XXVI JORNADAS ANUALES DE LA **SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOLOGÍA**

"Modelos convencionales y no convencionales para el estudio en Biología"

Visitá la página de la Jornada: www.jornadaanualsab.ar

4 al 6 de diciembre de 2024

Instituto de Biología y Medicina Exerimental
Vuelta de Obligado 2490 C1428 ADN
CABA, Argentina

Sociedad Argentina de Biología

https://www.biologia.org.ar

COMISIÓN DIRECTIVA 2024

PRESIDENTA: Dra. SILVINA PÉREZ MARTÍNEZ

VICEPRESIDENTE: Dr. LEANDRO MIRANDA

SECRETARIA: Dra. MARÍA EUGENIA MATZKIN

TESORERA: Dra. GRACIELA DÍAZ

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

VOC. TIT. 2º: Dra. MARÍA LAURA RIBEIRO

VOC. TIT. 3º: Dr. PABLO CETICA

VOC. TIT. 4º: Dra. EVELIN ELIA

VOC. TIT. 5º: Dra. GABRIELA JAITA

VOC. SUPL. 1º: Dra. PAULA VISSIO

VOC. SUPL. 2º: Dra. GABRIELA MERESMAN

AGRADECIMIENTOS

CONICET

CONICET

FIBYME Fundada en 1944 Dr. Bernardo A. Houssay

I B Y M E

umai Universidad Maimónides

Asociación de Biología de Tucumán

Sociedad de Biología de Rosario

Sociedad de Biología de Cuyo

Sociedad de Biología de Córdoba

CRONOGRAMA

	MIÉRCOLES 4 DICIEMBRE	JUEVES 5 DICIEMBRE	VIERNES 6 DICIEMBRE
8-9	ACREDITACIONES (HALL DE ENTRADA)		
9-10	MINIORALES (9-11 h): Biología de la Reproducción-1 (REP-1) Veterinaria y Ecología (VETEC) Endocrinología y Metabolismo (EDMET)	MINIORALES (9-11 h): Biología de la Reproducción-2 (REP-2) Biología, Microbiología e Inmunología (BGMI) Bioquímica, Fisiología y Neurociencias (BQFINE)	MINIORALES (9-11 h): Biología de la Reproducción-3 (REP-3) Biotecnología y Genética (BTGNI) Farmacología, Toxicología (FATOX)
10-11	CAFÉ (11.00-11.30 h)	CAFÉ (11.00-11.30 h)	CAFÉ (11.00-11.30 h)
11-12	PALABRAS DE BIENVENIDA (11.30-11.45 h)	SIMPOSIO DE INVESTIGADORES JÓVENES (11.30-13 h): Dr. Nicolás Brukman – Dra. Laura Ratner – Dr. José Manuel Latorre Estivalis	SIMPOSIO DE EXPERTOS (11.30-13 h): Dr. Lázaro Centanin – Dra. María Fernanda Ceriani – Dr. Lucas Mongiat – Dra. Paula Pouso
12-13	CONFERENCIA (11.45-12.45 h): MODELOS ANIMALES NO CONVENCIONALES APORTES AL CONCEPTO UNA SALUD, ¿QUÉ NOS ENSEÑÓ EL YACARÉ DE PERTURBACIÓN ENDOCRINA?. Dra. Mónica Muñoz de Toro		
13-14		ASAMBLEA ANUAL ORDINARIA (13-14.30 h)	
14-15			
15-16	SIMPOSIO DE SOCIEDADES DE BIOLOGÍA (14.30-16.30 h): Dr. Esteban Vera Pingitore (Tucumán) – Dr. Guillermo Raúl Pratta (Rosario) – Dr. Franco Mir (Córdoba) – Dr. Juan Gabriel Chediack (Cuyo)	SIMPOSIO SOCIOS SAB (15-16.30 h): Dra. María Laura Gutiérrez – Dra. Mariana Noelia Mardirosian – Dr. Rodrigo Hernán Da Cuña	CONFERENCIA (15-16 h): PREMIO HOUSSAY 2024
16-17			CEREMONIA DE PREMIOS Y MENCIONES (16-16.30 h):
17-18	BRINDIS DE BIENVENIDA (17-18.30 h)		

AULA BIBLIOTECA (PB) | AULA COMEDOR (3°PISO) | AULA DR. CHARREAU (3°PISO)

PROGRAMA CIENTÍFICO

MARTES 3 DE DICIEMBRE

15.00 – 18.00 hs
CURSO PRE-CONGRESO:
LA CALIDAD GENÉTICA Y EL REFINAMIENTO EN LAS PRÁCTICAS APLICADAS EN LOS ANIMALES DE LABORATORIO ¿PUEDEN INFLUIR EN NUESTROS RESULTADOS?.
Organiza: Dra. Fernanda Elias (Argentina)
Modalidad: Mixta
Aula Biblioteca (PB)

15.00 – 16.15 hs
MANTENIMIENTO DE LA CALIDAD GENÉTICA Y AMBIENTAL.
Téc. Verónica Casanova.
Técnica universitaria en gestión integral de bioterios. Especialista en docencia universitaria.

16.15 – 16.45 hs
CAFÉ

16.45 – 18.00 hs
BIENESTAR Y ENRIQUECIMIENTO ANIMAL EN LA PRÁCTICA DIARIA.
Téc. Andrea Martínez.
Técnica universitaria en gestión integral de bioterios.

MIÉRCOLES 4 DE DICIEMBRE

8.00 – 9.00 hs
ACREDITACIONES

9.00 – 11.00 hs
SESIONES DE ORALES CORTOS
Aula Biblioteca (PB): Biología del Desarrollo y Reproducción 1 (REP-1)
Aula Comedor (3° Piso): Veterinaria y Ecología (VETEC)
Aula Dr. Charreau (3° Piso): Endocrinología y Metabolismo (EDMET)

11.00 – 11.30 hs
CAFÉ

11.30 – 11.45 hs
PALABRAS DE BIENVENIDA
Dra. Silvina Pérez Martínez – Presidenta SAB
Aula Biblioteca (PB)

11.45 – 12.45 hs
CONFERENCIA INAUGURAL
Coordinadora: Dra. Silvina Pérez Martínez
Aula Biblioteca (PB)

MODELOS ANIMALES NO CONVENCIONALES APORTES AL CONCEPTO UNA SALUD, ¿QUÉ NOS ENSEÑÓ EL YACARÉ DE PERTURBACIÓN ENDOCRINA?.
Dra. Mónica Muñoz de Toro.
Instituto de Salud y Ambiente del LItoral (ISAL - UNL - CONICET), Santa Fe, Argentina.

12.45 – 14.30 hs
ALMUERZO

14.30 – 16.30 hs
SIMPOSIO DE SOCIEDADES DE BIOLOGÍA
Coordinadores: Dra. Paula Vissio y Dra. Evelin Elia
Aula Biblioteca (PB)

14.30 – 15.00 hs
INNOVACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON: DE MÉTODOS CONVENCIONALES A NANOANTICUERPOS.
Dr. Esteban Vera Pingitore.
Instituto de Investigación en Medicina Molecular y Celular Aplicada (IMMCA- UNT-CONICET-SiProSa), Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.
Asociación de Biología de Tucumán.

15.00 – 15.30 hs
APROXIMACIONES A DIFERENTES MODELOS CONVENCIONALES Y NO CONVENCIONALES EN AGRONOMÍA Y MANEJO DE LAS ESPONTANEIDADES.
Dr. Guillermo Raúl Pratta.

Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR - CONICET - UNR), Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias, Cátedra de Genética, Santa Fe, Argentina.
Sociedad de Biología de Rosario.

15.30 – 16.00 hs
MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE DESÓRDENES DEL ESTADO DE ÁNIMO.
Dr. Franco Mir.
Cátedra de Fisiología Animal, FCEFyN, Universidad Nacional de Córdoba; Cátedra de Fisiología Animal, DACEFyN, Universidad Nacional de La Rioja. Laboratorio de Neurofisiología, Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra (INIMEC-CONICET-UNC), Córdoba, Argentina.
Sociedad de Biología de Córdoba.

16.00 – 16.30 hs
EL USO DE AVES EN EL ESTUDIO DE ESTRESORES AMBIENTALES: LOS GORRIONES (PASSER DOMESTICUS) Y LAS PALOMAS (ZENAIDA AURICULATTA) COMO MODELOS BIOLÓGICOS DE LABORATORIO.
Dr. Juan Gabriel Chediack.
Laboratorio de Biología Integrativa, Departamento de Biología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones Biológicas San Luis (IMIBIO-SL-CONICET-UNSL), San Luis, Argentina.
Sociedad de Biología de Cuyo.

16.30 – 18.30 hs
BRINDIS DE BIENVENIDA

JUEVES 5 DE DICIEMBRE

8.00 – 9.00 hs
ACREDITACIONES

9.00 – 11.00 hs
SESIONES DE ORALES CORTOS
Aula Biblioteca (PB): Biología del Desarrollo y Reproducción 2 (REP-2)
Aula Comedor (3° Piso): Biología General, Microbiología e Inmunología (BGMI)
Aula Dr. Charreau (3° Piso): Bioquímica, Fisiología y Neurociencias (BQFINE)

11.00 – 11.30 hs
CAFÉ

11.30 – 13.00 hs
SIMPOSIO DE INVESTIGADORES JÓVENES
Coordinadores: Dra. Gabriela Jaita y Dra. María Laura Ribeiro
Aula Biblioteca (PB)

11.30 – 12.00 hs (VIRTUAL)
DE LA FUSIÓN DE GAMETAS AL DIAGNÓSTICO DE LA INFERTILIDAD MASCULINA.
Dr. Nicolás Brukman.
Technion - Israel Institute of Technology, Faculty of Biology, Haifa, Israel.

12.00 – 12.30 hs
CERDOS EDITADOS GENÉTICAMENTE PARA XENOTRASPLANTE: MADE IN ARGENTINA.
Dra. Laura Ratner
Instituto de investigaciones en Producción Animal (INPA - UBA - CONICET), CABA, Argentina; New Organs Biotech SA, Argentina.

12.30 – 13.00 hs
EXPLORANDO LAS BASES MOLECULARES DE LA FISIOLOGÍA SENSORIAL EN TRIATOMINOS Y ABEJAS.
Dr. José Manuel Latorre Estivalis.
Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE - UBA - CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, CABA, Argentina.

13.00 – 15.00 hs
ASAMBLEA ANUAL ORDINARIA SAB
Aula Biblioteca (PB)

15.00 – 16.30 hs
SIMPOSIO SOCIOS SAB
Organizadores: Dra. Marina Fernández y Dr. Juan Ignacio Fernandino
Aula Biblioteca (PB)

15.00 – 15.30 hs
MÉTODOS ALTERNATIVOS AL USO DE ANIMALES APLICADOS A LA EVALUACIÓN DE SEGURIDAD DE PRODUCTOS, CON FINES DE REGISTRO.
Dra. María Laura Gutiérrez.
Instituto de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

15.30 – 16.00 hs
NANOPARTÍCULAS COMO CONTAMINANTES AMBIENTALES EMERGENTES: MECANISMOS DE RESPUESTA CELULAR A LA EXPOSICIÓN.
Dra. Mariana Noelia Mardirosian.
Laboratorio de Contaminantes Ambientales y Trastornos Endócrinos, Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas "Prof. Alejandro C. Paladini" (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, CABA, Argentina.

16.00 – 16.30 hs
ENFOQUES EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN PECES.
Dr. Rodrigo Hernán Da Cuña.
Laboratorio de Ecotoxicología Acuática, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (UBA-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, CABA, Argentina.

VIERNES 6 DE DICIEMBRE

8.00 – 9.00 hs
ACREDITACIONES

9.00 – 11.00 hs
SESIONES DE ORALES CORTOS
Aula Biblioteca (PB): Biología del Desarrollo y Reproducción 3 (REP-3)
Aula Comedor (3° Piso): Biotecnología y Genética (BTGN)
Aula Dr. Charreau (3° Piso): Farmacología, Toxicología y Ecotoxicología (FATOX)

11.00 – 11.30 hs
CAFÉ

11.30 – 13.30 hs
SIMPOSIO DE EXPERTOS
Coordinadores: Dr. Leandro Miranda y Dr. Pablo Cetica
Aula Biblioteca (PB)

11.30 – 12.00 hs
PECES TELEÓSTEOS: UN MODELO ALUCINANTE PARA ESTUDIAR CÉLULAS MADRE, LINAJES CELULARES Y CHIMERAS TETRAGAMÉTICAS.
Dr. Lázaro Centanin (VIRTUAL).
Center for Organismal Studies, COS Heidelburg, Universität Heidelberg, Heidelberg, Alemania.

12.00 – 12.30 hs
DE AFUERA HACIA ADENTRO: UNA HISTORIA SOBRE PLASTICIDAD.
Dra. María Fernanda Ceriani.
Laboratorio de Genética del Comportamiento, Fundación Instituto Leloir (IIB-BA-CONICET), CABA, Argentina.

12.30 – 13.00 hs
NEUROGÉNESIS GABAÉRGICA EN EL PALLIUM DEL PEZ CEBRA ADULTO.
Dr. Lucas Mongiat.
Departamento de Física Médica, Centro Atómico Bariloche, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA - CONICET), San Carlos de Bariloche, Argentina.

13.00 – 13.30 hs
LOS ANUROS COMO ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN NO CONVENCIONALES: EL CASO DE UNA RANA ARBÓREA SUDAMERICANA.
Dra. Paula Pouso.
Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB).

13.30 – 15.00 hs
ALMUERZO

15.00 – 16.00 hs
CONFERENCIA DE CIERRE
Coordinadores: Dra. Silvina Pérez Martínez y Dr. Leandro Miranda

Aula Biblioteca (PB)

A cargo del ganador/a del Premio Houssay 2024.
Argentina.

16.00 – 16.30 hs
CEREMONIA DE PREMIOS Y MENCIONES
Aula Biblioteca (PB)

CONFERENCIAS

Conferencia Inaugural

MODELOS ANIMALES NO CONVENCIONALES APORTES AL CONCEPTO UNA SALUD, ¿QUÉ NOS ENSEÑÓ EL YACARÉ DE PERTURBACIÓN ENDOCRINA?

Muñoz de Toro M
Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL - UNL - CONICET), Sante Fe, Argentina.
E-mail: monimdt@gmail.com

El concepto Una Salud define las interacciones que existen entre humanos, animales, plantas y la salud de los ecosistemas. En este contexto la comprensión del link Biodiversidad-Salud pone en evidencia la importancia de la conservación de la biodiversidad como estrategia para promover la salud de todos los seres vivos. Además, la caracterización de centinelas que detecten agentes ambientales y contaminantes aportan el concepto Una Salud. Los perturbadores endocrinos (PE) incluye una gran variedad de compuestos naturales e industriales de uso frecuente y generalizado. Los PE actúan como agonistas o antagonista de las hormonas endógenas. Muchos años antes que el concepto Una Salud ganara popularidad, nosotros comenzamos a trabajar en los efectos de la exposición a PE en el yacaré overo. En esta conferencia resaltaré el valor del yacaré (Caiman latirostris), un cocodrílido nativo de Sudamérica como centinela de contaminación con PE y resumiré lo que nos enseñó en las últimas dos décadas. El yacaré habita los humedales tropicales y subtropicales y posee características eco-fisiológicas que lo hacen vulnerable a la exposición a PE, tales como pesticidas y componente de micro-plásticos, en todos los estadios de su vida. Los resultados presentados mostrarán los efectos de la perturbación endocrina a nivel molecular, tisular y orgánica en el sistema reproductivo del yacaré. Nos focalizamos en el sistema reproductivo de machos y hembras porque efectos negativos, aunque sutiles, podrían alterar su dinámica poblacional. Esperamos que los resultados presentados colaboren no sólo a profundizar los conocimientos sobre perturbación endocrina sino también a una mayor toma de conciencia de las agencias reguladoras, de las industrias productoras y de los usuarios sobre su rol en la preservación de los ecosistemas naturales.

Conferencia de Cierre – Premio Houssay 2024

SIMPOSIOS

Simposio de Expertos

‘PECES TELEÓSTEOS: UN MODELO ALUCINANTE PARA ESTUDIAR CÉLULAS MADRES, LINAJES CELULARES Y QUIMERAS TETRAGAMÉTICAS.

Centanin L
Center for Organismal Studies, Universität Heidelberg, Heidelberg, Alemania.
E-mail: lazaro.centanin@cos.uni-heidelberg.de

Los mamíferos nacemos, crecemos, nos desarrollamos sexualmente y dejamos de crecer. A pesar de mantener un tamaño definido durante toda nuestra vida adulta, perdemos y generamos millones de células cotidianamente. La piel, la sangre, los epitelios de nuestro esófago, estómago e intestinos, son sólo algunos de los tejidos que muestran mayor recambio celular. Este ciclo constante de recambio está mediado por células madre, quienes por un lado generan las células diferenciadas que mantienen la homeostasis del organismo adulto, y por otro lado generan copias idénticas a sí mismas garantizando su permanencia *ad eternum*. En resumen, aún cuando los mamíferos adultos mantengamos un tamaño constante, muchas de las células que nos componen se reemplazan permanentemente. Es importante enfatizar que no todos los tejidos en un mamífero adulto cuentan con células madre, de modo que no toda célula diferenciada es reemplazable por una nueva copia. La mayoría de las neuronas en nuestro cerebro, las células pancreáticas responsables de producir insulina, las células ciliadas en nuestro oído interno, entre otras, constituyen casos emblemáticos de células no reemplazables cuya pérdida está asociadas a multiple patologías en humanos. En otros vertebrados, sin embargo, todas la células diferenciadas cuentan con células madres capaces de generarlas durante toda la vida adulta. Los peces teleósteos son un caso extremo donde el organismo adulto no deja de crecer, y los distintos órganos y tejidos crecen a la par incorporando nuevas células diferenciadas a las ya existentes. De este modo, los peces constituyen un modelo muy atractivo para estudiar células madre, descifrar de qué manera coordinan su funcionamiento en los distintos tejidos en los que se encuentran, e identificar las diferencias en aquellos tejidos que cuentan con células madre en peces pero no en mamíferos. Mi laboratorio estudia células madre en peces del genero *Oryzias*, utilizando herramientas genéticas que nos permiten visualizar en un organismo intacto los linajes producidos por células madre individuales. En esta charla voy a abordar distintas estrategias para estudiar células madre incluyendo herramientas genéticas y enfoques clásicos de embriología experimental. Voy a mostrar ejemplos de jerarquías entre distintos linages, y de qué manera podemos utilizar la variedad de especies relacionadas dentro del género *Oryzias* para generar chimeras tetragaméticas. Sobre el final, discutiremos sobre qué podemos aprender estudiando células madre en peces y de qué manera estos experimentos complementan nuestros conocimientos en modelos mamíferos.

DE AFUERA HACIA ADENTRO: UNA HISTORIA SOBRE PLASTICIDAD

Ceriani MF
Laboratorio de Genética del Comportamiento- Fundación Instituto Leloir (IIB-BA-CONICET).
E-mail: fceriani@leloir.org.ar

La plasticidad -la capacidad de realizar cambios adaptativos- es una propiedad fascinante del sistema nervioso. La plasticidad se produce a distintas escalas temporales y en diferentes estructuras, desde espinas y boutones hasta arbores axonales y dendríticos. Mientras que la plasticidad sináptica dependiente de la experiencia ha sido ampliamente estudiada, los mecanismos que subyacen a la plasticidad estructural, en particular el crecimiento a gran escala y la remodelación de los axones y las ramas dendríticas en el cerebro postnatal, han recibido menos atención. Nuestro laboratorio se ha centrado en un grupo de neuronas circadianas, las pequeñas neuronas laterales ventrales (s-LNvs), que sufren diariamente una amplia remodelación. Usamos como modelo la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, la cual ha sido pionera en el campo de la cronobiología -como en tantos otros- en la identificación de los mecanismos moleculares y celulares de procesos fundamentales, muy conservados.
A lo largo de los años, nuestro laboratorio ha demostrado que la remodelación estructural circadiana se asocia a cambios rítmicos en el número de contactos sinápticos y, por tanto, con la capacidad de hacer sinapsis con *targets* específicos en momentos concretos del día. Para explorar hasta qué punto los cambios dinámicos en la membrana describen la organización subcelular subyacente, utilizamos microscopía electrónica de barrido (SBEM, por sus siglas en inglés) de bloques seriados. Mediante micrografías electrónicas volumétricas de las terminaciones dorsales adquiridas en momentos del día en que las terminales tienen un grado distinto de complejidad, nuestro trabajo reveló algunos de los principios básicos por los que las s-LNvs contribuyen de forma diferencial a la red circadiana. En paralelo examinamos algunos de los mecanismos celulares que subyacen a esta inusual forma de plasticidad, demostrando que se basa en mecanismos dependientes e independientes de la actividad y que no se limita a un subconjunto de las neuronas reloj del cerebro adulto, ni se restringe a *Drosophila*, lo cual nos llevó a proponer que la plasticidad estructural es otro de los mecanismos que caracterizan a las neuronas del reloj central.

NEUROGÉNESIS GABAÉRGICA EN EL PALLIUM DEL PEZ CEBRA ADULTO

Mongiat LA
Departamento de Física Médica, Centro Atómico Bariloche, CNEA.
E-mail: lucas.mongiat@cab.cnea.gov.ar

El pallium es una región cerebral involucrada en el procesamiento de funciones cognitivas, como la memoria, el aprendizaje y la regulación emocional. En los peces, el pallium se divide en dos regiones principales: el pallium dorsomedial (Dm) y el pallium dorsolateral (Dl). Ambas regiones exhiben altos niveles de plasticidad neuronal y neurogénesis adulta, proceso que implica la generación e integración de nuevas neuronas en los circuitos cerebrales. Aunque muchos estudios se han centrado en las poblaciones de células madre neuronales (NSC) en estas regiones, se sabe poco acerca del destino fenotípico de las neuronas generadas. Las regiones Dm y Dl contienen principalmente neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas, siendo

las neuronas excitatorias más abundantes (~90%) que las inhibitorias (~10%). Durante el desarrollo temprano, las neuronas glutamatérgicas del pallium surgen de NSC NeuroD1+ ubicadas en la zona periventricular pallial, mientras que las neuronas GABAérgicas se originan a partir de NSC Zash1+ en el subpallium, las cuales migran tangencialmente hacia su posición final en los circuitos palliales. En este estudio, investigamos si ocurre neurogénesis GABAérgica en el pallium de pez cebra adulto y, de ser así, determinar el origen de las NSC que producen estas neuronas.
Para este fin, etiquetamos una cohorte de NSC mitóticas mediante la administración de EdU (ip, 40 µl, 10 mM) a una línea transgénica de peces tg(gad1b:gfp), en la cual las neuronas GABAérgicas expresan el marcador GFP. Luego sacrificamos a los peces a los 1.5, 3, 8 o 16 días post-administración de EdU para evaluar la supervivencia neuronal y el destino celular en una caracterización espacio-temporal. Observamos una disminución de ~50% en la supervivencia de las células marcadas con EdU con el tiempo. Las células marcadas mostraron una disposición estratificada, migrando desde la zona periventricular hacia el parénquima a medida que maduran. Aproximadamente el 70% de las células EdU+ expresaron NeuroD1, lo que indica un fenotipo glutamatérgico. En contraste, solo un pequeño porcentaje (~3%) de las células nacidas en la adultez expresó el marcador GABAérgico GAD1b. Un análisis espacio-temporal reveló que las neuronas GABAérgicas nacidas en la adultez se originaron a partir de NSC ubicadas en la zona periventricular pallial.
Como un enfoque funcional alternativo, realizamos un estudio electrofisiológico mediante patch-clamp en neuronas GFP+ ubicadas a distintas distancias de la región periventricular. Este análisis mostró que las propiedades intrínsecas y sinápticas de las neuronas GFP+ exhiben una variación espacial: las neuronas inmaduras se localizan cerca de la región periventricular pallial, mientras que las características neuronales maduras fueron observadas en células más profundas dentro del parénquima. En conjunto, nuestros resultados indican que en el pallium del pez cebra adulto, efectivamente se generan neuronas GABAérgicas, las cuales migran radialmente desde la zona periventricular hacia el parénquima.

LOS ANUROS COMO ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN NO CONVENCIONALES: EL CASO DE UNA RANA ARBÓREA SUDAMERICANA.

Pouso P
Unidad Académica de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.
E-mail: ppouso@fmed.edu.uy
SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS

Desde hace varias décadas los anuros se han considerado animales ventajosos para estudiar las bases neurobiológicas del comportamiento reproductivo. Durante el cortejo los machos emiten vocalizaciones y se congregan en coros para atraer a las hembras. La base neural de la emisión de estas vocalizaciones subyace en circuitos neurales localizados a distintos niveles cerebrales. Asimismo, es conocido el rol modulador que ejercen sobre estas vocalizaciones diferentes hormonas como los nonapéptidos hipotalámicos (ej: vasotocina, AVT). *Boana pulchella*, es un anuro hílido que presenta una reproducción prolongada y se encuentra en el sur de Sudamérica. En Uruguay es abundante y está distribuido en todo el país. Durante las noches de cortejo, los machos agrupados en coros

emiten tres tipos de vocalizaciones. Nuestra investigación se realiza en la naturaleza y a dos escalas: a) poblacional, a través del registro acústico pasivo de la actividad coral anual y su relación con diferentes factores físicos; b) individual, a través de registros acústicos en machos. Nuestros resultados muestran que la actividad coral ocurre en los meses templados y cálidos, y que se correlaciona con la temperatura y el fotoperiodo. Asimismo, los registros acústicos individuales mostraron un patrón temporal de emisión de vocalizaciones flexible de acuerdo con el contexto social. Por otra parte, para describir el potencial efecto del AVT en el comportamiento vocal de los machos, hemos implementado en el campo ensayos farmacológicos, y encontramos que el antagonista de AVT disminuye la probabilidad de cantar de los machos tratados respecto a los no tratados. Estos abordajes en un animal de experimentación no tradicional nos han permitido abonar al entendimiento de las bases neuroendocrinas de la conducta reproductiva en vertebrados.

Simposio de Sociedades de Biología

INNOVACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON: DE MÉTODOS CONVENCIONALES A NANOANTICUERPOS

Stagnetto A[1], Solís-Santander SE[1], Chehín RN[1], Vera Pingitore E[1,2]
[1]Instituto de Investigación en Medicina Molecular y Celular Aplicada (IMMCA- UNT-CONICET-SiProSa), [2]Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Tucumán.
E-mail: estebanverapingitore@fm.unt.edu.ar
ASOCIACIÓN DE BIOLOGÍA DE TUCUMÁN

Las sinucleinopatías, como la Enfermedad de Parkinson (EP), son severas enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la acumulación de α-sinucleína (αSyn) mal plegada (PFFαSyn) en el cerebro. La EP es un trastorno progresivo con prevalencia creciente y sin cura; los tratamientos actuales se centran en aliviar los síntomas. El diagnóstico clínico, que ocurre años después de la aparición de PFFαSyn, coincide con una pérdida irreversible de neuronas dopaminérgicas (60-80%), lo cual limita la efectividad de cualquier intervención. La falta de métodos para un diagnóstico temprano y preciso ha sido un gran obstáculo en el desarrollo de tratamientos efectivos. Recientemente, los ensayos de amplificación de semillas (SAAs) han surgido como una técnica revolucionaria, permitiendo la detección precisa de pequeñas cantidades de αSyn anómala en fluidos biológicos humanos. Esta tecnología innovadora, que ya se aplica en el diagnóstico, ofrece una detección altamente sensible y específica del biomarcador de la EP en líquido cefalorraquídeo. En nuestro laboratorio, hemos desarrollado estrategias de diagnóstico temprano para la EP, como el uso de tetraciclinas modificadas para la detección específica de PFFαSyn, validadas mediante técnicas convencionales (ELISA y espectroscopía de impedancia electroquímica), que resultaron en una patente internacional (PCT/IB2023/054715). Otra estrategia prometedora es el inmunodiagnóstico con anticuerpos diseñados para reconocer PFFαSyn, aunque hasta ahora ha tenido éxito limitado. En este sentido, investigamos el uso de nanoanticuerpos (anticuerpos de dominio único derivados de *Camelidae*), que, por su tamaño reducido y capacidad de penetrar tejidos, incluyendo el cerebro, se perfilan como candidatos idóneos tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de la EP. En conclusión, este trabajo aborda la

problemática de la EP y se focaliza en las bases técnicas de la SAA y en los desarrollos diagnósticos que actualmente estamos llevando a cabo.

APROXIMACIONES A DIFERENTES MODELOS CONVENCIONALES Y NO CONVENCIONALES EN AGRONOMÍA Y MANEJO DE LAS ESPONTANEIDADES

Pratta GR
Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR - CONICET - UNR), Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias, Cátedra de Genética, Santa Fe, Argentina.
E-mail: gpratta@unr.edu.ar
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE ROSARIO

Siendo la Agronomía el conjunto de conocimientos de diversas ciencias formales y experimentales (y dentro de éstas, naturales y sociales), existe una variedad de modelos experimentales que se aplican en sus estudios. En esta presentación se entenderá como modelo experimental a todo sistema capaz de representar total o parcialmente el proceso que se pretende estudiar, abarcando tanto modelos matemáticos como modelos biológicos en diferentes niveles de organización de la vida. Como modelo convencional, se tomará al cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*), en el que se ha trabajado en diferentes niveles de organización (molécula, órgano, organismo, población). Se discutirán resultados de estudios integradores en los que, partiendo de análisis transcriptómicos de sus frutos, se identificó un cluster de genes de la familia de las sHSPs (pequeñas proteínas de choque térmico) localizado en el cromosoma 6 con expresión diferencial entre estados de madurez y genotipos. La comparación genómica entre dos progenitores de diversas poblaciones de mejoramiento genético permitió el desarrollo de marcadores estructurales de ADN secuencia-específicos basados en su función. La caracterización molecular de dos poblaciones derivadas del cruzamiento entre ambos progenitores demostró una herencia mendeliana de los marcadores desarrollados. La evaluación fenotípica de la calidad de fruto evidenció una amplia variabilidad genética, con valores significativos de heredabilidad en sentido estricto para caracteres de interés agronómico como peso, vida poscosecha, acidez y contenido en sólidos solubles. La integración de estos conjuntos de datos moleculares y fenotípicos se logró mediante un desarrollo original del grupo de trabajo, el Análisis Factorial Múltiple Dual Mixto, identificándose asociaciones entre los marcadores desarrollados y los caracteres cuantitativos. Finalmente, las asociaciones detectadas por este análisis a tres-vías se verificaron por el modelo estadístico-matemático convencional de ANOVA, validándose 6 QTLs (*loci* de caracteres cuantitativos) que permitirán realizar selección asistida en las futuras generaciones del plan de mejora llevado adelante desde hace más de 30 años por el GMT (Grupo de Mejoramiento de Tomate, IICAR). Como modelo no convencional y manejo de las espontaneidades, se tomará a *Musa acuminata* grupo Cavendish AAA. Se discutirán resultados sobre micropropagación de genotipos selectos y conformación de un banco de germoplasma, teniendo en cuenta que en un autopoliploide de reproducción estrictamente asexual es necesario contar con protocolos que garanticen la calidad sanitaria y genética de los materiales cultivados así como conservar la variabilidad genética originada por mutaciones *de novo* en campos de agricultores familiares de Formosa, a partir de la cuál se desarrolló la primera variedad argentina de banana para consumo en fresco.

MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE DESÓRDENES DEL ESTADO DE ÁNIMO

Mir FR
Cátedra de Fisiología Animal, FCEFyN, Universidad Nacional de Córdoba; Cátedra de Fisiología Animal, DACEFyN, Universidad Nacional de La Rioja. Laboratorio de Neurofisiología, Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra (INIMEC-CONICET-UNC), Córdoba, Argentina.
E-mail: francomir@unc.edu.ar
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CÓRDOBA

Un modelo animal es una especie no humana que se usa en investigaciones biomédicas porque puede replicar algunos aspectos de un proceso biológico o de una enfermedad presentes en los seres humanos. Los modelos animales (por ejemplo, ratón, rata, pez cebra, etc.) tienen una anatomía, fisiología o respuesta a un patógeno que se parece lo suficiente a la de los seres humanos como para extrapolar los resultados de los estudios en modelos animales y así comprender mejor la fisiología y la patología en los seres humanos. Mediante los modelos animales, se pueden realizar experimentos que serían de otro modo impracticables en humanos o que estarían prohibidos por cuestiones éticas. Actualmente, se emplean modelos animales en prácticamente todos los campos de la investigación biomédica, incluyendo, pero no limitado a biología básica, inmunología y enfermedades infecciosas, oncología y comportamiento. El uso de modelos animales para responder preguntas en el área de las neurociencias (psicopatologías o neurodegenerativas) es ampliamente reportado en la bibliografía científica. Los trastornos de ansiedad y depresión son los trastornos psiquiátricos más prevalentes entre la población humana y suelen presentarse juntos (comorbilidad). Se calcula que más de 300 millones de personas en todo el mundo padecen uno o ambos trastornos del estado de ánimo. Situaciones u eventos estresantes han sido implicados en el desencadenamiento de episodios de ansiedad y depresión en humanos, por lo que no sorprende que síntomas similares a la depresión y ansiedad puedan observarse en modelos animales sujetos a estrés. A lo largo de la charla abordaremos algunos modelos animales, especialmente en roedores, utilizados para estudiar la neurobiología de los desórdenes del estado de ánimo. Así también y de manera muy breve analizaremos algunos test comportamentales utilizados para evaluar estados similares a la depresión y ansiedad.

