EDTA-Na₂ no afecta la inmunogenicidad de las proteínas ya que los animales inmunizados con v.B.d/EDTA-Na₂ responden frente al veneno de *B.diporus* de modo similar a los animales inmunizados con veneno sin bloquear.

BGM4

SENSORES LIBRES DE CÉLULAS PARA LA DETECCIÓN DE METALES PESADOS EN AGUA DE LA CUENCA MATANZA-RIACHUELO

Liuboschitz S¹, Villarruel M¹, Lucks J², Capdevila D¹.

¹Fundación Instituto Leloir-IIBBA, Buenos Aires, Argentina.

²Department of Chemical and Biological Engineering, Northwestern University, Evanston, IL, USA

E-mail: sliuboschitz@leloir.org.ar

Este trabajo tiene como propósito poner a prueba un método de evaluación rápida y económica de la calidad de agua disponible para uso y consumo humano en la Cuenca Matanza-Riachuelo donde habita el 15% de la población argentina, y el agua no es apta para el consumo. El desarrollo se basa en una nueva tecnología, llevada a cabo por el presente grupo de trabajo, denominada ROSALIND. El dispositivo se basa en el uso de ácidos nucleicos (RNA) como fuente de señal (Output) de Sensores Activados por Ligandos INDuctores (ROSALIND), siendo estos sensores factores de transcripción bacterianos que detectan contaminantes que permiten que las bacterias sobrevivan en esas condiciones a través de la transcripción de determinados genes. En el dispositivo, estas proteínas permiten la aparición de fluorescencia verde en el caso de que el agua no sea apta para su uso. Se trata de un sistema modular, libre de células basado en la transcripción *in vitro* donde se combina una RNA polimerasa, factores de transcripción alostéricos y un templado de ADN sintético para regular la transcripción de un aptámero de ARN que activa la fluorescencia en presencia de un contaminante target. Esta plataforma ha sido validada para detectar un amplio rango de contaminantes del agua e implementar dicha técnica en la Cuenca Matanza-Riachuelo adaptándola a contaminantes más prevalentes en la región, proporcionará una herramienta de fácil uso, portátil y mucho más económica que otros equipos en el mercado. El objetivo del proyecto es poner a punto el biosensor para la medición de plomo, utilizando el factor de transcripción alostérico CadC. Para lograrlo, se realizaron titulaciones de la proteína (purificada en el laboratorio) para determinar la relación entre el operador y el factor de transcripción que permita la represión total de la transcripción. Posteriormente, se tituló con los iones metálicos para así determinar la concentración a la cual el factor de transcripción permite

la aparición de fluorescencia. A su vez, se hicieron ensayos similares, titulando concentraciones crecientes de rNTPs para determinar la concentración óptima de los mismos a la cual la fluorescencia alcanzada es máxima. Actualmente, estamos poniendo a punto la liofilización del sensor para poder tomar muestras *in situ* y se está optimizando la reacción para detectar contaminantes en muestras de agua reales obtenidas de la Cuenca Matanza Riachuelo.

El estudio de la selectividad de los ligandos nos permitirá obtener sensores portables de contaminantes del agua de la región y de este modo aportar al control de la calidad del agua, alertando a la población sobre su consumo.

BGM5

ESTUDIO DE LAS PREFERENCIAS CONFORMACIONALES DE LAS UNIDADES REPETITIVAS DEL ANTÍGENO O-ESPECÍFICO DE *Escherichia coli* O1C EMPLEANDO ESPECTROSCOPIA DE RMN Y SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR

Vázquez S, Cuchman S, Fontana C.

Laboratorio de Espectroscopía y Físicoquímica Orgánica, Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte, UdelaR. Paysandú, Uruguay.

E-mail: sofiavazquez@fq.edu.uy

Escherichia coli es una bacteria que forma parte de la flora intestinal tanto en humanos como en animales, pero algunas cepas han adquirido factores de virulencia que le permiten causar enfermedades. Dentro de éstas últimas cada vez se reportan más casos de resistencia a antibióticos, por lo que el diseño de vacunas contra estos patógenos también ha sido declarado de interés por la OMS. Actualmente hay varias vacunas en desarrollo en etapas clínicas y pre-clínicas que se basan en la conjugación de los antígenos O-específicos (O-Ag) que se encuentran en la superficie de estas bacterias a una proteína transportadora. Uno de los antígenos de interés en la formulación de estas vacunas corresponde al del serogrupo O1, ya que las cepas pertenecientes al mismo suelen estar asociadas a infecciones extra-intestinales en humanos (como por ejemplo infecciones del tracto urinario). Pequeñas modificaciones estructurales en estos antígenos dan lugar a tres diferentes subgrupos (O1A, O1B y O1C), que no pueden ser diferenciados por métodos serológicos pero resultan fácilmente distinguibles a través de su análisis estructural (por ejemplo, empleando espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear). Recientemente nos hemos encontrado con un aislado perteneciente a *E. coli* O1C en ganado afectado por mastitis bovina en el departamento de Paysandú (Uruguay), pudiendo ser de interés su consideración en el desarrollo de vacunas de uso veterinario. En este aspecto, nuestro grupo de investigación está comenzando a trabajar en el desarrollo de estrategias de conjugación de este tipo de biomoléculas a nanopartículas de oro, por lo que resulta de interés tener un mejor conocimiento de las preferencias conformacionales de estos polisacáridos en su estado nativo; estos estudios nos permitirán poder evaluar posibles cambios en epítopes clave luego de su derivatización. En este trabajo se realizaron diferentes modelos de la estructura del O-Ag (formadas por tres y diez unidades repetitivas) empleando la plataforma CHARMM-GUI; las simulaciones de dinámicas moleculares se llevaron a cabo en cajas de agua cúbicas empleando el campo de fuerza CHARMM36 y el software GROMACS. El LPS se obtuvo a partir del pellet celular empleando la técnica de extracción con fenol:agua en caliente, seguido de la remoción del lípido A por tratamiento con AcOH

1% y su posterior purificación por cromatografía de exclusión por tamaño. El polisacárido así obtenido fue analizado por espectroscopía de RMN a 308 K en D₂O, empleando un espectrómetro Bruker Avance III 500 MHz. A partir de curvas de crecimiento de NOE fue posible obtener una estimación de distancias experimentales protón-protón claves, que en combinación con las simulaciones teóricas permitieron definir las conformaciones entorno a cada uno de los enlaces glicosídicos.

BGM6

PARTICIPACIÓN DE *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 EN LA MODULACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE CÉLULAS TUMORALES INTESTINALES Y DEL MICROAMBIENTE TUMORAL

Carriere P¹, Feijóo N¹, Novoa Díaz MB¹, Sica G², Gigola G¹, Calvo N¹, Vinderola G³, Gentili C¹.

1 Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS)- INBIOSUR (CONICET-UNS); 2 Departamento de Ciencias de la Salud, UNS; 3 Universidad Nacional del Litoral (UNL)-INLAIN (CONICET-UNL).

E-mail: pmatias.carriere@gmail.com

El péptido relacionado a la hormona paratiroidea (PTHrP) promueve el programa de transición epitelio-mesénquima (TEM) y otros eventos asociados al fenotipo agresivo en la línea HCT116 de cáncer colorrectal (CCR). En función de la importancia de la microbiota en la homeostasis epitelial intestinal, el objetivo de este trabajo fue evaluar si la cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 (*B. lactis* INL1), considerada un nuevo probiótico, es capaz de modular eventos de la progresión del CCR. Esta cepa fue proporcionada por el Dr. Vinderola mediante un acuerdo de transferencia entre la UNS y la UNL (expediente No REC-1092496-21). Inicialmente, se realizó un análisis *in silico* que luego nos orientó en los ensayos *in vitro*. Empleando la base de datos Gene Expression Omnibus (GEO) y el programa GEO2R, obtuvimos genes expresados diferencialmente (GED) del conjunto de datos de microarray GSE15636. Los GED resultaron en 1289 genes sobreexpresados (Sp) y 1420 genes regulados negativamente (Rn) en la línea Caco-2 de CCR expuesta al sobrenadante libre de células (SLC) de la cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 420 (B420). El enriquecimiento funcional por EnrichR mostró que estos genes Sp están implicados en la regulación de la migración celular, en la unión de cadherinas y en la unión célula-sustrato. Más aún, observamos que marcadores epiteliales relevantes como E-cadherina y ZO-1 incrementan su expresión en las células Caco-2 por acción del SLC de B420. En base a este análisis, se evaluó si el SLC de *B. lactis* INL1 modula cambios asociados a la TEM. Mediante estudios morfológicos observamos que la pre-incubación por 4 horas con el SLC de *B. lactis* INL1 inhibe la elongación celular típica del estado mesenquimal e inducida por PTHrP en las células HCT116. Por otro lado, recientemente informamos que cepas con reconocida acción probiótica disminuyen la expresión de genes que se encuentran sobreexpresados en muestras clínicas de CCR, entre ellos, la citoquina inhibidora de macrófagos/GDF-15. Por este motivo, evaluamos si el SLC de *B. lactis* INL1 también es capaz de modular en forma directa la migración de macrófagos, fenómeno asociado a la vigilancia antitumoral del microambiente tumoral. Empleando ensayos de migración Transwell observamos que el SLC de *B. lactis* INL1 incrementa la capacidad migratoria de macrófagos RAW264.7 a las 2 y 3 horas de tratamiento. En conjunto, estos hallazgos sugieren que *B. lactis* INL1 modula el comportamiento de células tumorales y de su microambiente y respaldan la importancia de analizar cuál es la función de esta cepa en la comunicación dentro del nicho tumoral.

BGM7**EVALUACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ASOCIADOS A ENFERMEDAD CELÍACA**
*de Diego GA^{a,b}, Cerny N^{a,b,c}, Iacono R^{a,b,c}, Tamborenea MI^a, Martínez Ruiz BL^{a,b}, Fernández MM^c, De Marzi MC^{a,b}**^aLaboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján**^bInstituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES-UNLu-CONICET)**^cInstituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU-UBA-CONICET)**E-mail: gabrieldediego97@gmail.com*

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía autoinmune crónica basada en la intolerancia permanente a un conjunto de proteínas denominadas prolaminas, que se encuentran presentes en trigo, cebada, centeno y avena, en individuos genéticamente susceptibles. Según el Ministerio de Salud se calcula que más de 400.000 personas padecen la EC en la Argentina, sin embargo, dado que la mayoría no presenta sintomatología, se infiere que podría ser aún mayor. El título de los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular, isotipo IgA (a-tTgA) es el marcador serológico de elección para el apoyo diagnóstico. El objetivo del trabajo fue realizar un estudio de prevalencia de anticuerpos relacionados con la EC en la localidad de Chivilcoy, Buenos Aires. Para esto, se tomaron muestras de suero de 537 voluntarios. Cada voluntario firmó un consentimiento informado y completó un cuestionario sobre características demográficas, antropométricas, factores medioambientales, alimentación, actividad física, medicación, antecedentes familiares, sintomatología asociada a EC, etc. A todas las muestras se les determinó el título de a-tTgA y a-GliA utilizando kits de ELISA desarrollados en el Laboratorio de Inmunología de la Universidad Nacional de Luján. Se inmovilizó tTg tipo 2 humana recombinante producida en *E. coli* y gliadina comercial en policubetas de 96 pocillos. Posteriormente, se incubaron las muestras de suero de los voluntarios. Con el fin de detectar la presencia de los anticuerpos específicos IgA, se agregó como segundo paso el anticuerpo correspondiente a-IgA conjugado con peroxidasa. Una vez agregado el sustrato se realizó la lectura a 450 nm en un lector de placas. Finalmente, se realizó el análisis de los resultados obtenidos, confrontando la presencia de anticuerpos con la información recopilada en los cuestionarios. El 7,26% de los voluntarios tenían diagnóstico de EC (7,54% mujeres y 6,35% hombres, respectivamente). Además, el 57,7% declaró tener otras patologías siendo también mayor proporción de mujeres que de hombres (67,9% y 24,6%, respectivamente). El 78,8% de las mujeres y el 55,5% de los hombres manifestaron presentar síntomas gastrointestinales asociados a EC. En cuanto a los anticuerpos evaluados, la proporción de voluntarios con a-tTgA positivos fue de 9,89% y de a-GliA de 32,5%. Los kits desarrollados en nuestro laboratorio nos permitieron llevar a cabo el análisis de anticuerpos a-tTgA y a-GliA en la población estudiada. En el presente estudio se pudo observar una alta incidencia poblacional de los anticuerpos evaluados. En muchos casos los altos niveles de anticuerpos se correspondieron con la presencia de manifestación clínica asociada, aunque un gran número de voluntarios no se manifestaron como celíacos en el interrogatorio.

BGM8**EJEMPLAR HEMBRA DE LA RAZA CUARTO DE MILLA (*Equus ferus caballus*) (MAMMALIA: EQUIDAE) CON FALLAS EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO**

Estévez DY^{1,2}, *Montesi AM*^{3,4}, *Steinberg ER*⁵, *Género E*², *Mudry MD*⁵, *Bressa MJ*¹.

¹Grupo de Citogenética de Insectos, IEGEBA, DEGE, FCEyN, UBA, CONICET. ²Laboratorio de Biotecnología, IIPAAS, FCA, UNLZ. ³FCV, UNNE. ⁴Establecimiento Haras El Remanso, Corrientes. ⁵GIBE, IEGEBA, DEGE, FCEyN, UBA, CONICET. República Argentina.

E-mail: daniela.y.estevez@gmail.com/daniela.y.estevez@ege.fcen.uba.ar

La yegua Lock Lady Car de la raza Cuarto de Milla procedente del Haras El Remanso (provincia de Corrientes, República Argentina) fue comprada a los seis meses de edad y a los 24 meses ingresó a un programa de amanse y entrenamiento para carreras de corta distancia (375 m.). Antes de cumplir los cuatro años fue retirada del entrenamiento debido a su bajo desempeño, comportamiento indeseable y peligroso. A los 10 años de edad, la evaluación clínica indica una condición corporal normal (entre 4 y 5 según la escala de la condición corporal de los caballos de Henneke), pero el análisis del comportamiento muestra ausencia de celo o celo escaso y/o anormal, baja libido y pobre aceptación o rechazo del macho durante las diferentes temporadas reproductivas, generando algunas veces comportamiento de celo en otras hembras. Con el objeto de determinar el posible origen de las fallas en el comportamiento reproductivo de la yegua Lock Lady Car se realizaron el examen clínico, la ecografía de los órganos reproductores y el análisis citogenético de preparaciones cromosómicas mitóticas con tinción uniforme y bandas cromosómicas, obtenidas a partir del cultivo de linfocitos de sangre periférica. La exploración visual directa de los órganos externos e internos no reveló anomalías. La ecografía de órganos reproductores internos mostró hipoplasia gonadal y escasa cantidad de folículos menores a 10 mm de diámetro. El diagnóstico veterinario descartó al tratamiento realizado durante el programa de amanse y entrenamiento como posible causa de esas fallas en el comportamiento reproductivo. El análisis citogenético de 200 células metafásicas reveló que la yegua presenta un número cromosómico somático predominante $2n=64$ (98 células/49%), coincidente con el número cromosómico normal para *Equus ferus caballus*, y un número cromosómico $2n=62$ (62 células/31%); además se detectaron 40 células con distintas aneuploidías (20%). En la literatura se observa que los estudios citogenéticos en *Equus* han permitido identificar mutaciones cromosómicas asociadas con anomalías congénitas, disminución o ausencia total de producción de gametos funcionales y/o pérdida embrionaria. De los estudios clínicos y la caracterización cariológica de la yegua Lock Lady Car se evidencia la presencia de un mosaicismo sanguíneo cromosómico que como primer diagnóstico presuntivo se podría corresponder con una disminución en su desempeño reproductivo. El mosaicismo en *Equus* suele estar asociado con anomalías en el tracto reproductivo y el grado de mosaicismo puede modular el alcance de las anomalías reproductivas observadas.