EL USO DE AVES EN EL ESTUDIO DE ESTRESORES AMBIENTALES: LOS GORRIONES (PASSER DOMESTICUS) Y LAS PALOMAS (ZENAIDA AURICULATTA) COMO MODELOS BIOLÓGICOS DE LABORATORIO

Chediack JG
Laboratorio de Biología Integrativa, Departamento de Biología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones Biológicas San Luis (IMIBIO-SL-CONICET-UNSL), San Luis, Argentina.
E-mail: jg.chediack@gmail.com
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CUYO

En las últimas décadas, los modelos animales no tradicionales, particularmente las aves, han ganado importancia en diversos campos científicos. Las aves silvestres se utilizan cada vez más en áreas como la neurobiología, el envejecimiento, la endocrinología ambiental y la fisiología. Sus roles ecológicos hacen de las aves excelentes modelos de laboratorio para examinar la fisiología animal y el estrés. Ocupan una amplia gama de niveles tróficos, están ampliamente distribuidas y son sensibles a los cambios ambientales, lo que las convierte en bioindicadores efectivos de la salud ambiental. En nuestro grupo de investigación, utilizamos gorriones y torcazas para evaluar la plasticidad y adecuación del estado de salud y los sistemas digestivos en respuesta a factores estresantes ambientales, como el ayuno, el estrés por calor y los contaminantes. En los gorriones, durante una restricción de alimentos, hemos observado niveles elevados de corticosterona y de la relación heterófilo/linfocito (H/L). Los parámetros bioquímicos reflejan un modelo clásico de ayuno observado en otros animales vertebrados, mientras que la actividad de las enzimas digestivas aumenta durante el ayuno. En estrés por calor se observa un aumento del índice H/L y de los niveles de ácido úrico en plasma. Este efecto se revierte por el uso de la capsaicina, un aditivo de mitigación del estrés utilizado en aves de corral. A nivel de la actividad de las enzimas digestivas no se observan cambios significativos. De manera de evaluar componentes del estrés realizamos experimentos de exposición de gorriones a corticosterona, hormona de la respuesta al estrés. En estos estudios encontramos efectos sobre la condición corporal y una reducción en la concentración de ácido úrico en plasma, pero no hubo impacto en las actividades de las enzimas digestivas. En cuanto al efecto de contaminantes como el plomo, notamos una disminución en los niveles de la enzima ALAD en la sangre, un aumento del índice H/L, junto con cambios menores en la actividad de las enzimas antioxidantes. Sin embargo, encontramos una disminución en la actividad de las enzimas digestivas en presencia de plomo. Sin embargo, en las palomas, la exposición a contaminantes (plomo y el pesticida atrazina) afectó los parámetros bioquímicos, el índice H/L e indujo alteraciones histológicas y morfométricas en el hígado y el intestino delgado; pero no observamos efecto sobre las actividades enzimáticas. Como conclusión, al estudiar las aves, podemos identificar los factores ambientales que afectan tanto a su salud como a la nuestra. Este conocimiento es fundamental para prevenir enfermedades zoonóticas y promover la salud pública a través de un enfoque integral que considere la salud humana, animal y ambiental.

Simposio de Investigadores Jóvenes

DE LA FUSIÓN DE GAMETAS AL DIAGNÓSTICO DE LA INFERTILIDAD MASCULINA

Brukman NG[1], Kabha M[2], Dekel M[2], Valansi C[1], Podbilewicz B[1]
[1]Technion - Israel Institute of Technology, Faculty of Biology, Haifa, Israel, [2]Clalit, Carmel Medical Center, Haifa, E-mail: nbrukman@gmail.com

Según la OMS, la infertilidad afecta a 1 de cada 6 parejas, lo que destaca la necesidad de elucidar los mecanismos moleculares que operan en la fertilización. Uno de los principales desafíos para estudiar las moléculas que participan en la fusión de gametas en humanos son las limitaciones éticas y técnicas del uso de ovocitos. En mamíferos, la fusión de las gametas requiere la interacción entre IZUMO1, en el espermatozoide, y JUNO, en el ovocito. Recientemente hemos encontrado que la incubación de espermatozoides de ratón con células

somáticas (fibroblastos de hámster o células epiteliales humanas) induce su fusión y la formación de sincitios, un proceso al que llamamos SPICER (*SPerm-Induced CEll fusion Requiring JUNO*). Esta capacidad recuerda a un fenómeno observado en algunos virus con envoltura, conocido como "*Fusion From Without*" (FFWO). Aquí mostramos que los espermatozoides humanos pueden inducir SPICER (o hSPICER), demostrando que esta herramienta puede utilizarse para estudiar los mecanismos moleculares y celulares de la fusión de gametas humanas. Encontramos que los niveles de fusión de células somáticas depende de la secuencia de JUNO empleada de manera especie-específica, del número de espermatozoides y del tiempo de incubación. Además, mostramos que pequeñas moléculas diseñadas para inhibir las interacciones IZUMO1-JUNO causan una disminución significativa en los niveles de SPICER. Asimismo, se observó hSPICER al emplear células de mamíferos pero no de insectos, lo que sugiere la existencia de factores adicionales en el ovocito que cooperan con JUNO. Como sistema semi-heterólogo, hSPICER induce una mayor eficiencia de fusión célula-célula que la expresión ectópica de IZUMO1 humano en células, lo que sugiere que en el espermatozoide también pueden existir otros factores que favorecen la fusión de los gametas. El desarrollo de hSPICER podría resultar en un método confiable, rápido y sencillo para estudiar la fusión de gametas humanas, lo cual tiene implicancias significativas para el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad y así como en desarrollo de nuevos métodos anticonceptivos.

CERDOS EDITADOS GENÉTICAMENTE PARA XENOTRASPLANTE: MADE IN ARGENTINA

Ratner LD[1,2], La Motta GE[1,2], Allegroni F[1], Gomes Pio M[2], Fernández-Martín R[1,2]
[1]Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA – UBA – CONICET), CABA, Argentina; [2]New Organs Biotech SA, Argentina.
E-mail: lratner@agro.uba.ar

La escasez de órganos para el tratamiento de pacientes con enfermedades terminales es muy conocido. El xenotrasplante aparece como una estrategia que podría proveer de un número ilimitado de órganos. Sin embargo, es necesario realizar múltiples modificaciones genéticas en cerdos para superar problemas de rechazo inmunológico e incompatibilidades fisiológicas entre las especies. Nuestro objetivo fue el de obtener cerdos con los 3 genes responsables del rechazo inmunológico hiperagudo (GGTA1, CMAH, β4GalNT2) y el receptor de la hormona de crecimiento (GHR) interrumpidos. Para esto, mediante microinyección del sistema CRISPR-Cas9, se modificaron genéticamente embriones porcinos obtenidos por fertilización *in vitro* (FIV) o por fecundación *in vivo*. Al día siguiente, fueron transferidos quirúrgicamente al oviducto de hembras receptoras nulíparas previamente sincronizadas (100-150 embriones de FIV y 50-70 embriones producidos *in vivo*). Se corroboró preñez en 5 de las 6 hembras que fueron transferidas con embriones producidos por FIV a día 28, pero ninguna de las preñeces llegó a término. Por otro lado, de las 5 hembras transferidas con embriones producidos *in vivo*, sólo una quedó preñada y parió a 5 lechones vivos (2 machos y 3 hembras). Todos los animales presentaron mutaciones bialélicas en el gen GGTA1, y uno de los machos fue mosaico para este gen y para GHR. Por otro lado, 2 hembras presentaron mutaciones en el gen GHR, una de ellas con mutación bialélica y la otra monoalélica para este gen. No se observaron ediciones en los genes CMAH y β4GalNT2. Fenotípicamente, se corroboró la

ausencia de residuos de α-Gal, producto de la enzima codificada por GGTA1, en muestras de piel tomadas de estos animales; y se observó que la hembra con mutación bialélica para GHR es considerablemente de menor tamaño. Una vez alcanzada la madurez sexual, los animales se cruzaron y se analizaron las camadas F1 obtenidas. Se realizaron dos apareos con el macho mosaico para GGTA1 (con tres alelos mutados) y para GHR (con dos alelos mutados y uno WT). El apareo 1 se realizó con una hembra con una mutación bialélica y homocigota para GGTA1 (dos alelos con la misma mutación) y heterocigota para GHR (un alelo mutado y uno WT). El apareo 2 se realizó con la hembra que presentó mutaciones bilalélicas para GGTA1 y para GHR. En ambas hembras se confirmó preñez a los 28 días y se obtuvieron lechones vivos que, como resultado de las cruzas, heredaron algunos de los alelos mutados del padre y de la madre de ambos genes. Solo en las crías obtenidas a partir del apareo 1 no fue posible identificar el alelo mutado materno para el gen GGTA1, poniendo de manifiesto la presencia de otro alelo mutado que no pudo ser amplificado inicialmente. En conclusión, la técnica de microinyección de cigotos producidos *in vivo* permitió la obtención de animales genéticamente editados para GGTA1 y GHR. Se corroboró la fertilidad de los animales F0 con el nacimiento de 2 camadas de animales F1; donde la mayoría heredaron las mutaciones conocidas de sus progenitores, resultando en animales doble KO homogéneos para ambos genes. Por último, es posible que la hembra del apareo 1 presente un alelo mutado desconocido que fue heredado en su descendencia y que es necesario caracterizar.

EXPLORANDO LAS BASES MOLECULARES DE LA FISIOLOGÍA SENSORIAL EN TRIATOMINOS Y ABEJAS

Latorre Estivalis JM[1], Lorenzo MG[2], Farina W[2]
[1]Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE - UBA - CONICET),
[2]Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET),
CABA, Argentina.
E-mail: josmantorres@gmail.com

Nuestra investigación se centra en identificar genes con roles fundamentales en la neurofisiología y el comportamiento de los insectos, con el objetivo de desarrollar sistemas de manipulación del comportamiento para controlar vectores de enfermedades humanas y apoyar a los insectos beneficiosos. Utilizamos principalmente triatominos, especialmente *Rhodnius prolixus*, y recientemente hemos incorporado a *Apis mellifera*. Los triatominos transmiten la enfermedad de Chagas, una enfermedad desatendida que afecta a 6–8 millones de personas en América Latina. Debido al aumento de poblaciones resistentes a insecticidas y la toxicidad de estos, es urgente contar con métodos de control alternativos. En este contexto, las estrategias de manipulación del comportamiento representan una alternativa más específica, amigable con el medioambiente y que no genera resistencia. A través de las secuencias genómicas de *R. prolixus*, identificamos y analizamos diversas familias de receptores sensoriales. Utilizando qPCR y las nuevas plataformas de secuenciamiento (RNA-Seq), demostramos cómo las condiciones fisiológicas, el estado nutricional y la edad influyen en la expresión de receptores específicos en las antenas, un órgano sensorial clave en los insectos. A través de ensayos basados en la técnica de RNA de interferencia, hemos desvelado la función de varios receptores sensoriales, mostrando su posible implicación en la percepción de sales o en el comportamiento sexual de los machos de *R. prolixus*.

Las abejas (*A. mellifera*) desempeñan un papel fundamental en la polinización de cultivos y plantas silvestres, esenciales para la biodiversidad y la seguridad alimentaria. Un conocimiento más profundo de su sistema olfativo podría apoyar el desarrollo de nuevos métodos para atraer a las abejas hacia cultivos específicos. Por primera vez, se han caracterizado los patrones de expresión de diversos genes de receptores quimiosensoriales durante las fases larvales de *A. mellifera*, lo que sugiere que las larvas cuentan con los elementos moleculares necesarios para operar un sistema sensorial funcional. La disponibilidad de ambos genomas, junto con los avances en tecnologías de secuenciación y edición génica, convierte a R. prolixus y A. mellifera en modelos poderosos para explorar la neurobiología y ecología de los insectos.

Simposio Socios SAB

Organizan: Dra. Marina Fernández y Dr. Juan Ignacio Fernandino

MÉTODOS ALTERNATIVOS AL USO DE ANIMALES APLICADOS A LA EVALUACIÓN DE SEGURIDAD DE PRODUCTOS, CON FINES DE REGISTRO

Gutiérrez ML
Instituto de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA Argentina.
E-mail: ml.gutierrez@conicet.gov.ar

Los ensayos de toxicidad forman parte del proceso de evaluación de seguridad en etapas de desarrollo, registro y aprobación de productos cosméticos, de higiene del hogar, agroquímicos, medicamentos y dispositivos médicos.
Históricamente, desde inicios del siglo XX, el gold standard para la realización de estos ensayos fueron los animales de laboratorio. Por motivos éticos, desde hace décadas se viene fomentando el desarrollo de métodos alternativos a los ensayos in vivo y actualmente existen numerosos procedimientos que reemplazan el uso de animales de experimentación. Los métodos alternativos han ido ganando territorio en las diferentes agencias regulatorias, tanto que hoy se recomienda comenzar a realizar los ensayos de seguridad de cualquier sustancia, siempre que sea posible, por metodología *in silico, in chemico, in vitro y ex vivo*, dejando para última instancia a los ensayos en animales. Por otro lado, el gran avance en el campo de la biología celular y molecular y de la ingeniería de tejidos, han llevado a generar modelos in vitro basados en células humanas que pueden representar más eficientemente los procesos que conducen a un evento adverso.
El Laboratorio de Métodos Alternativos (LMA-EBAL) está íntegramente dedicado a la ejecución, desarrollo, perfeccionamiento y transferencia de métodos alternativos al uso de animales. Nuestro objetivo es incorporar metodologías aprobadas internacionalmente, perfeccionar y desarrollar nuevos métodos aplicados a la evaluación de seguridad, diseminar el uso de métodos alternativos en el país, transferir el conocimiento y brindar servicios a aquellas empresas que los requieran.
El propósito de la presentación, es brindar una actualización respecto a la implementación de métodos alternativos al uso de animales a nivel global, regional y local y compartir la

experiencia del LMA-EBAL en la aplicación de estrategias alternativas a la experimentación con animales para la evaluación de irritación y corrosión ocular y dérmica, y sensibilización dérmica por exposición a cosméticos, agroquímicos y productos de higiene domiciliaria.

NANOPARTÍCULAS COMO CONTAMINANTES AMBIENTALES EMERGENTES: MECANISMOS DE RESPUESTA CELULAR A LA EXPOSICIÓN

Mardirosian M[1,2], Lasagna M[1;2], Nuñez M[2], Enriquez L[1], Espert N[3], Parra MC[3], Venturino A[3], Cocca C[1;2]

[1]Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas "Prof. Alejandro C. Paladini". Buenos Aires, Argentina. [2]Laboratorio de Radioisótopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina. [3]Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue. Neuquén, Argentina.

E-mail: marianamardi@gmail.com

Los contaminantes ambientales emergentes son compuestos de distinto origen y naturaleza química que con el avance de las técnicas de detección están siendo ampliamente identificados en el agua y suelo. Estos compuestos poseen el potencial de ejercer efectos adversos tanto sobre el medio ambiente como sobre la salud humana, y a menudo carecen de regulación específica que limite su presencia en el agua. Entre los contaminantes emergentes se incluyen diversas nanopartículas (NP) sintetizadas con fines particulares, así como microcontaminantes emergentes como los micro y nanoplásticos. En nuestro laboratorio desarrollamos y sintetizamos NP de magnetita funcionalizadas con ácido oleico (NPMAO) para la remediación de aguas contaminadas con contaminantes orgánicos, dentro de los cuales se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). Dada la creciente producción y utilización de NP magnéticas en múltiples aplicaciones, su vertido a cuerpos de agua en forma involuntaria o a través de aplicaciones específicas es cada vez más probable. Por lo tanto, es imprescindible determinar los impactos potenciales que puedan causar las NP a distintos niveles, ya sea en la biota como en el ser humano. Para ello, es fundamental llevar a cabo la caracterización fisicoquímica y la evaluación de los mecanismos de acción, con el fin de establecer los riesgos asociados a la exposición. En este contexto, nuestro objetivo fue evaluar los efectos del antraceno (ANT), seleccionado como representante de los HAP, y las NPMAO sobre células humanas mamarias tanto tumorigénicas como no tumorigénicas. Analizamos el impacto de ambos contaminantes en la viabilidad celular, la apoptosis y el ciclo celular. Además, evaluamos la captación de NPMAO y su localización celular. Nuestros resultados revelaron que el ANT disminuyó la viabilidad y la proliferación sólo en células no tumorigénicas, deteniendo el ciclo celular tumorigénico en la fase S, mientras que en las células no tumorigénicas, la interrupción se produjo en la fase G2/M. Asimismo, se observó que las NPMAO interactúan con la membrana celular de las células mamarias humanas, disminuyendo la viabilidad y la proliferación y alterando de manera significativa la distribución de fases del ciclo celular de las células mamarias tumorigénicas y no tumorigénicas. La citotoxicidad de las NPMAO fue evidente tanto en células tumorigénicas como no tumorigénicas, con una sensibilidad mayor en las líneas no tumorigénicas. Los efectos derivados de las NPMAO por sí solo alertan sobre usos seguros que eviten la liberación de nanomateriales al ambiente durante los procesos de remediación.

ENFOQUES EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN PECES

Da Cuña RH
Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA, UBA-CONICET); Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental (DBBE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales FCEyN), Universidad de Buenos Aires (UBA), CABA, Argentina.
E-mail: rhdacu@bg.fcen.uba.ar

El incremento de las actividades industriales y agrícolas ha provocado la presencia ubicua de contaminantes en los ambientes acuáticos. Muchos de estos contaminantes pueden interferir con el sistema endocrino de los vertebrados, motivo por el cual se los conoce como disruptores endocrinos. La exposición de los peces a estos compuestos resulta en alteraciones en el desarrollo, el crecimiento y la reproducción, entre otros efectos adversos. Los enfoques empleados para investigar la acción e impacto de los disruptores endocrinos en peces incluyen exposiciones tanto agudas como crónicas, en animales adultos y larvas. El uso de ensayos in vivo y ex vivo permite estudiar efectos a nivel de organismo completo o nivel de órganos y celular, respectivamente. Estos distintos enfoques se discutirán a través de los estudios realizados por nuestro grupo de investigación en el Laboratorio de Ecotoxicología Acuática sobre los ejes reproductor y tiroideo de peces nativos, que resaltan la importancia de considerar los efectos subletales de los contaminantes en la salud de los organismos acuáticos.

COMUNICACIONES ORALES

MIÉRCOLES 4 DE DICIEMBRE

BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 1 (REP-1)

AULA BIBLIOTECA (PB) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Ana Romarowski y Dra. Verónica Dorfman

REP-1.1

EL ESTRÉS PRENATAL CRÓNICO LEVE AFECTA AL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS CRÍAS

De la Cruz Borthiry FL[1], Cañumil VA[1], Scheffer F[1], Bogetti E[1], Krawczyk MC[2], Medina C[2], Beltrame JS[1], Boccia MM[2], Franchi AM[1], Ribeiro ML[1]
[1]Laboratorio de Fisiología y Farmacología de la Reproducción; Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina, [2]Laboratorio de Neurofarmacología de los Procesos de Memoria, Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: fdelacruz@fmed.edu.ar

El estilo de vida modula la fisiología materna, placentaria y fetal. Anteriormente hemos observado que la exposición de ratones hembras a un protocolo de estrés crónico leve antes y durante la gestación afecta los procesos vasculares e inmunológicos que tienen lugar en la interfaz materno-fetal. Además, encontramos que estas alteraciones están acompañadas de una reducción en el peso de los fetos en el día 15 de gestación. En base a estos antecedentes, el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar las consecuencias del estrés prenatal crónico leve sobre el crecimiento y desarrollo de la descendencia luego del parto.
Para ello, hembras de ratón BALB/c fueron alojadas en jaulas con la mitad del marlo (grupo estresado) que las hembras del grupo control. Además, día por medio las hembras del grupo estresado se colocaron sobre una tapa que fue sacudida en forma de 8 durante un minuto. Este protocolo se realizó hasta el día previo al parto.
En primer lugar, las crías fueron pesadas en el día posnatal 1 y luego semanalmente hasta las 6 semanas de vida. Las crías de madres estresadas presentaron un menor peso en el día posnatal 1, y esta diferencia se mantuvo hasta las 6 semanas de vida. Además, la tasa de mortalidad neonatal temprana fue mayor en la camada nacida de hembras estresadas.
Por otro lado, evaluamos parámetros del desarrollo como la separación del pabellón auricular, la erupción de dientes y la apertura de los ojos. Encontramos que el 10-20% de la camada de crías provenientes de madres sometidas a estrés presentó un retraso en la aparición de estos hitos del desarrollo en comparación con las crías de madres controles. A su vez, observamos alteraciones en parámetros asociados al metabolismo, así como también en las pruebas conductuales.
En conclusión, nuestros resultados sugieren que si bien el estrés prenatal crónico leve no se asocia con la inducción de reabsorciones embrionarias o parto prematuro, la exposición intrauterina a este protocolo produce alteraciones en los fetos que repercuten sobre la salud de la descendencia luego del parto.

REP-1.2

AUMENTO EN LA EFICIENCIA DE LA PREPARACIÓN ESPERMÁTICA POR EL USO DE NUEVOS REGULADORES DEL ADENOSÍN MONOFOSFATO CÍCLICO

Oscoz-Susino N[1], Luque GM[1], Minotti F[2], Otero P[2], Lavolpe M[3], Ferrulli M[3], Krapf D[4], Buffone MG[1], Marín Briggiler CI[1] [1]IBYME-CONICET, Buenos Aires, Argentina, [2]Hospital G. A. Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina, [3]In Vitro Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, [4]IBR-CONICET, Rosario, Argentina.
E-mail: natioscozita@gmail.com

La activación de la vía del adenosín monofosfato cíclico (AMPc) es un evento fundamental en la adquisición de la capacidad fecundante espermática. Tanto análogos del AMPc como inhibidores de la enzima fosfodiesterasa (PDE) han sido usados in vitro para promover la movilidad espermática. Sin embargo, los resultados son variables entre pacientes y se han observado efectos no deseados, como inducción prematura de la exocitosis acrosomal (EA). En estudios previos de nuestro laboratorio reportamos que cBiMPs (análogo de AMPc) y TAK-063 (inhibidor de PDE10A) aumentan la movilidad y la hiperactivación de los espermatozoides humanos, sin inducir la EA ni afectar la fragmentación del ADN. Este efecto fue más potente que el de otros análogos de AMPc e inhibidores de PDE conocidos. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar si cBiMPs o TAK-063 pueden ser utilizados para mejorar la eficiencia de la preparación de muestras de semen humano. Se utilizaron muestras de semen frescas y criopreservadas, obtenidas bajo consentimiento informado de los donantes. Las mismas fueron sometidas a técnicas de preparación espermática en presencia de cBiMPs (30 µM), TAK-063 (1 µM) o de DMSO (0,2 %, control). Se analizó el porcentaje de recuperación espermática luego de la separación por *swim-up* ([volumen x concentración x movilidad total de la alícuota recuperada] / [volumen x concentración x movilidad total de la alícuota usada] x 100) y el porcentaje de espermatozoides progresivos móviles cuando el plasma seminal fue removido por lavado. El agregado de cBiMPs y TAK-063 aumentó significativamente ($P<0,01$) la recuperación espermática comparada con el control, en muestras de semen frescas ($n=10$ para cBiMPs, $n=7$ para TAK-063) y congeladas/descongeladas ($n=8$). Asimismo, el uso de estos compuestos permitió obtener mayores ($P<0,01$) porcentajes de espermatozoides progresivos luego del lavado en ambos tipos de muestras luego de 1 h de incubación, observándose aumentos de 2,8± 0,5 y 2,6±0,4 veces para cBiMPs y TAK-063 respecto al control en muestras frescas ($n=25$ y $n=21$, respectivamente) y de 1,5±0,1 y 1,8±0,1 veces para cBiMPs y TAK-063 en muestras criopreservadas ($n=12$). El efecto mejorador cBiMPs y TAK-063 sobre la movilidad y la eficiencia de preparación espermática conduciría a su uso durante la práctica andrológica, favoreciendo la implementación de técnicas de reproducción asistida de baja complejidad. Estos compuestos también podrían ser usados para seleccionar espermatozoides viables durante protocolos de ICSI, contribuyendo al tratamiento de la infertilidad masculina. El presente trabajo contó con la financiación del CONICET y la ANPCyT, y con la ayuda económica de las Fundaciones René Barón, Williams y Honorio Bigand.

REP-1.3

ROL DE VESÍCULAS EXTRACELULARES DERIVADAS DE TROFOBLASTO EN LA REGULACIÓN DE LA MIGRACIÓN DE CÉLULAS DE MICROVASCULATURA PLACENTARIA: ALTERACIONES POR HIPOXIA-REOXIGENACIÓN

Etcheverry T[2], Szpilbarg N[1*], Reppetti J[1], Cabral E[1], Sar J[3], Damiano A[1], Farina M[2], Martínez N[1]*

[1]Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO-UBA-CONICET), [2]Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-UBA-CONICET), [3]Servicio de Obstetricia, Hospital Naval Cirujano Mayor Dr. Pedro Mallo.

**Igual contribución.*

E-mail: noraalicia.martinez@hotmail.com

Durante la gestación el intercambio de gases y nutrientes entre la madre y el feto ocurre a nivel de la microvasculatura que conforman los capilares de las vellosidades coriónicas placentarias, por lo tanto, el correcto desarrollo de la microvasculatura es esencial para un adecuado crecimiento fetal. Este proceso ocurre a través de la angiogénesis placentaria y está regulada por señales parácrinas derivadas del trofoblasto que conforman el secretoma del mismo (formado por moléculas solubles y vesículas extracelulares-VEs). La preeclampsia (PE) es una complicación grave del embarazo caracterizada por hipertensión arterial, proteinuria y daño a diferentes órganos. La remodelación incompleta de las arterias espiraladas uterinas conduce a daño por isquemia-reperfusión placentaria (generando episodios de hipoxia-reoxigenación - HR) contribuyendo al desencadenamiento de inflamación, estrés oxidativo y disfunción endotelial. En gestaciones con PE, la microvasculatura presenta importantes alteraciones en su arquitectura y función, también existe un incremento de la liberación de VEs que inducirían daño endotelial. En este estudio empleamos a la HR como modelo para estudiar el daño presente en la PE. Se obtuvieron placentas de embarazos a término sanos (n=4) del Hospital Naval. Los explantos placentarios se cultivaron en normoxia (N) e HR y se evaluó la viabilidad del tejido por ensayo de MTT. Las EVs placentarias se obtuvieron por centrifugación diferencial, filtración y ultracentrifugación y se caracterizaron mediante DLS, NTA, microscopía electrónica y western blot. Cultivos primarios de células endoteliales microvasculares placentarias humanas (hPMEC) obtenidos a partir de vellosidades de placentas sanas se cultivaron en presencia o ausencia de EVs placentarias o del sobrenadante (SN) de cultivo depletado de EVs. Se evaluó la migración celular mediante el ensayo de cicatrización de herida. La viabilidad de los explantos placentarios no se vio alterada por la HR. El secretoma derivado de trofoblasto cultivado en N moduló la migración de las hPMEC. Tanto las EVs como el SN depletado de EVs, derivados de trofoblasto cultivado en HR, redujeron significativamente la migración de las hPMEC en comparación con hPMEC cultivadas con EVs y/o SN de explantos cultivados en N ($p<0.05$). Estos resultados sugieren que tanto las EVs como los factores solubles derivados de trofoblasto participan de la comunicación trofoblasto-microvasculatura placentaria y, modulan la migración de las hPMEC. La misma se encontraría alterada en condiciones de HR tal y como ocurre en PE.

REP-1.4

CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS COMO MODELOS PARA EL ESTUDIO DEL DIÁLOGO MATERNO-EMBRIONARIO TEMPRANO

Castro XA[1], Argañaraz ME[1]
[1]Instituto Superior de Investigaciones Biológicas-INSIBIO (CONICET-UNT), Instituto de Biología FBQF-UNT,
San Miguel, Argentina.
E-mail: martin.arganaraz@fbqf.unt.edu.ar

Una característica reproductiva única de los camélidos sudamericanos es que el 98% de las gestaciones se establecen en el cuerno uterino izquierdo (CUI), a pesar de que ambos ovarios contribuyen casi equitativamente a la ovulación. Se ha sugerido que el cuerno uterino derecho (CUD) no sería capaz de mantener la preñez, lo que obliga a los embriones originados en el ovario derecho a migrar hacia el CUI para implantarse y sobrevivir. Sin embargo, no se han identificado diferencias a nivel ultrasonográfico, histológico o subcelular que expliquen este patrón de migración e implantación. Nuestra hipótesis es que los proteomas del CUI y el CUD durante la fase peri-implantacional son distintos, generando un ambiente óptimo en el CUI y/o subóptimo en el CUD para el embrión. Nuestro objetivo fue caracterizar el proteoma de los CUs de alpacas en el día 15 post-apareamiento (dpa), momento en el que se produce el reconocimiento materno de la preñez (8-10 días post-ovulación, dpo) pero antes de la implantación (20 dpo). Se trabajó con alpacas del Centro de Investigación Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. Tres hembras de 2 años fueron apareadas con machos fértiles y faenadas a los 15 dpa. Los CUs se preservaron en RNA-later para su lisis mecánica en un buffer con 4% de SDS e inhibidores de proteasas. Las proteínas fueron analizadas mediante SDS-PAGE, digestión en gel y espectrometría de masas (LC-MS/MS), y los datos procesados con los programas ProteomeDiscoverer v1.4 y v2.2, Perseus v2.0.7.0, Metascape v3.5, Proteomaps v2.0 y Cytoscape v3.10.1. Se detectaron un total de 1.728 proteínas en el CUI y 1.983 en el CUD, de las cuales 1.598 fueron comunes a ambos cuernos. El análisis estadístico identificó 33 proteínas significativamente aumentadas en el CUI y 69 en el CUD ($p \leq 0.05$). Los análisis revelaron diferencias funcionales entre ambos CUs: el CUD mostró enriquecimiento en procesos relacionados con el corte y empalme de ARN, el metabolismo de esteroides, la síntesis de fosfolípidos y proteólisis. En particular, el proceso de proteólisis mediada por ubiquitina es relevante ya que está enriquecido en pacientes con fallo recurrente de la implantación. Por otro lado, las proteínas del CUI se asociaron con la organización del citoesqueleto, la migración celular, procesos biosintéticos y unión a proteínas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad I (MHC). Durante la preñez, el sistema inmunológico materno tolera al embrión mediante una comunicación inmunológica, que involucra proteínas MHC I. Estas diferencias podrían explicar la implantación diferencial en los camélidos sudamericanos. Sin embargo, se necesitan más estudios para caracterizar las proteínas involucradas en estos procesos y determinar su participación en la implantación embrionaria y/o infertilidad.

REP-1.5

PARTICIPACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS EN LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS REFRIGERADOS

Satorre MM[1], Rodriguez P[1], Breininger E[1,2], Cetica P[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina. [2]Universidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.
E-mail: msatorre@fvet.uba.ar

Se ha sugerido que el espermatozoide porcino podría utilizar diversos 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 aminoácidos (Aa) exógenos en la capacitación in vitro de espermatozoides porcinos refrigerados. Las muestras (n=5) fueron fraccionadas e incubadas a 38°C en condiciones capacitantes (con bicarbonato como inductor) en diferentes medios: TBM (glucosa+piruvato), TBMns (sin glucosa ni piruvato), TBM + Aa, TBMns + Aa, TBMns + Aa + salicilato (1, 5 o 10 µM, inhibidor de la desaminación oxidativa). Se evaluaron movilidad por microscopia óptica, viabilidad por la técnica supravital de azul tripán, producción de amonio por espectrofotometría y capacitación por la técnica fluorescente de clorotetraciclina y por la respuesta a inducción de la reacción acrosomal (con 30% de fluido folicular porcino) evaluada con la técnica de contraste diferencial interferencial y azul tripán. Los datos fueron analizados por ANOVA y comparados con el test de Bonferroni, considerándose un $p<0,05$ como estadísticamente significativo. En TBMns los espermatozoides conservaron la movilidad, pero no lograron capacitarse (versus TBM, $p<0,05$). Con el agregado de aminoácidos a un medio sin glucosa ni piruvato (TBMns + Aa) no aumentó el porcentaje de espermatozoides capacitados. La movilidad espermática disminuyó significativamente cuando los aminoácidos fueron utilizados como único sustrato oxidativo presente en el medio de capacitación (versus TBMns, $p<0,05$), pero este efecto no fue observado cuando los aminoácidos fueron agregados en un medio con los sustratos oxidativos clásicos (TBM + Aa). La producción de amonio fue mayor en los tratamientos que contenían aminoácidos y disminuyó de forma dosis dependiente con el agregado de salicilato ($p<0,05$). Si bien los espermatozoides porcinos poseen la habilidad de desaminar oxidativamente a los aminoácidos exógenos, estos compuestos no pueden ser utilizados como únicos sustratos oxidativos para producir la energía necesaria para sostener la movilidad y capacitación espermática. Futuros estudios sobre la utilización de otros sustratos oxidativos exógenos o endógenos complementarán estos resultados y contribuirán a dilucidar las vías metabólicas utilizadas por los espermatozoides porcinos refrigerados para obtener la energía requerida para la capacitación espermática.