BGM9**GENERACIÓN DE NANOBODIES COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA PARA APLICACIÓN EN DIFERENTES ÁREAS DE LA BIOLOGÍA**

*Alzoqaray V*¹, *Goldbaum F*^{1,2}.

¹ Fundación Instituto Leloir, IIBBA-CONICET, Av. P. Argentinas 435, (1405) CABA, Argentina.

² *Centro de Rediseño e Ingeniería de Proteínas (CRIP), Universidad Nacional de San Martín, 25 de Mayo y Francia, (B1650) San Martín, Pcia. de Buenos Aires, Argentina*
E-mail: valzogaray@leloir.org.ar

Los camélidos generan de manera natural anticuerpos IgG formados únicamente por cadena pesada. La región variable de estos anticuerpos que reconoce al antígeno se denomina nanobodies (Nbs). Éstos fragmentos de anticuerpo de dominio único reúnen una serie de propiedades entre las cuales se destacan su pequeño tamaño, fácil producción, elevada especificidad y afinidad por lo antígenos que reconocen, pueden penetrar el tejido celular, reconocen epitopes ocultos, son solubles y estables en condiciones críticas de temperatura y pH. Mediante la aplicación de distintas metodologías los Nbs se pueden obtener de manera recombinante y dada sus propiedades intrínsecas son aplicados en áreas como el diagnóstico, terapéutico, imágenes, inmunoterapia, entre otras. Varios Nbs se encuentran en ensayos clínicos de fase I y II, especialmente contra enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y autoinmunes. En el presente trabajo describimos el pipeline que hemos puesto en marcha para la obtención de Nbs contra diferentes antígenos los cuales en su mayoría están involucrados en enfermedades de relevancia local, regional y mundial. La estrategia incluye el uso de la tecnología de phage display para seleccionar Nbs que reconozcan al antígeno en estudio. Posteriormente empleamos la técnica de ELISA o placa de níquel, que permite orientar espacialmente la proteína objetivo, y como resultado cientos de Nbs pueden ser caracterizados de acuerdo a su especificidad. Los Nbs seleccionados son expresados como proteína recombinante y también caracterizados por su afinidad. A partir de esta plataforma robusta, versátil y simple somos capaces de obtener Nbs y utilizarlos como herramienta biotecnológica para aplicarlos en diferentes áreas de la biología como microscopía electrónica, estudios cristalográficos, estudios de optogenética y ensayos de diagnóstico.

BGM10

ENZIMAS INMOVILIZADAS DEL VENENO DE CASCABEL PARA LA PRODUCCIÓN DE LISOLECITINAS

Alonso MR, Fusco LS, Echeverría S, Leiva, L.

Laboratorio de Investigación en Proteínas (LabInPro). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE).

E-mail: rosarioalonsoalbarenque@hotmail.com

Las enzimas son catalizadores producidos por los seres vivos, altamente efectivas y se requieren en muy bajas concentraciones. Estas características las vuelven adecuadas para su uso en aplicaciones industriales, alimenticia, cosmética y farmacéutica, entre otras. En el NEA habitan especies que resultan de interés por ofrecer una secreción rica en enzimas que pueden tener aplicabilidad industrial, tal es el caso particular de la serpiente de cascabel (*Crotalus durissus terrificus*), la cual se caracteriza por presentar en su veneno un alto contenido de fosfolipasas A₂ (PLA₂). Estas enzimas actúan sobre los glicerofosfolípidos, liberan el ácido graso de la posición 2 del glicerol y conducen así a la formación de lisofosfolípidos. Estas moléculas, son excelentes emulsionantes y surfactantes adecuados para su uso en muchas aplicaciones industriales. A partir de estos antecedentes y teniendo en cuenta que los catalizadores deben permanecer en el medio de reacción cuando los productos de la catálisis son

retirados, en el presente trabajo se llevó a cabo la inmovilización del veneno de la serpiente cascabel (rico en PLA₂) con el fin de evaluar su actividad catalítica sobre una fuente rica en lecitinas para la obtención de lisolecitinas. El veneno fue inmovilizado en CNBr-activated Sepharose™ 4B a temperatura ambiente, bajo agitación magnética suave durante 24hs. La cantidad de veneno retenido se evaluó por medida de Absorbancia (UV-280nm) y la actividad de la enzima PLA₂ presente en el veneno se determinó mediante ensayo colorimétrico con rojo fenol. Los extractos de lecitinas (ELs) se obtuvieron a partir de yema de huevo (20 g) mediante extracciones con disolvente: primera etapa con etanol (96%), y luego la fracción soluble se trató con acetona; finalmente, el precipitado se secó en estufa a 37°C. Las lisolecitinas se obtuvieron mediante una reacción enzimática bajo sistema tipo batch con el ELs y la PLA₂ previamente inmovilizada en buffer fosfato 10mM, durante 2 h bajo agitación suave a 37°C. Tanto la muestra inicial (ELs) como la fase líquida luego del contacto del ELs con la enzima inmovilizada se sometieron a TLC sobre gel de sílice 60 F254 utilizando éter de petróleo/éter etílico/ácido acético (90:10:1 v/v/v) y cloroformo/ metanol/ agua (65:35:3 v/v/v) como fases móviles. Se reveló con reactivo de Dragendorff. Las manchas obtenidas se analizaron por densitometría (software ImageJ), y se calculó el contenido porcentual relativo de lecitinas y lisolecitinas presentes en las diferentes muestras. La matriz CNBr-activated Sepharose™ 4B mostró una elevada capacidad de unión a proteínas ofídicas ya que logró inmovilizar un 99,64% del contenido proteico presente en la solución inicial del veneno. Por otro lado, si bien las lisolecitinas están presentes en la muestra inicial de lecitinas, el tratamiento con la PLA₂ inmovilizada elevó un 20% de lisofosfolípidos con respecto a la muestra inicial. Estos hallazgos preliminares permitirán contribuir al uso de matrices con enzimas inmovilizadas para la producción de lisolecitinas con potencial uso biotecnológico.

Viernes 2 de diciembre

SESIÓN 1: BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 3 (DR3)

DR3.1

ROL DE CRISP1 EN LA REGULACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DEL EPITELIO EPIDIDIMARIO

Carvajal G, Rebagliati Cid A, Valeria Sulzyk, Battistone A, Breton S, Weigel Muñoz M, Cuasnicú PS.

IBYME-CONICET.

E-mail: abrilrebagliaticid@gmail.com

Las proteínas epididimarias CRISP1 y CRISP4 se asocian con la superficie de los espermatozoides durante la maduración epididimaria y participan del proceso de fertilización. Los machos dobles knockout (KO) para estas proteínas son subfértiles y presentan claros defectos en la diferenciación del epitelio epididimario y una alteración en el pH luminal crítico para el almacenamiento de los espermatozoides en el túbulo. En base a ello, el objetivo del presente trabajo ha sido investigar el rol de las proteínas CRISP en el funcionamiento del epitelio epididimario. Para ello, utilizamos como modelo un cultivo de líneas celulares inmortalizadas de epitelio epididimario de diferentes regiones del órgano, denominadas PC1 y DC2. Inicialmente, analizamos la expresión de CRISP1 y CRISP4 mediante RT-PCR observando expresión del mensajero de *Crisp1* en ambas líneas y la ausencia de *Crisp4*. Asimismo, mediante ensayos de Western Blot, no se detectó la presencia de CRISP1 ni en

extractos celulares ni en los sobrenadantes de los cultivos indicando que el mensajero de *Crisp1* no se estaba expresando en las células en cultivo. En base a ello, los siguientes estudios fueron realizados agregando CRISP1 a las células en cultivo, mimetizando lo que ocurre *in vivo*. Teniendo en cuenta que los espermatozoides KO para CRISP1 presentan alteraciones en la cascada de señales cAMP-PKA, decidimos evaluar si CRISP1 también estaba involucrada en dicha cascada a nivel epitelial. Para ello, CRISP1 nativa purificada fue agregada a las células en cultivo, evaluándose los niveles de fosforilación en sustratos de PKA por Western Blot. Los resultados mostraron un incremento en los niveles de fosforilación similar al observado al agregar cAMP y no detectado en presencia de un inhibidor de PKA. Por su parte, no se observaron diferencias significativas en la fosforilación de sustratos de PKC o Src. Dado que uno de los blancos de fosforilación de PKA, el canal CFTR, está involucrado en la liberación de ATP hacia el lumen en las células epiteliales epididimarias, y que el ATP extracelular es esencial para la función del epidídimo y del espermatozoide, evaluamos si la exposición de las células epiteliales a CRISP1 era capaz de modular la liberación de ATP al medio, observándose un incremento en los niveles de ATP presentes en el sobrenadante. En conjunto, los estudios realizados indican la capacidad de CRISP1 de regular no solo la función espermática sino también la funcionalidad de las células epiteliales epididimarias a través de la modulación de la cascada de señales cAMP-PKA.

DR3.2

DINÁMICA DE LA GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO Y MITOCONDRIAS ACTIVAS DURANTE LA MADURACIÓN DE OVOCITOS PORCINOS *IN VITRO*

Camporino A^b, Cetica P^{a,b}, Morado S^{a,b}.

^aUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina. ^bUniversidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: acamporino@fvet.uba.ar

El rol de las especies reactivas del oxígeno (ROS) en los procesos relacionados con el cultivo y la manipulación *in vitro* de gametas y embriones aún es controversial. Se ha propuesto que las ROS pueden actuar como moléculas mediadoras que influyen en procesos como la proliferación celular, la expresión génica y la activación de diversas vías de señalización, siendo la mitocondria y, particularmente, la cadena de transporte de electrones, la principal fuente de ROS. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la fluctuación en las mitocondrias activas y la producción de ROS durante la maduración *in vitro* (MIV) de ovocitos porcinos a las 0, 24 y 44 h. Se utilizaron ovarios de hembras porcinas faenadas, de los cuales se obtuvieron los complejos ovocito-cumulus (COCs) inmaduros por punción-aspiración de folículos ováricos antrales, empleando únicamente ovocitos completamente rodeados por un cumulus íntegro y denso. Los COCs fueron madurados en medio 199 adicionado con 50 µg/ml de sulfato de gentamicina, 10% (v/v) de fluido folicular porcino, 0,57 mM de cisteína, 0,5µg/ml de FSH y 0,5µg/ml de LH, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO₂ en aire y 100% de humedad durante 44 h. Para determinar la dinámica de producción de ROS y de mitocondrias activas se extrajeron cohortes de COCs del medio de maduración a las 0, 24 y 44 h, tiempos en los cuales suceden algunos de los eventos más importantes para la MIV de ovocitos porcinos. Los grupos de COCs extraídos fueron incubados con hialuronidasa a 37°C y desnudados con pipeta Pasteur fina. La dinámica

de producción de ROS fue evaluada mediante la tinción con diacetato de 2',7'-diclorodihidro diacetato de fluoresceína (DCH₂FDA), mientras que las mitocondrias activas fueron evaluadas con la tinción Mitotracker Green. Se obtuvieron microfotografías digitales por microscopía de epifluorescencia que fueron analizadas utilizando el software IMAGE J, valorando la luminosidad individual de cada ovocito. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA y posteriormente una prueba de Bonferroni. Un $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Se observó un descenso en la producción de ROS a las 24 h de maduración ($p < 0,05$), coincidiendo con un aumento en las mitocondrias activas en el mismo tiempo ($p < 0,05$), no existiendo diferencias significativas a las 0 y 44 h de cultivo para ambos parámetros. A partir de los resultados obtenidos, puede inferirse que, al igual que lo observado en ovocitos bovinos, se observa una fluctuación en la producción de ROS y en las mitocondrias activas a lo largo de la MIV de los ovocitos porcinos, donde un aumento de la actividad mitocondrial se ve relacionada con un consecuente descenso en la producción de ROS. En futuros trabajos evaluaremos cómo se relaciona la variación observada en la producción de ROS en la activación de la vía de señalización intracelular de las MAPK, con el objetivo de contribuir con la comprensión del rol de las mismas como moléculas de señalización en el proceso de maduración.

DR3.3

¿LA HUMANINA MODULA LA CAPACIDAD ANTI-OXIDANTE EN LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA?

Conte JG^{1,2}, Reynoso S³, Magnani N³, Mathó C⁴, Peluffo MC², Jaita G¹.

¹*Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED) -UBA-CONICET, Facultad de Medicina UBA.*

²*Centro de Investigaciones Endocrinológicas "Dr. César Bergadá" (CEDIE) -CONICET-FEI-División de Endocrinología, Hospital de Niños "Ricardo Gutiérrez".*

³*Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL) -UBA-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA.*

⁴*Departamento de Genética, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay.*

E-mail: jaitagabriela@gmail.com

El estrés oxidativo puede desencadenarse tanto por un incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), como por un déficit en la capacidad anti-oxidante celular. Dicho estrés se encuentra involucrado en diversas alteraciones de la fisiología ovárica. Recientemente en nuestro laboratorio, demostramos que la Humanina (HN, un pequeño péptido mitocondrial con efectos citoprotectores) disminuye la producción de ROS en una línea celular humana de células de la granulosa (KGN) expuestas a un ambiente pro-oxidante. En el presente trabajo, nos propusimos continuar con la evaluación de la acción de la HN sobre su capacidad anti-oxidante frente al estrés oxidativo. Para ello, células KGN en cultivo fueron incubadas con HN (1 μ M, 30 min) en presencia de un agente pro-oxidante [peróxido de hidrógeno (H₂O₂), 150 μ M, 1 h]. Finalizado el cultivo, determinamos la expresión y actividad de las enzimas anti-oxidantes superóxido dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT) mediante western blot y espectrofotometría, respectivamente. En condiciones de estrés oxidativo (en presencia de H₂O₂), observamos que el agregado de HN no modificó la expresión proteica de SOD-1 (SOD citoplasmática), ni su actividad total ($n=3-4$, $p > 0,05$, ANOVA). En cuanto a la enzima CAT, tampoco observamos cambios en sus niveles proteicos con HN en presencia de H₂O₂ ($n=2$). Sin embargo, la mayor actividad de CAT fue observada en las células KGN incubadas en presencia

de HN en condiciones pro-oxidantes (n=2). En conclusión, estos resultados sugieren que los efectos anti-oxidantes de la HN en las células KGN, podrían estar relacionados con la regulación de la actividad de la enzima CAT, actuando así como un modulador del balance pro y anti-oxidante en estas células.