REP-1.6

IMPACTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN DE ESPERMATOZOIDES Y EMBRIONES MURINOS SOBRE LA SALUD DE LA DESCENDENCIA

González LN[1], Herzfeld JD[1], Cuasnicú PS[1], Gelman DM[1], Da Ros VG[1], Cohen DJ[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
E-mail: l.gonzalez@ibyme.org.ar

La congelación de espermatozoides y la vitrificación de embriones son técnicas ampliamente utilizadas tanto en entornos clínicos como agroproductivos. Si bien su alta eficiencia ha sido demostrada, la exposición de espermatozoides y embriones a crioprotectores y bajas temperaturas podría generar daños a nivel epigenético que impacten sobre el desarrollo embrionario y la salud de los individuos nacidos a partir de estas técnicas. Teniendo esto en cuenta, el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar en el modelo de ratón el efecto de la criopreservación de espermatozoides y embriones sobre la expresión de genes importantes para la remodelación epigenética que ocurre durante el desarrollo embrionario, así como su impacto sobre la salud de las crías nacidas. Para ello, establecimos tres grupos de blastocistos a ser analizados: 1) frescos, obtenidos a partir de fertilización in vitro (FIV) con espermatozoides congelados, 2) vitrificados, obtenidos a partir de FIV con gametas frescas y 3) frescos, obtenidos a partir de FIV con gametas frescas (grupo control). En primer lugar, evaluamos por RT-qPCR la expresión de genes relacionados con la remodelación epigenética: ADN metiltransferasas *(Dnmt1, Dnmt3a/b y Dnmt3l)*; reguladores de la metilación *(Zfp57 y Dppa3)*; enzimas que modifican histonas *(Ash1l, Kmt2a, Kat5 y Kat2a*); genes con impronta paterna *(H19 y Igf2r)* y materna *(Peg3 y Snrpn*), y marcadores de pluripotencia *(Nanog, Pou5f1, Sox2 y Cdx2).* Observamos que los blastocistos obtenidos a partir de espermatozoides congelados presentaron una disminución en los niveles relativos de ARNm de los genes *H19, Ash1l* y *Kat2a* ($p<0,05$), mientras que los blastocistos vitrificados presentaron una disminución de *Igf2r, Dppa3* y *Kat2a* ($p<0,05$). A continuación, los blastocistos de los distintos grupos experimentales fueron transferidos a hembras pseudopreñadas, analizando parámetros relacionados con el desarrollo post-natal y sexual de las crías obtenidas. Observamos un leve retraso en la apertura de ojos en las crías nacidas a partir de espermatozoides congelados ($p<0,05$) y en la erupción de los incisivos en las nacidas a partir de blastocistos vitrificados ($p<0,05$), sin encontrar diferencias en el aumento de peso, desprendimiento de orejas, desarrollo de pelaje, descenso de testículos en machos y apertura vaginal y ciclo estral en hembras. Finalmente, al llegar a la adultez, analizamos el fenotipo reproductivo de estos animales, observando que, si bien la fertilidad no se vio afectada (duración de la preñez y tamaño de las camadas), las crías de los machos generados a partir de espermatozoides congelados presentaron un menor peso al nacer ($p<0,05$). En conjunto, nuestros resultados sugieren que la criopreservación podría generar un desbalance epigenético en los embriones, aunque este no impactaría significativamente en la salud de los individuos nacidos hasta la adultez. Sin embargo, en los machos nacidos de espermatozoides congelados, los efectos podrían manifestarse en la segunda generación de animales.

REP-1.7

SOBRECONSUMO DE *Stevia rebaudiana* Y CAPACIDAD REPRODUCTIVA

Kruse MS[1], Bianchi MS[2], Riaño J[2], Coirini H[1], Rey M[1]

[1]Laboratorio de Neurobiología, IBYME-CONICET .[2]Laboratorio de Neuroendocrinología, IBYME-CONICET.
E-mail: mariana.rey@ibyme.conicet.gov.ar

En el último tiempo, la sacarosa presente en alimentos y bebidas ha sido reemplazada por edulcorantes no calóricos, que pueden ser de origen artificial o natural. Entre estos últimos se encuentra la stevia, proveniente de la planta *Stevia rebaudiana Bertoni (Asteraceae*), nativa de la zona tropical de Sudamérica. Aunque existe controversia sobre su consumo, diversos estudios señalan que la stevia afecta la capacidad reproductiva, mientras que otros destacan propiedades beneficiosas. Previamente reportamos que la administración de stevia a ratas hembra produce cambios en el ciclo estral, en el tamaño del útero y en la capacidad de preñez, entre otros aspectos. El objetivo de este trabajo fue evaluar si dichas alteraciones se correlacionan con un desbalance hormonal (FSH y LH). Ratas hembra (SD) recibieron agua (grupo CON, n=8) o agua endulzada con stevia (grupo STE, n=8) desde el DPN21 al DPN90. Los ciclos estrales se evaluaron entre DPN40-72 mediante la observación de frotis vaginales, determinando la cantidad de proestros, estros, metaestros y diestros, y la cantidad de ciclos normales. Las hembras fueron pesadas y sacrificadas en estro con un ayuno previo de 6 h. La sangre troncal fue colectada y los úteros fueron extraídos, secados y pesados para calcular el índice peso de útero/peso corporal (IU). Los niveles de FSH y LH se determinaron en muestras séricas mediante RIA. STE presentó menor cantidad de proestros (24,14%; p=0,0256), pero una mayor cantidad de estros (22,58%; p=0,0102) que el grupo CON. No se encontraron diferencias en la cantidad de ciclos normales. No se registraron diferencias en los pesos corporales, sin embargo STE presentó un menor IU respecto a CON (24,40%; p=0,0006). No se encontraron diferencias entre los niveles de FSH y LH. En el grupo CON, se observaron correlaciones positivas entre FSH y LH (p=0,0264; R^2=0,588), entre IU y FSH (p=0,0452; R^2=0.515) y entre IU y LH (y p=0,019; R^2=0,628) y negativamente entre IU y la cantidad de ciclos normales (p=0,0091; R^2=0,705). Mientras que en STE sólo se observó una correlación negativa entre IU y la cantidad de proestros (p=0,0219; R^2=0,612). Estos resultados no solo respaldan nuestros reportes previos, sino que evidencian que los efectos de este edulcorante podrían estar asociados con desregulaciones endócrinas. Estudios adicionales son necesarios para explorar las diferentes vías de acción involucradas. Consideramos que estos hallazgos resultan relevantes para las recomendaciones médicas del consumo de *S. rebaudiana* (PICT2019-623).

REP-1.8

EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE AISLAMIENTO DE VESÍCULAS EXTRACELULARES EN PLASMA SEMINAL HUMANO Y SU INCORPORACIÓN A ESPERMATOZOIDES

Río S[1], Arroyo-Salvo CA[1], Bogetti ME[1], Armani T[2], Cesari A[2], Perez-Martinez S[1].
[1]Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET-UBA, Argentina, [2]Instituto de Investigaciones Biológicas, CONICET-UNMdP, Argentina.
E-mail: perezms@fmed.uba.ar

Las vesículas extracelulares (VEs) presentes en el plasma seminal humano (PS) han despertado gran interés debido a su posible rol en la modulación de la función espermática y la fertilidad masculina. Se ha demostrado que las VEs transportan una variedad de moléculas

bioactivas, como proteínas, lípidos y ARN, que influyen en la fisiología de los espermatozoides, incluyendo la motilidad, la capacitación, la reacción acrosomal y la viabilidad. El objetivo de este estudio fue comparar diferentes métodos de aislamiento de VEs del PS de pacientes normozoospérmicos y evaluar su incorporación en los espermatozoides. Para esto, analizamos tres técnicas de aislamiento de VEs: 1) ultracentrifugación doble (UC); 2) columna de exclusión por tamaño (SEC); y 3) precipitación con polietilenglicol (PEG). Las VEs fueron caracterizadas mediante western blot (WB), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA). La incorporación en los espermatozoides (que fueron incubados en medio HTF = no capacitante) se evaluó mediante la co-incubación con VEs marcadas con la sonda CFSE, por citometría de flujo. Nuestros resultados indican que tanto el método UC como el SEC permitieron el aislamiento de VEs, lo que se confirmó con la presencia de los marcadores específicos HSP70 y CD9, así como con las imágenes obtenidas por TEM, que mostraron nanoestructuras de diferentes tamaños rodeadas por membranas. La medición de NTA reveló que mediante el método UC se obtuvo una concentración de 4.8E+12 partículas/mL, con un tamaño de partículas entre 50 y 600 nm, y una mediana de 118,7 nm. Por otro lado, el método SEC proporcionó una concentración de 3.0E+12 partículas/mL, con un tamaño de partículas entre 50 y 800 nm, y una mediana de 121,9 nm. Además, las VEs obtenidas por ambos métodos fueron incorporadas por los espermatozoides, lo que se evidenció mediante la detección de la fluorescencia de CFSE en la población viable. De manera interesante, los espermatozoides incubados con VEs aisladas mediante SEC mostraron una mayor intensidad de fluorescencia media (IFM) que los incubados con VEs obtenidas mediante UC (UC = 398 ± 100; SEC = 676 ± 167; media IFM ± SEM, $p \leq 0.05$). Estos resultados sugieren que el método SEC es una técnica efectiva para el aislamiento de VEs funcionales del plasma seminal humano, que se incorporan en los espermatozoides en un mayor porcentaje en comparación con el método UC tradicional, y además, ofrecen una mayor diversidad en el tamaño de las VEs obtenidas. Futuros estudios se centrarán en evaluar los efectos de las VEs en eventos relacionados con la capacitación espermática y su impacto potencial en la fertilidad masculina.

REP-1.9

EL ROL DE LA AUTOFAGIA EN UN MODELO ANIMAL (VIZCACHA DE LAS LLANURAS) CON FOLICULOGÉNESIS ACTIVA DURANTE LA PREÑEZ

Caram DA[1,2], Inserra PIF[1,2], Vitullo AD[1,2] , Leopardo NP[1,2]
[1]Centro de Estudios Biomédicos Básicos, Aplicados y Desarrollo (CEBBAD) - Universidad Maimónides, [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
E-mail: caram.daira@maimonides.edu

Lagostomus maximus, vizcacha de las llanuras, es un roedor que presenta un período gestacional extenso, de 5 meses y medio, en el cual continúa activo el reclutamiento folicular. En mitad de la gestación hay un descenso en los niveles de progesterona, lo que permite la reactivación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, seguido de un incremento en los niveles séricos de 17-βestradiol, hormonas folículo estimulante y hormona luteinizante. Este perfil hormonal permite el reclutamiento y desarrollo folicular y un evento de pseudo-ovulación para la obtención de nuevos cuerpos lúteos (CL). A su vez, la vizcacha exhibe baja tasa de atresia folicular mediada por apoptosis manteniendo una población de células germinales constante

y activa. Por otro lado, la autofagia tiene un rol dual actuando en la eliminación de folículos y CL en regresión, y en la sobrevida de folículos y CL sanos. El objetivo de este trabajo es analizar la autofagia en un modelo con atresia folicular disminuida y foliculogénesis continua durante la gestación. Se recolectaron ovarios de 3 etapas gestacionales: preñez temprana (n=8), media (n=8) y a término (n=8). Se analizó la expresión de las proteínas autofágicas BECLINA 1, LC3BI-II, LAMP 1 y SQSTM1 mediante inmunohistoquímica. Se cuantificó el número de los distintos estadios foliculares positivos (%) para cada proteína. La ultraestructura de las vacuolas autofágicas se examinó mediante microscopía electrónica de transmisión (MET). Se analizó la colocalización de las proteínas autofágicas LC3B-SQSTM1, LC3B-LAMP1. Los resultados, presentados como la media ± desvío estándar, fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) con post-test de Bonferroni para comparaciones múltiples, donde $p<0,05$ indica diferencias significativas. La expresión de los marcadores autofágicos fue incrementando a medida que avanzó la preñez en folículos maduros. El porcentaje de los folículos sanos positivos para los marcadores autofágicos tendió a aumentar a medida que avanzó la preñez. Los escasos folículos atrésicos de mitad de la gestación presentaron un descenso no significativo en el porcentaje de positividad para los distintos marcadores. La colocalización de LC3B-SQSTM1 y LC3B-LAMP1 se detectó principalmente en el oocito de folículos maduros y atrésicos indicando una autofagia continua. La MET reveló una escasa cantidad de vesículas autofágicas y una estructura conservada en folículos sanos, mientras que se observó una mayor presencia de vesículas autofágicas y una morfología alterada en folículos atrésicos a lo largo de la gestación. Estos hallazgos proponen un rol basal o de sobrevida de la autofagia en folículos sanos actuando como un contribuyente clave en la homeostasis y en la maduración folicular durante la gestación. Por otro lado, la autofagia podría colaborar con el proceso de muerte en el oocito de los escasos folículos atrésicos observados luego de la pseudo-ovulación mientras que las células de la granulosa mueren por apoptosis.

MIÉRCOLES 4 DE DICIEMBRE

VETERINARIA Y ECOLOGÍA (VETEC)

AULA COMEDOR (3° PISO) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Cynthia Gutnisky y Dr. Sergio Morado

VETEC.1

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS OBSERVADOS EN PLACENTAS CANINAS A TÉRMINO DE NEONATOS NACIDOS VIVOS Y MUERTOS

Praderio RG[1,2], Giuliodori MJ[1], de la Sota RL[1,2], Stornelli MA[1]
[1]Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, [2]CONICET.
E-mail: rpraderio@fcv.unlp.edu.ar

La neonatología está escasamente desarrollada en caninos. La placenta cumple un importante rol en el desarrollo fetal, por lo cual estudios placentarios podrían arrojar datos de interés para la evaluación neonatal que estimen su viabilidad. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las características microscópicas de placentas caninas a término luego del parto

o cesárea y relacionar la densidad vascular con el peso neonatal al nacimiento. Se utilizaron 17 perras (11 cesáreas de urgencia, 5 cesáreas programadas y 1 parto natural) de entre 1 y 10 años, mestizas y de diferentes razas. Del total de 30 cachorros nacidos vivos y 23 nacidos muertos, se obtuvieron 47 placentas (vivos, n=26; muertos, n=21). Se registró el peso de los neonatos al nacer. Una vez en el laboratorio, las placentas fueron separadas de las membranas extra placentarias, pesadas, y se obtuvo una biopsia de la región central, se fijó en solución formolada hasta su procesamiento histológico y su tinción con H&E. Una vez obtenidos los cortes histológicos, se evaluó al microscopio óptico la presencia de necrosis, congestión, mineralización, infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos (PMNN). Posteriormente, con un microscopio óptico conectado a una cámara digital se obtuvieron a 40x imágenes de 5 campos seleccionados al azar para determinar la densidad vascular expresada en número de vasos por campo, mediante el uso del programa ImageJ. Para la evaluación de cada variable se utilizó la siguiente escala: 0= ausente; 1= 1 a 3 lesiones que ocupan menos del 40% de la superficie evaluada; 2= lesiones que ocupan más del 40% de la superficie o más de 3 lesiones. Las frecuencias de las variables categóricas de las placentas de neonatos vivos y muertos fueron comparadas nacimiento mediante correlación lineal de Pearson con el programa estadístico SAS® 9.4. A la evaluación histológica, se observó congestión en las placentas del 90% (19/21; 0=2, 1=8,2=11) de los neonatos nacidos muertos y en el 85% (22/26, 0=4, 1=19, 2=3) de los nacidos vivos (*P*=0,54), necrosis en el 62% (13/21, 0=8, 1=12, 2=1) de los nacidos muertos y en el 35% (9/26, 0=17, 1=9) nacidos vivos (*P*=0,06), infiltrado de PMNN en el 62% (13/21, 0=8, 1=9, 2=4) nacidos muertos y en el 31% (8/26, 0=18, 1=8) nacidos vivos (*P*=0,03), y mineralización en el 28% (6/21, 0=15, 1=1, 2=5) de los nacidos muertos y en ninguno (0%) de los nacidos vivos (*P*=0.001). El promedio de la densidad vascular fue de 17,4±5,42. No se observó una correlación entre la densidad vascular y el peso placentario (r^2= 0,23; *P*=0,21) ni entre la densidad vascular y el peso al nacimiento (r^2= 0,20; *P*=0,27). Nuestros hallazgos muestran diferencias entre las placentas de neonatos nacidos vivos y muertos que podrían deberse al tiempo transcurrido entre el desencadenamiento del parto y la resolución de la distocia. El peso al nacimiento no parece estar influenciado por la densidad vascular placentaria. Sin embargo, estudios con un mayor número de muestras permitiría establecer la influencia de la densidad vascular y la morfología placentaria sobre el peso al nacimiento y la sobrevida neonatal.

VETEC.2

VARIACIÓN ESTACIONAL E INTERACCIÓN DE Wyeomyia codiocampa, Toxorhynchites Y Sabethes EN UN ENSAMBLE DE CULÍCIDOS EN BAMBÚES DE CORRIENTES

Alvarez CN[1,2], Campos RE[2,3 †], Faraone J[1, 2], Stein M[1, 2]
[1]Instituto de Medicina Regional (IMR), Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Sede Central CABA, Argentina. [3]Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet", Universidad Nacional de La Plata (ILPLA – CONICET).
E-mail: carlanoelalvarez@gmail.com

La interacción predador-presa es uno de los principales procesos que estructuran las comunidades de organismos en los ecosistemas. *Wyeomyia codiocampa* (filtrador),

Toxorhynchites spp. (predador obligado) y *Sabethes* spp. (predador facultativo) constituyen las principales especies de mosquitos que habitan en los internudos de bambúes de *Guadua chacoensis* en la provincia de Corrientes. El objetivo de este estudio fue analizar la variación estacional de la abundancia de estos predadores, tanto individual como conjuntamente con la especie filtradora predominante. El muestreo se realizó entre el otoño 2015 e invierno 2017 en la localidad de San Cayetano, Corrientes. Para evaluar la abundancia estacional de predadores y presa se utilizó la prueba de Kruscal-Wallis. Se estudió la correlación entre estas abundancias por medio del coeficiente de Spearman, y se aplicó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución binomial negativa y función de enlace logarítmica para analizar la interacción entre predadores y presas en las distintas estaciones.De un total de 4 30 individuos colectados, el 77,4% correspondieron a *Wy*. *codiocampa* (333/430), el 11,4% a *Sabethes* spp. (49/430) y 11,2% a *Toxorhynchites* spp. (48/430). Solo en otoño se encontraron las tres especies presentes simultáneamente; en el resto de las estaciones *Sabethes* spp. no fue registrado. A pesar de que la mayor abundancia de predadores (*Toxorhynchites*: otoño = 23, invierno = 3, primavera = 12, verano = 10; *Sabethes*: otoño = 49, invierno = primavera = verano = 0) y presas (*Wy*. *codiocampa*: otoño = 126, invierno = 25, primavera = 99, verano = 84) se registró en otoño, el test de Kruscak-Wallis no mostró diferencias significativas en la abundancia de presas (chi-cuadrado = 6,57, gl = 3, p = 0,087) ni de depredadores obligatorios (chi-cuadrado = 7,75, gl = 3, p = 0,051) a lo largo de las estaciones. La abundancia de *Wy*. *codiocampa* presentó correlación negativa significativa con el predador obligatorio *Toxorhynchites* spp. (S = -0,26; p = 0,0079) pero no con la del predador facultativo *Sabethes* spp. (S = -0,21; p = 0,16). El modelo GLM (devianza residual = 122,97; gl = 107; AIC = 516,83) evidenció que, aunque el valor base de la abundancia de presas es diferente de cero (intercepto = 0,8454590; p = 0,051) no se encontraron efectos significativos de la abundancia de *Toxorhynchites* spp. ni de las estaciones climáticas sobre la abundancia de *Wy*. *codiocampa*. Los resultados evidencian que las tres especies *Wy*. *codiocampa* (filtradores), *Toxorhynchites* spp. (predadores obligados) y *Sabethes* spp. (predadores facultativos) coexistieron únicamente en otoño, mientras que en invierno, primavera y verano solo se encontraron las dos primeras. Aunque no se observaron diferencias significativas en la abundancia de *Toxorhynchites* spp. y *Wy*. *codiocampa* a lo largo de las estaciones, se detectó una relación negativa entre ambas especies, lo que sugiere un posible efecto de depredación de *Toxorhynchites* spp. sobre *Wy. codiocampa*. Sin embargo, la abundancia relativamente alta de *Wy. codiocampa* podría estar amortiguando este efecto a lo largo del año, impidiendo una disminución significativa de su población en ciertas estaciones críticas, como el invierno. En cuanto a *Sabethes* spp., su presencia solo en otoño no mostró un efecto significativo sobre *Wy. codiocampa*, a pesar de que su abundancia en esa estación fue similar a la de *Toxorhynchites* spp. considerando su abundancia total. Esto sugiere que *Sabethes* spp. podría estar desempeñando principalmente un rol como filtrador más que como predador en este ensamble, o tal vez ser presa de *Toxorhynchites*. Estos hallazgos implican que la depredación por sí sola no es suficiente para explicar la estructura estacional de este ensamble, lo que sugiere la necesidad de explorar otros factores (variables físicas y químicas del hábitat larval) y mecanismos (competencia entre especies filtradoras o depredación intraespecífica en el caso de los *Toxorhynchites*) que podrían estar influyendo en la dinámica de estas poblaciones. Además, futuros estudios son necesarios para conocer mejor diversos aspectos de la ecología de *Sabethes*, como cuál es su verdadero rol en estos microambientes, su verdadera distribución estacional como así también los factores que podrían estar restringiéndola.

VETEC.3

DESARROLLO POBLACIONAL DE AVISPAS AGALLADORAS DEL GÉNERO *Ophelimus* Y SU PARASITOIDE *Closterocerus chamaeleon* EN EUCALIPTOS DE LA REGIÓN PAMPEANA BONAERENSE

Buyatti RA[1], Hernández CM [1], Candas L[1], Andorno AV [1], López SN [1]
[1]Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (Argentina).
E-mail: buyatti.rocio@inta.gob.ar

Diversas especies de insectos nativos de Australia, asociados a los eucaliptos, han invadido distintas regiones del mundo, transformándose en plagas de relevancia. Entre ellas, destacan las avispas agalladoras del género *Ophelimus.* En Argentina se ha registrado a *Ophelimus maskelli,* junto con su parasitoide *Closterocerus chamaeleon* en 2013, y una segunda especie aún no identificada, *Ophelimus sp*., detectada en 2017. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la abundancia, el nivel de ataque causado por las especies del género *Ophelimus* y el parasitismo de *C. chamaeleon* en plantaciones de eucaliptos en la región pampeana de la provincia de Buenos Aires. Se realizaron muestreos mensuales entre agosto de 2022 y enero de 2024 en tres localidades: Castilla (plantaciones de *E. grandis x E. camaldulensis* (GC)), Castelar (*E. viminalis, E. benthamii* y *E. dunnii*) y 25 de Mayo (*E. cinerea, E. viminalis* y *E. tereticornis*). En cada plantación se seleccionaron aleatoriamente 10 árboles, de los cuales se recolectaron dos ramas (30-40 cm) del tercio inferior de la copa. Se contabilizó el número de hojas con agallas (nivel de ataque) y el número de agallas por hoja (abundancia), mientras que los adultos emergidos de las muestras (plaga y parasitoide) permitieron calcular el porcentaje de parasitismo. Para analizar los datos, se emplearon modelos lineales generalizados mixtos (MGLM): uno con distribución Tweedie para la abundancia de agallas y otro con distribución Bernoulli para la proporción de hojas atacadas. Los resultados mostraron que *O. maskelli* fue hallada en híbridos GC y *E. tereticornis*, mientras que *Ophelimus sp*. afectó a *E. viminalis, E. cinerea, E. benthamii* y *E. dunnii.* En Castilla, el clon GC 24 presentó los mayores niveles de abundancia con un pico en febrero y marzo de 2023, mientras que en el clon GC 9 se observó un pico entre abril y junio de 2023. En general, GC 24 exhibió una mayor proporción de hojas atacadas excepto en abril de 2023, donde no se observaron diferencias significativas. En Castelar, *E. benthamii* y *E. viminalis* presentaron una mayor abundancia de agallas en comparación con *E. dunnii*, con diferencias significativas entre *E. benthamii y E. dunnii* en enero, febrero y diciembre de 2023. El nivel de ataque fue similar en las distintas especies excepto en febrero y marzo de 2023, meses en los que *E. dunni* presentó una menor proporción de hojas atacadas. En 25 de Mayo, durante la mayor parte del período de muestreo, la abundancia de agallas y el nivel de ataque fueron significativamente superiores en *E. cinerea* y *E. tereticornis* respecto de *E. viminalis*. El parasitoide *C. chamaeleon* tuvo niveles de parasitismo superiores al 96 % en *O. maskelli* pero inferiores al 11 % en *Ophelimus sp*. Estos resultados sugieren que las especies de eucaliptos varían en su susceptibilidad a las plagas *Ophelimus spp*. Asimismo, se confirmó que el parasitoide *C. chamaeleon* está asociado principalmente a *O. maskelli*, pero se requieren más estudios para evaluar su relación con *Ophelimus sp.*

VETEC.4

DESCRIPCIÓN DE LA HISTOLOGÍA PENEANA DE *Eumops patagonicus*: UN MURCIÉLAGO DEL NORDESTE ARGENTINO

Rodriguez FE[1], Aguirre MV[1], Lombardo DM[2,3]
[1]Instituto de Química Básica y Aplicada del Nordeste (IQUIBA-NEA CONICET), [2]Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Cátedra de Histología y Embriología. [3]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
E-mail: florencia0066@gmail.com

El orden Chiroptera en uno de los más numerosos en cuanto a número de especies dentro de los mamíferos. Este orden presenta gran diversidad en la morfología relacionada con su aparato reproductor y gónadas. En las hembras se observa gran variabilidad en la morfología uterina, así como en la morfología y funcionalidad ovárica. Por otra parte, en machos los testículos presentan morfologías típicas de mamíferos, pero la estructura peneana presenta particularidades propias en cada especie. El pene en mamíferos es un órgano que facilita la fecundación, posee forma cilíndrica donde se distingue un cuerpo donde transcurre la uretra y un tejido eréctil que lo rodea, denominado cuerpo cavernoso. En la porción distal, el glande, es donde continua y finaliza la uretra en el exterior rodeada por un segundo tejido eréctil; el cuerpo esponjoso. En algunas especies de murciélagos se ha observado la presencia de tejidos eréctiles accesorios y la presencia de un hueso peneano o *báculum* presente también en otros mamíferos. La descripción histológica de este órgano es importante a nivel filogenético en este orden, debido a la variación existente entre especies, por ello el objetivo de este trabajo es describir a nivel histológico la morfología peneana de *Eumops patagonicus* perteneciente a la Familia Molossidae, el cual es una especia abundante en zonas urbanas del nordeste argentino. Se colectaron varias muestras de penes de *E. patagonicus* (n=8), las cuales se procesaron para histología convencional y fueron coloreadas con hematoxilina eosina y tricrómico de Gomory. Las muestras fueron fotografiadas diferenciando 3 secciones: base, media y sección de la punta. La sección base corresponde al cuerpo y la sección media y punta corresponde al glande. Se observó que el pene se encuentra formado en su base por la uretra, la cual se encuentra rodeada por un cuerpo cavernoso, rodeado por su túnica albugínea de tejido conectivo denso el cual emite un septo incompleto que lo divide en dos regiones. A los laterales se observan dos nervios periféricos. En la región del glande se puede distinguir la uretra rodeada por el cuerpo esponjoso que se encuentra delimitado por su túnica albugínea y en la región central se observa la presencia de un *baculum*. Externamente el pene se encuentra tapizado por piel fina con gran cantidad de folículos pilosos, mientras que en el glande está cubierto por una proyección de piel sin presencia de folículos pilosos. En comparación con otras especies de *Eumops* ya descritas, *E. patagonicus* posee cuerpo esponjoso en la región del glande acompañando a la uretra. Por otra parte, este estudio revela la presencia de un septo incompleto en el cuerpo cavernoso que en otras especies de chirópteros no se observa. Esta descripción del pene de un integrante del género *Eumops* sienta las bases para futuros estudios comparativos entre especies del mismo género y de la misma familia, ya que en otros taxas como los Rodentia, carnívoros Mustélidos y primates has sido de gran importancia, en especial la descripción de la presencia de un *baculum*.

VETEC.5

ESTUDIOS COMPARATIVOS IN VIVO E IN VITRO ENTRE PLANTAS QUE CONTIENEN SWAINSONINA

Alucin AK[1], Giménez DU[1], García EN[1], Martínez A[2], Bustillo S[3], Cholich LA[1]
[1]Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional del Nordeste (FCV-UNNE). Sargento Cabral 2139. Corrientes (3400). Corrientes, [2] INTA, Bariloche, CP 8400, Argentina, [3]Grupo de Investigaciones Biológicas y Moleculares (GIByM), IQUIBA-NEA CONICET.
E-mail: anahialucin@gmail.com

Astragalus spp. e *Ipomea* spp. son plantas tóxicas que afectan a los animales y contienen swainsonina (SW), un alcaloide indolizidínico producido por hongos simbiontes. Además, *I. carnea* contiene calisteginas, alcaloides nortropánicos. Ambos compuestos inhiben enzimas lisosomales alterando el metabolismo normal de las células. El objetivo fue comparar la intoxicación *in vivo* y la citotoxicidad *in vitro* inducidas por *Astragalus illini* e *Ipomea carnea*. Las plantas fueron recolectadas en Maquinchao Manuel Choique, Río Negro y Corrientes Capital respectivamente. Para el ensayo *in vivo* se utilizaron 12 cobayos de 200 ±50g, divididos en tres grupos (G) de 4 animales cada uno: GI (control), GII (tratado con *I. carnea*) y GIII (tratado con *A. illini*). Cada grupo tratado recibió pellets elaborados a partir de una mezcla del material vegetal seco y molido, y alimento balanceado comercial en una relación del 50:50 y, el grupo control, alimento balanceado comercial. La determinación y cuantificación de SW mediante HPLC-MS/MS fue de 0,02% en *A. illini* y 0,13 % en *I. carnea.* La experiencia se extendió por 53 días, previo al sacrificio se tomaron muestras de sangre para estudios bioquímicos y se recolectaron muestras de hígado y cerebro para histopatología. A nivel del puente cerebral se determinó el porcentaje de neuronas vacuoladas (40X) en 10 campos representativos aleatorios. Para el ensayo *in vitro* se empleó la línea celular C6 (ATCC: CCL-107™) de glioma maligno murino. Las células se mantuvieron en medio DMEM con 10% de SFB y antibióticos. Las células fueron expuestas a extractos acuosos (EA) elaborados a partir de ambas plantas, la cuantificación de SW en cada EA fue de 1,49 µg/mg en *A. illini* y 1,6 µg/mg en *I. carnea*. Se determinó la concentración citotóxica 50 (CC50). Los resultados mostraron un incremento de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) en ambos grupos tratados con respecto al control (43,00±8,49 UI/L). Sin embargo, el GII presentó un incremento significativamente mayor en los niveles de AST (676,5±103,35 UI/L) en comparación con el grupo GIII (322,00±16,40 UI/L) ($p < 0,05$). La evaluación histopatológica en ambos grupos tratados reveló la presencia de vacuolas intracitoplasmáticas en hepatocitos y células de Kupffer. Se observó un 30,6±1,92% de neuronas vacuoladas en el GII, en contraste con un 6,02±4,65% registrado en el GIII, mientras que en los controles (GI) no se hallaron vacuolas. Los valores de CC50 fueron de 312 µM para las células expuestas al EA de *I. carnea* y 425 µM para las células expuestas al EA de *A. illini.* En conclusión, *A. illini* e *I. carnea* demostraron ser tóxicas tanto *in vivo* como *in vitro* lo que podría atribuirse a la presencia de swainsonina. Sin embargo, la toxicidad de *I. carnea* fue mayor, lo que podría deberse tanto a su mayor concentración de swainsonina como a la presencia de calisteginas, sugiriendo un posible efecto sinérgico entre ambos compuestos.