DR3.4

ESTUDIOS METABOLÓMICOS EN ESPERMATOZOIDES DE RATÓN INCUBADOS EN CONDICIONES DE HAMBREDO Y POSTERIOR RECUPERACIÓN REVELARON CAMBIOS SIGNIFICATIVOS ENTRE TRATAMIENTOS

Romarowski A¹, Nayyab S¹, Hidalgo DM², Gervasi MG¹, Balbach M³, Violante S⁴, Salicioni AM¹, Cross J⁴, Levin LR³, Buck J³, Fejzo J⁵, Visconti PE¹.

¹*Department of Veterinary and Animal Science, University of Massachusetts, Amherst, MA, USA.*

²*Unidad de Investigación del Hospital San Pedro de Alcántara (Fundesalud), Cáceres, España.*

³*Department of Pharmacology, Weill Cornell Medicine, New York, NY, USA.* ⁴*Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA.* ⁵*Institute of Applied Sciences, University of Massachusetts, Amherst, USA.*

E-mail: anaromarowski@gmail.com

Los espermatozoides de mamífero requieren atravesar el proceso de capacitación en el tracto femenino o *in vitro* para poder fecundar al ovocito. Para lograr la capacitación *in vitro*, los espermatozoides se incuban en medios que contienen un número limitado de compuestos, entre ellos calcio, bicarbonato, albúmina de suero y fuentes de energía (por ejemplo, glucosa, piruvato). Usando al ratón como modelo, recientemente reportamos una nueva metodología que mejora la funcionalidad de los espermatozoides, incluidas las tasas de fecundación y desarrollo embrionario. En este método, los espermatozoides quedan inmóviles mediante la incubación en un medio desprovisto de nutrientes energéticos. A pesar de su falta de movimiento, los espermatozoides son viables y se recupera su movilidad por completo al añadirles los sustratos energéticos nuevamente. Aún se desconoce cómo este tratamiento afecta la señalización y el metabolismo asociados con la capacitación. Como parte de este trabajo, investigamos el efecto del hambre y la recuperación en las vías de fosforilación asociadas a la capacitación; también analizamos los efectos de este tratamiento en los niveles de glicólisis y fosforilación oxidativa utilizando una combinación de metodologías que incluyen la tecnología del Seahorse (mediante la medición de la tasa de acidificación extracelular (ECAR) y la tasa de consumo de oxígeno (OCR)), resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. Estos experimentos revelaron que, durante el hambre, muchos metabolitos disminuyen, otros permanecen estables y, lo que es más importante, algunos metabolitos como la L-carnitina ($p < 0.05$) y el 5'AMP ($p < 0.001$) aumentan significativamente. Una vez que los espermatozoides se recuperan mediante la adición de glucosa, las vías metabólicas de producción de energía se restablecen por completo y esta recuperación se acompaña de cambios metabólicos que se parecen mucho a los observados en los espermatozoides que no han sufrido el hambre ($p > 0.05$). En conjunto, los resultados de este trabajo indican que la manipulación del metabolismo espermático puede afectar la funcionalidad del espermatozoide mejorando la fecundación.

DR3.5**ROL DEL MRP4 EN LA REGULACIÓN DE LA VÍA DE FOSFORILACIÓN DEPENDIENTE DE AMPc DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS**

Río S¹, Arroyo-Salvo C¹, Alonso CA², Bogetti ME¹, Morales MF³, Arenas G³, Rey-Valzacchi G³, Davio C⁴, Pérez-Martínez S¹.

*¹Laboratorio de la Reproducción en Mamíferos, CEFYBO-UBA, Buenos Aires, Argentina; ²Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Canada; ³Red de Medicina Reproductiva y Molecular (PROCREARTE), Buenos Aires, Argentina; ⁴Instituto de Investigaciones Farmacológicas, UBA-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: perezms@fmed.uba.ar*

Previamente demostramos la importancia de la proteína de resistencia a múltiples drogas 4 (MRP4) en espermatozoides bovinos y murinos. Esta proteína transportadora participa en el proceso de capacitación espermática inducida por bicarbonato, mediante la exclusión de AMPc en ambas especies. También caracterizamos a MRP4 en humanos y determinamos la exclusión del nucleótido a través de dicho transportador. Sin embargo, hasta el momento no se ha dilucidado su rol en la fisiología espermática en esta especie. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la participación de MRP4 en la vía de fosforilación dependiente de AMPc durante la capacitación espermática en humanos. Para este estudio se utilizaron 24 muestras espermáticas de hombres normozoospermicos. En primer lugar, corroboramos la presencia de MRP4 mediante la técnica de western blot (~150 kDa) y su localización celular, mediante inmunofluorescencia, en la región post-acrosomal y la pieza media (79.41±10.88%). La capacitación espermática se correlaciona con un incremento en los niveles de proteínas fosforiladas en residuos tirosina (pTyr), mediada por la vía de AMPc/proteína quinasa A (PKA). Por ello, realizamos incubaciones en condiciones no capacitantes (NC) y capacitantes (CAP) (medio HTF; bicarbonato 25 mM y BSA 5 mg/ml) durante 360 min (0, 5, 30, 60 y 360) evaluando los niveles de residuos fosforilados por PKA (pPKA) y pTyr. Observamos un aumento significativo en los niveles de pPKA en espermatozoides incubados en medio CAP respecto a NC a los 5 y 30 min, y un aumento significativo en los niveles de pTyr en espermatozoides incubados en medio CAP respecto a NC a los 360 min. Este resultado concuerda con lo descrito previamente para esta especie. Para evaluar la influencia de la función de MRP4 en esta vía, incubamos espermatozoides en medio NC y CAP, en presencia o ausencia de su inhibidor específico MK571. Se observó un aumento significativo en los niveles de pPKA en espermatozoides incubados en NC+MK571 respecto a NC a los 5 min, y una disminución significativa en los niveles de pTyr en espermatozoides incubados en CAP+MK571 respecto a CAP a los 360 min. Esta disminución coincide con lo observado previamente en la especie murina. La incubación de los espermatozoides con AMPc no permeable no revirtió los efectos producidos por MK571 sobre los niveles de pPKA ni los de pTyr en los tiempos evaluados. Esto sugiere que el MRP4 estaría participando en la regulación de los niveles intracelulares de AMPc y como consecuencia modulando los niveles de fosforilación en las vías de señalización dependientes del nucleótido. Futuros estudios nos permitirán establecer si el AMPc excluido a través de MRP4 tiene implicancias en la regulación de otras vías moleculares asociadas a la capacitación en el espermatozoide humano.

DR3.6**EFFECTO DEL TROLOX SOBRE LAS ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO Y EL ESTADO REDOX DURANTE LA MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS BOVINOS**

Gadze T^a, Morado S^{ab}, Córdoba M^{a,b}, Cetica P^{a,b}.

^aUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina. ^bUniversidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

E-mail: tomasgadze@gmail.com

La producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) es un proceso normal que ocurre en las células, pero ciertas condiciones estresantes propias de los ambientes *in vitro* que alteran el balance entre la producción de ROS y su remoción por los sistemas antioxidantes intracelulares, pueden producir daño oxidativo y alteración de la función de la célula. El papel de las ROS y/o de las sustancias antioxidantes en la manipulación y cultivo de gametas y embriones *in vitro* es contradictorio, reportándose tanto efectos dañinos como benéficos. Nuevos antioxidantes como el trolox han surgido y sus propiedades se están analizando. No hay suficiente evidencia acerca de las concentraciones en las que el trolox podría ejercer un efecto en la maduración *in vitro* (MIV) de ovocitos bovinos, ni de su subsecuente efecto sobre la fecundación y el desarrollo embrionario. El objetivo fue estudiar el efecto del trolox en la MIV de ovocitos bovinos sobre los niveles de producción de ROS y el estado redox de los ovocitos. Se utilizaron ovarios provenientes de mataderos que fueron transportados hasta el laboratorio, donde se realizó la punción-aspiración de los folículos y la recuperación de los complejos ovocito-cumulus (COCs). Los COCs fueron madurados en medio 199 suplementado con gonadotrofinas y suero fetal bovino durante 22 h a una temperatura de 39°C con una atmósfera humidificada de 5% de CO₂ en aire (control) o suplementado con 25 µM (T₁), 50 µM (T₂) ó 100 µM (T₃) de trolox. Luego los COCs fueron desnudados con hialuronidasa a 37°C. Para determinar la producción de ROS, los ovocitos desnudados fueron incubados durante 30 minutos con 5 µM de 2',7'-diclorodihidrodiacetato de fluoresceína (DCHFDA) y montados en portaobjetos para cuantificar su fluorescencia. El estado redox de los ovocitos fue determinado a partir de la relación FAD/NAD(P)H, midiendo la intensidad de los compuestos endógenos autofluorescentes FAD y NAD(P)H. Las microfotografías digitales obtenidas por microscopía de epifluorescencia fueron analizadas utilizando IMAGE J valorando la luminosidad individual de cada ovocito. La maduración nuclear de los ovocitos se evaluó con la tinción fluorescente de Hoechst 33342. Los datos cuantitativos fueron analizados por ANOVA y los cualitativos por Chi-cuadrado (p<0,05). La producción de ROS en los ovocitos madurados en presencia de trolox disminuyó significativamente respecto al control (p<0,05), no observándose diferencias significativas entre las tres concentraciones estudiadas. Asimismo, la relación FAD/NAD(P)H en los ovocitos fue disminuyendo paulatinamente con el incremento de la concentración de trolox, observándose diferencias significativas entre el control y T₃ y entre T₁ y T₃ (p<0,05). La maduración nuclear no varió entre los tratamientos. Podemos concluir que la suplementación del medio de MIV con trolox disminuye la producción de ROS y desplaza el estado redox de los ovocitos hacia la reducción. Sin embargo, falta aún evaluar su efecto en la maduración citoplasmática y el desarrollo embrionario *in vitro*.

DR3.7**EFFECTO DE LA OBESIDAD MATERNA SOBRE EL DESARROLLO TEMPRANO DE LAS CRÍAS**

Anselmi SK, Koutsovitis C, Barrios CD, Depino AM y Elia EM.

Universidad de Buenos Aires (UBA)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)- Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE); Buenos Aires, Argentina.

E-mail: sofia.anselmi97@gmail.com

La obesidad es un problema epidemiológico a nivel mundial y uno de los mayores desafíos de la salud pública del siglo XXI. La obesidad materna impacta negativamente sobre la salud de la descendencia, aumentando el riesgo de desarrollar obesidad y sus enfermedades asociadas en la adultez. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de obesidad materna sobre el desarrollo de la descendencia. Para ello, ratones hembra CF1 de 21-23 días de edad se dividieron en 2 grupos que fueron alimentados *ad libitum* con dieta estándar (grupo control) y CAF (grupo CAF) hasta detectar un aumento significativo en el peso corporal de los animales CAF vs. control. Luego de 11 semanas de protocolo dietario se detectó un aumento significativo del peso corporal en los animales CAF. A continuación, las hembras fueron apareadas y se permitió el nacimiento de las crías (PND0). Se evaluaron el comportamiento materno entre PND1-7 y diferentes marcadores de desarrollo de las crías entre PND7-21. El número de crías nacidas fue similar en animales control y CAF. Sin embargo, la cantidad de crías que alcanzaron PND7 fue significativamente menor en el grupo CAF que control ($p < 0,0001$), sin producirse muertes después de PND7 en ningún grupo. Al evaluar el cuidado materno, no se detectaron diferencias entre madres control y CAF. Cuando se evaluaron marcadores de desarrollo, se detectó que la aparición del sobresalto acústico y la apertura de ojos ocurrió más tempranamente en crías de madres CAF que control ($p < 0,05$); mientras que la aparición de pelo y de orejas se produjo en el mismo momento del desarrollo en ambos grupos. No se observaron diferencias en cuanto a la fuerza de agarre evaluada entre PND13-21 para ambos grupos. Se verificó aquí, entonces, que CAF tiene la capacidad de inducir obesidad en esta cepa de ratones. La obesidad materna causa una disminución en la sobrevivencia de las crías entre PND1-7 y esto no se debe de alteraciones en el cuidado materno. Aquellas crías CAF que sobreviven al PND7 presentan algunos marcadores de desarrollo más tempranamente que las controles. Así se concluye que la obesidad materna disminuye la sobrevivencia y el desarrollo temprano de las crías.

DR3.8**EFFECTO DEL IONÓFORO DE CALCIO A23187 SOBRE LA ADQUISICIÓN DE LA CAPACIDAD FECUNDANTE *IN VITRO* EN ESPERMATOZOIDES EQUINOS CRIOPRESERVADOS**

Laiz-Quiroga L¹, Navarro M¹, Martínez-León E², Buffone MG³, Mutto A¹, Osycka-Salut C¹.

¹ IIB-UNSAM, ² INIGEM, ³ IBYME, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: lucia.laizquirola@gmail.com

Para que un espermatozoide pueda fecundar un ovocito *in vivo*, deben ocurrir tres procesos: la capacitación, la hiperactivación y la reacción acrosomal. Es por ello que para desarrollar las técnicas de reproducción asistida es necesario inducir *in vitro* estos eventos fisiológicos en la gameta masculina.

Si bien están descriptas las condiciones para favorecer la adquisición de la capacidad fecundante *in vitro* de los espermatozoides en numerosas especies, aún no hay un protocolo definido en el caso de los espermatozoides equinos criopreservados. Esto imposibilita el desarrollo de un protocolo de fecundación *in vitro* (FIV) exitoso en esta especie para la producción de embriones utilizando este tipo de muestras.

Previamente se demostró que una breve exposición de los espermatozoides bovinos y murinos al ionóforo de calcio A23187, y la consecuente entrada de calcio al citoplasma, incrementa la capacidad fecundante *in vitro* de los mismos y la producción embrionaria al inducir eventos asociados a la capacitación e hiperactivación. El mecanismo de acción del ionóforo omite la vía de señalización clásica de la capacitación espermática como lo son el incremento en la fosforilación en residuos tirosina (pTyr) y en sustratos de PKA (pPKA).

Dadas las dificultades para producir embriones equinos mediante FIV utilizando espermatozoides criopreservados y los antecedentes del uso de A23187 en otras especies, el objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad fecundante potencial en espermatozoides equinos criopreservados brevemente expuestos al ionóforo A23187.

En primer lugar, estudiamos el efecto de 1 μ M de A23187 sobre los espermatozoides. A los 10 min, el ionóforo disminuyó significativamente la población mótil de espermatozoides (CASA, $p < 0,05$) sin afectar la viabilidad (HOS test, $p > 0,05$) ni el estado acrosomal (PSA-FITC, IF, $p > 0,05$) de los mismos. Luego de remover el A23187, los espermatozoides fueron incubados en condiciones no capacitantes por 20 min y se evaluó la motilidad y su potencial capacidad fecundante. La incubación previa de los espermatozoides con 1 μ M de A23187 incrementó la población hiperactivada (CASA, $p < 0,05$) y la inducción de eventos asociados a la capacitación como lo son el incremento en la reacción acrosomal inducida por progesterona (IF, $p < 0,05$) y la capacidad de los espermatozoides a unirse a la zona pelúcida de ovocitos bovinos ($p < 0,001$), omitiendo la activación de la vía de señalización de pTyr y pPKA (IF, $p > 0,05$). Nuestros resultados sugieren que una breve exposición de los espermatozoides equinos criopreservados al ionóforo A23187 podría ser incorporada en los protocolos de las técnicas de reproducción asistida con el fin de incrementar la capacidad fecundante espermática *in vitro* al inducir la hiperactivación y eventos asociados a la capacitación en esta especie.