VETEC.6

DIFERENCIAS ESTACIONALES EN LA FRECUENCIA DE CONTRACCIÓN DEL VASO DORSAL Y DEL INTESTINO MEDIO ANTERIOR DE *Rhodnius prolixus*

Villalobos Sambucaro MJ[1,2], Zuccarini FD[1,2], Ronderos JR[1]
[1]Laboratorio de la Cátedra de Histología y Embriología Animal-FCNyM-UNLP, [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas -CONICET.
E-mail: villalobos.mj@fcnym.unlp.edu.ar

Desde los trabajos pioneros de Sir V. B. Wigglesworth, la especie *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae), vector de la enfermedad de Chagas, demostró ser un modelo experimental muy valioso. El control de la homeostasis de estos organismos depende, entre otros factores, de los mecanismos que regulan la circulación de la hemolinfa, la cual moviliza nutrientes, desechos metabólicos y mensajeros químicos. La velocidad de circulación varía dependiendo del estado fisiológico, presentando diferencias entre el estado de reposo (ayuno) y el registrado durante el proceso de diuresis post-ingesta. La contracción del vaso dorsal (VD) (compuesto por el corazón y la aorta) y del intestino medio anterior (buche) aseguran la circulación de la hemolinfa. Hemos demostrado previamente que la frecuencia basal de contracción de ambos órganos presenta variaciones diurnas. Observamos ahora, que las frecuencias de ambos órganos varían a lo largo del año, y decidimos analizar la probable existencia de variaciones estacionales en la tasa de contracción en insectos macho en ayuno. Los datos fueron obtenidos de tratamientos controles de experimentos donde se utilizaron insectos de 20-25 días post-muda, obtenidos de nuestro bioterio. Cada individuo fue colocado bajo el microscopio estereoscópico, se removieron las alas, permitiendo visualizar la aorta y buche a través de la cutícula translúcida. Transcurridos 30 minutos, para contrarrestar el estrés por la manipulación realizada, se aplicó 5 µl de solución salina de *Rhodnius* a través de una incisión en el conexivo, registrándose la frecuencia durante 3 min a los 5, 15 y 30 min. Los resultados se expresan como número de contracciones/min y se analizaron mediante ANOVA multifactorial. En primer lugar, los datos fueron analizados por semestres (i.e. primavera-verano; otoño-invierno). Ambos órganos evidenciaron una frecuencia mayor durante los meses cálidos, con una diferencia mayor al 50 %. Posteriormente, los datos se evaluaron por trimestre correspondiente a cada estación individualmente. La frecuencia en reposo de la aorta fue 30% más elevada durante los meses de verano (dic-ene-feb). El registro de los meses de primavera fue el más bajo. Respecto al buche la frecuencia de ondas peristálticas fue 25% más alta en los meses de verano y otoño, respecto a los de invierno y primavera, no registrándose diferencias significativas entre ellos. Nuestros resultados sugieren la existencia de un patrón estacional en la frecuencia basal durante el reposo.

VETEC.7

ACTIVIDAD CONTRÁCTIL DE LA AORTA DE *Rhodnius prolixus* EN MEDIO HIPOSMÓTICO: EL ROL ENDOCRINO DE LOS TÚBULOS DE MALPIGHI

Zuccarini FD[1,2], Ronderos JR[1], Villalobos Sambucaro MJ[1,2]
[1]Laboratorio de la Cátedra de Histología y Embriología Animal-FCNyM-UNLP, [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas-CONICET.
E-mail: villalobos.mj@fcnym.unlp.edu.ar

La ingesta de sangre en los insectos triatominos, como *Rhodnius prolixus,* causa un shock osmótico desencadenando un intenso proceso de diuresis para reestablecer la homeostasis. Este proceso requiere de un aumento en la tasa de circulación de la hemolinfa, necesaria para la formación de orina. Allatotopina (AT), modula positivamente la frecuencia del vaso dorsal (VD) y el intestino medio anterior y con ello la velocidad de circulación de la hemolinfa, facilitando la formación de orina por los túbulos de Malpighi (TMs). Demostramos, que en condiciones hiposmóticas los TMs secretan AT hacia la hemolinfa induciendo contracciones peristálticas para el vaciado del recto. Teniendo en cuenta estos antecedentes, nos propusimos estudiar la probable existencia de un control endocrino sobre la actividad contráctil del VD por parte de los TMs. Para analizar cambios en la frecuencia de contracción de la aorta *in vivo*, realizamos ensayos fisiológicos donde se utilizaron insectos macho ayunados de 20 y 25 días post muda. Se analizaron dos grupos de insectos, a los que, mediante la extracción de los terguitos, se les extrajeron los TMs manteniéndolos en solución salina, mientras que al otro grupo de insectos se les simuló la operación. Finalizado el procedimiento, a los insectos se les aplicó una dosis de solución salina de *Rhodnius*. Posteriormente, a los individuos que fueron operados se les volvió a colocar en el abdomen los TMs. Finalmente fueron tratados con solución salina diluida al 80%. Se registraron, bajo microscopio estereoscópico, las contracciones de la aorta en cada tratamiento a los 5, 15, 30 y 45 minutos luego de cada procedimiento. Los datos se analizaron mediante ANOVA multifactorial. La frecuencia de contracción de la aorta aumentó significativamente en ambos grupos de insectos como respuesta al cambio osmótico, lo que sugiere que las células de los TMs reaccionarían secretando mensajeros que controlan la actividad contráctil por vía endocrina. Recientemente hemos demostrado que las proteínas mecano-sensibles Piezo están implicadas en la modulación de la actividad del VD en condiciones de reposo. Esta familia de proteínas podría ser responsable de la secreción de AT desde los TMs durante la diuresis posprandial, cuando la hemolinfa está altamente diluida. Estos datos corresponden a una serie de experimentos en desarrollo, e indicarían la existencia de un control endocrino sobre la musculatura visceral del vaso dorsal por parte de los TMs.

VETEC.8

INTERACCIÓN ENTRE MENSAJEROS QUÍMICOS EN LA DESCARGA DE CNIDOCISTOS EN *Hydra sp.*

Gavazzi MV[1,2], Ronderos JR[1], Alzugaray ME[1,2]
[1]Cátedra de Histología y Embriología Animal (FCNyM, UNLP), [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y técnicas (CONICET).
E-mail: mvgavazzi@gmail.com

El sistema de serotonina (5-HT) es un sistema de comunicación ancestral ampliamente distribuido en la naturaleza. Su rol en diferentes grupos de invertebrados ha sido estudiado, demostrándose su participación en la modulación de la alimentación, la locomoción, los ritmos circadianos, etc. Respecto a cnidarios, su función no está aún esclarecida. Experimentos realizados en nuestro laboratorio, sugieren que serotonina posee funciones mioregulatorias relacionadas a la extrusión del hipostoma (estructura que contiene la boca en *Hydra*). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la participación de 5-HT en el mecanismo de descarga de los desmonemes (cnidocistos que participan en la captura de la presa) en *Hydra*

sp. (Cnidaria: Hydrozoa), y sus vías de señalización. Analizamos además la posible interacción entre este mensajero químico y Allatostatina-C (AST-C), un neuropéptido que demostró ser inhibidor del comportamiento alimentario en *Hydra*. Para estudiar el efecto de 5-HT sobre la descarga de desmonemes se llevó a cabo una curva dosis-respuesta. A fin de dilucidar las vías de transducción, se analizó la relevancia de Ca^{2+}, mediante el uso de los quelantes BAPTA/AM y EDTA. Además, realizamos experimentos utilizando inhibidores y bloqueantes de proteínas involucradas en vías de señalización de GPCRs (SCH202676-hydrobromide (SCH), Melitina, Xetospongina C y U73122). En lo que respecta a la interacción entre 5-HT y AST-C, un grupo de hidroides previamente tratado con AST-C, se incubó simultáneamente con los dos compuestos. Con el fin de comparar los resultados obtenidos con la respuesta desencadenada por un estímulo natural, un segundo grupo fue expuesto a Glutatión reducido (GSH) y AST-C. En todos los casos se contabilizó bajo el microscopio el número de desmonemes descargados. Las diferencias entre tratamientos se analizaron por ANOVA de una vía, y para las comparaciones post-hoc se utilizó el método LSD ($p \leq 0.05$). Los resultados mostraron que concentraciones de 5-HT ≥ a 10^{-12}M incrementaron la descarga de desmonemes. Respecto del Ca^{2+}, los resultados obtenidos con ambos quelantes sugieren que la vía de 5-HT depende de un incremento del Ca^{2+} citosólico y requiere de fuentes extracelulares. Los experimentos con inhibidores/bloqueantes de vías de señalización muestran que 5-HT se uniría a un receptor de tipo GPCR, acoplado a una proteína Gq, produciendo la salida de Ca^{2+} desde el retículo endoplásmico mediante la activación de fosfolipasa C. En ambos casos, las hidras expuestas a 5-HT o GSH junto a AST-C descargaron una cantidad significativamente menor de desmonemes, lo que sugiere una regulación por parte del neuropéptido de la respuesta desencadenada por 5-HT o por el alimento. Finalmente, la evidencia presentada en conjunto con trabajos previos del laboratorio sugiere que 5-HT está asociado a la descarga de cnidocistos e involucrada en el comportamiento alimenticio de *Hydra* sp.

VETEC.9

VARIACIÓN ANUAL DE VALORES SEMINALES EN BOVINOS PERTENECIENTES A UN CENTRO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Migliorisi AL[1], Madoz, LV[1,2], Giuliodori MJ[2], Acosta J[3], Monti JI[3], Molina J[3], Ruveda, AJ[3], de la Sota RL[1,2], Stornelli MA[1]

[1]Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal (INIRA), Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), [3]CIAVT, Venado Tuerto, Santa Fe; Argentina.

E-mail: lmiglio@fcv.unlp.edu.ar

Si bien el bovino no presenta producción espermática estacional, se ha observado que existen variaciones de calidad seminal a lo largo del año. Este hecho impacta en la producción de los establecimientos productores de semen bovino.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la variación de los parámetros seminales en relación con las estaciones del año, en toros cruza *(Bos taurus x Bos indicus)* pertenecientes a un centro comercial de inseminación artificial. El mismo se encuentra localizado al sur de la provincia de Santa Fe y cuenta con un clima templado húmedo con 4 estaciones bien diferenciadas.

Se evaluaron muestras seminales de 14 toros adultos de entre 3 y 6 años, que forman parte del plantel reproductor del establecimiento bajo un régimen regular de extracción seminal. Las muestras seminales estudiadas se recolectaron una vez al mes durante un año por medio de vagina artificial, obteniéndose un total de 202 eyaculados. A cada muestra se le realizó la evaluación de la motilidad progresiva (MP) de los espermatozoides por el sistema CASA (Androvision®) y la integridad de membrana, tanto por el test hipoosmótico (HOS % de colas enrolladas), como por medio de frotis de tinción vital de eosina/nigrosina (VIV).
Se evaluó el efecto de la estación (otoño [OT], invierno [INV], primavera [PRIM], verano [VER]) sobre la chance de MP, HOS y VIV con un modelo de regresión logística usando Proc Glimmix de SAS® con distribución binomial y enlace logit.
Se comparó OT, VER, PRIM vs INV. Se observó efecto de la estación sobre los tres parámetros evaluados ($p<.0001$). Los resultados se expresan con el siguiente formato; (OR e [IC95%]). Los tres parámetros evaluados fueron más bajos enVER y en OT. VER;MP (0,66 [0,60-0,72]), HOS (0,46 [0,42-0,52]) y VIV (0,58 [0,52-0,65]), y OT; MP (0,73 [0,68-0,80]), HOS (0,53 [0,47-0,59]) y VIV (0,75 [0,67-0,84]), respectivamente. En cambio, para la PRIM, los parámetros de HOS y VIV fueron superiores y los de MP no presentaron diferencias en relación con el INV. Los resultados para la PRIM fueron; HOS (1,41 [1,23-1,60]) y VIV (1,85 [1,62-2,11]).
Tanto la integridad de membrana como la motilidad progresiva disminuyó significativamente durante los meses de VER y OT. Los valores de integridad de membrana para los meses de PRIM fueron significativamente superiores en comparación con el resto de las estaciones. Nuestros resultadosmuestran que la calidad espermática se encuentra afectada por la estación del año.

VETEC.10

MECANORRECEPCIÓN Y PROTEÍNAS PIEZO EN *Hydra sp.*

Alzugaray ME[1,2], Gavazzi, MV[1,2], Griffo L[2], Adriani MA[2], Ronderos JR[2]
[1]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), [2]Catedra de Histología y Embriología Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP.
E-mail: meugealzu@fcnym.unlp.edu.ar

Todas las células se encuentran sometidas a estímulos procedentes del medio que las rodea. Entre ellos, los estímulos mecánicos como cambios osmóticos, fuerzas de compresión o estiramiento, son censados por sistemas mecanorreceptores (MR), los que desencadenan diferentes respuestas para responder a dichos estímulos y mantener la homeostasis. Las proteínas Piezo recientemente descubiertas, son canales mecano-sensibles (MS) que se abren ante cambios mecánicos de la membrana plasmática, causando la entrada de cationes a la célula (principalmente Ca^{2+}). Estos canales MS se encuentran en todos los metazoos, desempeñando funciones en los diferentes sistemas fisiológicos. *Hydra sp.* (Cnidaria: Hydrozoa) es un cnidario de agua dulce en el cual, si bien se ha documentado la presencia de estos canales, aún se desconoce su rol fisiológico. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los roles de canales MS Piezo en *Hydra sp*, analizando diferentes aspectos de su fisiología. Para ello, analizamos el efecto sobre la actividad contráctil y la descarga de cnidocistos de diferentes dosis de un agonista especifico de MS Piezo, Jedi1 (Sigma Aldrich) en individuos ayunados. También se ensayó el efecto de Jedi1 en presencia de un inhibidor

inespecífico de canales MS, $GdCl_3$. Por último, comparamos el efecto generado por Jedi1, con el desencadenado por estímulos mecánicos naturales, como los generados por cambios osmóticos del medio de cultivo, o la presencia de compuestos derivados de la presa (GSH) en la descarga de cnidocistos. Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento con Jedi1 generó un aumento significativo de la actividad contráctil respecto de los individuos control (incubados en solución fisiológica). Específicamente, observamos un aumento significativo en el número y la intensidad de retracciones corporales completas (*contraction bursts*) que llevan al hidroide a presentar forma casi esférica con los tentáculos también contraídos. Estos cambios fueron dependientes de la dosis de Jedi1 y similares a los observados cuando *Hydra* es estimulada mecánicamente (táctil) o ante cambios osmóticos del medio. Respecto de la descarga de cnidocistos, Jedi1 también causó un aumento significativo y equivalente al observado en presencia de un estímulo natural (GSH). Por otra parte, los efectos de Jedi1 sobre la actividad contráctil y la descarga de cnidocistos, no fueron evidentes en presencia de $GdCl_3$. Finalmente, al someter a individuos de *Hydra* a condiciones asociadas a estímulos mecánicos (i.e. cambios en osmolaridad del medio) se observó un comportamiento similar al generado por Jedi1 con aumento de la actividad contráctil, que también fue inhibido por GdCl3. Los resultados confirman la existencia de proteínas Piezo en *Hydra sp*. Interesantemente, este trabajo representa el primer reporte sobre la relevancia fisiológica de estos canales MS en cnidarios, mostrando su participación en los sistemas de señalización que regulan la actividad contráctil ante estrés mecánico y osmótico y la descarga de cnidocistos en *Hydra sp*.

MIÉRCOLES 4 DE DICIEMBRE

ENDOCRINOLOGÍA Y METABOLISMO (EDMET)

AULA DR. CHARREAU (3° PISO) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Sandra Zárate y Dra. Marina Fernández

EDMET.1

LA METFORMINA COMO INTERVENCIÓN TEMPRANA MEJORA EL ESTADO OXIDATIVO EN TESTÍCULOS DE RATONES UM-HET3 ADULTOS DE MEDIANA EDAD ALIMENTADOS CON UNA DIETA RICA EN GRASAS

Cavallotti Gomez A[1], Matzkin ME[1,2], Zhu Y[3], Miquet JG[4], Calandra RS[1], Bartke A[3], Yuan R[3], Frungieri MB[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Buenos Aires, Argentina, [2]Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina, [3]Department of Internal Medicine, Southern Illinois University School of Medicine, Springfield, Illinois, USA. [4]Departamento de Química Biológica, Facultad de Farmacia y Bioquímica e Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas (IQUIFIB), UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: a.cavallotti@ibyme.org.ar

La MET (MET) es utilizada desde hace 60 años como un fármaco antidiabético oral. Sin embargo, los efectos de la MET en el testículo son aún controvertidos y contradictorios. La literatura sugiere que intervenciones tempranas en la vida (ELIs) tendrían efectos a largo plazo

en el envejecimiento. Los ratones UM-HET3 son una población establecida y genéticamente diversa. Su empleo en estudios de envejecimiento representa un modelo más realista de la población humana ya que limita la ocurrencia de efectos cepa-específicos. Este estudio se centró en investigar los efectos de la MET como ELI en testículos de ratones machos UM-HET3 alimentados con una dieta rica en grasas (HFD, 60 Kcal% de grasa comúnmente utilizada para inducir obesidad en roedores) durante 9 meses, comenzando al final del tratamiento con MET. Diariamente, se administró (i.p) solución salina (control) o MET (200 mg/kg/día), durante 40 días, comenzando a los 15 días de edad. Se analizaron también ratones UM-HET3 de 2 y 11 meses alimentados con una dieta estándar (SD). En ratones alimentados con SD, los pesos corporal (PC) y testicular (PT) no fueron alterados por la edad. En cambio, el índice gonadosomático y la glucemia fueron más bajos en los ratones de 11 meses. La peroxidación lipídica (TBARS) no mostró cambios con la edad, mientras que la expresión de catalasa (inmunoblotting) fue significativamente mayor y la actividad de catalasa mostró un aumento no estadísticamente significativo. A los 6-8 meses, la HFD afectó la tolerancia a la glucosa, y la MET como ELI aumentó la glucemia. Ratones de 11 meses alimentados con HFD mostraron una tendencia hacia niveles más altos de glucosa en sangre, un aumento del PC, un PT sin cambios, un índice gonadosomático disminuido, una mayor peroxidación lipídica y una disminución en la expresión/actividad de catalasa. En aquellos ratones que recibieron MET como ELI, no se observaron cambios en el PC, el PT, el índice gonadosomático o la glucemia, pero el estado oxidativo testicular mejoró (disminución de TBARS y aumento de catalasa) aboliendo, parcial o totalmente, los cambios asociados a HFD. En resumen la MET como ELI produce un efecto beneficioso sobre el estado oxidativo testicular en ratones de mediana edad alimentados con HFD. No obstante, la extrapolación de estos resultados al humano requiere, a futuro, de nuevas investigaciones.

EDMET.2

PARTICIPACIÓN DE MENINA, p27 y pAKT EN EL DESARROLLO DE UN PROLACTINOMA. DIFERENCIAS SEXUALES

Peña-Zanoni M, Bornancini DM, Mattaloni B, Segobia V, Rulli S, Díaz-Torga G.
Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: milagros.pena.zanoni@gmail.com

Menina es una proteína clave para la regulación del ciclo celular y proliferación en hipófisis. Presenta un rol importante en la función lactotropa por su capacidad de regular *p27^{Kip1}* y la vía de señalización de AKT. En este trabajo hicimos foco en el impacto de menina en la función lactotropa y el desarrollo de un prolactinoma empleando dos modelos animales de prolactinoma. Un modelo se caracteriza por sobreexpresar la subunidad β de la hormona gonadotrópica coriónica humana (hCGβ+) y otro por ser *knock-out* para el receptor de dopamina tipo 2 (Drd2KO). En ambos modelos murinos, sólo las hembras desarrollan hiperplasia de lactotropos e hiperprolactinemia a partir de los tres meses de edad. Se utilizó la técnica de Real Time PCR para el análisis de expresión génica y doble inmunofluorescencia para el análisis de expresión de proteínas de interés específicamente en lactotropos (colocalización).
En el modelo murino hCGβ+, observamos mayores niveles de expresión del gen *MEN1* en hipófisis de machos que de hembras, sin diferencias genotípicas. En ambos modelos, no se

detectaron diferencias entre sexos o genotipos en el porcentaje de lactotropos menina+, pero se encontraron importantes cambios en la localización subcelular de menina. En lactotropos de machos y hembras WT menina se encuentra tanto en citoplasma como en núcleo. Sin embargo, en hembras transgénicas de ambos modelos murinos (prolactinomas) se pierde la expresión nuclear y menina sólo se encuentra expresada en citoplasma. La falta de menina nuclear correlaciona con una disminución del porcentaje de lactotropos p27+, acompañado de un incremento en los niveles de expresión de pAKT y un menor nivel de expresión de *PTEN* en las hipófisis tumorales de ambos modelos comparado con las hembras WT. Por el contrario, en hipófisis de machos de ambos modelos no se encontraron cambios significativos entre genotipos en la localización intracelular de menina, en la expresión de *p27*, ni en el porcentaje de lactotropos p27+. Además, presentaron baja expresión citoplasmática de pAKT y aumentados niveles de *PTEN*, comparado con las hipófisis de hembras WT.
Concluimos que la pérdida de menina nuclear en lactotropos de hembras transgénicas y la menor expresión de *PTEN*, contribuyen a la disminución de la expresión de p27 y a los niveles elevados de pAKT respectivamente, favoreciendo el desarrollo de un prolactinoma. Por otro lado, la expresión estable de menina nuclear y los elevados niveles de *PTEN* observados en hipófisis de machos contribuyen al control de la proliferación de lactotropos en este sexo, evitando el desarrollo de un prolactinoma, independientemente del genotipo.

EDMET.3

LA PROINSULINA INCREMENTA SU LOCALIZACIÓN EN VESÍCULAS AUTOFÁGICAS EN LAS CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS EN EL RATÓN *KNOCKOUT* PARA EL RECEPTOR D2 DE DOPAMINA (DRD2$^{-/-}$)

Méndez García LF, Robles TB, Ornstein AM, Becu-Villalobos D, Sorianello E
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
E-mail: esorianel@gmail.com

El receptor de dopamina D2 (D2R) desempeña funciones endocrinas y metabólicas, y en el páncreas regula la secreción de la insulina, lo cual le otorga un papel esencial en la homeostasis de la glucosa. Por otra parte, la autofagia es un mecanismo de degradación lisosomal clave para el funcionamiento de las células beta pancreáticas. La rápida eliminación de una gran cantidad del precursor de la insulina después de la traducción se consigue principalmente a través del proceso de autofagia. Resultados preliminares de nuestro laboratorio evidencian que ratones macho *knockout* para el D2R (Drd2$^{-/-}$) de 7 meses de edad presentan intolerancia a la glucosa y una secreción de insulina disminuida en comparación con los ratones controles wild type (WT). Asimismo, muestran un menor contenido de insulina pancreática y recientemente demostramos un flujo autofágico incrementado en los islotes pancreáticos en comparación a los WT. Dado que el D2R regula la autofagia en diversos tejidos, fue de nuestro interés evaluar el papel de la autofagia en la regulación de los niveles y localización intracelular de la proinsulina (proINS) en células de islotes pancreáticos de animales Drd2$^{-/-}$ mediante ensayos de inmunofluorescencia y microscopía confocal. Los ratones Drd2$^{-/-}$ de 7-8 meses de edad no mostraron diferencias significativas en el número de *puncta* de proINS por célula en relación a los WT (t-test, p=0,15). Sin embargo, los ratones mutantes evidenciaron un mayor número de *puncta* de proINS colocalizando con el marcador de vesículas autofágicas LC3 (t-test, p=0,002) así como una tendencia a mayor porcentaje de

puncta de proINS colocalizando con LC3 (t-test, p=0,086). Estos hallazgos indican una mayor localización de la proINS en vesículas autofágicas y sugieren un incremento en su degradación por autofagia en los ratones Drd2$^{-/-}$, lo que disminuiría su residencia en la vía secretora y su conversión a insulina, trayendo como consecuencia una menor secreción en respuesta a la glucosa. Estudios preliminares no evidencian diferencias significativas en el número de *puncta* de Lamp2, marcador de vesículas ácidas (lisosomas, autolisosomas) entre genotipos (t-test, p=0,1). Actualmente estamos realizando estudios de colocalización de la proINS con Lamp2, para dilucidar el avance del precursor de la insulina a lo largo de la vía autofágica. En conclusión, el D2R es necesario para la regulación del precursor de la insulina, la proINS, en parte a través de la modulación del proceso de autofagia, siendo así esencial para una correcta síntesis y secreción de la insulina, y permitir un óptimo control glucémico. Este trabajo fue financiado por CONICET, ANPCyT, Fundación René Barón, Fundación Williams y Fundación Bigand.

EDMET.4

DESARROLLO DE UN MODELO MURINO DE DOBLE CARGA DE MALNUTRICIÓN PARA ESTUDIAR LOS EFECTOS A LARGO PLAZO EN EL COMPORTAMIENTO Y EL METABOLISMO

Barrios C[1], Calles Y[1], Depino A[1,2], Elia E[1,2]
[1]Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-UBA-CONICET),
[2]Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), Universidad de Buenos Aires (UBA).
E-mail: evelinmariel@gmail.com

La malnutrición, que comprende tanto la desnutrición como el sobrepeso y la obesidad, se ha convertido en una preocupación global creciente debido a su gran impacto en la salud pública. En los últimos años, se ha observado un nuevo fenómeno, especialmente en los países en desarrollo: la “doble carga de malnutrición” (DCM). La DCM consiste en que los niños sufren desnutrición durante sus primeras etapas de desarrollo, seguida de sobrepeso/obesidad en etapas posteriores de la vida. La falta de modelos animales para estudiar este fenómeno limita la capacidad para desarrollar estrategias efectivas para abordarla y mejorar la salud de las personas afectadas. La hipótesis de este trabajo es que individuos expuestos a la DCM presentan alteraciones metabólicas y en los comportamientos de tipo depresivo y ansioso exacerbadas respecto de las causadas por la desnutrición y la obesidad por separado.
En este trabajo intentamos generar un modelo de DCM en ratones hembra, induciendo desnutrición seguida de obesidad. La desnutrición fue inducida al separar a crías de sus madres durante algunas horas desde el día postnatal (P) 5 hasta P21, mientras que se indujo obesidad por administración de dieta de cafetería (CAF) desde P21 hasta la adultez. Se registró el peso de los animales a lo largo de todo el trabajo, y se evaluaron en la adultez conductas de tipo ansiosas y depresivas. Posteriormente se registró el peso del tejido adiposo abdominal y se realizó la caracterización metabólica de los animales. La separación materna (SM) causó desnutrición en los animales, reflejada en una menor ganancia de peso durante la lactancia que se mantuvo en la adultez. CAF provocó obesidad, evidenciada por el aumento de peso en todos los animales, independientemente de la SM. Aquellos sometidos a ambos protocolos desarrollaron la DCM, mostrando, además un aumento significativo en los niveles

séricos de triglicéridos y mayor masa adiposa abdominal en comparación con los animales que solo experimentaron SM o CAF. Esto demuestra que la DCM tiene un mayor impacto en la distribución de grasa abdominal y en la trigliceridemia que la desnutrición o la obesidad por separado. No encontramos diferencias en los comportamientos relacionados con la ansiedad y la depresión. Será necesaria una mayor caracterización del comportamiento, el metabolismo y la función endocrina para identificar los efectos a largo plazo de la DCM. Sin embargo, El modelo animal desarrollado en este trabajo de tesis ofrece una herramienta valiosa para futuras investigaciones en este campo.

EDMET.5

CARACTERIZACIÓN DE LOS RECEPTORES DE ADENOSINA EN HIPÓFISIS NORMALES Y EN PROLACTINOMAS DE RATÓN.

Bornancini D, Segobia V, Peña-Zanoni M, Diaz-Torga G.
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME – CONICET).
E-mail: dana.bornan@gmail.com

Los prolactinomas son los adenomas hipofisarios más frecuentes y habitualmente tratados con agonistas dopaminérgicos que inhiben las funciones del lactotropo a través del receptor de dopamina de tipo 2 (D2R). Sin embargo, un 20% de los pacientes desarrollan resistencia a este tratamiento, y deben ser sometidos a cirugías intracraneales o transepto-esfenoidales para la extirpación del adenoma. Los mecanismos moleculares por los que se evade la inhibición dopaminérgica no se encuentran del todo descriptos. El D2R pertenece a la familia de receptores de membrana acoplados a proteína G (GPCR). Estos receptores tienen la capacidad de heterodimerizar, formando complejos que pueden alterar la señalización de los receptores involucrados. Se ha demostrado que los niveles de adenosina y sus receptores se encuentran elevados en diversos tumores. Existen cuatro tipos de receptores de adenosina: A1, A2a, A2b y A3, todos ellos se expresan en lactotropos. La activación del A1 y el A3 inhiben la síntesis y secreción de PRL mientras que la activación de A2a o A2b la estimulan. Ha sido descripto que, frente a la heterodimerización D2R-A2aR en regiones del cerebro, predomina la señalización del A2a y se bloquea la respuesta del D2R. Postulamos que la dimerización de D2R con otros GPCRs puede ser una de las causas de resistencia a agonistas dopaminérgicos. En una primera instancia nos propusimos caracterizar la expresión génica y proteica de los receptores de adenosina en hipófisis WT y prolactinomas derivadas de ratones C57 que tienen knockeado el receptor D2. En este modelo D2RKO sólo las hembras transgénicas desarrollan prolactinomas. La expresión génica de los receptores fue analizada por RTqPCR y la expresión proteica por doble inmunofluorescencia para estudiar la expresión del receptor A1R y A2a específicamente en lactotropos. Las hipófisis de machos mostraron mayores niveles de expresión génica de los receptores de adenosina de tipo 1 (*Adora1*) y tipo 2 (*Adora2a*). Eso podría deberse a los menores niveles circulantes de estrógenos en este sexo, ya que luego demostramos, por ensayos agudos *in vivo*, que el estradiol regula negativamente la expresión génica hipofisaria de *Adora1* y *Adora2a.* Por otro lado, en animales D2RKO de ambos sexos los niveles de expresión génica de *Adora1* fueron menores a los encontrados en hipófisis WT. Sin embargo, la expresión génica de *Adora2a* no mostró diferencias significativas entre genotipos. Por ensayos *in vivo*, con tratamientos agudos con agonistas o antagonistas dopaminérgicos, corroboramos que existe una regulación positiva

por dopamina sobre la expresión génica hipofisaria de *Adora1* en machos, pero sin efecto en las hembras. Estudios preliminares de expresión proteica muestran que la expresión de A1R y A2aR en lactotropos (colocalización con PRL), tiende a disminuir en hembras KO respecto a las WT. Concluimos que existen diferencias sexuales en la regulación de la expresión génica de los receptores de adenosina en hipófisis, que los mismos se encuentran bajo regulación estrogénica y dopaminérgica y que además la expresión génica y proteica de estos receptores se encuentra alterada en animales transgénicos frente a la pérdida de control dopaminérgico.

EDMET.6

LIRAGLUTIDA Y BARRERA HEMATO- TESTICULAR: EFECTO DEL TRATAMIENTO EN RATAS JÓVENES Y SU IMPACTO EN LA ADULTEZ

Dasso ME[1], Centola CL[1], Tabares FN[1], Sobarzo C[2], Ballerini MG[1], Galardo MN[1], Meroni SB[1], Riera MF[1]

[1]Centro de Investigaciones Endocrinológicas "César Bergadá" (CEDIE)-CONICET/FEI/División de Endocrinología, Hospital de Niños "Ricardo Gutiérrez", [2]Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires (UBA).

E-mail: mdasso@cedie.org.ar

Liraglutida (Lira) es un fármaco perteneciente a la familia de los agonistas del receptor de GLP-1. Es utilizado tanto para el tratamiento de la obesidad como de la Diabetes Mellitus tipo 2. Recientemente, Lira fue aprobado para tratar la obesidad en niños a partir de los 12 años. La bibliografía con respecto al impacto de este medicamento sobre la función testicular es escasa. Una de las estructuras mas relevantes del testiculo es la la barrera-hemato testicular (BHT), que aísla las células germinales en desarrollo en el compartimiento adluminal. Se ha demostrado que la integridad de esta barrera puede verse afectada por distintos tóxicos o fármacos. Es por ello, que nos propusimos evaluar el efecto de Lira sobre el establecimiento de la BHT que ocurre en la etapa juvenil y, luego, analizar su impacto en la etapa adulta. El diseño experimental consistió en dos grupos de ratas macho de 20 días de edad, uno tratado con una dosis diaria subcutánea de Lira de 0,2mg/kg (Lira) y el otro con solución fisiológica (Control). La administración se continuó hasta el día 33, periodo en el cual se establece la BHT. Al día 34 se evaluó la permeabilidad de la BHT y la apoptosis tubular. También se determinaron los niveles de expresión de distintas proteínas que componen la barrera y de receptores de andrógenos mediante RT-qPCR. Otro grupo de animales se los dejo crecer hasta el día 90 y se analizó la permeabilidad de la BHT, los estadíos del ciclo espermatogénico y la producción diaria de esperma. Los resultados obtenidos a los 34 días, muestran un mayor porcentaje de túbulos permeados (5,5±1,4; 11,9±3,3*; n=8; *$p<0.05$) así como de túbulos con células apoptóticas en los animales del grupo Lira (5,5±2,1; 12,7±4,7* vs. Control; n=6 *$p<0.05$). Sin embargo, no se evidenciaron diferencias en los niveles de expresión de proteínas que conforman las uniones de la BHT como ZO-1, Conexina 43 ni Ocludina. Tampoco se observaron cambios en los niveles de testosterona intratesticular ni en la expresión del receptor de andrógenos. En los animales de 90 días no se observó diferencia en la permeabilidad de la BHT entre los grupos. Además, en esta etapa adulta, la morfología del testículo estaba conservada y no se hallaron cambios cuando se analizaron los diferentes

estadíos del ciclo espermatogénico. Asimismo, la produccion diaria de esperma no fue alterada por el tratemiento juvenil con Lira. Acorde a los resultados obtenidos, se puede concluir que el tratamiento con Lira durante el periodo juvenil afecta la permeabilidad de la BHT. Sin embargo, los resultados obtenidos en la etapa adulta sugieren que dicho efecto es reversible y no afectaría la capacidad espermatogénica.

EDMET.7

EFECTOS REPRODUCTIVOS DEL TRATAMIENTO MATERNO CON METFORMINA EN CRÍAS HEMBRAS DE RATONES

Velazquez C[1], Herrero Y[1], Bordaquievich M[1], Neira M[1], Parborell F[1], Abramovich D[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET).
Vuelta de Obligado 2490 – CABA
E-mail: cande89velazquez@gmail.com

Metformina es un fármaco hipoglucemiante ampliamente utilizado para tratar la diabetes tipo 2. Sin embargo, se han reportado efectos de esta droga a nivel reproductivo, entre otros. Dado que es capaz de atravesar la placenta, su uso durante el embarazo es controvertido. La mayoría de los estudios se centran en las consecuencias metabólicas en la descendencia de mujeres tratadas con metformina, pero carecen de información sobre los efectos reproductivos debidos a la exposición durante el desarrollo. Nuestra hipótesis fue que la exposición a metformina durante la gestación y lactancia afecta la fertilidad y la función ovárica de la descendencia, además del metabolismo. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar las alteraciones ováricas y la fertilidad en la descendencia femenina de madres tratadas con metformina. Para hacerlo, trabajamos con ratones C57BL/6. Las madres fueron tratadas con metformina cuatro semanas antes del apareamiento, y el tratamiento se mantuvo durante toda la gestación y la lactancia. Después del destete, durante siete semanas, las crías hembra fueron pesadas semanalmente, y luego se las separó en dos subgrupos. En el primero, los animales fueron ciclados por 14 días y sacrificados, aislando el tejido adiposo, la sangre y los ovarios para realizar luego técnicas de inmunohistoquímica y western blot. En el segundo, las hembras fueron apareadas con machos de fertilidad comprobada y se analizaron distintos parámetros para estudiar la fertilidad natural. Observamos que la descendencia de madres tratadas con metformina tenía un peso menor al nacer, pero presentaba más tejido adiposo gonadal que los animales no expuestos a la droga en la adultez. El desarrollo folicular y la expresión de la hormona antimülleriana estaban alterados, al igual que la angiogénesis ovárica. Sin embargo, el ciclo estral, la producción hormonal y la fertilidad no se vieron afectados por la exposición a la metformina durante el desarrollo. Además, la segunda generación de madres tratadas con la droga, mostró un mayor peso corporal al momento del nacimiento. Concluimos que el tratamiento con metformina durante la gestación y la lactancia afecta a la descendencia en la edad adulta, teniendo consecuencias incluso en una segunda generación. Se observan alteraciones tanto en parámetros metabólicos como en otros relacionados con la funcionalidad ovárica, sin afectar la fertilidad de los animales. Dado que el embarazo y la lactancia son periodos críticos, capaces de afectar a la descendencia, se necesitan más estudios para decidir sobre la administración de metformina en mujeres que se encuentran atravesando un embarazo.

EDMET.8

EL OLIGONUCLEÓTIDO IMT504 MEJORA EL ESTADO METABÓLICO DE RATONES ALIMENTADOS CON UNA DIETA ALTA EN GRASAS

Converti A[1], Riaño Gómez JM[1], Alcaraz Clouet TJ[1], Bonaventura MM[2], Bianchi MS[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), [2]Universidad Nacional de San Martín.
E-mail: s.bianchi@ibyme.org.ar

La diabetes tipo 2 (DT2) es una enfermedad metabólica compleja, altamente asociada a obesidad. La obesidad y la diabetes están vinculadas a un proceso inflamatorio leve crónico de varios tejidos metabólicos que está involucrado en el establecimiento de la resistencia a insulina (IR). Hemos demostrado que el oligonucleótido inmunomodulador IMT504 (IMT) restablece el control de la glucemia, disminuye la ingesta de comida y el peso corporal en ratones con un modelo de DT2 inducido por una dieta alta en grasas. En este trabajo evaluamos los mecanismos por los cuales el IMT mejora el estado metabólico en este modelo. Ratones machos C57BL/6LP fueron alimentados con una dieta estándar (SD) o una dieta alta en grasas (HFD: ResearchDiet D12492) durante 12 semanas. Los animales HFD mostraron glucemias postprandiales y pesos corporales más elevados. Ratones SD recibieron una dosis diaria de IMT durante 16 días consecutivos (SD-IMT: 6mg/kg, sc) o salina (SD-sal). Ratones HFD recibieron una dosis diaria de IMT durante 16 días consecutivos (HFD-IMT: 6mg/kg, sc), un oligonucleótido control polyC (HFD-PolyC: 6mg/kg, sc) o salina (HFD-sal). Al día 10, se realizó el test de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (ipGTT) y el test de secreción de insulina (IST). Al día 16, luego de 3 horas de ayuno, se midió la glucemia, los ratones fueron sacrificados y se recolectaron muestras de sangre, tejido adiposo gonadal (WAT) e hígado. Se analizaron los niveles de insulina sérica (mediante ELISA), resistencia a insulina (HOMA-IR), la funcionalidad de las células beta (HOMA β-cell), los niveles circulantes de leptina (ELISA) y citoquinas (ELISA). El IMT indujo una mejora significativa en la secreción de insulina frente a una sobrecarga de glucosa [IST: ANOVA: SD-sal, SD-IMT y HFD-IMT distinto de HFD-Sal y HFD-PolyC, $p<0.005$]. La hiperinsulinemia y las alteraciones en los índices HOMA β-cell, HOMA-IR y QUICKI, en los ratones HFD, fueron revertidas por el IMT, pero no con polyC [ANOVA, $p<0.05$ o menos para todos]. Los niveles elevados de leptina sérica fueron disminuidos parcialmente solo por IMT en los animales HFD [ANOVA, $p<0.05$, SD-sal y SD-IMT distinto de HFD-sal y HFD-PolyC: $p<0.05$]. Además, los niveles de las citoquinas proinflamatorias TNF-α e IL-1β más altos en el WAT de ratones HFD respecto de los SD fueron disminuidos parcialmente sólo por el IMT [ANOVA, $p<0.05$, SD-sal y SD-IMT diferente de HFD-sal y HFD-PolyC: $p<0.05$, para ambas]. No se observaron diferencias en estas citoquinas en el hígado entre los tratamientos. Estos resultados demuestran que el IMT mejora el estado metabólico de ratones con DT2 disminuyendo la hiperinsulinemia, la IR, los niveles de leptina sérica y de citoquinas proinflamatorias en WAT. Fondos: CONICET, ANPCYT, Sidus Arg, F. R Barón, F. Williams, H. Bigand.

JUEVES 5 DE DICIEMBRE

BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 1 (REP-2)

AULA BIBLIOTECA (PB) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Guillermina Luque y Dra. Dalhia Abramovich

REP-2.1

EFECTO DE LOS SUSTRATOS ENERGÉTICOS EN LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA MURINA Y SU IMPLICANCIA EN EL ESTADO OXIDATIVO Y LA FECUNDACIÓN

Herzfeld JD, Gonzalez LN, Matzkin ME, Cuasnicú PS, Cohen DJ, Da Ros VG
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
E-mail: j.herzfeld@ibyme.org.ar

Los espermatozoides de mamíferos deben sufrir cambios funcionales y estructurales para adquirir la capacidad de fecundar al ovocito. Dicho proceso, denominado capacitación, ocurre durante el tránsito de los mismos por el tracto reproductor femenino y requiere un suministro eficiente de energía. Dado que, en el ratón, dicho tracto contiene glucosa (G), piruvato (P) y lactato (L), la mayoría de los medios de capacitación in vitro incluyen estos sustratos energéticos. Consistentemente, observamos que la activación tanto de la glucólisis como de la fosforilación oxidativa, a partir de estos sustratos, es requerida para la adquisición de la capacidad fecundante de los espermatozoides murinos. En este trabajo profundizamos el estudio del efecto de los diferentes sustratos energéticos en el estado oxidativo espermático y su implicancia para la funcionalidad de dichas células. En primer lugar, evaluamos los niveles de las especies reactivas del oxígeno (ROS) al incubar los espermatozoides en presencia de diferentes combinaciones de sustratos durante la capacitación. Observamos que los espermatozoides incubados en un medio con G y sin P y L presentaban un aumento de los niveles de ROS en relación al control y al resto de las combinaciones estudiadas ($p<0,05$). Al evaluar si dichos niveles aumentados de ROS repercutían en la integridad del ADN espermático, detectamos un aumento en la fragmentación del ADN ($p<0,0001$). Por otro lado, evaluamos el contenido de ATP, sin observar cambios en dicho parámetro ($p>0,05$). Para determinar si los daños oxidativos observados influían en la capacidad fecundante de los espermatozoides incubados con sólo G, realizamos ensayos de fertilización in vitro a tiempos cortos, lo cual representa una condición desafiante para el espermatozoide. Efectivamente, esta población de espermatozoides presentó un retraso en la fecundación con respecto al control ($p<0,001$). Ensayos posteriores de fusión de gametas mostraron que no había diferencias entre ambas condiciones ($p>0,05$), sugiriendo que los espermatozoides incubados con G y sin P y L presentan dificultades en la penetración de la zona pellucida. En conjunto, la utilización de distintos sustratos energéticos exógenos impacta diferencialmente en la funcionalidad espermática, abriendo la posibilidad de que otros sustratos energéticos endógenos cumplan un rol. A su vez, el daño oxidativo observado en los espermatozoides podría repercutir en la performance futura de los embriones generados en estas condiciones.

REP-2.2

LA DISLIPIDEMIA AFECTA EL PROTEOMA DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES DEL FLUIDO FOLICULAR

Suqueli García MF[1], Ríos GL[2], Cabezas J[3], Caamaño D[3], Pené AI[4], Elena A[4], Rodríguez-Álvarez L[3], Buschiazzo J[2]
[1]Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, [2]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (CONICET-INTA). [3]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chile, [4]Centro de Reproducción y Genética Humana (CRECER).
E-mail: suqueligarcia.mf@inta.gob.ar

Las dislipidemias son alteraciones del perfil lipídico plasmático con alta prevalencia en Argentina. Previamente, hemos informado que la dislipidemia afecta negativamente la maduración ovocitaria e influye en el perfil lipídico del fluido folicular (FF) de manera compatible con una “dislipidemia intrafolicular”. Las vesículas extracelulares (EVs) son importantes mediadores de la comunicación entre células que transportan distintas moléculas y regulan el metabolismo lipídico y la expresión de proteínas. Aún no se ha explorado el impacto de la dislipidemia sobre estos mediadores clave en el folículo. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar las EVs del FF de mujeres con y sin dislipidemia y evaluar el efecto de la dislipidemia sobre el perfil de proteínas de las EVs. Se colectaron muestras de FF de 109 mujeres sin patologías reproductivas, con dislipidemia (n=57) y sin dislipidemia (n=52). A partir de un análisis de componentes principales se definieron los cuartiles extremos (Q1, sin dislipidemia; y Q4, con dislipidemia) para identificar las mujeres con perfiles lipídicos más contrastantes. Las EVs se aislaron por centrifugaciones diferenciales de los FF del Q1 y Q4. La distribución del tamaño y concentración de las EVs se analizó por *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA). Para la caracterización del fenotipo e identificación de las EVs se determinó la presencia de los marcadores CD63, ALIX, CD81, HSP70, TSG101, CD9 y CD40 por *Western blot* y citometría de flujo. Además, se realizó un análisis proteómico de las EVs por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa (LC-MS/MS). El NTA arrojó una concentración (Q1= $6{,}4 \times 10^{-8} \pm 2{,}3 \times 10^{-8}$ partículas/mL; Q4= $5{,}4 \times 10^{-8} \pm 2{,}6 \times 10^{-8}$ partículas/mL) y tamaño de partículas similar entre cuartiles (Q1= 158,44 ± 15,49 nm; Q4= 161, 24 ± 7,50 nm), compatible con el tamaño de exosomas, un tipo particular de EVs. Esta compatibilidad fue confirmada por la presencia de marcadores específicos. La caracterización proteómica de las EVs permitió identificar 32 proteínas expresadas diferencialmente entre ambos cuartiles (12 en Q1 y 20 en Q4). El análisis de enriquecimiento por *Gene Ontology* de las proteínas diferenciales reveló diferentes patrones de representación tanto de procesos biológicos como de funciones moleculares. Más aún, en el Q4 se encontraron proteínas estadísticamente sobrerrepresentadas, relacionadas con el sistema inmune y la presencia de proteínas antioxidantes, que no se expresaron en el Q1. Las proteínas de la respuesta inmune y antioxidante sobrerrepresentadas en la fracción enriquecida en exosomas del FF de las mujeres con dislipidemia evidencian un entorno intrafolicular alterado con implicancias negativas en la función folicular.

REP-2.3

PARÁMETROS METABÓLICOS EN OVOCITOS PORCINOS FECUNDADOS *IN VITRO*

Camporino A[1,2], Madrid Gaviria S[1,2], Valle Ponce M[1], Cetica P[1,2], Morado S[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina, [2]Universidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.
E-mail: acamporino@fvet.uba.ar

La fecundación *in vitro* (FIV) es empleada actualmente en la producción *in vitro* de embriones porcinos e implica la activación del ovocito tras la fusión con el espermatozoide. Se ha descripto en el ratón y el bovino que durante la activación del ovocito se produce una variación en su actividad metabólica, pasando de un estado de quiescencia al culminar la maduración *in vitro* (MIV) hacia un incremento en los parámetros mitocondriales y una fluctuación en la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS). El objetivo del presente estudio fue evaluar la variación en el potencial de membrana mitocondrial interna (PMMI), la producción de ROS y el estado redox, representado por la concentración de coenzimas $NAD(P)H+H^+$ y FAD, al finalizar la co-incubación de espermatozoides y ovocitos porcinos. Se emplearon complejos ovocito-cumulus (COCs) provenientes de ovarios de hembras porcinas faenadas que fueron seleccionados según su calidad y madurados en medio199 suplementado durante 44 h a 39°C, 5% CO_2 y 100% humedad. Al finalizar la MIV, se realizó la FIV empleando semen fresco lavado y resuspendido en medio buffer Tris modificado con una concentración final de $5\ 10^5$ espermatozoides/ml. A la 0 h (ovocitos control) y 3,5 h de la FIV se extrajeron cohortes de COCs que fueron denudados con pipeta Pasteur fina para su estudio. Utilizando microscopia de epifluorescencia, se evaluó el PMMI mediante la tinción JC-1, la producción de ROS con la tinción de 2´,7´- diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCH_2FDA), la concentración de FAD por autofluorescencia empleando un filtro verde (excitación 473 nm, emisión 490-590 nm) y la de $NAD(P)H+H^+$ por autofluorescencia empleando un filtro azul (excitación 405 nm, emisión 420-520 nm). Se obtuvieron microfotografías que fueron analizadas mediante un software para determinar la luminosidad individual de cada ovocito evaluado, realizando un análisis estadístico de los resultados por ANOVA seguido por la prueba de Bonferroni ($p<0,05$). Se observó una disminución significativa en el cociente $NAD(P)H+H^+/FAD$ y un incremento del PMMI a las 3,5 h con respecto a la 0 h de FIV ($p<0,05$), mientras que no se observaron diferencias significativas en la producción de ROS ($p>0,05$) entre ambos horarios. En conclusión, la fusión con el espermatozoide luego del proceso de FIV desencadena una serie de modificaciones en el ovocito porcino que implican un incremento en su tasa metabólica y que conducen a la formación del cigoto y su posterior desarrollo embrionario. Estos eventos podrían estar vinculados a un incremento inmediato del PMMI asociado a una disminución del cociente $NAD(P)H+H^+/FAD$, lo que podría anteceder a posibles variaciones en la producción de ROS.

REP-2.4

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD MITOCONDRIAL EN PRESENCIA DE TROLOX O RESVERATROL DURANTE LA MADURACIÓN DE OVOCITOS BOVINOS *IN VITRO*

Gadze T[1], Córdoba M[1,2], Cetica P[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina, [2]Universidad de

Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.
E-mail: tomigadze@gmail.com

Durante la maduración *in vitro* (MIV) de los ovocitos, la actividad de las mitocondrias es un indicador de la capacidad de la gameta para llevar a cabo los procesos de maduración nuclear y/o citoplasmática. En diferentes sistemas celulares se están analizando las propiedades de los antioxidantes Trolox (T) y resveratrol (R) y las concentraciones en las que podrían ejercer su efecto. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de T y R durante la MIV de ovocitos bovinos sobre la cantidad de mitocondrias activas, el potencial de membrana mitocondrial (PMM) y estado redox. Se realizó la punción-aspiración de los folículos antrales ováricos y se recuperaron los complejos ovocito-cúmulo (COC). Los COC se maduraron en medio 199 con eCG durante 22 h a 39°C en una atmósfera humidificada de 5% de CO_2 en aire con la adición de T 0 µM (C_T), 25 µM (T_1), 50 µM (T_2) ó 100 µM (T_3) ó R 0 µM (C_R), 0,1 µM (R_1), 1 µM (R_2) ó 5 µM (R_3) y luego se denudaron con hialuronidasa 0,1% (m/v). La cantidad de mitocondrias activas se determinó incubando los ovocitos 30'con MitoTracker Green FM, el PPM 30'con JC-1 y el estado redox mediante la relación FAD/NAD(P)H midiendo la intensidad de los compuestos endógenos autofluorescentes FAD y NAD(P)H. La luminosidad individual de cada ovocito se evaluó mediante IMAGE J. La maduración nuclear del ovocito se evaluó por la presencia de la metafase II con Hoechst 33342. Las variables cuantitativas se analizaron mediante ANOVA y las variables cualitativas por Chi-cuadrado ($p<0,05$). La cantidad de mitocondrias activas en los ovocitos disminuyeron paulatinamente con el aumento de la concentración de T, siendo significativa con T_3 respecto a C_T ($p<0,05$) y también disminuyeron en presencia de R_1, R_2 y R_3 respecto a C_R ($p<0,05$), no observándose diferencias significativas entre ellas. Se detectó una disminución gradual del PMM de los ovocitos en presencia de T, observándose diferencia significativa con T_2 y T_3 respecto a C_T ($p<0,05$), y también decreció con R_2 y R_3 respecto a C_R ($p<0,05$). La relación FAD/NAD(P)H en los ovocitos disminuyó gradualmente con el aumento de la concentración de T, estableciéndose diferencias significativas entre T_3 y C_T ($p<0,05$); dicha relación además disminuyó con R_1, R_2 y R_3 en comparación con C_R ($p<0,05$) no habiendo diferencias significativas entre estos grupos. No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de maduración nuclear de los ovocitos con los diferentes tratamientos. Podemos concluir que la suplementación del medio de MIV con T o R modula la actividad de las mitocondrias de los ovocitos y que dichos cambios no alteran la capacidad de maduración nuclear de los mismos. Resta evaluar sus efectos sobre la maduración citoplasmática de los ovocitos.

REP-2.5

RELEVANCIA DE LAS PROTEÍNAS CRISP1 Y CRISP3 PARA LA FERTILIDAD FEMENINA Y EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Rebagliati Cid A, Curci L, Sulzyk V, Weigel Muñoz M, Cuasnicú PS
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
E-mail: a.rebagliati@ibyme.org.ar

Las proteínas de la familia CRISP (*Cysteine-Rich Secretory Proteins*), presentes en el tracto reproductor masculino de mamíferos, juegan roles críticos en diferentes etapas del proceso

de fertilización y son relevantes para la fertilidad. Más aun, CRISP1, CRISP2 y CRISP3 se expresan también en tracto femenino, habiéndose observado que CRISP1 presente en las células del *cúmulus* cumpliría un rol quimioatractante del espermatozoide durante la fertilización. Si bien las hembras simples *knockout* (KO) para las CRISP son fértiles, las hembras dobles KO (DKO) para CRISP1 y CRISP3 resultaron subfertiles, sugiriendo la existencia de mecanismos compensatorios entre proteínas CRISP homólogas. En base a ello, el objetivo del presente trabajo consistió en estudiar los mecanismos que conducen a la bajada de la fertilidad en las hembras. En primer lugar, se llevaron a cabo ensayos de fertilización *in vivo* para lo cual hembras en estro fueron apareadas con machos control durante una noche y los ovocitos recuperados de la *ampulla* al día siguiente, incubados *in vitro* durante 5 días. Los resultados mostraron una bajada significativa tanto en la llegada de embriones al estadio de 2 células (día 1) como de blastocisto (día 5). Dado que la bajada en la fertilización podría deberse a defectos en la llegada de los espermatozoides al ovocito dentro del tracto femenino, se realizaron ensayos de fertilización *in vitro* en los cuales tanto complejos *cúmulus* ovocitos como ovocitos libres de envolturas provenientes de hembras control y DKO fueron incubados con espermatozoides control capacitados. Si bien no se observaron diferencias en los porcentajes de fertilización, los embriones provenientes de las hembras DKO mostraron nuevamente una bajada significativa en la llegada al estadio de blastocisto. Teniendo en cuenta que la reasunción de la meiosis que ocurre luego de la fusión de gametas es crítica para el posterior desarrollo a blastocisto, el paso siguiente consistió en analizar el ADN materno inmediatamente luego de la fusión de gametas. Para ello, ovocitos libres de todas las envolturas fueron incubados con espermatozoides control capacitados, procediéndose al análisis del ADN del ovocito por tinción con Hoechst. Los resultados no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de ovocitos fertilizados ni en el estadio meiótico alcanzado por los mismos, sugiriendo que la ausencia de las proteínas CRISP1 y CRISP3 estaría afectando etapas posteriores a los eventos tempranos post-fertilización. En conjunto, estos resultados muestran la relevancia de las proteínas de la familia CRISP presentes en las hembras no sólo en el proceso de fertilización sino también en el desarrollo embrionario. Consideramos que nuestros resultados contribuirán a una mejor comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en el proceso de embriogénesis como así también al desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y/o tratamiento de la infertilidad femenina.

REP-2.6

LOS INTERCAMBIADORES SODIO-PROTON sNHE y NHE1 CONTROLAN LA HIPERPOLARIZACIÓN DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DURANTE LA CAPACITACIÓN EN ESPERMATOZOIDES MURINOS.

Novero AG[1], Torres Rodriguez P[2], De la Vega Beltran JL[2], Schiavi-Ehrenhaus LJ[3], Luque G[3], Stival C[1], Gentile I[1], Santi C[4], Buffone M[3], Darszon A[2], Trevino C[2], Krapf D[1]
[1]Instituto de Biologia Molecular y Celular de Rosario, CONICET-UNR, [2]Instituto de Biotecnologia, UNAM, [3]Instituto de Biologia y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), [4]Departamento de Obstetricia y Ginecología, Universidad de Washington, USA.
E-mail: analianovero@gmail.com

La capacitación espermática otorga a los espermatozoides la capacidad para fecundar después de la eyaculación. La hiperpolarización del potencial de membrana plasmática del espermatozoide (*E*m), promovida por la apertura de los canales de K^+ SLO3, es un evento

clave asociado con la capacitación y se correlaciona con el éxito de técnicas de reproducción asistida en humanos. Evidencias previas mostraron la dependencia de SLO3 de la alcalinización e implicaron el papel del cAMP/PKA en este proceso. Este estudio tuvo como objetivo revelar los mecanismos moleculares que conducen a la hiperpolarización. Los espermatozoides de ratones WT y nulos (KO) para sNHE, Slo3 y CatSper fueron incubados en condiciones capacitantes con o sin inhibidores farmacológicos. Las mediciones de *E*m se evaluaron mediante fluorimetría poblacional, mientras que el pH se midió mediante microscopía de células individuales y citometría de flujo. La inhibición específica de PKA mediante sPKI no bloqueó la hiperpolarización de *E*m. Sin embargo, la inhibición de la síntesis de cAMP afectó este evento, siendo restaurado posteriormente mediante la adición de 8Br-cAMP, lo que respalda el papel del cAMP en *E*m. Basándonos en la dependencia de Slo3 del pH intracelular, analizamos el papel de los intercambiadores NHE en Em. Los espermatozoides de ratones KO para el intercambiador de sodio-protón específico de espermatozoides (sNHE) no presentaron hiperpolarización, la cual no fue restaurada con 8Br-cAMP, probablemente debido a la ausencia del dominio de unión a nucleótidos cíclicos (CNBD) en sNHE. Además, la inhibición farmacológica de un segundo intercambiador presente en los espermatozoides, NHE1, también bloqueó la hiperpolarización de la membrana, similar a lo observado en los ratones KO para el canal de calcio CatSper, es posible que debido a la estimulación de NHE1 por el calcio. Como era de esperar, un pulso de calcio intracelular promovió la alcalinización de los espermatozoides. En ambos casos, KO de CatSper e inhibición de NHE1, la hiperpolarización de Em fue restaurada por 8Br-cAMP. Nuestros resultados muestran que dos vías paralelas modulan sinérgicamente la alcalinización que conduce a la hiperpolarización: el cAMP a través de sNHE, probablemente mediante su CNBD, y NHE1, modulado por el Ca^{2+} derivado de CatSper, para finalmente alcanzar el umbral de alcalinización que promueve la activación de SLO3.

REP-2.7

EVALUACIÓN DE LA ADHESIÓN ESPERMÁTICA A CÉLULAS OVIDUCTALES BOVINAS INFECTADAS CON EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

Yavorsky MS[1], Urrutia Luna N[2], González Altamiranda E[1], Ríos GL[2]
[1]Laboratorio de Virología, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS-CONICET), Balcarce, Buenos Aires, Argentina, [2]Laboratorio de Producción in vitro de embriones, Biotecnología de la Reproducción, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS-CONICET), Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: yavorsky.marisol@inta.gob.ar

Como ocurre en muchas especies de mamíferos, los espermatozoides bovinos mantienen su viabilidad hasta la fertilización adhiriéndose a las células epiteliales del oviducto (CEO) mediante interacciones moleculares. El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) presenta tropismo por las células del tracto reproductivo, incluidas las CEO. Aunque se ha observado que las CEO infectadas con cepas no citopáticas de VDVB no presentan alteraciones macroscópicas en el oviducto, la influencia de esta infección viral en el proceso de adhesión de los espermatozoides no ha sido completamente elucidada. El objetivo de este estudio fue evaluar la interacción de los espermatozoides a las CEO infectadas previamente con VDVB.

Las CEO se cultivaron en monocapas y explantes, y se infectaron con una cepa no citopática de VDVB genotipo 1b. Las monocapas se co-incubaron con $1x10^6$ espermatozoides/mL y los explantes con $2x10^6$ espermatozoides/mL durante una hora. El número de espermatozoides adheridos se cuantificó mediante análisis de imágenes (software FIJI), los resultados se expresan como espermatozoides adheridos/0,15 mm^2. Para cuantificar los liberados, antes y después de la inducción de liberación añadiendo heparina (1 mg/mL), se cuantificaron los espermatozoides adheridos a la monocapa, posteriormente los espermatozoides liberados recuperados en el sobrenadante fueron cuantificados utilizando un hemocitómetro y los resultados se expresaron como espermatozoides/mL. Los datos se analizaron mediante ANOVA (RStudio 4.3.3), y se expresaron como medias estadísticas, con un nivel de significancia de 0.05. En los explantes de CEO infectados, la cantidad de espermatozoides adheridos fue significativamente mayor (131,6 esp/0,15 mm^2) en comparación con los controles no infectados (101 esp/0,15 mm^2) mientras que, en las monocapas de células infectadas y controles, los valores de espermatozoides adheridos (61,9 esp/0,15 mm^2 y 58,7 esp/0,15 mm^2, respectivamente) no mostraron diferencias significativas. El 96% y el 95% de los espermatozoides adheridos en las células infectadas y controles, respectivamente, fueron liberados. No se encontraron diferencias significativas en la cantidad de espermatozoides liberados desde monocapas infectadas y controles (181,545 esp/mL y 147,833 esp/mL, respectivamente). La preservación de la arquitectura tridimensional del epitelio oviductal de los explantes favoreció la interacción de los espermatozoides con las células ciliadas. Asimismo, la infección con el biotipo no citopático del VDVB favoreció la adhesión lo que sugiere que el virus podría influir en la viabilidad celular y en la regulación de moléculas de superficie.

REP-2.8

CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS Y LÍPIDOS ENDÓGENOS DURANTE LA MADURACIÓN DE OVOCITOS BOVINOS *IN VITRO*

Gutnisky C[1,2], Gagneten P[1], Martinez S[1], Breininger E[1,2], Cetica P[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina. [2]Universidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA).
E-mail: cgutnisky@fvet.uba.ar

La mayoría de los estudios metabólicos realizados sobre la maduración de ovocitos *in vitro* se refieren al metabolismo de los carbohidratos, habiendo poca información sobre el metabolismo de los aminoácidos (Aa) y de los lípidos endógenos. Muchos de estos estudios se realizaron en medios complejos e indefinidos arrojando resultados contradictorios. El objetivo del trabajo fue estudiar el metabolismo de los Aa y los lípidos endógenos como únicos sustratos oxidativos durante la maduración de ovocitos bovinos *in vitro*. Los complejos ovocito-cumulus (COCs) se obtuvieron por punción-aspiración de ovarios de vacas de faena. Para el estudio del metabolismo de los Aa, los COCs fueron madurados *in vitro* en un medio definido (SOFm) sin suplementación de sustratos oxidativos (control -), suplemetado con Aa, Aa+salicilato (inhibidor de la desaminación oxidativa), Aa+glucosa (Glc) o Glc, mientras que para el estudio de los lípidos endógenos el medio se suplementó con L-carnitina (activador de la ß-oxidación), etomoxir (inhibidor de la ß-oxidación), L-carntina+Glc y Glc. Al finalizar la

maduración se determinó el porcentaje de maduración nuclear, la producción de amonio y el contenido de lípidos endógenos. Se evaluó el porcentaje de clivaje y de blastocistos a las 48 h y 7 días posteriores a la fecundación *in vitro*, respectivamente. En el estudio del catabolismo de los Aa se observó mayores porcentajes de maduración en los grupos suplementados con Aa o Glc respecto al control - y el suplementado con salicilato ($p<0,05$) y un efecto sinérgico en el grupo suplementado con Aa+Glc ($p<0,05$). Se observó un incremento en la producción de amonio solo en el grupo suplementado con Aa ($p<0,05$). El patrón de porcentaje de clivaje fue similar al de la maduración nuclear ($p<0,05$) y solo los ovocitos madurados en medio con Aa+Glc llegaron al estadio de blastocito ($p<0,05$). En el estudio de los lípidos endógenos se observó un mayor porcentaje de maduración nuclear en el grupo L-carnitina respecto al control - y etomoxir, y un incremento en el porcentaje respecto a todos los grupos en los de L-carnitina+Glc y Glc ($p<0,05$). Se observó un mayor contenido de lípidos en el grupo suplementado con Glc respecto al control -, L-Carnitina y etomoxir ($p<0,05$). Se observó un mayor porcentaje de clivaje en los grupos suplementados con Glc o L-carnitina+Glc respecto a los otros grupos ($p<0,05$) sin embargo, no se observó desarrollo embrionario en ninguno de estos grupos. De estos resultados se desprende que tanto el catabolismo de Aa, los lípidos endógenos o la Glc en forma única pueden sostener la maduración nuclear de los ovocitos bovinos *in vitro*, pero son insuficientes para sostener el desarrollo embrionario. Para obtener ovocitos competentes la maduración debe ser llevada a cabo en un medio suplementado, al menos, con Aa+Glc.