DR3.9

EFFECTO DE BAJAS DOSIS DE GLIFOSATO SOBRE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

Oddi S¹, Altamirano GA^{1,2}, Gomez AL^{1,2}, Abud J¹, Muñoz-de-Toro M^{1,2}, Kass L^{1,2}.

1. Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL. UNL-CONICET).

2. Cátedra de Patología Humana, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL.

E-mail: sloddi@fcb.unl.edu.ar

Si bien los herbicidas a base de glifosato se consideran seguros debido a su baja persistencia, resultados recientes sugieren que podrían afectar la correcta implantación y el desarrollo del embrión incluso en dosis bajas. El trofoblasto que rodea al blastocisto juega un papel fundamental en la invasión, migración y remodelación de las arterias espiraladas de la decidua. Este proceso está altamente regulado, y sus alteraciones pueden favorecer patologías como la preeclampsia, abortos recurrentes y otras patologías asociadas. Asimismo, estudios previos demostraron que

concentraciones de 0.2 y 2 μM glifosato (G) estimulan la migración en la línea celular de carcinoma endometrial humano Ishikawa. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto *ex vivo* de 2.5 μM de G en el desarrollo de blastocistos murinos, así como también, la migración celular empleando la línea celular trofoblástica HTR-8/SVneo a las concentraciones de 0.625; 1.25; 2.5; 5 y 10 μM de G. A partir de ratonas preñadas BALC/b, se obtuvieron embriones de 3.5 d y se colocaron en una monocapa de células epiteliales uterinas murinas con 2.5 μM de G o vehículo (V). Se registró el tiempo de eclosión/adhesión y el área de implantación durante 6 d. La migración celular se evaluó mediante el ensayo de cierre de herida, para lo cual se realizó la herida sobre una monocapa de células pretratadas con las concentraciones de G durante 24h. Posterior a la herida, se renovó el medio de cultivo con G y se registraron las áreas descubiertas al tiempo 0 y 12h. Además, la viabilidad celular se determinó espectrofotométricamente después de 24h y 48h de tratamiento utilizando el reactivo WST-1 y por recuento celular en un hemocitómetro. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. El área de implantación (G: $0.47 \pm 0.03 \text{ mm}^2$; V: $0.32 \pm 0.14 \text{ mm}^2$) y el tiempo de eclosión/adhesión (G: $42.3 \pm 10.5 \text{ h}$; V: $45.2 \pm 19.9 \text{ h}$) de los blastocistos tratados con G no presentaron diferencias con el vehículo. La concentración de 0.625 μM de G estimuló la migración en comparación con V ($p < 0.05$). Estos resultados sugieren que incluso concentraciones bajas de G podrían desregular algunos procesos asociados a la implantación.

DR3.10

ALTERACIONES MORFOLÓGICAS Y MOLECULARES EN ÚTERO DE RATAS ADULTAS ALIMENTADAS CON DIETA DE CAFETERÍA Y EXPUESTAS A UN HERBICIDA A BASE DE GLIFOSATO

Zanardi MV^{1,2,3}, Gastiazoro MP^{1,2}, Zierau O³, Varayoud J^{1,2}, Durando M^{1,2}.

¹Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL, UNL-CONICET), Santa Fe, Argentina; ²Cátedra de Fisiología Humana (FBCB, UNL), Santa Fe, Argentina; ³Molecular Cell Physiology and Endocrinology, Institute of Zoology, Technical University Dresden, Dresden, Germany.

E-mail: zanardimvictoria@gmail.com

La hiperplasia endometrial (HE) es una lesión preneoplásica asociada a diversos factores ambientales, entre ellos, el consumo de dietas poco saludables o la exposición a ciertos agroquímicos. Previamente, demostramos que la dieta de cafetería (CAF) induce HE en ratas adultas y que la exposición a un herbicida a base de glifosato (HBG) altera la diferenciación funcional del útero en la vida adulta, evidenciado por HE. Sin embargo, las consecuencias de la interacción entre ambos factores, a los que las mujeres están frecuentemente co-expuestas, siguen siendo inciertas. Nos propusimos evaluar en úteros de ratas adultas si la exposición subcrónica a bajas dosis de un HBG exacerba los efectos inducidos por CAF. Ratas hembras en día postnatal (DPN)21 fueron asignadas al azar a uno de los siguientes grupos: Control (alimentadas con dieta estándar), CAF (alimentadas con CAF) y CAF+HBG (alimentadas con CAF y a partir del DPN140 co-expuestas a un HBG). Los animales fueron sacrificados en DPN240. En muestras de suero se determinaron los niveles de 17 β -estradiol (E2) y progesterona (P4) y las muestras uterinas se usaron para análisis morfológico y de proteínas. El grupo CAF+HBG presentó mayores niveles de P4 respecto al grupo CAF ($p=0.018$), en tanto que los niveles de E2 y P4 en los grupos CAF y CAF+HBG fueron similares al grupo Control ($p=0.208$). En el útero, la adición de HBG incrementó la presencia de lesiones preneoplásicas inducidas por CAF, evidenciado por una

mayor densidad de glándulas con anomalías celulares y glándulas con glándulas hijas en el grupo CAF+HBG respecto a los grupos CAF y Control ($p=0.002$). A nivel de proteínas, los grupos CAF y CAF+HBG presentaron mayor proliferación celular y expresión del receptor de estrógenos alfa, en comparación con el grupo Control ($p<0.05$). A su vez, la expresión de PTEN (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10*) y p27, moléculas supresoras de tumor que inhiben la proliferación celular, fue menor en el grupo CAF+HBG que en el grupo Control (PTEN: $p=0.049$; p27: $p=0.048$). Por lo tanto, la proliferación celular en el grupo CAF+HBG podría ser una consecuencia de la menor expresión de PTEN/p27. Como conclusión, la adición del HBG exacerbó los efectos producidos por la CAF sobre las lesiones preneoplásicas, posiblemente a través de la vía de señalización PTEN/p27. La alta prevalencia de estos factores en nuestro entorno hace que las interacciones entre ellos sean muy probables, por lo que futuros estudios son necesarios para comprender mejor los riesgos a los que las mujeres están expuestas.

DR3.11

EVENTOS MOLECULARES ACTUANTES EN LA HIPERPOLARIZACIÓN DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES MURINOS

Novero AG, Carruba M, Schiavi-Ehrenhaus LJ, Ritagliati C, Baró Graf C, Stival VC, Gentile I, Santi C, De la Vega Beltrán JL, Torres Rodríguez P, Nishigaki T, Treviño C, Buffone M, Krapf D.

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario – Fac. de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - UNR.

E-mail: analianovero@gmail.com

Los espermatozoides de mamíferos no pueden fecundar el óvulo sin sufrir ciertos cambios fisiológicos desencadenados durante su recorrido por el tracto reproductivo femenino, conocidos como capacitación. A nivel molecular, la capacitación involucra la reorganización de la membrana plasmática, modificaciones postraduccionales de proteínas y cambios en la permeabilidad de la membrana iónica que generan hiperpolarización de la membrana plasmática (E_m). Esta hiperpolarización asociada a la capacitación se desencadena por apertura de canales de potasio SLO_3 , y es necesaria y suficiente para que los espermatozoides adquieran capacidad de respuesta acrosómica. La regulación de este mecanismo no es clara, pero evidencias previas utilizando farmacología inhibitoria apuntaban al rol de PKA en este proceso. Nuestros resultados contraponen estas evidencias, permitiendo que el proceso de hiperpolarización ocurra en ausencia de la actividad de PKA. Mediante mediciones de potencial de membrana por fluorimetría poblacional utilizando $DISC_3(5)$, mostramos que el inhibidor peptídico permeable específico para PKA, sPKI no afecta la hiperpolarización de E_m durante la capacitación. Esta hiperpolarización no ocurre en ratones KO para SLO_3 , ni bajo condiciones de inhibición farmacológica de este canal, confirmando que en ausencia de actividad de SLO_3 la inhibición de PKA no produce hiperpolarización. Sin embargo, en contraposición, la inhibición de la síntesis de AMPc por medio de TDI-10229, inhibidor específico de la adenilato ciclasa (ADCY10), impide la hiperpolarización de E_m asociada a capacitación, mientras que el agregado a medios no capacitantes de análogos permeables de AMPc desencadenan hiperpolarización. Esto indica la necesidad de AMPc en este evento, pero independiente de PKA. En este sentido, mostramos que la inhibición mediante dimetil-amiloride del intercambiador de Na^+/H^+ (sNHE) presente en

espermatozoides impide la hiperpolarización, aún en presencia de análogos permeables de AMPc, obteniéndose igual resultado en ratones KO de sNHE. Sin embargo, la estimulación con NH₄Cl, de modo de alcalinizar el medio intracelular, restaura la hiperpolarización de Em. Teniendo en cuenta que la activación de canales SLO₃ es sensible a alcalinización intracelular, proponemos que el canal sNHE, específico de espermatozoide, el cual tiene un sitio putativo de unión a AMPc, podría ser target de la actividad de ADCY10, alcalinizando el entorno intracelular durante la capacitación, activando SLO₃ de manera independiente de PKA.

DR3.12

PRODUCCIÓN DE PROGESTERONA DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE COC PORCINOS. EFECTO DE INSULINA-TRANSFERRINA-SELENIO Y METFORMINA

Luchetti CG^{1, 2}, Bilbao MG^{2, 3}, Farcey MF³, Lorenzo MS^{1, 2}, Lombardo DM¹.

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA); ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET); ³Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam).

E-mail: caroluchetti@gmail.com

El cerdo es un excelente modelo para estudiar los efectos de la suplementación de medios definidos para la maduración *in vitro* (MIV), debido a las similitudes metabólicas y fisiológicas con los humanos, además de la facilidad de obtención de un gran número de complejos *cumulus*-ovocito (COC) a partir de ovarios de frigorífico. Sin embargo, existe una baja eficiencia en la producción *in vitro* de embriones porcinos, debido principalmente a sistemas de MIV poco eficientes. En trabajos previos de nuestro laboratorio vimos que insulina - transferrina - selenio (ITS) solo y también combinado con metformina (M) provocan un aumento en el consumo de glucosa y una disminución en el estrés oxidativo. La producción de progesterona (P4) por los COC tiene un rol importante durante la MIV. Decidimos estudiarla, buscando interiorizarnos en los efectos de ITS y M sobre el metabolismo de los COC. El objetivo del trabajo fue evaluar los efectos de la suplementación de los medios de MIV con M y/o ITS, sobre la producción de P4 por parte de los COC porcinos. Los mismos fueron obtenidos mediante aspiración folicular a partir de ovarios de matadero, seleccionados según calidad y sometidos a MIV 44 h en TCM-199 suplementado + hMG 1,5 (UI/mL) + dAMPc durante las primeras 22 h. Los COC fueron distribuidos al azar en gotas de MIV suplementadas con: **Grupo M:** M (10⁻⁴ M), **Grupo ITS:** ITS (1 µg/mL), **Grupo M+ITS:** M (10⁻⁴ M) + ITS (1 µg/mL) y **Grupo C:** sin suplemento. La P4 (ng/mL) se cuantificó por RIA en alícuotas de medios provenientes de los 4 grupos experimentales, antes y después de la MIV, almacenadas a -20°C hasta su utilización (n=3-6/grupo experimental, 50 µL por determinación). La concentración de P4 post MIV se analizó mediante un modelo lineal general con potenciación de la varianza, seguido de ANOVA y post-test de Tuckey en software R y RStudio. Los resultados de P4 para cada grupo se expresaron como media ± EEM. Se consideraron diferencias cuando P < 0.05 y tendencias cuando 0.05 ≤ P < 0.10. La concentración de P4 en los medios de cultivo pre MIV resultó despreciable. Se observó una tendencia de los tratamientos a alterar la producción de P4 post MIV (C: 276.3 ± 55.1; M: 500.8 ± 147.8; ITS: 651.5 ± 144.4; M+ITS: 704.3 ± 194.6; P = 0.045). Si bien estas diferencias no resultaron significativas, los tratamientos ITS y M+ITS evidenciaron el mayor efecto sobre la producción de P4 comparados con el Grupo C. Es probable que este efecto sobre la

producción de P4 esté relacionado con el aumento observado previamente en el consumo de glucosa y con un incremento en la actividad metabólica debido al efecto “IGF-like” de ITS. Será interesante conocer el efecto de estos suplementos sobre el desarrollo embrionario temprano.

SESIÓN 2: FARMACOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y ECOTOXICOLOGÍA (FTE)

FTE1

DOS LACTONAS DE ORIGEN NATURAL REPELEN Y VOLTEAN A LA CUCARACHA ALEMANA

Sforzín A¹, Lucia A², Alzogaray RA¹.

¹ UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN. J. B. de La Salle 4397, 1603 Villa Martelli, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.

² Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES). Luján, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: *analía-s@hotmail.com*

Las lactonas son ésteres cíclicos con anillos de tamaño variable. Están naturalmente presentes en diversos alimentos, a los que les confieren aromas y sabores característicos (frutas, quesos, miel y carnes, entre otros). También se usan como aditivos alimentarios, y en las industrias de fragancias y cosméticos. Algunas lactonas son repelentes de insectos, pero su actividad insecticida permanece prácticamente inexplorada. El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad de cuatro lactonas en ninfas del primer estadio de *Blattella germanica*, plaga sanitaria y económica con distribución cosmopolita. La arena experimental fue un círculo de papel de filtro tratado con solución de lactona en acetona. Como controles negativos, se usaron papeles tratados con acetona sola; como controles positivos, papeles tratados con el insecticida piretroide deltametrina ($7,79 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Se evaluó la toxicidad de γ - y δ -nonalactona, y de γ - y δ -dodecalactona, todas en una concentración de $779,0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Para evitar que las ninfas se escaparan, sobre cada papel de filtro se colocó un aro de vidrio con la superficie interna cubierta con vaselina. Se depositaron diez ninfas sobre el papel y, durante 4 h, se registró cada 10 min el número de ninfas volteadas (inmóviles). Cada bioensayo fue repetido seis veces en forma independiente. Con los resultados se calcularon valores de Tiempo de Volteo 50% (TV50) y sus respectivos Intervalos de Confianza del 95% (IC 95 %). En otra serie experimental, se realizaron ensayos similares, pero las ninfas fueron preexpuestas durante 1 h a papeles tratados con butóxido de piperonilo (BP) ($779,0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Esta sustancia inhibe la actividad de las oxidasas microsomales de función mixta (OMFM). Los valores de TV50 de las γ -lactonas fueron 162,2 (132,6 – 200,9) min (γ -dodecalactona) y 242,5 (191,5 – 372,4) min (γ -nonalactona). El TV50 de la deltametrina fue 39,6 (32,3 – 48,5) min. El pretratamiento con BP redujo significativamente los TV50 de la γ -dodecalactona [81,8 (71,0 – 94,5) min]; y de la γ -dodecalactona [166,9 (150,6 – 185,2) min] ($p < 0,05$ en ambos casos). Las δ -lactonas no produjeron volteo en ninguna de las dos series experimentales. En conclusión, en las condiciones de estos ensayos, las γ -lactonas presentaron actividad insecticida en ninfas del primer estadio de *B. germanica*, y fueron considerablemente menos tóxicas que la deltametrina. El efecto del BP sobre su velocidad de acción sugiere que ambas son metabolizadas por OMFM. Estos resultados justifican continuar la investigación de los efectos tóxicos de las lactonas en cucarachas y otras especies de insectos plagas.

FTE2**CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO DE ROMERO CON FINES TERAPÉUTICOS PARA LA ENDOMETRIOSIS**

del Valle S¹, Ruiz I², Leiros G², Carnovale N¹, Furgiuele L¹, Ricci A³, Meresman GF¹.

¹Laboratorio de Fisiopatología Endometrial, IBYME-CONICET; ²Instituto de Ciencia y Tecnología César Milstein; ³Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, IBYME-CONICET.

E-mail: sdelvalle782@gmail.com

La endometriosis es una enfermedad ginecológica benigna que afecta aproximadamente entre un 6-15% de la población femenina en edad reproductiva. Se caracteriza por la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina y los tratamientos farmacológicos disponibles actualmente resultan deficientes ya que sus potenciales efectos secundarios impiden su administración a largo plazo, permitiendo la reincidencia de la enfermedad. En los últimos años, nos hemos centrado en investigar alternativas terapéuticas naturales de origen vegetal, las cuales representan una opción promisoriosa para administrar a pacientes que sufren de una enfermedad crónica como la endometriosis debido a sus bajos o nulos efectos secundarios. Entre ellas, estudiamos el efecto de los principales compuestos activos del romero: el ácido carnósico (AC) y el ácido rosmarínico (AR). En el presente trabajo nos propusimos trabajar con un extracto de romero completo, estudiando la acción sinérgica de todos sus componentes. Se sabe que este extracto contiene diversos compuestos fitoquímicos con probadas funciones anti-oxidantes, anti-microbianas y anti-inflamatorias. Nuestro objetivo fue caracterizar la composición polifenólica de un extracto de romero determinando el contenido de AC y AR, y evaluar su efecto sobre la viabilidad de dos líneas celulares endometriales humanas, una estromal (t-HESC) y una epitelial (ECC-1). El extracto se diluyó en DMSO y se caracterizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) semi-preparativa, utilizando los estándares adecuados de AC y de AR. La viabilidad celular se evaluó a través del ensayo colorimétrico WST-1 luego de 24 h de estímulo con diferentes concentraciones de extracto (4, 5, 7, 8, 10, 12, 17 y 25 mg/ml). Los resultados del HPLC demostraron que el extracto estudiado contiene 60% de AR; 25% de terpenos desconocidos hasta el momento y 15% de AC. Asimismo, el extracto inhibió significativamente la viabilidad celular de ECC-1 a partir de la dosis de 5 mg/ml ($p < 0,01$ vs. Basal), mientras que la viabilidad de t-HESC fue inhibida significativamente a partir de la dosis 8 mg/ml ($p < 0,01$ vs. Basal). Los resultados obtenidos resultan prometedores para la inhibición de la enfermedad y avalan seguir investigando este extracto como alternativa terapéutica natural para el tratamiento de la endometriosis.

FTE3**ÁCIDO 6-O-PALMITOIL-L-ASCÓRBICO (ASC16) COMO INHIBIDOR DE ENZIMAS DE VENENO OFÍDICO**

Sánchez Maslovski FM, Fusco LS, Leiva L.

Instituto de Química Básica y Aplicada del Nordeste Argentino (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad Nacional del Nordeste)

E-mail: franmaslovski@hotmail.com

Los venenos de serpientes son una mezcla compleja de toxinas, en su mayoría de naturaleza enzimática, como Fosfolipasas A₂ (PLA₂), Serino proteasas, 5' Nucleotidasas, Metaloproteinasas,

Fosfodiesterasas, Glutaminilciclase, Lectina tipo C, Crotamina, L-aminoácido oxidasa y Desintegrinas. En la actualidad es creciente el interés de búsqueda de inhibidores, naturales y/o sintéticos, que actúen sobre estos componentes y que permitan así mitigar sus efectos locales y sistémicos. En el presente trabajo se propuso al ASC16 como inhibidor de las principales enzimas del veneno de *C. d. terrificus* y de *Bothrops diporus*. Para ello, ASC16 (0,1 µg/µL) se incubó con veneno entero (1 µg/µL) y se realizaron ensayos cinéticos con sustratos específicos para medir la actividad (µmol/min/mL) de la PLA₂, serina proteasa, fosfodiesterasa y L-aminoácido oxidasa. Con el fin de evaluar la actividad metaloproteasa se realizó un ensayo proteolítico con venenos de *B. diporus* usando azocaseína como sustrato. Los resultados se expresaron como media ± DE experimentos independientes realizados por duplicado. Los datos experimentales in vitro se analizaron con el paquete estadístico InfoStat versión 2008. Los análisis estadísticos se realizaron mediante la prueba LSD Fisher, considerándose significativa si $p < 0,05$. Los resultados ponen en evidencia que ASC16 inhibió las actividades PLA₂ un 80,16% (2:1 p/p), serina proteasa 61,57% (1:10 p/p), fosfodiesterasa 45,13% (1:20 p/p), L-aminoácido oxidasa 50,64% (1:20 p/p) y metaloproteasa 50% (1:10 p/p). Se observó una disminución en la actividad de las enzimas ensayadas constatándose una acción inespecífica del ASC16 sobre las enzimas ofídicas. En concordancia con nuestro estudio, investigaciones similares se realizaron con veneno de la especie *Echis carinatus* donde el ASC16 inhibe significativamente la actividad PLA₂ y actúa de manera inespecífica con otras enzimas. Se concluye que el ASC16 tiene potencial como inhibidor al reducir la actividad enzimática de las principales proteínas ofídicas. Futuros estudios deberán ser realizados para profundizar sobre los mecanismos de inhibición del ASC16 y su inocuidad.

FTE4

RESPUESTA FISIOLÓGICA DE PLANTAS DE SANTOLINA (*Santolina chamaecyparissus*) EXPUESTAS A PLOMO

Cortez F¹, Orden AV¹, Bellozas RM¹, Cantarelli MA¹, Moldes CA^{1,2}.

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UNLPam.

²Instituto de Ciencias de la Tierra y Medio Ambiente de La Pampa (INCITAP)-CONICET

E-mail: cortez.facundo6@gmail.com

Este trabajo tiene como objetivo determinar la respuesta fisiológica de la planta santolina (*Santolina chamaecyparissus*) frente a estrés de plomo (Pb). El ensayo se montó con plantines en macetas de 1 kg con sustrato arena:vermiculita 3:1 en invernadero. A los 30 días del ensayo, se aplicó 1g de fertilizante Nitrofull con macro y micronutrientes a cada una de las plantas. Al cabo de 32 días, se utilizó una solución de PbCl₂, donde la concentración final de Pb en el sustrato fue de 0, 250, 500, 1000 y 2000 ppm. Luego de 25 semanas, se estimó el volumen de cada planta utilizando un software de análisis de imágenes como parámetro de crecimiento. Por otra parte, se colectaron muestras de cada tratamiento y se determinó peroxidación lipídica como indicador de estrés. También se midió actividad enzimática de catalasa, ascorbato peroxidasa y guayaacol peroxidasa. Los datos se analizaron a través de estadística uni y multivariada ($p < 0,05$), los cuales indicaron que las concentraciones hasta 1000 ppm del metal no presentan una diferencia significativa respecto del control en el parámetro de crecimiento y en las medidas enzimáticas, en cambio en las muestras que contenían 2000 ppm sí se pudo observar que hubo diferencias significativas respecto a las demás, donde disminuyó el valor del parámetro de

crecimiento e incrementaron los valores de las medidas enzimáticas. En los tratamientos de 250 a 2000 ppm de Pb, la concentración del metal en la PA fue menor que en el sustrato, siendo que el valor medido nunca superó al valor de 1000 ppm tomado como referencia para que la planta sea hiperacumuladora. A su vez, las diferencias significativas en los parámetros de crecimiento y en la actividad enzimática respecto del control, se encuentran a partir de las 2000 ppm. Por lo tanto, esta planta no se considera bioacumuladora de Pb, aunque puede tolerar la presencia del mismo en grandes cantidades y puede utilizarse como especie biorremediadora en áreas contaminadas con gran cantidad de plomo.

FTE5

EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD INDUCIDA POR EL INSECTICIDA METOMIL EN CÉLULAS DE MAMÍFERO

Raffin M, Laborde MRR, Soloneski S.

Cátedra de Citología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.

E-mail: labordemilagros@gmail.com

Los insecticidas son los segundos plaguicidas más empleados a nivel mundial. Estos pueden ser clasificados según su estructura y modo de acción, teniendo así numerosos tipos de los cuales los más comúnmente usados son los organofosforados, los piretroides y los carbamatos. Dentro de este último grupo podemos encontrar al metomil, un insecticida de amplio espectro que actúa tanto por contacto como de manera sistémica, clasificado por la USEPA como categoría I (altamente tóxico). Sin embargo, está categorizado como no genotóxico, no mutagénico y no carcinogénico. El objetivo de este trabajo fue evaluar la genotoxicidad ejercida por la formulación LASH™ 90 (90% metomil, ROTAM de Argentina Agroquímica S.R.L.) en cultivos de células de Ovario de Hámster Chino (CHO-K1). Para esto se empleó el ensayo MN (micronúcleos)-citoma con bloqueo de citocinesis, mediante el cual se evaluó inestabilidad cromosómica (frecuencia de MN, buds y puentes nucleares) y el estado mitótico (frecuencia de células mono-, bi- y trinucleadas, etc.). Se emplearon concentraciones de 0,01-10 µg/ml de metomil y las células fueron expuestas durante 24 h. Los resultados mostraron un aumento significativo tanto de la frecuencia de MN ($p < 0,001$) a partir de la concentración de 0,01 µg/ml como de la frecuencia de buds ($p < 0,05$) y puentes nucleares ($p < 0,05$) a partir de la concentración de 0,1 µg/ml respecto al control. Ninguna de las concentraciones produjo una disminución significativa del estado mitótico. Estos resultados evidencian la necesidad de profundizar en la evaluación de los posibles efectos genotóxicos del metomil dado su potencial carcinogénico no solo para los humanos sino para los organismos potencialmente expuestos en las zonas agrícolas donde se aplica este compuesto.

FTE6

EL FILTRO SOLAR 4-MBC ALTERA LA MIGRACIÓN DE TROFOBlastOS Y LA CAPACIDAD DE IMPLANTACIÓN DE BLASTOCISTOS EN MODELOS *IN VITRO*

Bude JC, Galliani V, Abud JE, Rodríguez HR, Zenclussen ML.

Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL, UNL-CONICET).
E-mail: mzenclussen@gmail.com

El compuesto 4-MBC (*4-Methylbenzylidene camphor*) es un filtro solar que se encuentra presente en muchos productos de uso personal. Estudios previos han planteado la posibilidad de que este compuesto actúe como perturbador endócrino. Teniendo en cuenta esto, el objetivo principal de este trabajo fue investigar el efecto del compuesto 4-MBC en los procesos de implantación y de placentación, mediante el uso de ensayos *in vitro*. Para el estudio del proceso de placentación, se evaluó el efecto de 3 concentraciones diferentes del compuesto: 20 ng/ml, 2 ng/ml, y 0,2 ng/ml, en comparación con el control. Para ello se utilizó la línea de trofoblastos humanos denominada Swan-71, con la cual se realizaron ensayos de proliferación y migración. No se observaron efectos del compuesto sobre la capacidad proliferativa de los trofoblastos. Sin embargo, al analizar la capacidad de migración de los trofoblastos mediante un ensayo de herida, se observó que cuando los trofoblastos se encuentran en presencia de 2 ng/ml y 20 ng/ml de 4-MBC, la capacidad de migración se ve significativamente disminuida con respecto al control (n=8 para cada condición; p<0,05 por el test Mann Whitney). Para evaluar si el compuesto actuó por medio de la vía del receptor de andrógenos (RA), se realizó el mismo ensayo en presencia de flutamida (inhibidor del RA). La presencia de flutamida no alteró los resultados obtenidos previamente, por lo que el compuesto no actuó a través de la vía del RA. Para analizar la posible influencia de 4-MBC en el proceso de implantación, se utilizó un modelo propio de implantación *in vitro*, que consiste en el co-cultivo de blastocistos murinos sobre una monocapa de células epiteliales uterinas autólogas. Los blastocistos fueron cultivados en presencia de 0,2 ng/ml 4-MBC (n=4), 2 ng/ml 4-MBC (n=7), 20 ng/ml 4-MBC (n=7) o del vehículo (n=7), y se analizó el tiempo en el cual cada blastocisto se implantó en la monocapa de células epiteliales uterinas. Mientras que el 100% de los blastocistos control, así como el 100% de los blastocistos expuestos a 0,2 ng/ml y 2 ng/ml se encontraban implantados a las 96 horas de cultivo, sólo el 71,4% de los blastocistos expuestos a 20 ng/ml se encontraban implantados, revelando un efecto del compuesto en el tiempo de implantación. Todos estos resultados nos muestran que el compuesto 4-MBC es capaz de alterar la capacidad de migración de trofoblastos y el tiempo de implantación de blastocistos. Esto nos indica que 4-MBC podría influenciar procesos críticos de la gestación, lo que amerita estudiar más en profundidad este compuesto.

FTE7

CAPACIDAD FITOEXTRACTORA Y EFECTOS DEL PLOMO EN ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

Orden A¹, Cortez F¹, Cantarelli MA¹, Bellozas Reinhard ME¹, Moldes CA^{1,2}.

¹ *Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, RN 35-Km 334, Santa Rosa, 6300, La Pampa, Argentina,*

² *Instituto de Ciencias de la Tierra y Medio Ambiente de La Pampa (INCITAP)- CONICET.*

E-mail: ordenagustina@gmail.com

La fitorremediación es una alternativa sustentable y de bajo costo, que permite limpiar o restaurar los suelos contaminados utilizando plantas. Las plantas aromáticas pueden ser eficientes como fitoextractoras de metales pesados. Una vez absorbidos los metales pesados, pueden causar daños al

metabolismo y la estructura celular. Por lo cual, las plantas presentan varios mecanismos de protección celular para eliminar las moléculas reactivas de oxígeno (ROS) o controlar su exceso. Este sistema de defensa incluye componentes antioxidantes enzimáticos. Por lo que, la determinación de estos compuestos permitiría evaluar la eficiencia de las plantas aromáticas para su uso en suelos contaminados con metales pesados. El objetivo del trabajo fue evaluar el uso de *Rosmarinus officinalis* como agente fitoextractor y determinar el efecto-respuesta al estrés en presencia de plomo. Se les aplicó 0, 500, 1000 y 2000 ppm de plomo a las plantas, distribuidas en 4 réplicas por tratamiento. Se determinó plomo en planta y sustrato mediante espectroscopia de absorción atómica. Se recolectó parte aérea para análisis y determinación de peroxidación lipídica (malondialdehído, MDA) y actividad de enzimas antioxidantes catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y guayacol peroxidasa (GPX) mediante espectrofotometría UV-Vis. Los resultados obtenidos demostraron que *Rosmarinus officinalis* presenta una alta supervivencia en sustratos con alto contenido de plomo, pero tuvo baja capacidad fitoextractora habiéndose determinado baja o ausencia de plomo en sus tejidos aéreos. En cuanto a la evaluación de parámetros de estrés y respuesta al estrés, no se observaron diferencias con respecto a los valores obtenidos de MDA y actividades enzimáticas CAT, APX y GPX de los tratamientos en relación al control (0 ppm). En conclusión, se podría considerar al romero como especie tolerante al plomo en sustratos con hasta 2000 ppm, sin obtenerse una respuesta al estrés en presencia de plomo. Esto podría sugerir que presenta algún mecanismo de exclusión para plomo, sin embargo, se requieren de más estudios para confirmarlo.