REP-2.9

IMPACTO DE LAS INFECCIONES SUBCLÍNICAS POR LIPOPOLISACÁRIDO DE E. COLI EN EL PERFIL DE MEDIADORES VASCULARES E INFLAMATORIOS EN LOS SITIOS DE IMPLANTACIÓN Y LAS PLACENTAS EN RATAS

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

Las infecciones subclínicas provocan desregulaciones en la respuesta inflamatoria lo que podría generar una disfunción placentaria, impactando en el desarrollo del embarazo y la descendencia. Previamente, desarrollamos un modelo de infección subclínica en ratas durante la gestación temprana con dosis bajas de lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli*. Nuestros resultados muestran que las infecciones subclínicas afectan las adaptaciones vasculares del útero y el crecimiento intrauterino de los fetos, disminuyendo además el peso de las crías. También, observamos que la descendencia presenta un desarrollo neurológico deficiente. Por lo tanto, decidimos investigar el efecto de la infección subclínica por LPS durante la gestación sobre la arquitectura y el balance inmunológico y vascular de los sitios de implantación y placentas. Para esto, ratas preñadas de la cepa Wistar recibieron vehículo (i.p., solución salina como control) o LPS (20 µg/kg el día 6 + 50 µg/kg los días 7, 8 y 9 de gestación). Los animales fueron eutanasiados en los días 10 o 15 de gestación. Se extrajeron y procesaron los sitios de implantación o las placentas. La arquitectura de los sitios se encontraba conservada, sin diferencias en el grosor de las capas musculares. No se encontraron diferencias en el área de los vasos mesometriales. Asimismo, se observó una

tendencia a aumentar en el área de la decidua mesometrial y de los sinusoides de la misma en los sitios de ratas tratadas con LPS. Por otro lado, la expresión de CD31, marcador de endotelio, aumentó en los sitios LPS, sugiriendo deficiencias en el remodelado vascular. Las placentas de día 15 provenientes de madres tratadas con LPS presentaron un color rojo violáceo oscuro y una estructura más frágil. No se observaron diferencias en las áreas de laberinto, la zona de unión o la zona de la decidua basal. Cuando investigamos los niveles de mediadores inflamatorios y vasculares, encontramos que mientras que el ARNm de PlGF y VEGF-A disminuyó en los sitios de implantación LPS, CXCL 10 e IL-6 se encontraban aumentados. En las placentas, los niveles de ARNm de PlGF y CXCL10 estaban aumentados. Sorprendentemente, la IL-6 disminuyó en comparación con las placentas control. Los niveles de ARNm de TNF-**α** no presentaron diferencias en los sitios de implantación ni en las placentas control vs LPS. Además, evaluamos los niveles proteicos de COX-2 e iNOs en los sitios de día 10 y no encontramos diferencias. En las placentas tampoco hubo variaciones en la expresión de COX-2 ni en los niveles de PGE2. En conclusión, nuestro modelo de infección subclínica provoca la expresión diferencial de mediadores cruciales relacionados con el remodelado vascular y la inflamación en el sitio de implantación y la placenta. Proponemos entonces, que estas alteraciones durante la gestación explican los efectos descritos previamente en la macrovasculatura, los fetos y la descendencia.

JUEVES 5 DE DICIEMBRE

BIOLOGÍA GENERAL, MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA (BGMI)

AULA COMEDOR (3°PISO) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Roxana Schillaci y Dra. Eleonora Sorianello

BGMI.1

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DEL RECEPTOR GABAB COMO POTENCIAL BLANCO TERAPÉUTICO EN EL ADENOCARCINOMA DUCTAL PANCREÁTICO.

Buset MI[1], Safronchik N[1], Gottardo MF[1,2], Ripoll GV[1,2], Di Giorgio NP[1,2]
[1]Centro de Oncología Molecular y Traslacional (COMTra), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
E-mail: mbuset.998@gmail.com

GABA, sintetizado por la enzima glutamato descarboxilasa (GAD) y actuando a través de receptores GABAA/C y GABAB (GABABR), es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central en mamíferos. Este sistema también está presente en tejidos periféricos como el páncreas, y está involucrado en la tumorigénesis y la inmunidad tumoral. GAD1 se encuentra sobreexpresado en ciertos tumores, contribuyendo a la progresión del cáncer. En muchos casos, GABA y sus receptores se encuentran alterados en los tejidos tumorales. Sin embargo, su impacto varía según el tipo de tumor y el receptor involucrado. El cáncer de páncreas (PC) es el tumor maligno más letal, con una tasa de supervivencia a cinco años de 5%, siendo el adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) el más prevalente. Es imperativo encontrar nuevos fármacos para mejorar la supervivencia y los efectos secundarios de las terapias clásicas. Nuestro objetivo fue estudiar al GABABR como un posible blanco

terapéutico en el PDAC. Realizamos un análisis transcriptómico de *Gad1* y las subunidades del GABABR (*Gabb1r/Gabb2r*) en bases de datos de pacientes con PDAC del *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) y tejido normal (GTEX), utilizando las plataformas Gepia2 y UCSC XENA. Evaluamos la asociación de estos parámetros con el pronóstico y los atributos clínicos de los pacientes y examinamos las vías biológicas asociadas a los genes sobreexpresados. *Gad1* se encontró sobreexpresado en tejido tumoral vs normal ($p<0.05$); sin diferencias en la supervivencia de los pacientes PDAC. Aunque *Gabbr1* fue similar entre tejido PDAC y normal, la sobreexpresión de *Gabbr1* en tejidos PDAC se asocia a una mejora en la supervivencia general ($p<0.01$) y libre de enfermedad ($p<0.05$) en comparación con los de baja expresión. *Gabbr1* y *Gabbr2* tendieron a disminuir en etapas avanzadas de la enfermedad, aunque sólo *Gabbr2* mostró diferencias significativas entre estadios I y II ($p<0.01$). El fenotipo asociado con la sobreexpresión de *Gabbr1* reveló inhibición de vías de traducción, modificaciones post-traduccionales, transporte proteico mediado por vesículas y replicación del ADN. La sobreexpresión de *Gabbr1* en PDAC se correlaciona con resultados clínicos favorables y con la inhibición de vías asociadas a progresión tumoral, sugiriendo que la utilización de agonistas GABABR podría mejorar el tratamiento. Actualmente estamos evaluando el baclofeno, agonista selectivo GABABR, en la proliferación celular, migración e invasión en modelos celulares de PDAC. Financiado por CONICET-ANPCYT.

BGMI.2

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS GAG QUIMÉRICAS DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA DE FELINOS (FIV) CONTENIENDO SECUENCIAS DEL DOMINIO NUCLEOCÁPSIDE DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA DE SIMIOS (SIV)

González SA[1], Affranchino JL[2]
[1]Laboratorio de Virología, CONICET-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Belgrano, Buenos Aires, Argentina, [2]Centro de Virología Humana y Animal (CEVHAN), CONICET-Universidad Abierta Interamericana, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: sagonzalez@conicet.gov.ar

Los lentivirus se ensamblan en la membrana plasmática de las células infectadas como consecuencia de la multimerización de la poliproteína Gag la cual forma partículas esféricas que brotan al medio extracelular. Luego de la brotación de los viriones, Gag es procesada por la proteasa viral para generar las proteínas del virión maduro: matriz, cápside, y nucleocápside (NC). Durante el ensamblado, se produce la incorporación del ARN genómico viral a las partículas a través de la interacción entre la señal de encapsidación presente en el ARN viral y los dos motivos dedos de zinc del dominio NC de Gag. Las proteínas NC de FIV y de SIV comparten una organización similar: una región amino-terminal, un motivo dedo de zinc proximal, una región básica, un dedo de zinc distal, y una región carboxilo terminal. En el precursor Gag de FIV, el dominio NC se halla seguido del péptido C-terminal p2. En cambio, en Gag de SIV, el dominio NC es sucedido en la dirección carboxilo por el péptido espaciador SP2 y el dominio C-terminal p6. Con el objetivo de investigar la relación funcional entre las NC de FIV y SIV, generamos dos proteínas Gag quiméricas de FIV: (a) NC1, en la cual reemplazamos los dedos de zinc proximal y distal de la NC de FIV por los de SIV, y (b) NC2, en la cual mantuvimos los dedos de zinc de la NC de SIV, pero reemplazamos el dominio C-terminal de la NC de FIV por el péptido SP2 de SIV. Examinamos primero la capacidad de las

proteínas Gag quiméricas de FIV de ensamblarse en partículas pseudovirales (VLPs) transfectando células felinas con los plásmidos llevando los genes *gag* salvaje y quiméricos de FIV y analizando por Western blot la producción de VLPs extracelulares. Estos ensayos mostraron que NC1 es defectiva en ensamblado mientras que la proteína Gag NC2 se ensambla en VLPs con la misma eficiencia que Gag salvaje de FIV. En base a estos resultados, expresamos el gen *gag* NC2 en el contexto del ADN genómico de FIV. Encontramos que NC2 se expresa, procesa y ensambla con la misma eficiencia que FIV salvaje. Además, los viriones de FIV NC2 incorporan el ARN genómico viral con una eficiencia del 51±5% (media ± desviación estándar) respecto de FIV salvaje. Nuestros estudios demuestran que un FIV conteniendo en su proteína Gag el módulo NC-SP2 de SIV se ensambla en viriones y empaqueta el ARN genómico de FIV. Nuestros resultados aportan información relevante respecto de la homología funcional entre los dominios NC de lentivirus de primates y de no primates.

BGMI.3

DIFERENCIAS ENTRE LA LOCALIZACION DORSAL Y VENTRAL DE LA LENGUA EN UN MODELO MURINO REPORTERO PARA EL ESTUDIO DE CÉLULAS MADRE Y CARCINOGÉNESIS LINGUAL.

Di Gaudio A[1], Reposi G[1], Pérez MA[2], Raimondi AR[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires, (UBA), Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-UBA-CONICET), [2]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Odontología (FO-UBA).
E-mail: anabeldigaudio@gmail.com

El epitelio escamoso que recubre la mucosa bucal depende de células madre (CM) para su renovación y regeneración. Las células epiteliales linguales poseen una de las tasas de recambio tisular más rápidas del cuerpo, se encuentran constantemente expuestas a traumas y lesiones, y se han postulado como el origen de los carcinomas de células escamosas (CCE). El mecanismo de mantenimiento y regeneración de esas células es en gran parte desconocido y las poblaciones de CM linguales no han sido claramente identificadas. Además, hemos reportado la expresión diferencial de factores de stemness como KLF4 y SOX2 en biopsias de CCEL de distintas sub-localizaciones. Nuestro objetivo general es mapear las subregiones anatómicas de la lengua mientras clasificamos nichos de CM según su potencial oncogénico. Utilizamos ratones K14-CreER^{TAM}/Rosa26-tdTomato solos o combinados con una línea *Klf4-flox* en experimentos de células blanco y sus productos celulares. Logramos la expresión de tdTomato (TOM) por inducción con tamoxifeno (TAM) (1mg/ratón/día) por 5 días. Realizamos un análisis a lo largo del tiempo para estudiar la aparición y pérdida de células TdTomato (TOM) +. Subsitios de la lengua: dorsal (D), ventral (V), borde (B). En cortes sagitales o coronales teñidos con DAPI se delimitaron las regiones de la lengua, se adquirieron imágenes y cuantificaron las células TOM+ mediante Image J. Confirmamos que la expresión de TOM ocurre exclusivamente después de la inducción con TAM. Analizamos cuantitativamente la densidad (por µm) y fracción de células TOM+ a las 1, 5 y 16 semanas, y 8 meses después de la inducción (N=5 c/u). Se observó una mayor densidad y fracción de células TOM+ en la capa basal del epitelio V en todos los tiempos analizados, en comparación con su contraparte D (ANOVA $p<0.05$). En todas las regiones, se observó una disminución gradual en el número

de células marcadas a lo largo del tiempo con excepción del B de la lengua. En esta última localización la marca TOM+ de la capa basal se mantuvo estable a lo largo del tiempo. Luego evaluamos la dinámica de retención de marca TOM+ en lenguas *KLF4-KO* y preliminarmente encontramos que en la región D no cambia la cinética respecto de la lengua *wild type* mientras que en el epitelio V perdura la marca TOM+ a los dos meses post-inducción. El modelo reportero K14/TOM nos permitió caracterizar el comportamiento de un pool de células que retienen la marca de TOM diferencialmente según la localización anatómica. Y al combinarlo con la ablación de K*lf4* podremos en el futuro evaluar el posible rol de CM en la generación de lesiones premalignas KLF4-KO.

BGMI.4

LOCALIZACIÓN Y ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS Y LA INFLUENCIA DE LOS RECEPTORES NOTCH EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA

Chimento A[1,2], Herrera SB[1,2], Prodan E[1,3], Matiacich E[1], Parenti, F[4] Cristina C[1,2]
[1]Laboratorio de Neuroendocrinología/Fisiopatología de la Hipófisis; Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas (CIBA) – UNNOBA, Junín, Buenos Aires, Argentina, [2]Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, CIC, La Plata, Buenos Aires, Argentina, [3]Centro de Investigaciones y Transferencia CIT NOBA, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UNNOBA-UNSAdA-CONICET), [4]Centro Médico Famyl, Junín, provincia de Buenos Aires.
E-mail: agustinachimento13@gmail.com

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo cáncer con mayor incidencia en los hombres en Argentina. La testosterona actúa a través del receptor de andrógenos (AR), que en su estado basal está en el citoplasma, y la unión a andrógenos lo activa, promoviendo su paso al núcleo y así la expresión de los genes diana PSA y TMPRSS2. La eficacia de los antiandrógenos como Enzalutamida (Enz) resulta insuficiente en el tratamiento. Hay evidencias de que la señalización Notch estaría involucrada en el desarrollo de la glándula prostática, pero su rol en esta patología está poco esclarecido. Previamente, hallamos expresión del AR y Notch *in vitro* en las células de CaP humanas PC3, y que la combinación de Enz y el inhibidor de la activación de Notch DAPT disminuyó la viabilidad celular ($n = 3$; $p = 0{,}0043$). El presente objetivo fue evaluar la activación recíproca de las vías AR y Notch en las células sensibles a los andrógenos LNCaP. Luego de la modulación del AR con testosterona (10^{-7} M, 48 h) se observó, por citometría de flujo (CF), menor expresión citoplasmática del AR y con ello, una mayor expresión de *PSA* y *TMPRSS2*, y también del gen target de la vía Notch, *HES1* y una tendencia a una menor expresión del supresor tumoral *BTG2,* mediante RT-qPCR. El tratamiento con Enz (50 µM, 48 h) tendió a aumentar la expresión del AR en el citoplasma y a disminuir la expresión de *PSA*, *TMPRSS2* y *HES1*; además mostró un aumento la expresión de *BGT2*. De manera interesante, el tratamiento con DAPT (30 µM, 48 h) aumentó la expresión citoplasmática del AR, disminuyó la expresión de *PSA*, *TMPRSS2* y *HES1*, y aumentó la expresión de *BGT*. La modulación conjunta con testosterona y DAPT mostró una interrelación de las señales con predominio de la activación del AR, evidenciado por un aumento en la expresión de *PSA* y *TMPRSS2*, y una fuerte correlación positiva entre la expresión de *HES1* y *TMPRSS2* ($R^2 = 0{,}47$; $p = 0{,}06$), y correlación negativa y significativa

entre la expresión de *PSA* y *BTG2* (R^2 = 0,65; p = 0,02). Nuestros resultados muestran que la activación del Receptor de Andrógenos a través de sus mensajeros diana correlaciona con la activación de Notch y sugieren una interconexión entre las dos vías de señalización en el cáncer de próstata que podría involucrar el contacto del dominio intracelular de Notch con el AR.

BGMI.5

FORMULACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE UNA BEBIDA TIPO KOMBUCHA CON TÉ VERDE Y CANNABIS: IMPACTO EN EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES Y CANNABINOIDES

Bellozas Reinhard M[1], Lopez L[2], Fries A[1,2], Moldes CA[1,2]
[1]Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, [2]Instituto de Ciencias de la Tierra y Medio Ambiente de La Pampa (INCITAP)- CONICET.
E-mail: moldesc@gmail.com

La fermentación es un método utilizado para preservar tanto el valor nutricional como la calidad de los alimentos. En los últimos años, el consumo de bebidas probióticas a base de hierbas, como la kombucha, ha aumentado debido a sus efectos beneficiosos para la salud, particularmente porque son fuentes significativas de compuestos bioactivos antioxidantes. Este estudio se centra en la formulación y optimización de una bebida fermentada tipo kombucha utilizando té verde, té de cannabis y sus combinaciones. Para lograrlo, se prepararon infusiones a partir de té verde comercial y dos variedades de cannabis: (1) cepas con predominancia de THC y (2) cepas con predominancia de CBD. Cada infusión se realizó añadiendo 8 g de material vegetal en 1 litro de agua durante 20 minutos. Se prepararon cinco tipos de infusiones: té verde (GT), té verde con CBD (1:1), CBD, té verde con THC (1:1) y THC. Después de la filtración, las infusiones se transfirieron a frascos de 1.5 L y se agregó azúcar en una proporción de 100 g/L. Una vez que las infusiones alcanzaron la temperatura ambiente, se introdujo un cultivo iniciador de kombucha (SCOBY), el cual es una masa celulosa-gelatinosa compuesta por un consorcio simbiótico de bacterias y hongos, para iniciar el proceso de fermentación. La fermentación se llevó a cabo en un sistema abierto, sin agitación, a 25ºC durante 7 días. A lo largo de este proceso, se monitoreó el pH diariamente y se midieron la capacidad antioxidante, los niveles de flavonoles y polifenoles tanto al inicio como al final de la fermentación. Además, se midieron los niveles de cannabinoides en las fermentaciones con infusiones de CBD y THC. Los valores iniciales de pH oscilaron entre 3.87 y 5.59, mientras que los valores finales disminuyeron a entre 3.40 y 2.73. Los resultados indicaron que la capacidad antioxidante de las infusiones con cannabis fue significativamente menor que la del té verde y sus combinaciones, observándose una disminución en todas las muestras al final de la fermentación. En contraste, el contenido de flavonoles aumentó proporcionalmente en todas las infusiones, lo que sugiere que el proceso de fermentación favorece su producción. El incremento en el contenido de polifenoles se atribuyó principalmente a la presencia del té verde, ya que las infusiones de cannabis no contribuyeron con cantidades significativas. Además, los cannabinoides medidos al final del proceso de fermentación no mostraron niveles detectables de THC o CBD. En conclusión, este estudio demuestra que, si bien el té de cannabis puede complementar al té verde en la producción de kombucha, su contribución a las propiedades funcionales generales es mínima.

BGMI.6

ANÁLISIS *IN SILICO* DEL EFECTO DE FOSFOLIPASAS A_2 AISLADAS DEL VENENO DE *Bothrops diporus* EN LA INHIBICIÓN DEL POTENCIAL METASTÁSICO Y ANGIOGÉNICO

Sasovsky DJ[1], Ojeda G[2], Lomonte B[4], Angelina E[3], Bustillo S[1]
[1]Grupo de Investigaciones Biológicas y Moleculares (GIByM), [2]Laboratorio de Productos Naturales, [3]Laboratorio de Estructura Molecular y Propiedades. IQUIBA-NEA UNNE-CONICET, [4]Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica.
E-mail: danielasasovsky@exa.unne.edu.ar

Los venenos de serpiente contienen proteínas y polipéptidos destacando las fosfolipasas A_2 (PLA_2s) como uno de los componentes más abundantes y con potencial farmacológico. Se ha demostrado previamente en ensayos *in vitro*, que dos isoformas de PLA_2s básicas aisladas del veneno de *Bothrops diporus*, tienen potenciales efectos antimetastásicos y antiangiogénicos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar a través de un enfoque *in silico,* el potencial mecanismo de acción de estas toxinas en la inhibición de estos procesos tumorales. Para modelar las posibles interacciones entre las PLA_2s-integrinas, se completaron las secuencias parciales de PLA_2-I y PLA_2-II utilizando la herramienta BLAST para realizar búsquedas de secuencias homólogas y alineamientos múltiples. Además, se utilizó un modelo reducido de la integrina αVβ3 que comprende el ectodominio obtenido del Protein Data Bank. Para modelar la interacción proteína-proteína, se utilizó AlphaFold-Multimer (AF-Multimer) y su versión ColabFold en Google Colab, empleando las secuencias de la integrina y de ambas PLA_2s como entrada. La confianza en las predicciones intra-cadena se evaluó con la prueba de diferencia de distancia local y en los arreglos inter-cadena con el error de alineación de predicción. Además, se generaron modelos de interacción PLA_2-integrina con el servidor ClusPro, realizando acoplamientos ciegos sobre las superficies de los modelos predichos por AF-Multimer. Se seleccionaron los 30 mejores modelos que interaccionaban con el sitio RGD de la integrina para análisis adicionales mediante simulaciones de dinámica molecular. AF-Multimer demostró que ambas PLA_2s se unen al mismo sitio RGD de la integrina con alta confianza, aunque hay menor certeza sobre los residuos de PLA_2 en la interfaz de interacción, lo que podría deberse a la falta de datos o uniones no específicas. Para aclarar esto, se realizaron cálculos de acoplamiento proteína-proteína para predecir modos alternativos de unión. Las conformaciones de PLA_2 obtenidas con ClusPro y AF-Multimer se sometieron a simulaciones de dinámica molecular. Solo la mejor conformación de PLA_2-II superó al décimo dominio de fibronectina en fuerza de unión, con una estabilidad 11 kcal/mol mayor. Los residuos básicos de PLA_2-II, como Arg 108, interactúan con el sitio RGD de la integrina, lo que sugiere que podría bloquear la unión de fibronectina. PLA_2-II mostró una unión más fuerte a la integrina que PLA_2-I, posiblemente debido a su mayor carácter básico. Los mapas de potencial electrostático indican una complementariedad en las interfaces de interacción, favoreciendo la unión de PLA_2-II a la integrina αVβ3, lo que podría ser relevante para la inhibición de procesos tumorales.

BGMI.7

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE YERBA MATE *(Ilex paraguariensis)*

Serrano AN[1], Cesario AM,[1] Goicoechea PN[1], Maiocchi M[2]
Laboratorio de Bioquímica Aplicada[1], Laboratorio de Operaciones Unitarias[2], Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (FaCENA).
E-mail: natalia.serrano@comunidad.unne.edu.ar

El presente resumen describe un estudio centrado en la actividad antimicrobiana de extractos acuosos de yerba mate (*Ilex paraguariensis*), una planta conocida por sus propiedades medicinales y su rica composición química. Con el aumento de la resistencia a los antimicrobianos, hay un renovado interés en los productos naturales como alternativas efectivas. La yerba mate contiene polifenoles, saponinas y xantinas, que han mostrado actividad contra diversas bacterias patógenas, lo que sugiere su potencial como recurso en el desarrollo de nuevos antimicrobianos naturales. Para llevar a cabo este estudio, se utilizó una metodología experimental que incluyó la obtención de extractos acuosos de yerba mate a partir de presentaciones comerciales. La infusión filtrada, se liofilizó y se almacenó a-20ºC. La técnica de bioautografía permitió identificar compuestos activos dentro de los extractos, aunque se encontraron dificultades para observar zonas de inhibición debido a la coloración de algunos componentes. El método de semicuantificación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo mediante difusión en agar, utilizando discos impregnados con diversas concentraciones de extracto acuoso colocados en placas inoculadas con suspensiones de S. aureus (ATCC 25923), E. coli (ATCC 25922) y P. aeruginosa (ATCC 27853) ajustadas a 0,5 de McFarland (1.5 x 10^8 UFC/mL) e incubadas a 37 °C durante 24 h. El criterio utilizado para determinar la actividad antimicrobiana fue la presencia o ausencia de halos de inhibición producidos por los extractos frente a los microorganismos midiendo el diámetro del halo, como indicador de grado de sensibilidad. Para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), se realizaron diluciones 1/100 del 0,5 de McFarland de la misma cepa (1.5 x 10^6 UFC/mL) en caldo Mueller-Hinton, distribuyendo el inóculo en cinco tubos con concentraciones de extracto desde 200 mg/mL en adelante. Tras incubar los tubos a 37 °C durante 20 h, se evaluó el crecimiento bacteriano. Se realizó un repique con ansa en agar Tripteína Soya y se incubó nuevamente a 37ºC por 24 h. Los resultados mostraron que varios extractos exhibieron actividad antimicrobiana significativa, evidenciada por la formación de halos de inhibición en las placas de cultivo, así como por la reducción en el crecimiento bacteriano en los ensayos de dilución dependiente de la dosis contra la cepa S. aureus y no presentaron halos de inhibición de crecimiento con las cepas E. coli y P. aeruginosa. La discusión destaca la importancia del uso de métodos estandarizados para validar la eficacia antimicrobiana y sugiere que futuras investigaciones deben centrarse en optimizar las técnicas experimentales. En conclusión, los resultados obtenidos indican que la yerba mate podría ser una alternativa viable para desarrollar nuevos agentes antimicrobianos naturales aplicables en la industria alimentaria y médica, contribuyendo así a la búsqueda de soluciones frente a la resistencia antimicrobiana.

BGMI.8

CARACTERIZACIÓN DE UNA LINEA DE CORIOCARCINOMA HUMANO (JEG-3) COMO POSIBLE MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LOS CANNABINOIDES SOBRE LA BIOLOGÍA TUMORAL

Martínez KI[1], Palma MB[1,2], Sepúlveda F[3], García NM[1], Riccillo F[1,4]
[1]Catedra de Citología, Histología y Embriología, FCM-UNLP, [2]Laboratorio de Investigaciones Aplicadas a Neurociencias, LIAN – FLENI, [3]Laboratorio de Ciencias Biológicas (FCB - Universidad de Concepción - Chile), [4]Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP).
E-mail: friccillo@med.unlp.edu.ar

Los principales fitocannabinoides (principios activos de la planta *Cannabis sativa*) son el tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD). Existe numerosa evidencia con relación a los efectos antiproliferativos, proapoptóticos y antimigratorios de los fitocannabinoides tanto en modelos tumorales *in vitro* como *in vivo*. La línea tumoral de coriocarcinoma humano (JEG-3) se caracteriza por tener tasas de proliferación e invasividad elevadas. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar los efectos del CBD y un extracto con alto contenido en CBD (CBD-HSC / ratio CBD:THC = 20:1) en la línea JEG-3. Para poder llevar a cabo el presente estudio, se efectuaron: 1- Ensayo de viabilidad celular (MTT), para determinar el IC_{50} y poder establecer el efecto sobre la viabilidad/muerte celular de acuerdo a las diferentes concentraciones de CBD y CBD-HSC. Por encima de 7,5 µM ambos compuestos mostraron un efecto proapoptótico. 2- Ensayo de migración celular en tres condiciones de cultivo diferentes: a) control, b) CBD 1µM y c) CBD-HSC 1 µM, durante 24 horas. Para ello, se midió mediante morfometría digital el porcentaje de área regenerada a las 24 hs., resultando (60.30 ± 5.50) %; (39.90 ± 3.90) %; (41.60 ± 3.60) % para el control, CBD 1µM y CBD-HSC 1µM, respectivamente. 3- Inmunocitoquímica, empleando Ac. monoclonales anti-Ki-67 (proliferación), Cas-3 (apoptosis) y MMP-9 (metaloproteinasa) para analizar los resultados observados en los ensayos de migración. No se observaron cambios significativos en la expresión de Cas-3, pero si se observó una disminución significativa en la proliferación celular (Ki-67) y en la expresión de MMP-9 para los tratamientos con cannabinoides respecto al control. 4- RT-PCR a tiempo final con juegos de cebadores para los receptores del sistema de endocannabinoides CB1, CB2 y GPR55. Mediante dicho procedimiento se pudo determinar la expresión de CB1 y CB2, siendo negativo para GPR55. Para la captura de las imágenes utilizamos el programa Micrometrics LE (NY-USA) y para el análisis de las mismas el ImageJ (NIH-USA). El análisis estadístico fue realizado mediante GraphPad Prism 8.0.2.263. En base a los resultados obtenidos, demostramos que la línea tumoral JEG-3 expresa los receptores CB1 y CB2, a través de los cuales los cannabinoides suministrados (1µM) estarían ejerciendo sus efectos. En coincidencia con otras líneas tumorales, las JEG-3 mostraron una disminución en la proliferación celular y la expresión de MMP-9 en respuesta al CBD y al extracto alto en CBD, lo que las convierte en un modelo atractivo para el estudio de biología tumoral asociado al sistema endocannabiboide.

BGMI.9

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y FUNCIONAL DE LAS ISOFORMAS DE LA MAP QUINASA FOSFATASA 3 (MKP-3)

Mori Sequeiros Garcia MM[1,2], Nudler S[2], Bigi MM[2], Gorostizaga AB[1], Cohen Sabban JM[1], Poderoso C[1,2], Maloberti PM[1,2], Paz C[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica Humana, Buenos Aires, Argentina, [2]CONICET-Universidad de Buenos, Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED), Buenos Aires, Argentina.
E-mail: mmori@fmed.uba.ar

Las MAP quinasas fosfatasas (MKP) constituyen una familia de enzimas que regula la duración, la intensidad y los patrones espacio-temporales de la actividad de las MAP quinasas (MAPK) en respuesta a diversas señales fisiológicas y patológicas. MKP-3 (o DUSP6) es una MKP inducida principalmente por estímulos proliferativos y su sustrato más caracterizado es fosfo-ERK. El gen de MKP-3 humano genera un transcripto completo (MKP-3L) y un producto de empalme alternativo (MKP-3S). Nuestro objetivo es caracterizar estructural y funcionalmente las isoformas de MKP-3 utilizando el modelo celular HEK293. Estudios bioinformáticos revelaron diferencias entre las isoformas de MKP-3 que afectarían a sus funciones e interacciones. Mediante inmunocitoquímica y Western blot demostramos que la localización de MKP-3L es exclusivamente citoplasmática. Sin embargo, MKP-3S se distribuye tanto en el núcleo como en el citoplasma. Los resultados del análisis estructural en MKP-3S señalarían una actividad enzimática reducida y una regulación alterada en comparación con MKP-3L. Nuestros resultados demuestran que MKP-3S es incapaz de desfosforilar ERK en células HEK293 que sobreexpresan esta variante, en comparación con células control.
Por otro lado, estudiamos el rol de las isoformas de MKP-3 sobre otro sustrato descripto, FOXO1. Los análisis de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) revelaron que ambas isoformas son capaces de interactuar con el factor de transcripción FOXO1. Por inmunfluorescencia detectamos que MKP-3L, pero no MKP-3S, es capaz de promover la translocación al núcleo de FOXO1. Esta regulación diferencial está relacionada con la capacidad de desfosforilación de la isoforma MKP-3L, que promueve la localización nuclear de FOXO1. Dado que la transcripción del inhibidor del ciclo celular p21 depende de la activación de FOXO1, estudiamos el efecto de la expresión de las isoformas de MKP-3 sobre los niveles de ARNm de este gen mediante qPCR. La sobreexpresión de MKP-3L incrementa los niveles de ARNm de p21 con respecto a células control. Sin embargo, la sobreexpresión de MKP-3S disminuye significativamente la expresión de p21, lo que indica que la actividad transcripcional de FOXO1 es modulada en forma diferencial por cada isoforma de MKP-3.
Los resultados presentados muestran las diferencias entre MKP-3S y L tanto en términos de características estructurales como funcionales, enfatizando el rol de las isoformas en la señalización celular y en la regulación transcripcional.

BGMI.10

MODELO EN TRES DIMENSIONES DE ACINOS MAMARIOS PARA EL ESTUDIO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS PROVENIENTES DE LA UVA TANNAT

Faulord MA[1], Frade MP[1], Rodríguez-Teja M[1], Pastro L[1], Fernández-Fernández A[2]
[1]Laboratorio de Interacciones Célula-Ambiente, Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, [2]Laboratorio de Bioactividad y Nanotecnología de

Alimentos, Área Química de Alimentos, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República.
E-mail: afaulord@fcien.edu.uy

El cáncer de mama (BCa) es la segunda neoplasia de mayor incidencia a nivel mundial, reportándose más de dos millones de casos nuevos por año, según datos del observatorio global del cáncer (Globocan). La edad, después del sexo, es el factor de riesgo más importante. La acumulación de los productos finales de glicación avanzada (AGEs) correlaciona de forma positiva con el envejecimiento. Los AGEs son resultado de una reacción no enzimática entre un azúcar reductor y un grupo amino. Su acumulación en la membrana basal (MB) entrecruza sus componentes proteicos. Las alteraciones en la MB generan mecano-señales aberrantes, modificando las interacciones célula-célula y célula-MB, desregulando la proliferación y la migración celular. El modelo experimental para estudiar la biofísica de los tejidos utiliza MB comercial que se reconstituye a 37°C. En este contexto, por tratamiento con glicolaldehído (GLA) se da la reacción no enzimática de entrecruzamiento de los componentes proteicos de la MB. De esta forma se recrea el microambiente biofísico asociado con el envejecimiento y la glándula mamaria enferma. Sobre esta MB y utilizando MB sin tratar como control, se sembraron células MCF10A de epitelio de mama no tumorales y se analizó la formación de acinos mamarios en estos cultivos 3D tal como fue descrito para próstata. La piel de uva Tannat (PUT) proveniente del orujo (principal residuo sólido de la vinificación) podría prevenir los cambios en la MB por su perfil en compuestos fenólicos. Se obtuvo la porción fenólica por extracción hidro-alcohólico-ácida. Se tiñeron los filamentos de actina con faloidina y se analizaron los cultivos por microscopía de fluorescencia. Los resultados mostraron que la circularidad de los acinos que crecieron sobre MB rígida con 0,03 mg/mL de extracto de PUT en el medio celular presentan una mejoría estadísticamente significativa en comparación con los cultivos sin tratar ($p<0,05$).