FTE8

LA EXPOSICIÓN *IN OVO* A ENDOSULFÁN ALTERA LA HOMEOSTASIS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN HEMBRAS JUVENILES DE YACARÉ OVERO (*Caiman latirostris*)

Schueri FD, Tavalieri YE, Luque EH, Muñoz-de-Toro M, Galoppo GH.

Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL, UNL-CONICET)

E-mail: ggaloppo@fbc.unl.edu.ar

Aspectos claves del crecimiento, desarrollo, metabolismo y reproducción en los vertebrados son regulados por los niveles circulantes de las hormonas tiroideas triyodotironina (T3) y tiroxina (T4). Entre los factores que regulan los niveles de T3 y T4 se encuentran las deiodinasas hepáticas dio1 y dio2 (responsables de transformar T4 en T3) y dio3 (involucrada en la desactivación de T3). Endosulfán (END), un pesticida altamente persistente cuya presencia ha sido reportada en huevos de yacarés overos, ha sido señalado como posible perturbador endocrino tiroideo. Nuestro objetivo fue determinar si la exposición *in ovo* a una única dosis de END 20 ppm altera la homeostasis tiroidea de yacarés overos hembras juveniles. Para ello se estudió la histoarquitectura tiroidea determinando sobre cortes histológicos teñidos con PAS, el porcentaje de la glándula ocupada por epitelio folicular, coloide, espacios de reabsorción coloidal y estroma interfolicular a través de la técnica de recuento en grilla. Además, se determinaron los niveles plasmáticos de T3 y T4 totales por electroquimioluminiscencia y la expresión génica de dio1 hepática por cuantificación relativa de ARNm mediante qPCR utilizando L8 como *housekeeping*. Los resultados se expresan como media \pm SEM. Aunque la exposición a END no produjo cambios en la histoarquitectura tiroidea, los niveles de T4 fueron mayores en las hembras expuestas (VEH $1,01 \pm 0,08 \mu\text{g/dl}$ vs END $1,19 \pm 0,03 \mu\text{g/dl}$; $p=0,017$),

determinando una menor relación T3/T4 (VEH $144,4 \pm 5,0$ vs END $129,2 \pm 3,3$; $p=0,030$). Además, aunque los niveles de expresión relativa de *dio1* en animales expuestos tienden a ser menores (VEH $40,85 \pm 17,7$ vs END $9,91 \pm 3,10$), estos cambios no alcanzan significancia estadística ($p=0,456$). Nuestros resultados demuestran que la exposición a END en etapas críticas del desarrollo embrionario produce, en hembras de yacaré overo, cambios en los niveles circulantes de T4, posiblemente mediados por alteraciones en el metabolismo hepático de esta hormona. Si bien *dio1* podría contribuir a los efectos observados en los niveles de T4, otras deiodinasas, posiblemente *dio 2*, estarían implicadas. Los cambios en los niveles circulantes de T4 podrían inducir, en hembras naturalmente expuestas a END, alteraciones en el metabolismo, crecimiento y reproducción de yacaré overo, impactando sobre la dinámica poblacional de esta especie y de los ecosistemas.

FTE9

ANÁLISIS DE LOS EFECTOS GENOTÓXICOS DE MICROPLÁSTICOS EN CÉLULAS DE MAMÍFERO

Raffin M, Laborde MRR, Soloneski S.

Cátedra de Citología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.

E-mail: labordemilagros@gmail.com

Los microplásticos (MP) son partículas cuyo tamaño es menor a 5 mm y provienen de numerosas fuentes de origen, como la degradación de los plásticos y a partir de residuos provenientes de diversos productos tales como agentes de limpieza, cosméticos, aplicaciones médicas, etc. Los MP se han encontrado en una gran variedad de ambientes e incluso dentro del cuerpo humano. Sin embargo, muchos de sus efectos sobre los seres vivos son aún desconocidos. En este trabajo nos propusimos evaluar los efectos genotóxicos del polietileno (tamaño de partícula 34-50 μm , Sigma-Aldrich) en cultivos de células de Ovario de Hámster Chino (CHO-K1). Se empleó el ensayo micronúcleo-citoma con bloqueo de citocinesis, para evaluar el efecto del polietileno no sólo sobre la inestabilidad cromosómica (frecuencia de micronúcleos (MN), buds y puentes nucleares), sino también sobre el estado mitótico (frecuencia de células mononucleadas, binucleadas, trinucleadas, etc.). Se analizó un rango de concentraciones de 1-500 $\mu\text{g/ml}$ de polietileno y se expusieron las células durante 24 h en simultáneo con la aplicación de citocalasina B. Los resultados mostraron que la concentración de 500 $\mu\text{g/ml}$ produjo un aumento significativo de la frecuencia de MN ($p < 0,001$) y de la frecuencia de buds nucleares ($p < 0,001$), mientras que a partir de la concentración de 100 $\mu\text{g/ml}$ se observó un incremento significativo en la frecuencia de puentes nucleares ($p < 0,05$). Ninguna de las concentraciones produjo una disminución significativa del IDN. Nuestros resultados ponen de manifiesto la necesidad de evaluar exhaustivamente los posibles efectos nocivos de este nuevo tipo de contaminante emergente.

FTE10

EFECTO AGUDO DE LOS ANTIRRETROVIRALES DE NUEVA GENERACIÓN SOBRE LA ACUMULACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS

Grosso TM^{1,2}, Sued O², Guerra L¹, De Marzi M¹.

¹ Grupo de Investigaciones Básicas y Aplicadas en Inmunología y Bioactivos, INEDES, Luján.

² Unidad de Ensayos Clínicos, Fundación Huésped, CABA.

E-mail: tomas.grosso@huesped.org.ar

Los fármacos para el tratamiento del Virus de la Inmunodeficiencia humana (VIH), o antirretrovirales (ARVs) son altamente eficientes para suprimir la carga viral, reconstituir el sistema inmune y mejorar sustancialmente la calidad de vida, la morbilidad y la mortalidad asociada al VIH/SIDA. Los ARVs no logran normalizar las alteraciones inmunológicas por lo que los pacientes con VIH mantienen un grado de inflamación crónica persistente. Además, los nuevos fármacos, aunque son seguros y potentes, se han asociado a efectos adversos específicos tales como el aumento de peso. Se ha sugerido también que el aumento de tejido adiposo se asocia a inflamación crónica. Por ello, es importante dilucidar los mecanismos de acción y mecanismos metabólicos por los que la terapia antirretroviral genera aumento del tejido adiposo. Por ello, este estudio busca evaluar el efecto agudo de los antirretrovirales Dolutegravir (DTG), Darunavir (DRV), Tenofovir Alafenamida (TAF) y Lamivudina (3TC) en la acumulación de lípidos. Se sembraron adipocitos murinos 3T3-L1 en placas de 24 wells y se los diferenció a adipocitos en el transcurso de 10 días utilizando agentes inductores (IBMX, insulina, dexametasona) siguiendo protocolos previamente descritos. Al día 10 del proceso, se agregaron ARVs al medio de cultivo a tres concentraciones distintas (DTG: 0.31 µg/mL, 3.1 µg/mL, 6.2 µg/mL; DRV: 0.64 µg/mL, 6.4 µg/mL, 12.8 µg/mL; TAF: 20 ng/mL, 200 ng/mL, 400 ng/mL; 3TC: 0.2 µg/mL, 2.0 µg/mL, 4.0 µg/mL). Tras 48 hs de tratamiento, se cosecharon las células y posteriormente se determinó la concentración de triglicéridos (TG color GPO/PAP AA kit – Laboratorio Wiener) normalizados por el contenido de ADN (absorbancia a 260 nm). Los resultados se expresaron en miligramos de triglicéridos por microgramo de ADN (mgTG/µgADN). Encontramos que el tratamiento con TAF en sus tres dosis (TAF1, 0.136; TAF2, 0.138; TAF3, 0.156 mgTG/µgADN; $p < 0.0001$), y el DTG en sus dos dosis más bajas (DTG2, 0.143; DTG3, 0.163 mgTG/µgADN; $p < 0.0001$) se asociaron a un aumento en la acumulación de triglicéridos con relación al control con vehículo (DMSO, 0,096 mgTG/µgADN). El cambio de triglicéridos con los otros ARVs no fue significativo, aunque se observó una tendencia donde el contenido de triglicéridos aumentó a las concentraciones más bajas de DRV (DRV1, 0.093; DRV2, 0.126; DRV3, 0.132 mgTG/µgADN, $p > 0.05$), inversamente a lo observado para el tratamiento con 3TC (3TC1, 0.127; 3TC2, 0.119; 3TC3, 0.111 mgTG/µgADN; $p > 0.05$). Nuestros resultados muestran que la acumulación de triglicéridos aumenta cuando se exponen los adipocitos a concentraciones terapéuticas de DTG y TAF. Este es un primer paso para entender las vías de acción por las cuales se observa aumento de peso en las personas tratadas con estas terapias, y eventualmente plantear posibles tratamientos anti-inflamatorios y anti-adipogénicos que soslayen este efecto.

FTE11

LA APLICACIÓN DÉRMICA DEL FILTRO SOLAR 4-MBC DURANTE LA GESTACIÓN PROVOCA RETRASO DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO EN UN MODELO MURINO

Zenclussen ML¹, Meyer N², Zhang N², Teglia CM³, Culzoni MJ³, Zenclussen AC², Rodríguez HR¹.

¹Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL, UNL-CONICET); ²Helmholtz-Centre for Environmental Research - UFZ, Dept. of Environmental Immunology, Leipzig, Germany; ³Laboratorio de Desarrollo Analítico y Quimiometría (LADAQ), Universidad Nacional del Litoral.

E-mail: mzenclussen@gmail.com

El compuesto 4-MBC (*4-Methylbenzylidene camphor*) es un filtro solar que se encuentra presente en muchos productos de uso personal. Teniendo en cuenta resultados obtenidos *in vitro*, que dan cuenta de que 4-MBC altera el proceso de migración de trofoblastos y el tiempo de implantación de blastocistos *in vitro*, el objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos 4-MBC en un modelo de gestación. Hembras C57BL/6 fueron expuestas al vehículo (aceite de oliva) o al compuesto 4-MBC (22 mg/kg peso corporal/día) por vía dérmica, desde el día gestacional 0 (dg0) hasta el dg10 (Veh: n=6; 4-MBC: n=6) o dg14 (Veh: n=6; 4-MBC: n=5), y fueron sacrificadas 4 horas luego de la última aplicación de vehículo o 4-MBC. El análisis por HPLC demostró que 4-MBC se encontraba presente en el suero de las hembras de DG10 y de DG14 en concentraciones en el rango de 11,0-38,0 ng/ml, similares a la concentración encontrada en plasma humano luego de la aplicación de filtros solares (20 ng/ml). En el DG10, no se encontraron diferencias en el tamaño de las unidades fetoplacentarias entre ambos grupos. Sin embargo, se encontraron diferencias en el peso de los fetos en DG14. El peso de los fetos expuestos a 4-MBC (n=36) fue significativamente menor ($p < 0.05$; Mann-Whitney) que los pesos de los fetos expuestos al vehículo (n=39). Esto estaría indicando que el compuesto 4-MBC aplicado durante un período de gestación temprana y media, podría provocar retraso de crecimiento intrauterino (RCI). Teniendo en cuenta que muchos estudios relacionan una alteración en la angiogénesis con el RCI, se analizó el efecto de 3 concentraciones de 4-MBC (0,2 ng/ml, 2 ng/ml y 20 ng/ml) *in vitro*, en un ensayo de formación de túbulos utilizando células HTR8-SvNeo cultivadas sobre Matrigel en un medio bajo en suero. Por medio de este ensayo (n=3 para cada condición), se encontró que la concentración de 0,2 ng/ml provocó una disminución significativa con respecto al control (ANOVA de una vía y post-test de Dunnett) en el número de redes, el área ocupada por las mismas, el número de uniones principales, la longitud de las ramificaciones, así como del número y longitud de segmentos principales, acompañado de un aumento significativo en el número de extremidades. Esto estaría indicando un posible efecto anti-angiogénico de 4-MBC que podría relacionarse con el RCI observado *in vivo*.

SESIÓN 3: BIOLOGÍA GENERAL, CELULAR Y MOLECULAR (BM)

BM1

DISTRIBUCIÓN CROMOSÓMICA DEL ADN RIBOSOMAL EN PRIMATES NEOTROPICALES (PLATYRRHINI)

Maladesky L¹, Estevez DY^{2,3}, Stramelini J¹, Bressa MJ², Mudry MD¹, Steinberg ER¹.

¹ Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA), Departamento de Ecología, Genética y Evolución (EGE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), Universidad de Buenos Aires (UBA), CONICET. ² Grupo de Citogenética de Insectos, IEGEBA, DEGE, FCEyN, UBA, CONICET. ³ Laboratorio de Biotecnología, IIPAAS, FCA, UNLZ.

E-mail: lilamaladesky@gmail.com

La Región Organizadora Nucleolar (NOR, por sus siglas en inglés *Nucleolar Organizer Region*) es la región cromosómica que contiene los genes que codifican para el ADN ribosomal (ADNr) y puede ser detectada mediante la técnica altamente selectiva de Tinción con Plata (Ag-NOR). Los genes

ribosomales se disponen en repeticiones en *tandem* y se agrupan en una o varias regiones distintas, en uno o en varios pares cromosómicos. El número de NORs puede variar de una especie a otra, pero dentro de un cariotipo dado, el número y la localización de las regiones NOR son más o menos constantes. En este trabajo se caracterizaron las regiones NOR en *Alouatta caraya*, *Alouatta guariba clamitans*, *Aotus azarae* y *Cebus cay*, mediante Ag-NOR con el objetivo de determinar el número y localización del ADNr y proporcionar marcadores citogenéticos para la identificación cromosómica y el estudio de la diversificación y la organización del genoma. Se analizaron 2 machos y 2 hembras de *A. caraya*, 2 machos de *A. guariba clamitans*, 1 macho y una hembra de *A. Azarae* y 2 machos y 2 hembras de *C. cay* de zoológicos y centros de cría de la Argentina y Brasil. Se fotografiaron al menos 20 metafases mitóticas con bandas Ag-NOR por individuo. Se observaron bandas Ag-NOR en posición proximal del brazo q en dos pares cromosómicos acrocéntricos de *A. caraya*, *A. guariba clamitans* y *C. cay*. En *A. azarae*, se observó una banda Ag-NOR en posición intersticial/distal en un único par metacéntrico. Se estableció la homeología de las regiones portadoras de las NORs en las cuatro especies de primates con los cromosomas humanos: para *A. caraya* con los pares 1 y 3 humanos (en asociación con la sintenia 3/21); para *A. guariba clamitans* con el par 3 (sintenia 3/21) y el par 10; para *A. azarae* con el par 1 (en asociación con la sintenia 3/21), y para *C. cay* con el par 1 humano. Al comparar estos resultados con los de la literatura, se evidencia que en Platyrrhini una gran proporción de las regiones NOR se localiza en regiones con homeología con los cromosomas humanos 1 y 3, y en el último caso, en coincidencia con la sintenia 3/21 de importancia evolutiva en el grupo. Además, las regiones NOR detectadas en este trabajo colocalizan con regiones de ruptura cromosómica en la evolución del grupo en 17 de un total de 19 especies estudiadas a la fecha (90%). Los resultados de este trabajo apoyan la importancia de analizar la distribución y dinámica de este tipo de secuencias repetitivas dado que su variabilidad podría correlacionarse con la evolución cromosómica en primates.

BM2

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTITUMORAL DE LA DESMOPRESINA, UN ANÁLOGO SINTÉTICO DE LA HORMONA NEUROPEPTÍDICA VASOPRESINA, EN UN MODELO MURINO DE CARCINOMA INVASIVO DE INTESTINO DELGADO DE TIPO NEUROENDÓCRINO

Valdez Samaniego VA, Iglesias M, Rodriguez R, Garona J, Alonso DF, Gottardo MF, Ripoll GV.

Centro de Oncología Molecular y Traslacional, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes.

E-mail: gripoll@gmail.com

Los tumores neuroendócrinos (TNE) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias originadas a partir del sistema neuroendócrino difuso con diferentes características morfológicas, funcionales y comportamentales. En particular, los tumores del intestino delgado representan el 45% de los TNE-GI, son tumores poco frecuentes aunque su incidencia va en aumento en los últimos años. Durante varios años, hemos estudiado las propiedades antitumorales de la desmopresina (dDAVP), un análogo de vasopresina, agonista del receptor V2 (AVPR2). dDAVP despliega efectos antiproliferativos, antimetastásicos y antiangiogénicos en numerosos modelos como cáncer colorrectal, de mama y tumores NE como pulmón de células pequeñas, entre otros. Considerando que los tratamientos y recursos terapéuticos son limitados para los TNE-GI más agresivos y sumado a la falta de modelos clínicamente relevantes para el estudio de TNEs, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto

antitumoral de la dDAVP, utilizando la línea celular murina de cáncer de intestino delgado denominada STC-1 como modelo de TNE-GI. En este estudio se confirmó la presencia de AVPR2 en la línea STC-1 por inmunofluorescencia y también por citometría de flujo. La incubación de células de STC-1 en crecimiento exponencial con dDAVP (100 nM a 5 μ M) resultó en una inhibición significativa de la proliferación con un IC50 de 1.2 μ M. Por otra parte, la incubación con dDAVP durante 7 días inhibió significativamente el crecimiento clonogénico de STC-1 mostrando un IC50 para dDAVP de 0.1 μ M. Estos resultados muestran las primeras evidencias de la actividad de un agente antitumoral como dDAVP en un modelo murino de carcinoma invasivo de intestino delgado de tipo neuroendócrino, mostrando por un lado, la utilidad como modelo de evaluación del comportamiento de los TNE-GI, y también para la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas de estos tipos tumorales agresivos.

BM3

IDENTIFICACIÓN DE PROCESOS CELULARES REGULADOS POR LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR OXER1 EN CÉLULAS ADRENOCORTICALES HUMANAS

Castillo AF¹, Cooke M², Risso J¹, Zhang S², Kazanietz MG², Cornejo Maciel F¹.

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED, UBA-CONICET); Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Depto. de Bioquímica Humana; ²Department of Systems Pharmacology and Translational Therapeutics, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA.

E-mail: aecastillo@fmed.uba.ar

El receptor de membrana OXER1 pertenece a la superfamilia de receptores de 7TMS acoplados a proteína G. Se expresa en una amplia variedad de tipos celulares y una principalmente un producto metabólico del ácido araquidónico, el ácido 5-oxo-eicosatetraenoico (5-oxo-EETE). Es considerado un receptor inflamatorio, implicado en la quimioatracción de las células mononucleares circulantes, el aumento de Ca²⁺ en los neutrófilos, la inflamación, la esteroidogénesis y el cáncer. En células adrenocorticales humanas de la línea H295R, detectamos la presencia de este receptor y encontramos evidencias de su participación en la regulación de la producción de esteroides. El objetivo de este trabajo fue identificar proteínas y vías de señalización involucradas en la activación de OXER1 por su ligando natural 5-oxo-EETE utilizando enfoques proteómicos y bioinformáticos. La técnica de elección fue un ensayo de proteínas en fase reversa (reverse phase protein array, RPPA) que utiliza anticuerpos para estudios de proteómica funcional. Empleamos células H295R, en las que se realizó el silenciamiento del OXER1, para así analizar los cambios en la expresión/fosforilación de proteínas debidos al efecto de este agonista exclusivamente por su unión a este receptor. Células H295R, controles y silenciadas, fueron estimuladas con 5-oxo-EETE (500 nM). El análisis proteómico reveló que de las 496 proteínas/fosfoproteínas analizadas por RPPA, 16 y 30 proteínas (luego de 5 min y 3 h de estimulación con 5-oxo-EETE, respectivamente) presentaron cambios en sus niveles de expresión, que además se revirtió por ausencia del OXER1 ($p \leq 0,05$, log₂fold-change cut-off $\pm 0,8$). Con el uso combinado de herramientas bioinformáticas (DAVID, STRING, PANTHER) integramos la información de diferentes bases de datos (KEGG, Reactome, WikiPathways). Las vías de señalización enriquecidas asociadas al perfil de proteínas pertenecen principalmente a los clústeres de transcripción de genes (enrichment score 2,89), respuesta celular a estímulos y estrés que involucra a las vías de señalización

de ErbB, EGFR, TGF beta (score 2,52), vía de PI3K-Akt y adhesión focal (score 2,42) y señalización de insulina (score 2,06). Además, las vías de señalización PANTHER indican como activadas ($p < 0,05$) vías de respuesta al estrés oxidativo y vías de señalización de Ras y el receptor EFG. La anotación funcional reveló que las modificaciones postraduccionales principales asociadas a este set son fosforilación, conjugación tipo ubiquitinación y acetilación ($p < 0,001$). Entre los procesos biológicos (GOTERM) enriquecidos resultaron la regulación positiva de la proliferación y negativa de la apoptosis (score 2,71) y regulación de la transcripción (score 1,15). Con la información obtenida se realizará la selección de proteínas candidatas para realizar la validación experimental y confirmar el rol del receptor OXER1 en la fisiopatología de las células adrenocorticales.

BM4

FOSFOLIPASAS A₂ BÁSICAS AISLADAS DEL VENENO DE SERPIENTE *Bothrops diporus* INHIBEN LA TUBULOGENÉISIS ENDOTELIAL *IN VITRO*

Sasovsky DJ¹, Bal de Kier Joffé, E², Lomonte, B³, Bustillo S¹.

¹Grupo de Investigaciones Biológicas y Moleculares (GIByM) - IQUIBA NEA UNNE CONICET. Corrientes, Argentina. ²Área Investigación Inst. Angel H. Roffo. Bs As, Argentina. ³Instituto Clodomiro Picado. Universidad de Costa Rica.

E-mail: danielasasovsky@gmail.com

La angiogénesis es un proceso regulado de crecimiento y remodelación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los preexistentes, que se correlaciona con una variedad de procesos fisiológicos. Sin embargo, cuando este proceso está desregulado, contribuye a la patogenia de numerosos trastornos como la supervivencia y progresión de los tumores sólidos. Los venenos de serpiente son una mezcla compleja que contiene moléculas biológicamente activas, siendo las fosfolipasas A₂ (PLA₂s) uno de los componentes más abundantes y con potencial farmacológico. En el presente estudio se aislaron dos PLA₂s básicas del veneno de *B. diporus* del nordeste argentino (PLA₂-I y PLA₂-II) y se evaluó su potencial efecto inhibitorio sobre la tubulogénesis *in vitro*. En primer lugar, se realizó la purificación de las toxinas por cromatografía de fase inversa (RP-HPLC) en columna C18. El veneno (2 mg) se disolvió en 200 µL de 0.1% ácido trifluoroacético (TFA). La elución se realizó a 1 mL/min en gradiente de acetonitrilo con TFA al 0,1 %. Se determinó actividad fosfolipásica específica, concentración a 280 nm y pureza por electroforesis (SDS-PAGE). Se evaluó luego la actividad citotóxica de PLA₂-I y PLA₂-II (1,25-30 µg/mL-24h de incubación) sobre la línea celular tEnd (CVCL_6272) cultivada en DMEM-5% SFB a 37°C-5% CO₂. Para el ensayo de tubulogénesis los pocillos de una placa de 96, se recubrieron previamente con 50 µL de Geltrex (4°C) y se incubó durante 30 min a 37°C. Se sembraron luego las células tEnd (1 x 10⁴ células/pocillo) en presencia de concentraciones no citotóxicas (25 µg/mL) de las PLA₂s o medio de cultivo (grupo de control). Se evaluaron los cambios morfológicos inducidos a las 8h a través de microscopía de contraste de fases. Se tomaron fotografías y los parámetros angiogénicos se cuantificaron a través del software ImageJ. Los resultados evidenciaron una inhibición del proceso de tubulogénesis en comparación a los controles con ambas toxinas ensayadas. Hubo una disminución de nodos, segmentos y mallas cuando las células se incubaron en presencia de PLA₂-I o PLA₂-II, teniendo la primera un mayor efecto inhibitorio. Si bien se requieren más estudios para dilucidar los

mecanismos de acción puestos en juego, se logró demostrar el potencial efecto antimetastásico de estas toxinas ofídicas.

BM5

EL MANGANESO REVIERTE EL FENOTIPO ENVEJECIDO DE FIBROBLASTOS DÉRMICOS HUMANOS AL DISMINUIR LA SENESCENCIA CELULAR Y ATENUAR LOS NIVELES DE ACTIVACIÓN DE LA VÍA PI3K/AKT

Aranda D³, Fajardo Videla C¹, De Belaustequi E¹, Vellón L², Shayo C³, Haro Durand LA³.

¹Servicio de Cirugía General Hospital Naval "Dr. Pedro Mallo".

²Laboratorio de Células Madre IByME-CONICET, Buenos Aires-Argentina.

³Laboratorio de Patología y Farmacología Molecular IByME-CONICET, Buenos Aires-Argentina.

E-mail: harodurand.luis@gmail.com

Los fibroblastos dérmicos (FDs) son responsables de mantener la integridad histo-arquitectónica de la dermis mediante síntesis y secreción de colágeno, elastinas y proteoglicanos. Sin embargo, durante el envejecimiento de la piel, FDs senescentes se acumulan progresivamente en la capa de la dermis. Estas células han envejecido y han adquirido un estado de arresto del ciclo celular que se caracteriza por disminución de la tasa de proliferación, disminución de la síntesis de colágeno, alteración de la morfología celular, resistencia a muerte por apoptosis y secreción de patrones moleculares proinflamatorios asociados al SASP (del inglés; *Senescence-Associated Secretory Phenotype*). Varios trabajos científicos han vinculado la senescencia celular con aumento en los niveles de activación de la vía PI3K/AKT, aumento en los niveles de p53 (proteína inhibidora del ciclo celular) y disminución de los niveles de la desacetilasa de histonas Sirt 1 (promotora de longevidad celular). Se ha demostrado, además, que el envejecimiento celular es un proceso reversible y este puede ser modificado exógenamente si se intervienen vías de señalización asociadas al censado de nutrientes, al estrés oxidativo y al control del ciclo celular. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar, a nivel *in vitro*, si el ion manganeso (Mn^{2+}), un ion bioactivo con potencial reparativo, podría disminuir el porcentaje de FDs positivos para la actividad β -galactosidasa (β -GAL) asociada a senescencia y si este ion, además, tiene algún efecto sobre los niveles de activación de la vía PI3K/AKT, y los niveles de p53 y Sirt-1. Bajo consentimiento informado, FDs fueron aislados de muestras de piel de pacientes adultos sanos de entre 40 y 70 años de edad sometidos a dermolipsectomía. Los FDs aislados fueron estimulados durante 24 h con una concentración de Mn^{2+} ($MnCl_2$), representativa dentro de un rango no citotóxico (10-100 μ mol/L), equivalente a 25 μ mol/L y caracterizados mediante citometría de flujo. Se determinó, además, el porcentaje de células positivas para β -GAL y mediante western blot (WB) se analizó niveles de fosforilación de la vía PI3K/AKT y los niveles de las proteínas p53 y Sirt 1. Los resultados mostraron que el porcentaje de FDs adultos en fase S-G2/M, de un paciente representativo, se incrementó desde un 38% a un 43% en aquellos FDs que fueron tratados durante 24 h con 25 μ mol/L de Mn^{2+} . El incremento de células en fase S-G2/M estuvo en concordancia con disminución en el porcentaje de células positivas para β -GAL, cuando se analizaron dos poblaciones de FDs adultos. Esta disminución representó un 30% y 40% en comparación con sus contrapartes no tratados. Por otro lado, mediante WB se pudo corroborar que en algunas poblaciones de FDs estimulados con Mn^{2+} durante 24 h, los niveles de expresión de Sirt 1 se encuentran aumentados y los niveles de p53 se encuentran disminuidos. También se observó en la mayoría de las poblaciones de FDs tratados con 25 μ mol/L de

Mn²⁺ disminución de los niveles de activación de la vía PI3K/AKT (50% y 30% respectivamente). Los resultados del presente trabajo muestran por primera vez que el ion Mn²⁺ tendría el potencial de revertir el fenotipo envejecido de FDs humanos al disminuir el porcentaje de células β-GAL positivas, atenuar la activación de la vía PI3K/AKT, aumentar los niveles de Sirt 1 y disminuir los de p53. Se concluye que el Mn tendría potencial anti-envejecimiento y podría ser considerado como una alternativa terapéutica para el desarrollo de nuevas tecnologías para el cuidado de la piel y el rejuvenecimiento.

BM6

ESTUDIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA AL LAPATINIB EN CÁNCER DE MAMA HER2 POSITIVO

Naveiro S¹, Bruni S¹, Mauro FL¹, Mercogliano MF¹, Schillaci R¹.