JUEVES 5 DE DICIEMBRE

BIOQUÍMICA, FISIOLOGÍA Y NEUROCIENCIAS (BQFINE)
AULA DR. CHARREAU (3°PISO) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. María Paula Di Yorio y Dr. Diego Gelman

BQFINE.1
EFECTOS DEL CONSUMO TEMPRANO DE STEVIA SOBRE EL COMPORTAMIENTO ASOCIADO AL SISTEMA DOPAMINERGICO

Lence P[1], Rey M[1], Coirini H[1], Kruse MS[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET.
E-mail: m.kruse@ibyme.org.ar

En los últimos años la obesidad infantil ha crecido aceleradamente en Argentina, acompañando la tendencia mundial. Este fenómeno se asocia con un aumento de la diabetes del tipo 2, hipertensión y problemas psicosociales. La principal fuente de exceso calórico proviene de las bebidas azucaradas que se encuentran en alta disponibilidad y a bajo costo. Por ello, las bebidas endulzadas artificialmente han surgido como una alternativa para

proporcionar gusto dulce con pocas o ninguna caloría. A pesar de su uso creciente, poco se conoce sobre el impacto del consumo de edulcorantes, especialmente en niños. Aquí estudiamos el efecto de consumo ilimitado de una decocción de Stevia Rebaudiana Bertoni (Stv) diluida en agua de bebida (4% V/V) en ratas Sprague Dawley juveniles. Los animales fueron expuestos a Stv y agua, o sólo agua (control) durante los días post-natales 25 y 60. Se evaluaron la coordinación motora, el equilibrio y el aprendizaje motor mediante la prueba de rota rod. También se analizó la coordinación de las extremidades anteriores y posteriores, midiendo el rendimiento de las ratas en la viga de escalera horizontal. Si bien no se encontraron diferencias ente los grupos Stv y control en el rota rod, si se detectaron diferencias en la escalera horizontal: los animales del grupo Stv presentaron un mayor número de déficits en ambas extremidades, evidenciado por un aumento en el número de resbalones principalmente de las patas traseras al atravesar la viga (t-test, $p<0.01$). Para explorar la implicancia del sistema dopaminérgico, se estudiaron la respuesta hedónica de los animales a una solución de sacarosa al 2% y la expresión del transportador de dopamina (DAT) en el núcleo accumbens (nAcc) y la corteza prefrontal medial (mPFC). Los animales del grupo Stv presentaron anhedonia (insensibilidad a la recompensa, $p<0.05$) y una menor expresión del DAT en la mPFC, sin registrarse cambios significativos en el nAcc. En conjunto, estos resultados demuestran que el consumo temprano y crónico de stevia produce alteraciones del sistema mesolímbico dopaminérgico y de conductas asociadas a este sistema. PICT-1695/2020.

BQFINE.2

LA GENISTEÍNA (GEN) REVIERTE EL PERFIL NEUROINFLAMATORIO Y EL DÉFICIT COGNITIVO EN UN MODELO MURINO DE SÍNDROME METABÓLICO (SM)

Ronchetti SR[1], Labombarda F[1,2], Roig P[1], De Nicola AF[1,2], Pietranera L[1,2]
[1]Laboratorio de Bioquímica Neuroendocrina, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME)-CONICET, [2]Depto de Bioquimica Humana. Facultad de Medicina UBA.
E-mail: sronchetti55@gmail.com

El SM es el término médico para la conjunción de al menos tres de los siguientes trastornos metabólicos: obesidad abdominal, hipertensión arterial, hiperlipidemia, hiperglucemia y resistencia a la insulina. Nuestro modelo, la rata espontáneamente hipertensa (SHR), es un modelo animal aceptado para el estudio del SM humano cuando recibe una dieta alta en grasa y carbohidratos. En estudios anteriores hemos logrado caracterizar parcialmente la encefalopatía asociada al síndrome metabólico: encontramos un aumento en la reactividad astrocitaria y microglial tanto en el hipocampo como en la corteza prefrontal, una disminución en la neurogénesis en el giro dentado del hipocampo y un deterioro cognitivo temprano.
La GEN es un fitoestrógeno encontrado en la soja con conocidos efectos neuroprotectores en distintos modelos de enfermedades neurodegenerativas. Este compuesto es un agonista de varios receptores estrogénicos conocidos como el ERα, el ERβ y el receptor de membrana GPER pero no se le conocen efectos secundarios cancerígenos ni feminizantes a nivel sistémico como a los estrógenos clásicos. En estudios previos, observamos en nuestro modelo un cambio en la distribución fenotípica de las microglías presentes tanto en el giro dentado como en la región CA1 del hipocampo y en la corteza prefrontal que se revierte con un tratamiento de inyecciones diarias de 10mg/kg de GEN durante 2 semanas.

En este trabajo, logramos a través de inmunohistoquímica fluorescente colocalizar microglias IBA1 + con marcadores pro y antiinflamatorios de microglías. Como marcador proinflamatorio utilizamos el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) y como marcador antiinflamatorio la arginasa (Arg-1). En los animales con SM encontramos en ambas zonas estudiadas del hipocampo un aumento en la proporción de microglías proinflamatorias sobre el número total de microglías en comparación con los controles metabólicamente sanos que fue revertido por el tratamiento con GEN. En cuanto a las microglías antiinflamatorias, observamos una disminución en la proporción de microglías antiinflamatorias de los animales con SM que aumentó fuertemente con el tratamiento. Además, continuamos caracterizando el déficit cognitivo a través de un Y-MAZE discontinuo (d-YMAZE). Para evaluar este proceso a fondo, avanzamos con la caracterización de la expresión del ARNm de citoquinas y factores de transcripción pro y antiinflamatorios a partir de la extracción total de ARN de los hipocampos de los animales con SM. La expresión fue medida a través de RT-PCR.
Estos resultados muestran que la GEN tuvo efectos neuroprotectores y antiinflamatorios para la encefalopatía asociada al SM y abren una veta hacia una posible terapia neuroprotectora para la enfermedad.

BQFINE.3

EFECTOS DE LA MODULACION DEL RECEPTOR DE MINERALOCORTICOIDES (MR) EN LA ENCEFALITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL (EAE)

Veloso F[1], Lima A[1], Roig P[1], De Nicola AF[1,2], Garay LI[1,2]
[1]Laboratorio de Bioquímica Neuroendocrina, Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET, Obligado 2490, 1428 Buenos Aires, Argentina,[2]Departmento de Bioquímica Humana, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, 1121 Buenos Aires, Argentina.
E-mail: l.garay@ibyme.org.ar

Datos de la literatura demuestran un rol del receptor de mineralocorticoides (MR) en la respuesta inmune innata y adaptativa. El perfil proinflamatorio está ligado directamente a la activación del MR no solo en enfermedades cardiovasculares, sino en otras patologías relacionadas a la autoinmunidad, enfermedad renal crónica y obesidad. MR y GR unen corticosterona, aunque con diferente grado de afinidad. En este estudio se evaluó si la modulación farmacológica del MR con el agonista desoxicorticosterona (DOCA) y el antagonista espironolactona (SPIRO) influencia los niveles de corticosterona plasmática, la neuroinflamación y la neurodegeneración en la medula espinal de ratones con encefalitis autoinmune experimental (EAE), modelo de Esclerosis Múltiple. Los animales recibieron tratamiento desde el día 1 hasta el sacrificio en el día 17 post-inducción y se dividieron en los siguientes grupos experimentales: EAE+DOCA (0.75mg/kg s.c cada 3 días), EAE+DOCA+SPIRO (espironolactona: 25 mg/kg i.p diaria), EAE tratado con vehículo (EAE+VEH) y Control (CTRL). El tratamiento con el antagonista del MR (a) disminuyó significativamente los RNAm de los parámetros inflamatorios TLR4 ($p<0.05$), IL-1β ($p<0.01$) y CD11b ($p<0.05$), el % de área infiltrada ($p<0.01$) y la gliosis reactiva (número de células GFAP+ e IBA1+ ; $p<0.05$ para ambos) vs EAE+DOCA (b) aumentó el área inmunoreactiva del marcador neuronal NeuN+ ($p<0.05$ vs EAE+DOCA y EAE+VEH) (c) mejoró el desempeño motor en el test de rotarod ($p<0.01$) y los síntomas clínicos ($p<0.05$) vs EAE+DOCA. Interesantemente, los niveles de corticosterona plasmática aumentaron en el grupo EAE+VEH

y EAE+DOCA vs CTRL ($p<0.05$) mientras que la administración de SPIRO incrementó aún más los niveles de corticosterona vs EAE+DOCA ($p<0.05$). Hipotetizamos que el bloqueo del MR con SPIRO atenuó la neuropatología asociada a la inflamación de la médula espinal y que los efectos antiinflamatorios observados en el grupo EAE+DOCA+SPIRO podrían deberse a la excesiva exposición a glucocorticoides.

BQFINE.4

EXPOSICIÓN AL ETANOL Y AL RUIDO EN LA ADOLESCENCIA: CAMBIOS ASOCIADOS AL SEXO EN EL ESTADO OXIDATIVO Y CONDUCTAS DEPENDIENTES DEL HIPOCAMPO

Corsi GN[1], Araujo Añón LC[1], Serra HA[2], D´Alessio L[2,3], Guelman LR[1,2], Molina SJ[1]
[1]Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO, UBA-CONICET). Buenos Aires, Argentina.), [2]Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. 1ª Cátedra de Farmacología. Buenos Aires, Argentina. [3]Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Biología Celular y Neurociencias (IBCN, UBA-CONICET). Buenos Aires, Argentina.
E-mail: gonza_corsi@hotmail.com

El consumo de etanol (EtOH) y la exposición a entornos ruidosos son frecuentes en la adolescencia humana, pudiendo alterar los procesos normales de neurodesarrollo. Una estructura cerebral que puede ser afectada es el hipocampo (HC), lo cual se pudo evidenciar mediante la utilización de modelos animales. Considerando que el consumo de EtOH puede inducir cambios conductuales, que podrían diferir dependiendo del sexo, el objetivo de este estudio fue comparar los efectos del consumo de EtOH combinado con la exposición al ruido sobre el estado oxidativo y diferentes conductas dependientes del HC en ratas adolescentes de ambos sexos. En el día postnatal (DP) 28, ratas Wistar fueron sometidas a un paradigma de consumo voluntario intermitente de EtOH (11 sesiones secuenciales de 6%, 8%, 10% EtOH/1% sacarosa). En los días DP 39 y 46, las ratas fueron expuestas a ruido blanco (95-97 dB, 2h). Finalmente, en el DP 52, se midió la concentración de EtOH en sangre, se evaluó la conducta, así como los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la actividad de catalasa en el HC. Los resultados mostraron que el EtOH y el ruido, por separado o combinados, alteran la conducta exploratoria, generando un descenso en las hembras y un aumento en los machos. Además, la exposición únicamente al ruido generó un déficit en la memoria de habituación a largo plazo y un descenso en la evaluación de riesgos en ambos sexos, así como un déficit en la memoria espacial solo en machos. Por el contrario, en las hembras, el ruido causó un aumento en la actividad de catalasa, mientras que la combinación con EtOH produjo un descenso en la actividad de esta enzima y alteraciones en la memoria espacial. Por otro lado, la combinación de estímulos causó un descenso en los niveles de ROS solo en machos. No se encontró EtOH en sangre al finalizar la última sesión de consumo, ni se observaron cambios significativos en el comportamiento relacionado a la ansiedad y la locomoción. En conclusión, la exposición al EtOH y el ruido producen efectos distintos en la conducta y el estado oxidativo del HC dependiendo del sexo de los animales. En los machos, el ruido por sí solo ocasiona mayores alteraciones conductuales que la combinación de estímulos, sugiriendo que el EtOH podría activar mecanismos antioxidantes capaces de

mantener un estado oxidativo más reducido, permitiendo afrontar el estrés por el ruido. Por el contrario, las hembras serían más susceptibles a la combinación de estímulos, la cual promueve una menor activación de catalasa y una mayor desprotección a eventuales aumentos de ROS.

BQFINE.5

ACCION DEL SOBRECONSUMO DE *Stevia rebaudiana* SOBRE EL INTERÉS REPRODUCTIVO Y LA CONDUCTA DE TIPO ANSIOSA

Coirini H, Kruse MS, Rey M
Laboratorio de Neurobiología, IBYME-CONICET.
E-mail: mariana.rey@ibyme.conicet.gov.ar

En el último tiempo, la sacarosa en alimentos y bebidas ha sido reemplazada por edulcorantes no calóricos. Entre estos se encuentra la stevia, proveniente de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae), nativa de la zona tropical de Sudamérica. Aunque existe controversia sobre su consumo, diversos estudios señalan que la stevia afecta la capacidad reproductiva, mientras que otros destacan propiedades beneficiosas. En estudios previos observamos que la administración de stevia a ratas hembra (H) produce cambios en el ciclo estral, en la capacidad de preñez, en el tamaño de las camadas y en la sobrevida de las crías. El objetivo de este trabajo fue evaluar si este edulcorante afecta el interés reproductivo y la conducta de tipo ansiosa. Ratas H (SD) recibieron agua (grupo CON, n=8) o agua endulzada con stevia (grupo STE, n=8) desde el DPN21. Entre los DPN 74-82 se realizó el test de interés reproductivo (TIR) y el de laberinto en cruz elevado (EPM). Las actividades fueron grabadas y los videos se analizaron con el programa ANY-Maze©. En el TIR la H (en proestro) fue colocada durante 10 min, en un dispositivo en forma de T, donde en cada extremo, detrás de una malla metálica, se encontraban un macho activo, una hembra en proestro y una hembra ovariectomizada. Se calculó el porcentaje de preferencia (%P), definido como el tiempo de permanencia con el macho sobre el tiempo total pasado en proximidad con cada animal estímulo. El EPM consistió en colocar, durante 5 min, a la H (en diestro) en una cruz elevada en el suelo, donde dos brazos abiertos (BA) convergen en un centro (C) con dos brazos cerrados (BC).Se determinó el número de entradas (E), el tiempo (T) y la distancia recorrida (D) en cada una de las zonas, la actividad de acicalado (A), exploración vertical (EV) y toma de riesgo (TR). El grupo STE presentó una reducción %P respecto a CON (p=0,0343). En el BC de EPM, el grupo STE presentó menos E (23,24%; p=0,0410), T (18,23%; p=0,0485) y D (24,83%; p=0,0142) que el grupo CON. No se encontraron diferencias en A y EV. STE presentó una mayor TR que CON (109,71%; p=0,0357). Estos resultados indican que el sobreconsumo de stevia en ratas H puede afectar el interés reproductivo, incrementar la toma de riesgo y generar un efecto ansiolítico. Consideramos que estos hallazgos resultan relevantes para las recomendaciones médicas del consumo de *S. rebaudiana* (PICT2019-623).

BQFINE.6

LA NEUROINFLAMACIÓN DE LA MÉDULA ESPINAL INDUCIDA POR EL ESTRÉS ES REDUCIDA POR EL CORT113176 (DAZUCORILANT), UN MODULADOR ESPECÍFICO DEL RECEPTOR DE GLUCOCORTICOIDES

Banzán C[1], González Deniselle MC[1,2], Lima A[1], De Nicola AF[1,3] Meyer M[1]
[1]Laboratorio de Bioquímica Neuroendocrina, Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET, Obligado 2490, 1428 Buenos Aires, Argentina, [2]Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina UBA, Paraguay 2155, 1425 Buenos Aires, Argentina, [3]Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina UBA, Paraguay 2155, 1425 Buenos Aires, Argentina.
E-mail: c.banzan@gmail.com

Los glucocorticoides ejercen efectos antiinflamatorios, antiproliferativos e inmunosupresores. Paradójicamente, también pueden aumentar la inflamación, particularmente en el sistema nervioso, como se muestra en el síndrome de Cushing y los trastornos neurodegenerativos de los seres humanos y en modelos de enfermedades humanas. El modelo de ratón Wobbler de esclerosis lateral amiotrófica muestra hipercorticoidismo y neuroinflamación que remitieron con el tratamiento con el modulador del receptor de glucocorticoides (GR) Dazucorilant (CORT113176). Este efecto sugiere que el GR media los efectos no deseados crónicos de los glucocorticoides. Ahora probamos esta hipótesis utilizando un modelo de estrés crónico que se asemeja a la condición del ratón Wobbler. Los ratones NFR/NFR fueron divididos en 3 grupos: un grupo permaneció como control, otro grupo fue sometido a un protocolo de estrés de restricción/rotación y por último otro grupo recibió el estrés y el tratamiento de CORT113176 durante 3 semanas. Determinamos los ARNm o proteína reactiva para los factores proinflamatorios HMGB1, TLR4, NFkB, TNFα, marcadores de microgliosis (Iba, CD11b, receptor purinérgico P2RY12) así como también corticosterona sérica. Demostramos que el estrés crónico produjo altos niveles de corticosterona sérica, disminuyó el peso corporal y del bazo, produjo microgliosis y aumentó los mediadores proinflamatorios. En ratones estresados, la modulación del GR con CORT113176 redujo la microgliosis Iba+, los ARNm CD11b y P2RY12, las células inmunorreactivas HMGB1+ y los ARNm TLR4 y NFkB frente a ratones sometidos únicamente a estrés. Los efectos de CORT113176 indican que los glucocorticoides probablemente estén involucrados en la neuroinflamación. Por lo tanto, la modulación del GR sería útil para atenuar el componente inflamatorio de los trastornos neurodegenerativos.

BQFINE.7

ESTUDIO DE LA RESPUESTA TRANSCRIPTÓMICA TRAS LA INGESTA DE SANGRE EN *Rhodnius prolixus*, VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Capriotti N[1], Traverso L[1], Sierra I[1], Latorre Estivalis J[2], Ianowski JP[3], Ons S[1]
[1]Laboratorio de Neurobiología de Insectos (v. CENEXA, CONICET-UNLP), CREG-FCE-UNLP, [2]IFIBYNE-UBA-CONICET, [3]Department of Anatomy Physiology and Pharmacology. University of Saskatchewan.
E-mail: nataliacapriotti@conicet.gov.ar

Rhodnius prolixus es un insecto hematófago obligado capaz de ingerir hasta 10 veces su peso corporal en sangre en un intervalo de tiempo acotado. Este proceso activa mecanismos

esenciales para mantener la homeostasis del insecto, afectando la composición de iones y fluidos en la hemolinfa, debido al rápido consumo de grandes volúmenes de sangre. Este fenómeno genera un estrés osmótico que exige un rápido mecanismo diurético y antidiurético. Estos insectos actúan como vectores del parásito *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad Chagas, a través de la deposición de heces/orina que se eliminan después de la alimentación. Por tanto, el entendimiento de la diuresis como vínculo importante en la transmisión de esta enfermedad y por ende el estudio de los factores implicados en su regulación adquieren gran relevancia en el entendimiento de este proceso vital. En este trabajo, presentamos un estudio transcriptómico que investiga la expresión diferencial de genes, 13 horas después de la ingesta de sangre, en distintos tejidos del insecto. Ninfas de quinto estadio de *R. prolixus* fueron alimentadas y se disecaron los tejidos de interés: intestino anterior, túbulos de Malpighi y sistema nervioso. Posteriormente, se realizó la extracción de ARN total, se secuenciaron un total de 24 bibliotecas (n=4 para cada condición/tejido y se obtuvieron lecturas de 150 bp mediante la tecnología de secuenciación de Illumina. El análisis de calidad y completitud de los datos obtenidos mostró resultados satisfactorios. La evaluación de la expresión diferencial reveló que, tras 13 horas de la alimentación, más de un centenar de transcritos mostraron cambios en su expresión en los tejidos estudiados en comparación con los tejidos del grupo de control (sin alimentación con sangre). Observamos que los transcritos expresados diferencialmente estaban relacionados con el sistema neuroendocrino, que libera aminas biogénicas y neuropéptidos, actuando como hormonas diuréticas o antidiuréticas. Estas hormonas interactúan con diversos receptores acoplados a proteínas G vinculados a sistemas de segundos mensajeros, influyendo en los transportadores de iones y acuaporinas, y regulando así la secreción de líquidos. Muchos de los hallazgos de este estudio han sido previamente reportados, lo que respalda las hipótesis sobre el papel de estos genes en los mecanismos de alimentación, diuresis y excreción. Esta investigación amplía el conocimiento fisiológico y molecular, y nos permite una mejor identificación y comprensión de las moléculas reguladoras de la diuresis y la excreción. A su vez, ofrece una prometedora fuente de blancos para el control de otras especies perjudiciales.

BQFINE.8

REACTIVIDAD GLIAL EN EL ASTA VENTRAL DE RATONES HEMBRA NFR/WR: UN MODELO DE SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA A LA DEGENERACIÓN DE MOTONEURONAS

Banzán C[1], Meyer M[1], Esperante I[1], Lima A[1], Roig P[1], De Nicola AF[1,2], González Deniselle MC[1,3]

[1]Laboratorio de Bioquímica Neuroendócrina, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), CONICET, Bs. As., Argentina, [2]Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA, Bs. As., Argentina, [3]Unidad Académica 1, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, UBA, Bs. As., Argentina.

E-mail: c.banzan@gmail.com

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a las motoneuronas superiores e inferiores, lo que conduce a una discapacidad significativa. La ELA es más prevalente en hombres, mientras que las mujeres suelen experimentar el inicio de la misma después de la menopausia, lo que indica un papel crucial de los esteroides

sexuales en la susceptibilidad a la ELA. El ratón Wobbler (wr/wr) es un modelo bien establecido para la ELA. La mutación en el gen wr afecta la proteína de transporte vesicular (Vps) 54, lo que resulta en una enfermedad de motoneuronas en ratones homocigotas (wr/wr). En contraste, los ratones heterocigotas (NFR/wr) muestran un fenotipo normal. Aquí analizamos si las hembras heterocigotas NFR/wr desarrollan signos asociados con la neurodegeneración. Datos previos mostraron que las células gliales de Wobbler presentan una disminución en la inmunorreactividad (IR) de la glutamina sintetasa (GS) en la médula espinal. La GS es necesaria para desintoxicar el glutamato en glutamina. Para explorar si esta anormalidad persistía en ratones NFR/wr, analizamos el número de astrocitos con proteína fibrilar ácida glial (GFAP) + y células GS+ por unidad de área en el asta ventral. En ratones NFR/wr de 12 meses, encontramos un aumento de 2 veces en el número de células GFAP+ por área con una reducción de células GS-IR por área ($p<0.05$ vs NFR/NFR). La GS también fue cuantificada en la corteza motora (M1), la cápsula interna, el hipocampo (CA1 y giro dentado-DG). Sin embargo, solo se encontró una leve reducción en la cápsula interna. También estudiamos el rendimiento motor en el rotarod y la actividad en el campo abierto. Encontramos que los ratones NFR/NFR de 12 meses mostraron un mejor rendimiento que los NFR/wr ($p<0.05$) en la prueba de rotarod. De manera similar, la actividad en el campo abierto fue mayor en los ratones NFR/NFR de 12 meses. Las hembras NFR/wr de 4 meses mostraron un aumento significativo de células GFAP-IR por área con valores similares de células GS-IR por área en el asta ventral, pero este cambio se asoció con un mejor rendimiento ($p<0.01$) en el rotarod. Nuestros datos apoyan que existe una susceptibilidad genética dependiente de la edad para una disminución de GS-IR asociada con astrogliosis GFAP+. Estos cambios observados en ratones hembras NFR/wr, sugiere que la mutación de un solo alelo podría tener consecuencias patológicas y conductuales.

BQFINE.9

EL TRATAMIENTO COMBINADO DE ESTRADIOL Y PROGESTERONA PREVIENE LA INESTABILIDAD GENÓMICA INDUCIDA POR LA OVARIECTOMÍA EN EL HIPOCAMPO EN UN MODELO DE MENOPAUSIA EN RATAS

Villa I[1], Avaca M[1], Codagnone M[2], Rodríguez F[3], Höcht C[4], Ortega H[3], Reinés A[2], Stevnsner T[5], Zárate S[1]

[1]Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED UBA-CONICET), [2]Instituto de Biología Celular y Neurociencia (IBCN UBA-CONICET), [3]Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET UNL-CONICETLitoral), [4]Cátedra de Farmacología, FFyB UBA, [5]Department of Molecular Biology and Genetics, Aarhus University, Denmark.

E-mail: szarate@gfmed.uba.ar

La pérdida de hormonas ováricas durante la menopausia natural o inducida está asociada con cambios metabólicos, alteraciones del humor y deterioro cognitivo. Las hormonas ováricas coordinan e integran el metabolismo celular y la actividad mitocondrial, por lo que no es sorprendente que la senescencia reproductiva tenga un efecto negativo sobre la función mitocondrial, afectando directamente a órganos que dependen fuertemente de dichas organelas, como el cerebro. En trabajos previos, validamos un modelo de menopausia inducida por ovariectomía y terapia de reemplazo hormonal con estradiol (E) y progesterona (P) en ratas en términos de niveles hormonales y comportamiento. En este trabajo

caracterizamos el perfil bioquímico sérico y evaluamos la estabilidad del ADNmt en el hipocampo y la corteza cerebral. Ratas Wistar adultas fueron sometidas a ovariectomía (OVX) o cirugía simulada (SHAM). En paralelo, algunas ratas OVX fueron implantadas s. c. con cápsulas de silastic conteniendo 1mg E y/o 50mg P. Luego de 12 semanas, se recolectaron muestras de plasma para el análisis bioquímico y se disecaron los hipocampos y las cortezas cerebrales de los animales para la evaluación de la integridad del ADNmt mediante PCR de amplicón largo. No encontramos diferencias significativas para los parámetros de colesterol total, HDL, LDL, glucemia, triglicéridos, proteínas totales ni albúmina entre los grupos experimentales (ANOVA). En el hipocampo, observamos que la ovariectomía indujo un aumento de la frecuencia de lesiones en el ADNmt respecto a los animales SHAM ($p<0.05$, test t de Student), mientras que sólo el tratamiento hormonal combinado de E + P previno la acumulación de dichas lesiones en esta área cerebral ($p<0.05$, ANOVA). Por otro lado, la ovariectomía no indujo un aumento de lesiones en el ADNmt en la corteza cerebral respecto de animales SHAM. Sorprendentemente, el tratamiento con E redujo los niveles de daño al ADNmt con respecto a animales OVX y el tratamiento combinado de E+P previno el efecto beneficioso del E sobre la integridad del ADNmt ($p<0.01$, ANOVA). Nuestros resultados muestran que la pérdida de hormonas ováricas afecta la integridad del ADNmt en forma diferencial entre regiones cerebrales, siendo el hipocampo más vulnerable a la falta de dichas hormonas. Estos resultados reafirman la necesidad de seguir investigando sobre los efectos beneficiosos de la terapia de reemplazo hormonal a nivel cerebral para garantizar una mejor calidad de vida a las mujeres en esta etapa de la vida.

VIERNES 6 DE DICIEMBRE

BIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y REPRODUCCIÓN 1 (REP-3)

AULA BIBLIOTECA (PB) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Evelin Elia y Dra. Candela González

REP-3.1

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO DE HAMBREADO Y RECUPERACIÓN (SER) EN ESPERMATOZOIDES CRIOPRESERVADOS DE BOVINOS Y EQUINOS

Arroyo-Salvo CA[1], Río S[1], Bogetti ME[1], Gambini A[2], Gervasi MG[3], Perez-Martinez S[1]
[1]Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET-UBA, Argentina, [2]School of Agriculture and Food Sustainability, The University of Queensland, Gatton, Queensland, Australia, [3]Department of Animal Science, UCONN, USA.
E-mail: perezms@fmed.uba.ar.

La producción de embriones in vitro en animales de granja ha ido aumentando progresivamente en los últimos años. Aunque la fertilización in vitro convencional (FIV) se utiliza ampliamente en la industria bovina, esta técnica sigue siendo ineficiente en la especie equina debido a una capacitación inadecuada de los espermatozoides in vitro. Por el contrario, la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se utiliza de manera efectiva en caballos, pero es subóptima en el bovino. El desarrollo de nuevos tratamientos para mejorar las biotecnologías reproductivas como FIV e ICSI y al mismo tiempo mejorar la calidad del

embrión, es crucial para ambas industrias. Resultados previos de nuestro grupo demostraron que el tratamiento de “hambreado y recuperación de espermatozoides” (SER, en inglés) mejoró la función espermática, la fecundación y las tasas de desarrollo embrionario tras FIV en ratones, y mejoró la fecundación y el desarrollo embrionario luego de la ICSI en bovinos. En este estudio, comparamos los efectos del hambreado (ST, del inglés Starved) y la recuperación sobre la función espermática y los eventos relacionados con la capacitación en espermatozoides bovinos y equinos. Los espermatozoides criopreservados fueron incubados en un medio en ausencia de piruvato y lactato (bovinos) o en ausencia de piruvato, lactato y glucosa (equinos) (Hambreados-ST), y luego fueron recuperados en el medio completo respectivo (SER). Observamos que la motilidad de los espermatozoides equinos se detuvo tras aproximadamente 20 minutos de ST y que la motilidad total (MT%) y progresiva (MP%) fueron restauradas a los valores del control (medio capacitante) tras la reintroducción de las fuentes de energía. Esta recuperación estuvo acompañada por un aumento de los parámetros de velocidad curvilínea, el desplazamiento lateral de la cabeza y una disminución de la rectitud, evaluados por CASA. En contraste, los espermatozoides bovinos mantuvieron su motilidad durante al menos 240 minutos en la condición hambreados, con un aumento de la MT% y MP% tras la recuperación a los 60 minutos. El ST también redujo el potencial de membrana mitocondrial e incrementó los niveles intracelulares de Ca^{2+} en los espermatozoides equinos, mientras que no se observaron efectos en los espermatozoides bovinos. Además, los espermatozoides equinos mostraron un mayor porcentaje de espermatozoides vivos con el acrosoma reaccionado y mayor viabilidad espermática en comparación con el control, lo que no fue observado en los espermatozoides bovinos. Ninguna de las condiciones indujo cambios en los sustratos fosforilados por PKA ni en la fosforilación de tirosina en ambas especies. Estos resultados indican diferencias especie-específicas en el comportamiento de los espermatozoides bajo condiciones ST y SER, y sugieren que los espermatozoides bovinos y equinos utilizan diferentes vías metabólicas para inducir y mantener la función espermática y los eventos relacionados con la capacitación. Investigaciones futuras se centrarán en esclarecer estas diferencias, específicamente las vías metabólicas alternativas utilizadas por los espermatozoides bovinos en condiciones ST, y el efecto del tratamiento SER en la mejora de los resultados de FIV e ICSI en ambas especies.