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

E-mail: sofia.naveiro@outlook.com

El lapatinib (L) es un inhibidor dual de los receptores tirosina quinasa EGFR/HER2 utilizado en el cáncer de mama (CM) metastásico HER2+, pero su beneficio clínico es inferior al 30%. Previamente, demostramos que el TNFα soluble (sTNFα) induce resistencia al trastuzumab (Tz) mediante el aumento en la expresión de mucina 4 (MUC4), una glicoproteína transmembrana que enmascara el epítipo del Tz en el HER2; y que las mujeres con CM HER2+/MUC4+ tienen una peor supervivencia. Además, demostramos que bloquear el sTNFα *in vivo* con INB03, un antagonista negativo (DN) del sTNFα, supera la resistencia al Tz y al L, inhibiendo el crecimiento tumoral y la migración celular. En este trabajo, se propuso estudiar los mecanismos moleculares por los cuales el bloqueo de sTNFα supera la resistencia al L. Se utilizó JIMT-1, una línea celular de CM HER2+/MUC4+ humana, resistente *de novo* a L y Tz. Para corroborar los resultados obtenidos en el modelo preclínico, se determinó la proliferación por recuento celular de JIMT-1 tratadas por 72hs con vehículo, L 1μM, DN 10μg/ml y el tratamiento combinado L+DN. Además, en células tratadas por 48 hs con vehículo, DN y la combinación L+DN, se analizó por Western Blot (WB) las vías de señalización de AKT y ERK 1/2, y la expresión de HER2. Asimismo, en dichas células se estudió la unión de Tz al HER2 por citometría de flujo. El tratamiento con L o DN no inhibió la proliferación celular. No obstante, el tratamiento combinado L+DN disminuyó significativamente la proliferación celular respecto a las monoterapias y al vehículo (p<0,01). Por otro lado, se observó una disminución en la fosforilación de AKT en presencia de L y L+DN. Sin embargo, bajo las mismas condiciones, se observó un aumento en la fosforilación de ERK1/2. Por último, el tratamiento con L evidenció un aumento en la expresión de HER2, mientras que el agregado del DN restituyó los niveles basales del receptor. Este comportamiento fue corroborado por citometría de flujo al evidenciarse un incremento en la unión de Tz en células tratadas con L respecto del control, y una disminución de la unión de Tz en células tratadas con L+DN. Teniendo en cuenta los resultados, se pudo demostrar que el L aumenta la expresión de HER2, y que el bloqueo del sTNFα en combinación con L inhibe la proliferación celular de JIMT-1 y supera la resistencia al L. Por otro lado, es posible proponer que el aumento en la fosforilación de ERK en las células tratadas con L indica una vía de escape y supone un nuevo mecanismo de resistencia a este inhibidor. Dado que el bloqueo del sTNFα restaura los niveles basales de expresión de HER2, futuros estudios serán abordados para proponer este efecto como mecanismo de sensibilización de tumores a inhibidores tirosina quinasa y terapias

dirigidas contra HER2. Estos resultados abren la puerta para un posible tratamiento secuencial de L+DN, para lograr una disminución en la expresión de MUC4, una sobreexpresión de HER2 y una mayor oferta de epítopes, y luego Tz para lograr respuestas objetivas en CM HER2+/MUC4+.

BM7

ROL DE MENINA, p27 Y pAKT EN EL DESARROLLO DE PROLACTINOMAS

Peña Zanoni M¹, Abeledo Machado I A¹, Bornancini D¹, Agustina Marcial-López¹, Susana Rulli¹, Díaz Torga G¹.

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires.

E-mail: milagros.pena.zanoni@gmail.com

Los mecanismos moleculares que aumentan la tasa de proliferación celular en lactotropos y, por consiguiente, conducen al desarrollo de prolactinomas no están del todo dilucidados. Los inhibidores de kinasas ciclina-dependientes (CDKs) p27^{Kip1} y p18^{INK4c} son claves para la regulación del ciclo celular de muchos tipos celulares. Trabajos anteriores demostraron que modelos animales knock-out para p27 desarrollan tumores hipofisarios espontáneos y otros tumores neuroendocrinos. Además, se sabe que la transcripción de p27 se encuentra regulada por Menina en tumores neuroendocrinos, cuya deficiencia en ratones *MEN1*^{+/-} también se vio vinculada al desarrollo de prolactinomas. Por otro lado, Menina puede también interferir sobre la acción de AKT fosforilada (pAKT), y pAKT es capaz de estimular la proliferación celular. Para entender cuáles son los mecanismos que conducen a la formación de prolactinomas se estudió la expresión hipofisaria de estos componentes regulatorios del ciclo celular en un modelo de prolactinoma de ratón que sobreexpresa la subunidad β de la hormona gonadotrófica coriónica humana, en el cual la hembra transgénica (hCGβ+), y no así el macho, desarrolla la hiperplasia de lactotropos a partir de los 2-3 meses de edad. Se utilizó Real Time PCR para evaluar expresión génica de los factores involucrados en la señalización, y doble IF para determinar la expresión proteica específicamente en lactotropos, en hipófisis de ratones hCGβ+ vs wild-type (WT) de ambos sexos, a los 6 meses de edad. Se observaron mayores niveles de expresión génica de menina (*MEN1*) en hipófisis de machos respecto a hembras, sin diferencias genotípicas. En machos la expresión génica de p27 fue similar a la presentada por hembras WT, sin diferencias entre genotipos. Sin embargo, las hembras hCGβ+ presentaron niveles disminuidos de p27 vs hembras WT. La expresión proteica de p27 también se observó disminuida específicamente en lactotropos (PRL+) de las hembras hCGβ+ vs WT. Cuando analizamos la expresión proteica de menina por IF, si bien no observamos diferencias genotípicas en la proporción de lactotropos que expresan la proteína, sí se observaron cambios en la localización subcelular: mientras que en los lactotropos de las hembras WT la expresión de menina se observa tanto en citoplasma como en núcleo, en las hembras hCGβ+ la marca predomina en citoplasma. Esto fue concomitante con un gran aumento en la proporción de lactotropos pAKT+ en núcleo y citoplasma en las hembras hCGβ+, comparados con los lactotropos de hembras WT donde se observó muy poca expresión de pAKT y predominante en citoplasma. En concordancia, las hipófisis de hembras hCGβ+ presentaron niveles disminuidos de *PTEN* (un conocido inhibidor de la fosforilación de AKT) respecto a hembras WT. Las hipófisis de machos presentaron niveles superiores de *PTEN* vs hembras, y sin diferencias entre genotipos. Concluimos que la menor expresión de menina en núcleo y de *PTEN* observada en las hipófisis de hembras hCGβ+ podría contribuir a la disminuida expresión de p27 y un gran aumento de pAKT favoreciendo el desarrollo tumoral. Los mayores niveles de expresión

de menina y *PTEN* observados en hipófisis de machos de ambos genotipos contribuiría a evitar el aumento de pAKT y mantener los niveles de p27, preservando el control de la proliferación celular.

BM8

ACTIVIDAD DEL ANÁLOGO DE VASOPRESINA, DESMOPRESINA, SOBRE LA DIFERENCIACIÓN Y AGRESIVIDAD EN UN TUMOR DE PRÓSTATA CON CARACTERÍSTICAS NEUROENDÓCRINAS

Rodriguez RB, Iglesias M, Valdez Samaniego VA, Garona J, Alonso DF, Gottardo MF, Pifano M, Ripoll GV.

Centro de Oncología Molecular y Traslacional, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes.

E-mail: gripoll@gmail.com

El cáncer de próstata (CP) es el tipo tumoral más común en hombres de Argentina. En etapas tempranas, la terapia de privación de andrógenos es la opción para el CP. Debido al tratamiento, la enfermedad suele progresar a una CP resistente a la castración (CPRC), lo que implica una pobre respuesta a la terapia y un mal pronóstico. Esta progresión tumoral se correlaciona con un aumento de la agresividad, favoreciendo la progresión metastásica y el desarrollo de focos celulares con diferenciación neuroendócrina (NED). Durante años, nuestro grupo ha estudiado las propiedades antitumorales de la desmopresina (dDAVP), un análogo de vasopresina, agonista del receptor V2 (AVPR2). Este péptido mostró efectos antiproliferativos, antiangiogénicos y antimetastásicos en varios modelos tumorales, incluido el CPRC. Dada esta evidencia, este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de dDAVP en procesos clave relacionados con la progresión del cáncer en el modelo PC-3, un adenocarcinoma de próstata que expresa marcadores neuroendócrinos (NE). Las células fueron incubadas con dDAVP de forma sostenida y luego se estudió su efecto sobre la expresión de marcadores NE y genes asociados a TEM por RT-qPCR. También se midió la sensibilidad al agente quimioterapéutico Cisplatino por el ensayo MTS. La exposición sostenida a análogos redujo la expresión de marcadores NE y moduló la expresión de genes asociados a EMT *in vitro*, haciendo a las células más sensibles a la quimioterapia con Cisplatino. Las células tratadas con dDAVP mostraron una inhibición significativa sobre la migración evaluada por el ensayo de herida en monocapa. Por último, la incubación con dDAVP moduló la expresión *in vitro* de los genes Bcl-2, Bcl-xL y BAX asociados a apoptosis, los cuales fueron evaluados por RT-qPCR, mostrando un balance pro-apoptótico en PC-3. Estos resultados posicionan a dDAVP como un potencial agente antitumoral, con capacidad de modular la agresividad del CPRC, una enfermedad con pocas alternativas terapéuticas.

BM9

LOS N-GLICANOS DE TIPO COMPLEJO/HÍBRIDO DE INTEGRINA ALFA V SE ASOCIAN CON EL COMPORTAMIENTO MALIGNO DEL GLIOBLASTOMA HUMANO

Ferreira GM, Cuello HA, Gulino CA, Segatori VI, Gabri MR.

Centro de Oncología Molecular y Traslacional, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina.

E-mail: maguiferreira2@gmail.com

Los gliomas son los tumores cerebrales primarios más comunes y agresivos en adultos. A pesar del estudio y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, el pronóstico de los pacientes con glioma de alto grado sigue siendo pobre, por lo que es necesario identificar enfoques terapéuticos novedosos. La subunidad alfa V de la integrina (αV) es una glicoproteína transmembrana que juega un papel clave en la agresividad del glioma ya que media la interacción de las células tumorales con la matriz extracelular. Se sabe que el perfil de glicosilación de las células malignas participa en la interacción con el microambiente tumoral, por lo que cambios en este tipo de modificación postraduccional pueden determinar el comportamiento celular. Poco se sabe sobre la participación de la glicosilación en la biología del glioma y cómo ésta altera la conformación y la actividad de las proteínas relevantes para la indicación. El objetivo de este trabajo es comparar la expresión de αV en líneas celulares de glioma humano de alto y bajo grado y caracterizar su perfil de glicosilación. En primer lugar, evaluamos la expresión de αV entre líneas celulares de glioma humano de alto y bajo grado mediante citometría de flujo. Luego, mediante la inmunoprecipitación de la proteína αV de la línea celular de alto grado LN229 observamos un reconocimiento por parte de la lectina Concanavalina A, la cual reconoce con alta afinidad N-glicanos de tipo oligomanosa y con baja afinidad N-glicanos binarios complejos. αV tiene 13 sitios teóricos de N-glicosilación donde estos glicanos podrían unirse covalentemente. El análisis de la glicosilación de αV por espectrometría de masas de células LN229 mostró 6 sitios de glicosilación en su dominio extracelular, cuyas estructuras incluían glicanos de tipo complejo y oligomanosa. El mismo análisis en una línea de bajo grado, SW1088, reveló sólo 2 sitios de glicosilación y la presencia de estructuras de oligomanosa. En este trabajo caracterizamos la expresión de αV en líneas celulares de glioma de alto y bajo grado donde demostramos que se observa un perfil de glicosilación diferente y una heterogeneidad estructural ya que no se observaron glicanos de tipo complejo en líneas celulares de glioma de bajo grado, lo que sugiere un papel de este tipo de ramificación en la conducta agresiva.

BM10

IMPLEMENTACIÓN DE PCR DIGITAL PARA LA DETECCIÓN DE VARIANTES DE SARS-CoV-2 EN MUESTRAS AGRUPADAS

Petrel MV^{2,3}, Pacini A^{1,4}, Heckel SB^{1,2,3}, Ibarra G^{1,2,3}, Paredes F^{2,3}, Perez M², Adriani N², Sesma J^{1,2,3,4}

¹Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IDICER-CONICET). Suipacha 590 (2000) Rosario. ²Biología Molecular, Hospital Provincial de Rosario, Argentina. Leandro N. Alem 1450 (2000) Rosario. ³Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario (FCM-UNR). Suipacha 531 (2000) Rosario. ⁴Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario (FCM-UNR). Santa Fe 3100, (2000) Rosario.

E-mail: mvictoriapetre@hotmail.com

Una de las aplicaciones más importantes de la PCR digital en gotas (ddPCR) es la detección de mutaciones raras (RMD). El reto es la diferenciación entre dos secuencias muy similares, una significativamente más abundante que la otra. En este caso, la detección de una variante de SARS-CoV-2 presente en una baja frecuencia en un medio conteniendo altas concentraciones de virus salvaje (WT). Esto es posible debido a que la ddPCR particiona la muestra en 20.000 nanogotas por tubo,

aumentando la concentración relativa de la variante en defecto. Esto da por resultado una mayor sensibilidad y mayor resistencia a inhibidores. Nuestro laboratorio ya validó el uso de ddPCR para la detección de SARS-CoV-2 en muestras agrupadas combinando hasta 34 muestras. Teniendo en cuenta que continúan surgiendo nuevas variantes de interés (VOI) y preocupación (VOC) del SARS-CoV-2, es importante monitorear su circulación a través de la vigilancia genómica. Nuestro objetivo es demostrar la viabilidad de diferenciarlas trabajando con muestras agrupadas a fin de reducir los tiempos de análisis y los costos. Para eso se utilizó el panel de mutación TaqMan SARS-CoV-2 de ThermoFisher tanto para la RT como para la ddPCR para diferenciar las variantes. Las pruebas se realizaron desde julio de 2021 hasta marzo de 2022 con muestras anónimas. Las muestras fueron seleccionadas a partir de su análisis inicial por RT-qPCR. A las muestras positivas se las genotipificó individualmente mediante RT-qPCR. Finalmente, se eligió una muestra para la variante omicrón y otra para delta y se las agrupó con muestras WT en pools de diferentes tamaños (1 variante en un grupo de 4, 10 o 15 muestras WT) y se las analizó por ddPCR. Los datos se analizaron con el software de análisis Quanta Soft (Bio-Rad). Un resultado negativo de la prueba indica que ningún individuo del grupo tiene la variante que se analiza, mientras que un resultado positivo indica que al menos un individuo del grupo es positivo para esa variante. En el caso de detectarse pools positivos, se abre ese pool y se analizan las muestras individualmente por RT-PCR. En el presente trabajo demostramos que es posible identificar una variante delta u omicrón en pools de hasta 10 muestras por ddPCR. Los estudios de sensibilidad y especificidad se realizaron siguiendo los lineamientos de la Farmacopea Europea. Este ensayo presenta una sensibilidad del 100 % (n=24) y una especificidad >98 % (n=50). Por lo tanto, informamos sobre una nueva tecnología de diagnóstico para la detección de variantes de SARS-CoV-2 en pools mediante ddPCR para lograr resultados rápidos (< 24 hs), con alto rendimiento y bajos costos.

– BENEFICIOS DE SER SOCIO –

Si te asocias la **SAB** te brinda:

Tarifa reducida

en los cursos de la SAB.

Acceso sin cargo

a las Jornadas SAB.

Participación sin arancel

en Jornadas de Sociedades amigas.

Marco Institucional

para la organización de Cursos de Postgrado

Presentación a Subsidio Charreau

para estudiantes doctorados (últimos años) o doctores (hasta 7 años máximo de haber obtenido el título)

¡¡Acercate y asociate!!

Completá la FICHA DE INSCRIPCIÓN

<https://www.biologia.org.ar/institucional/ventajas-de-ser-socio/>

y enviala a

sabsecretaria2017@gmail.com

EMPRESAS AUSPICIANTES



Biodynamics