REP-3.2

REGULACIÓN EPIGENÉTICA: EXPRESIÓN DE *DNMT3A* Y *TET1* EN EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO* VITRIFICADOS

Urrutia Luna N[1], Yavorsky M[2], López S[2], González Altamiranda E[2], Ríos G[1]
[1]Laboratorio de Producción in vitro de embriones, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS-CONICET),[2]Laboratorio de Virología, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS-CONICET).
E-mail: nai.lunaa@gmail.com

La criopreservación puede influir en la regulación epigenética del embrión alterando la expresión génica con impacto en su calidad. Una correcta metilación del ADN constituye una modificación epigenética esencial para un desarrollo embrionario normal. En bovinos, las proteínas, DNMT3A y 3B, están implicadas en los procesos de metilación *de novo* en el

desarrollo embrionario, en estadios desde mórula a blastocisto. Por su parte, las proteínas TET median la desmetilación del ADN, principalmente TET1, se establece en etapas posteriores a la activación del genoma embrionario indicando un ADN activo que funciona promoviendo la pluripotencialidad de la masa celular interna en blastocistos. El objetivo de este estudio fue caracterizar el efecto de la vitrificación sobre los mecanismos regulatorios implicados en la reprogramación epigenética de los embriones producidos *in vitro*. Los embriones producidos *in vitro* fueron obtenidos a partir de ovocitos madurados *in vitro* desde ovarios provenientes de un frigorífico de la zona. La fecundación *in vitro* se realizó a partir de pajuelas de semen congelado. Para evaluar la expresión de los genes *dnmt3a* y *tet1*, embriones de día 5 (16 células) y día 7 (blastocisto) se almacenaron en un buffer de lisis -80° C para su posterior estudio. Por otro lado, siguiendo el protocolo del laboratorio con el dispositivo Cryotop (Kitazato®) como soporte se vitrificaron embriones en estadio blastocisto. Luego del calentamiento, los embriones se recuperaron 3 horas en incubadora a 38.5 °C, 5% CO_2 y N_2, se evaluó su reexpansión y se almacenó en buffer de lisis a -80° C. La extracción de ARN total de los embriones con un kit específico para la extracción de pocas células (Pico-Pure®), y se sintetizo el ADNc mediante un kit (Roche). Por medio de la técnica de PCR cuantitativa con SYBR Green, eficiencia de amplificación (R^2>0.99), se evaluó la expresión relativa de los genes *dnmt3a* y *tet1* utilizando como gen endógeno *gapdh.* El gen de interés *dnmt3a* normalizado respecto al gen endógeno en el día 7 evidencia una sobreexpresión respecto al grupo de día 5, mientras que el gen *tet1* muestra una disminución de la expresión. Este mismo patrón se observó en blastocistos vitrificados respecto a los frescos. Estos resultados evidencian un aumento de los mecanismos relacionados con la metilación *de novo* y una disminución concomitante de aquellos relacionados con la desmetilación, durante el establecimiento del estadio de blastocisto. Por otro lado, se determinó que la vitrificación afecta el estado de metilación en blastocistos, modificando la expresión de genes reguladores de la metilación y desmetilación como son *dnmt3a* y *tet1*. La expresión de los genes de estas proteínas puede considerarse marcadores del efecto negativo de la vitrificación en los embriones producidos *in vitro.*

REP-3.3

NUEVOS ROLES DEL CANAL "CATSPER" EN LA PENETRACIÓN DEL CUMULUS Y FUSIÓN DE GAMETAS DURANTE LA FERTILIZACIÓN

González SN[1], Sulzyk V[1], Rebagliati Cid A[1], Weigel Muñoz M[1], Visconti P[2], Cuasnicú PS[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Vuelta de Obligado 2490, C1428ADN, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, [2]Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Massachusetts, 01003 Amherst, MA, USA.
E-mail: gonzalezsolnat@gmail.com

CatSper (Cation channel of Sperm) es reconocido como el principal canal de Ca^{2+} en espermatozoides de mamífero, esencial para el inicio y mantenimiento de la hiperactivación (HA), un tipo de motilidad espermática vigorosa crucial para que los espermatozoides lleguen al sitio de fertilización (ampulla) y penetren la zona pellucida (ZP) que rodea el ovocito. Deleciones y/o mutaciones en el gen que codifica para CatSper resultan en fenotipos de infertilidad tanto en humanos como en ratones, destacando la importancia de este canal para la fertilidad masculina. Aunque el papel de CatSper en la penetración de la ZP se encuentra

establecido, su relevancia en otras etapas de la fertilización aún no ha sido esclarecida. Para tal fin, se llevaron a cabo ensayos de fertilización *in vitro* en los cuales complejos cúmulus-ovocito (COC), ovocitos sin cúmulus pero con ZP, y ovocitos libres de cumulus y ZP fueron co-incubados con espermatozoides capacitados control y CatSper knockout (KO), evaluándose el porcentaje de fertilización por tinción con Hoescht. Los resultados mostraron, tal como ha sido reportado previamente, una falla completa en la fertilización de COC y de ovocitos con ZP expuestos a espermatozoides KO, la cual no pudo ser prevenida por el ablandamiento de la ZP con glutatión (GSH), indicando el severo defecto en la hiperactividad de los espermatozoides carentes de CatSper. Con el objetivo de evaluar el rol de CatSper en la etapa de penetración del cúmulus, COC fueron co-incubados con espermatozoides capacitados control o mutantes previamente teñidos con Hoechst, analizándose el número de espermatozoides dentro de la matriz del cúmulus luego de 15 min. Los resultados mostraron una disminución significativa en el número de espermatozoides KO presentes en el cúmulus comparado con los controles, indicando la relevancia de CatSper para la penetración del cúmulus. Notablemente, cuando se analizó la posible participación de CatSper en la fusión de las gametas mediante la fertilización *in vitro* de ovocitos sin ZP, observamos una disminución severa o completa en la fertilización, dependiendo de la concentración espermática. Estos defectos en la fusión espermatozoide-ovocito no podrían atribuirse a una falla en la reacción acrosomal espontánea o inducida ni en la relocalización de Izumo1 necesarios para la fusión de gametas ya que no se observaron diferencias en estos parámetros entre espermatozoides mutantes y control. En conjunto, nuestros resultados muestran, por primera vez, que CatSper no solo estaría involucrado en la penetración de la ZP sino también en etapas previas (penetración del cúmulus) y posteriores (fusión de gametas) de la fertilización. Mientras que la falta de hiperactividad de los espermatozoides mutantes podría explicar las fallas observadas en la penetración del cúmulus, el hecho de que la hiperactividad no sea requerida para la fusión de gametas sugiere la existencia de defectos adicionales asociados a la capacitación en los espermatozoides carentes de CatSper.

REP-3.4

EFECTO DEL TROLOX Y/O RESVERATROL EN LA VITRIFICACIÓN-ATEMPERADO SOBRE LA RECUPERACIÓN NUCLEAR Y CITOPLASMATICA DE OVOCITOS PORCINOS

Madrid Gaviria S[1,2], Morado S[1,2], Córdoba M[1,2], Cetica PD[1,2]
[1]Universidad de Buenos Aires - CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), [2]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA.
E-mail: stephmadridg@gmail.com

Las biotecnologías reproductivas en el porcino son esenciales para mejorar la eficiencia reproductiva y para desarrollar modelos de investigación biomédicos. La vitrificación de ovocitos podría ser esencial para la conservación de germoplasma, aunque aún no está del todo desarrollada en la especie. El objetivo fue evaluar el efecto de los antioxidantes trolox y/o resveratrol en la vitrificación y atemperado de ovocitos porcinos maduros sobre la recuperación nuclear y citoplasmática de los mismos. Los complejos ovocito-cumulus recuperados de ovarios de faena fueron madurados in vitro en medio 199 a 39°C por 44 h y

luego los ovocitos fueron denudados con hialuronidasa y vitrificados-atemperados (V/A) por el método Cryotech. Para evaluar el efecto de los antioxidantes, las soluciones de vitrificación y atemperado (control) fueron suplementadas con resveratrol y/o trolox a una concentración de 2 µM y 50 µM, respectivamente. Luego de V/A, los ovocitos fueron cultivados durante 3 horas para permitir su recuperación. Para evaluar la recuperación nuclear, un grupo de ovocitos fueron teñidos con Hoechst 33342 (10 mg/l) para evidenciar la presencia de la metafase II (MII). Para evaluar la recuperación citoplasmática, un grupo de ovocitos fueron inseminados con $5x10^5$ espermatozoides/ml por 3.5 h y luego teñidos con Hoechst 33342 para observar fecundación a las 18 h (cabezas espermáticas descondensadas y/o la formación de pronúcleos). Ovocitos maduros sin ser V/A (frescos) fueron utilizados como controles positivos. Los datos fueron comparados con un análisis de Chi-cuadrado para datos no paramétricos, con un valor de $p<0,05$ como significativamente diferente. El número de ovocitos con MII fue significativamente menor en aquellos grupos que fueron V/A respecto al grupo de ovocitos frescos ($p<0,05$). A su vez, el grupo de ovocitos que fue V/A simultáneamente con trolox y resveratrol fue significativamente menor respecto al resto de los grupos de ovocitos V/A ($p<0,05$). En cuanto a la capacidad de los ovocitos para ser fecundados, no se encontraron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos estudiados. Sin embargo, se encontró una mayor tasa de polispermia para el grupo de ovocitos V/A con la combinación de ambos antioxidantes respecto al resto de los grupos ($p<0.05$). Así, la vitrificación y atemperado de ovocitos porcinos maduros produciría daños a nivel de la placa meiótica que impiden su total recuperación nuclear luego del proceso de criopreservación y el uso de trolox y/o resveratrol no mitigarían dicho daño. La recuperación citoplasmática de los ovocitos no se vería afectada en etapas tempranas del proceso de fecundación por la vitrificación y atemperado y la combinación de ambos antioxidantes en las soluciones de vitrificación y atemperado tendrían un efecto adverso respecto de ambos compuestos por separado.

REP-3.5

EFECTO DEL AGREGADO DE COLESTEROL SOBRE EL ORDEN DE LA MEMBRANA Y EL VOLUMEN DE AGUA OSMÓTICAMENTE ACTIVA DEL OVOCITO BOVINO

Juan de Paz L[1], Ríos GL[2], Robert MC[1], Carnevale M[3], Antollini SS[4], Buschiazzo J[2]
[1]Centro Binacional de Investigaciones en Criobiología Clínica y Aplicada (UNR), [2]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (INTA-CONICET), [3]Centro Regional de Energía y Ambiente para el Desarrollo Sustentable (CONICET-UNCA), [4]Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (UNS-CONICET).
E-mail: ljuandep@fbioyf.unr.edu.ar

La exposición de los ovocitos a soluciones anisotónicas durante la criopreservación produce estrés osmótico y cambios abruptos en el volumen celular. Por otra parte, el descenso de la temperatura genera alteraciones de la membrana celular consecuentes a cambios en su fluidez. Teniendo en cuenta el rol del colesterol como modulador del orden lipídico de la membrana, hemos modificado el nivel de colesterol de ovocitos bovinos para hacerlos más resistentes a la criopreservación. El objetivo de este estudio fue evaluar el estado biofísico de la membrana celular en ovocitos cargados (+col) o no (ctr) con colesterol y determinar si estas variaciones modifican el volumen celular y el volumen de agua osmóticamente activa del

ovocito. Complejos ovocito-*cumulus* bovinos obtenidos de ovarios de frigorífico se cargaron con colesterol al final de la maduración *in vitro* por 45 min con 15 mM metil-β-ciclodextrina/colesterol. El estado biofísico de las membranas se evaluó post-maduración a temperaturas decrecientes (38,5°C a -15°C) mediante espectroscopía de fluorescencia usando la sonda Laurdan. Mediante modelado matemático de la respuesta osmótica y ensayos de exposición a soluciones de osmolalidad conocida, en ausencia de solutos permeables (ensayos de Boyle-van´t Hoff), se calculó el volumen de agua osmóticamente activa del ovocito a partir de imágenes registradas en condiciones iniciales y finales (10 min). Los perfiles de la polarización generalizada del Laurdan mostraron que los ovocitos +col tienen una membrana más fluida que los ctr a temperatura fisiológica. En el rango de los 20°C a los -5°C, los ovocitos +col mostraron un estado de la membrana más ordenado, mientras que entre los -5°C y los -15°C este efecto se revierte mostrando un estado más fluido que los ctr. En condiciones isotónicas, el volumen de los ovocitos no mostró diferencias significativas entre ambos grupos (ctr: V^0=0,70 ± 0,05 nL; +col: V^0=0,68 ± 0,06 nL; *p*=0,54). A partir de la exposición a soluciones de osmolalidad conocida (hipo-, iso- e hiperosmóticas), se determinó la fracción de volumen celular inactivo (b). Estas estimaciones permitieron calcular el volumen de agua osmóticamente activa ($W=V^0$ (1 – b)). El agregado de colesterol no afectó el W del ovocito (ctr: W=0,46 ± 0,06 nL; +col: W=0,48 ± 0,07 nL; *p*=0,61). Si bien los ovocitos bovinos +col muestran una membrana más fluida a temperatura fisiológica, un efecto que puede darse cuando la composición de la membrana plasmática es originalmente muy ordenada, esto no afectó el volumen celular en condiciones isotónicas ni el volumen de agua osmóticamente activa de los ovocitos. Por otra parte, el agregado de colesterol aumentó la fluidez de la membrana a muy bajas temperaturas, un efecto buscado para prevenir el daño causado por la criopreservación.

REP-3.6

LA ACETILACIÓN DE LISINAS MODULA LA ACTIVIDAD CATALÍTICA Y EL POSICIONAMIENTO DE PKA

Gentile I[1], Novero AG*[1], Curcio C[1], Matamoros Volante A[2], Biglione FA[1], Steeman TJ[1], Binolfi A[1], Rosano GL[1], Buffone MG[3], Krapf D[2], Stival C[#1], Krapf D[#1]*

[1]Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR- CONICET-UNR), [2]Department of Electrical and Computer Engineering, Colorado State University, Fort Collins, CO, United States, [3]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. [*];[#] Autores con contribución equivalente.

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

Los espermatozoides de mamíferos requieren un período de residencia en el tracto reproductivo femenino para adquirir capacidad fecundante, en un proceso denominado "capacitación". Este proceso puede lograrse in vitro al incubar los espermatozoides en un medio definido que induce la activación de la Proteína Quinasa A (PKA), un actor clave en la capacitación espermática. El paradigma clásico, indica que PKA se activa por unión directa de AMPc a sus subunidades regulatorias lo cual provoca la liberación de las subunidades catalíticas (PKAc). Sin embargo, recientemente se ha demostrado que los niveles de AMPc disminuyen después de 10 min de incubación en medio capacitante, mientras que la actividad enzimática de PKA permanece constante, sugiriendo que existen otros mecanismos que

modulan su actividad. En este sentido, un estudio previo identificó a PKAc acetilada en la Lys279 en espermatozoides humanos capacitados. Adicionalmente nuestro grupo ha encontrado que la inducción farmacológica de acetilación, aun en condiciones donde no aumenta el AMPc, produce la fosforilación de sustratos de PKA, de la misma forma que en condiciones capacitantes por aumento de AMPc. Estos resultados sugieren que la acetilación en Lys de PKAc podría constituir un mecanismo alternativo de su regulación. Con el objetivo de estudiar los efectos de la acetilación sobre la subunidad catalítica de PKA, se purificó una versión recombinante de $PKAc_{alpha1}$ de ratón ("rPKAc") y se la sometió a acetilación in vitro utilizando extractos de espermatozoides suplementados con AcetilCoA e inhibidores de deacetilasas. Nuestros resultados de espectrometría de masas indican que rPKAc puede ser acetilada por acetiltransferasas espermáticas en Lys168, Lys279 y Lys309. Ensayos de actividad quinasa revelaron que rPKAc acetilada exhibe una mayor actividad catalítica en comparación con su contraparte no acetilada, aunque este incremento no ocurre mediante aumento en la fosforilación de Thr197, un marcador tradicional del estado de activación de PKA. Experimentos de resonancia magnética nuclear, permitieron detectar cambios conformacionales inducidos por acetilación en regiones claves para la unión de ATP y la catálisis, sustentados por estudios cinéticos mostrando una disminución significativa de Km para ATP en la forma acetilada indicando una mayor afinidad por el ATP, lo que resulta en un incremento de su actividad catalítica. Finalmente, mediante microscopía de superresolución en espermatozoides murinos, observamos que la inducción de la acetilación induce la disociación de las subunidades catalíticas y regulatorias de PKA y su relocalización dentro de la célula, imitando los patrones observados durante la capacitación. En conjunto, nuestros hallazgos sugieren que la acetilación de lisinas regula a PKA en espermatozoides a través de múltiples mecanismos.

REP-3.7

ALTERACIONES MITOCONDRIALES OVÁRICAS EN EL SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO

Bordaquievich MF[1], Neira M[1], Velázquez C[1], Herrero Y[1],Parborell MF[1], Abramovich DN[1]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET). Vuelta de Obligado 2490-CABA
E-mail: m.bordaquievich@ibyme.org.ar

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es el trastorno endocrino más frecuente en mujeres en edad reproductiva, afectando entre el 5 y 10% de éstas. Este síndrome se caracteriza por alteraciones endocrinas, metabólicas y reproductivas. El SOP se presenta con producción excesiva de andrógenos, amenorrea u oligomenorrea, disminución de la fertilidad y ovarios poliquísticos hipertrofiados. Puede asociarse a patologías metabólicas como obesidad, resistencia a insulina o dislipemia. El objetivo de este trabajofue estudiarposibles alteraciones mitocondrialesováricas causadas por concentraciones elevadas de andrógenos. Para ello, utilizamos un modelo de SOP desarrollado en rata y células de granulosa de rata en cultivo. Para desarrollar el modelo de SOP, se administró a ratas Sprague Dawley prepúberes (21 días) el andrógeno dehidroepiandrosterona (DHEA) durante 15 días consecutivos por vía subcutánea a una dosis de 6mg/100g de peso corporal. El grupo control recibió el mismo volumen de aceite de maíz. El día 16, las ratas fueron sacrificadas y se recuperaron los

ovarios, tras lo cual se realizaron técnicas de western blot y tinción conpicrosirius red (PSR). También se aislaron células de granulosa de rata que fueron estimuladas con el andrógenodihidrotestosterona (DHT). Se incubaron por 24 hs y se recuperaron proteínas para realizar western blot. En el modelo de SOP in vivo, encontramos en el ovario, una disminución de TOMM20, lo que correlaciona con un menor número de mitocondrias; una disminución en mitofusina 2 y en DRP1, lo que indicaría alteraciones en la dinámica mitocondrial y una disminución en la deacetilasa sirtuina 1.Encontramos también un mayor depósito de fibras de colágeno en los ovarios SOP respecto a los controles. Al analizar los niveles de estas proteínas en un cultivo de células de granulosa estimuladas con DHT, no observamos diferencias significativas respecto a las no estimuladas. Estos resultados sugieren que existen alteraciones mitocondriales en el modelo de SOP en rata. En las condiciones de cultivo utilizadas, no observamos dichas alteraciones en células de granulosa aisladas. Se necesitan más estudios para analizar la participación de las mitocondrias en la fisiopatología del SOP y de esta forma, estudiar posibles terapias dirigidas a mejorar la funcionalidad mitocondrial en pacientes que presentan este síndrome.

REP-3.8

CAPACIDAD DIFERENCIAL DE PRODUCCIÓN DE POLIAMINAS Y SUS DERIVADOS MONOACETILADOS EN CÉLULAS TESTICULARES DE HÁMSTER DORADO INMADURO

Cavallotti Gomez A[1], Rossi SP[1,2], Caraballo Barral B[1], Calandra RS[1], Frungieri MB[1], Matzkin ME[1,2]

[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), [2]Cátedra 1, Bioquímica Humana, (FMED - UBA).

E-mail: m.matzkin@ibyme.org.ar

Las poliaminas (PA) pueden ejercer funciones vitales. Tanto niveles muy bajos como muy altos de PA pueden ser perjudiciales para la fisiología del tejido, por lo que deben mantenerse bajo una estricta regulación. Utilizando cromatografía en capa delgada (TLC), previamente hemos mostrado un método confiable y sensible para detectar PA en tejido testicular. Como primer objetivo de este trabajo, se cuantificaron los niveles testiculares de las tres PA principales (putrescina, espermidina y espermina; Pu, Sd, Sp, respectivamente) y de sus cuatro derivados monoacetilados principales (ac-PA) (N^1-Pu, N^8-Sd, N^1-Sd, N^1-Sp) en el testículo inmaduro (21 días) del hámster Dorado. La concentración testicular total de PA principales fue 188,7±6.1 mM (n=7). Como porcentaje del total de PA testicular, los niveles de Pu fueron los más bajos mientras que los niveles de Sp fueron los más altos (Pu: 4,1%^{a}; Sd: 38,7%^{b}; Sp: 57,1%^{c}; $p<0,05$; n=7). La concentración testicular total de ac-PA fue 27,3 veces más baja (6,99±0.1mM; n=7). En este caso, sólo los niveles de N^1-Pu difirieron significativamente de otras ac-PA (N^1-Pu: 32,48%^{a}; N^8-Sd: 22,31%^{b}; N^1-Sd: 23,18%^{b}; ^{N1}-Sp: 22,03%^{b}; $p<0,05$; n=7).

Como segundo objetivo, se evaluó qué poblaciones celulares del testículo del hámster Dorado inmaduro contribuyen (y en qué proporción) a la producción local de PA y ac-PA detectando sus niveles intracelulares y extracelulares. Para ello, se emplearon cultivos primarios de células de Sertoli (SC), células peritubulares testiculares (TPC), células de Leydig (LC) y células germinales (GC). Tras su incubación en condiciones basales (37°C; 1h), se detectaron

PA y ac-PA mediante TLC. Se encontraron variaciones entre las poblaciones celulares considerando, tanto, los niveles totales de PA (pmol/10^6 células) intracelulares (SC: 103,2[a]; TPC: 386,6[b]; LC: 323,5[b]; GC: 682,5[c]; $p<0,05$; n=3) y extracelulares (SC: 2434,4[a]; TPC: 1789,3[b]; LC: 767,3[c]; GC: 496,5[c]; $p<0,05$; n=3) como los niveles totales intracelulares de ac-PA (fmol/10^6 células; SC: 40,7[a]; TPC: 24,5[b]; LC: 31,7[c]; GC: 38,5[a]; $p<0.05$; n=3). No se pudieron detectar niveles extracelulares de ac-PA en el medio de incubación. Para cada población celular, se pudieron detectar diferentes proporciones de PA y/o ac-PA. Como porcentaje del total de PA o ac-PA intracelular, las especies más abundantes fueron Pu y N^8-Sd en SC; Sp y N^1-Sd en TPC; Sd y N^8-Sd en LC; Sp y N^1-Sd en GC. Por otro lado, Pu fue la PA predominante que se pudo detectar en el medio de cultivo celular de SC, TPC y LC (como porcentaje del total de PA extracelular) mientras que Sd fue la PA más abundante en el medio de cultivo celular de GC. En conjunto, nuestros resultados señalan una capacidad diferencial de producción de PA y ac-PA en poblaciones celulares testiculares del hámster Dorado inmaduro.

VIERNES 6 DE DICIEMBRE

BIOTECNOLOGÍA Y GENÉTICA (BTGN)
AULA COMEDOR (3° PISO) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dr. Juan Ignacio Fernandino y Dr. Gustavo Helguera

BTGN.1

DETERMINACIÓN DE INTERNALIZACIÓN DE PARTÍCULAS PSEUDOTIPADAS DE VIRUS JUNÍN EN DISPOSITIVOS DE MICROFLUÍDICA

Tosini M, Ferrero S, Isa-Jara R, Gatto M, Vallejo P, Pérez M, Lerner B, Helguera G
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Centro IREN, Universidad Tecnológica Nacional, Haedo.
E-mail: gustavoh@conicet.ibyme.gov.ar

La Fiebre Hemorrágica Argentina es una grave enfermedad zoonótica viral aguda causada por el virus Junín (JUNV), que en ausencia de tratamiento causa una mortalidad en humanos del 15-30%. La manipulación del virus activo requiere de instalaciones de bioseguridad de nivel 4 (BSL-4), de alto costo y difícil acceso. Una opción es el uso de partículas pseudotipadas compuestas de una cápside viral que envuelve un gen reportero GFP, cubierta por las glicoproteínas de JUNV (PP-JUNV), lo que les permite entrar a células humanas imitando al virus. Con estos sistemas es posible trabajar en laboratorios BSL-2 ya que las partículas pseudotipadas solo pueden realizar un ciclo de infección. El método estándar para evaluar la internalización consiste en el cultivo de células HEK-293T en una placa de 48 pocillos en presencia de PP-JUNV y cuantificar por citometría de flujo las células que expresan el gen reportero. El objetivo de este trabajo es determinar la internalización de PP-JUNV en células HEK-293T cultivadas en un dispositivo de microfluídica (DdM) con cisternas paralelas de 60 µL. Este dispositivo requiere volúmenes menores que las placas de 48 pocillos y permite un mayor control del microambiente necesario para las células en cultivo. Previo a los estudios de internalización, se realizó la optimización de la densidad celular de cultivo de las células blanco HEK-293T en el DdM durante el ensayo. Se estableció que sembrando 20.000 células

por cisterna se logró alcanzar una adecuada densidad celular a las 72 horas que dura el ensayo en el microdispositivo. Una vez caracterizadas las condiciones de cultivo, se generaron los inóculos de PP-JUNV mediante la transfección con un sistema de 3 plásmidos pMuLV gag-pol, peGFP y pJUNV que codifica para las glicoproteínas GP1-GP2 de JUNV. Ya preparado el inóculo, se cultivaron células HEK-293T en las cisternas del DdM, y a las 24 horas se incubaron con diluciones seriadas del inóculo de PP-JUNV. Para evaluar el porcentaje de internalización, se tomaron imágenes de microscopía de campo claro y fluorescencia a las 48 horas, que se analizaron con el software de aprendizaje profundo GEMA-2F desarrollado por nuestro grupo. Se realizó el mismo experimento en placas de 48 pocillos y se tomaron imágenes de campo claro y fluorescencia para comparar resultados. Se observó un crecimiento adecuado de células HEK-293T en el DdM y que la internalización medida por la expresión de GFP en las células fue dosis-dependiente. El resultado observado fue equivalente en los DdM y en las placas de 48 pocillos. Podemos concluir que es factible la utilización de DdM para determinar la internalización de PP-JUNV, con potenciales aplicaciones en ensayos funcionales para la caracterización de anticuerpos neutralizantes para el diagnóstico y en el desarrollo de vacunas y agentes terapéuticos antivirales.

BTGN.2

OVEJAS VIABLES EDITADAS GENÉTICAMENTE POR SMGT Y FTAI

Díaz Pumará PZ[1], Iorio GA[2]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), [2]Bioterio Lorenzo Clavell, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas.
E-mail: diazpumara@biozootec.com

La edición genética en animales de granja tiene importantes aplicaciones en varias industrias animales: eficiencia metabólica, adaptación al medio ambiente, resistencia a enfermedades, biorreactores. Sin embargo, se encuentra en un desarrollo precario, incluso con nuevas herramientas como la edición por microinyección de cigotos mediante CRISPR Cas-sgRNA. Esto se debe al alto costo y baja eficiencia de los métodos habituales. La microinyección de cigotos mediante CRISPR Cas promedió 0,33-1,8 animales viables genéticamente modificados (GMVA) incluso con un alto grado de mosaicismo. Por el contrario, con la tecnología de FIV asociada a transferencia de genes mediada por espermatozoides (SMGT) se obtienen 68,5% de embriones de cerdo transgénicos; la IA+SMGT produjo un 74% de lechones GM, de 27 nacidos. En este artículo mostramos corderos GM viables que fueron logrados por inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)+SMGT. Cuatro ovejas (1 de control; 3 tratadas) fueron estimuladas hormonalmente para inducir a IATF. Para inseminar al grupo tratado, semen fresco de carnero seleccionado fue co-incubado con plásmido comercial *pEGFP N-1* que codifica la proteína verde fluorescente (GFP), mientras que se utilizó esperma no co-incubado en el grupo control. Se realizó IA intraoviductal con 10^5 espermatozoides/oveja, mediante laparoscopia intra abdominal, hacia el final de las manifestaciones clínicas de celo. La expresión de GFP se evaluó, en los corderos post parto, mediante transiluminación con luz UV de 420 nm. Para analizar la expresión de GFP en células mononucleares de sangre periférica (PMNC), muestras de sangre heparinizada se suspendieron en medio RPMI 1640™ suplementado con 10 % de FCS. Las PMNCs se extrajeron perfundiendo lentamente la sangre sobre capa de Lymphoprep™ (Stem Cell

Technologies TM) en un tubo de centrífuga y se centrifugaron a 800 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente. La capa superior de plasma se descartó sin alterar la interfase plasma/Lymphoprep. La capa de PMNC se recuperó sin alterar el sedimento de eritrocitos/granulocitos y se lavó una vez con medio. Gotas de 100 microlitros fueron secadas al aire sobre un portaobjetos y se tiñeron con solución de May-Grünwald durante 5 min, se lavaron, se dejaron secar y se analizaron con un microscopio de epifluorescencia. En la fecha del parto nacieron seis corderos, cuatro de las tres ovejas tratadas (una parió gemelos) y dos de la oveja control. Dos corderos murieron dentro de las 48 h posteriores al parto: uno grupo control y uno del grupo tratado. Cuatro corderos del grupo inseminado con esperma tratado exhibieron expresión de GFP en la epidermis; los corderos nacidos de la oveja inseminada con esperma no tratado no mostraron fluorescencia epidérmica cuando se los iluminó con lámpara UV. En la edad adulta, se evaluaron microscópicamente las PMNCs de una oveja grupo control y tres ovejas grupo tratado. Las PMNCs de la oveja control fueron negativas a expresión de GFP, mientras que las PMNCs de las ovejas grupo tratado fueron positivas a expresión de GFP.

BTGN.3

PRIMEROS DATOS SOBRE VARIACIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES ARGENTINAS DE *Erythrodiplax atroterminata*

del Palacio A[1,2], Blanc Impini SA[2,3,4], Hohl D[3,5],Molinari S[3,4], Muzón J [1,2], Catanesi CI[2,3,4]
[1]Laboratorio de Biodiversidad y Genética Ambiental (BioGeA), Universidad Nacional de Avellaneda, [2]CONICET, [3] Instituto Multidisciplinario de Biología Celular IMBICE (CONICET-UNLP-CICPBA), [4]Fac. de Cs. Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata, [5]Profesional de Apoyo Adjunto CIC-PBA, Argentina
E-mail: ccatanesi@imbice.gov.ar

El género de odonatos *Erythrodiplax* (Brauer) incluye 59 especies, predominantemente de distribución neotropical, de las cuales 22 han sido registradas en Argentina. Estas especies presentan amplias áreas de distribución y, en particular, *E. melanorubra, E. atroterminata, E. fusca, E. connata, E. media* y *E. nigricans* son comunes y abundantes en diversas regiones. La variabilidad de patrones de coloración de estas especies parece estar influenciada por clines geográficos, como es el caso de *E. atroterminata* con poblaciones de Argentina que presentan una marcada variación morfológica en el tamaño de las manchas alares, que parece responder a variables ambientales. Este estudio tiene como objetivo determinar la variación genética entre poblaciones de esta especie, utilizando marcadores del gen COI. Se obtuvo ADN a partir del tercer par de patas de ejemplares depositados en la colección del Laboratorio de Biodiversidad y Genética Ambiental (BioGeA), provenientes de las provincias de Misiones (n=4), Corrientes (n=1) y Buenos Aires (n=2), y se incluyó *Rhionaeschna* sp. como grupo externo. Se utilizaron los protocolos del kit Puriprep T (Inbio Highway, Tandil) y un kit de nanopartículas magnéticas desarrollado en la Universidad Nacional de La Plata. Se amplificó por PCR un fragmento de 677pb del gen mitocondrial COI que se secuenció por técnica Sanger. El alineamiento y análisis de secuencias se realizaron con los programas MEGA v.11 y Arlequin v.3.5. Se hallaron 20 sitios variables, incluyendo 17 transiciones y 3 transversiones. El análisis de AMOVA en la comparación con *Rhionaeschna* resultó en un 35,9% de variación, mientras que dentro de la especie *E. atroterminata* se observó un 7,69%

de variación entre provincias y un 56,4% entre individuos de una misma provincia. Los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que no existen diferencias significativas entre las poblaciones analizadas, probablemente debido a un flujo génico constante que impide la formación de agrupaciones o subgrupos. En este sentido, las variaciones morfológicas observadas entre las poblaciones de *Erythrodiplax atroterminata* podrían estar sujetas a una influencia ambiental considerable.

BTGN.4

RELEVANCIA DE LA ACTIVIDAD Y DOSIS GÉNICA DE VAMP721/2 EN CONDICIONES DE RÁPIDA EXPANSIÓN CELULAR EN *Arabidopsis thaliana*

Catulo FB[1,2], Cermesoni C[1], Ricardi MM[1,2]
[1]IFIByNE (CONICET), CABA, Argentina, [2]Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN).
E-mail: fcatulo@uba.ar

El crecimiento y desarrollo vegetal implica división, expansión y diferenciación celular a lo largo de toda la vida del individuo con un gran impacto de factores ambientales bióticos y abióticos. VAMP721 es una proteína R-SNARE indispensable para el último paso de la fusión de vesículas que impulsa la expansión y división celular. Si bien la pérdida de VAMP721 o VAMP722 no conduce a un fenotipo aparente en *Arabidopsis thaliana*, el genotipo mutante doble *VAMP721 -/- VAMP722 -/-* es letal y su deleción muestra defectos severos de citocinesis en plántulas. Los mutantes *VAMP721 +/- VAMP722 -/-* y *VAMP721 -/- VAMP722 +/-* muestran una apariencia de tipo salvaje en condiciones normales de crecimiento, pero son haploinsuficientes en respuestas a estreses bióticos y abióticos. Nuestros resultados demostraron que una menor dosis génica también alteró la elongación de los hipocótilos durante el crecimiento en oscuridad (skotomorfogenesis). La menor tasa de elongación de los hipocótilos responde a una menor elongación a nivel celular al poseer estos un número fijo de células y sugiere que en condiciones de alta exigencia la dosis génica de VAMP721/2 puede ser un factor limitante. La actividad fusogénica de VAMP721/2 depende de su capacidad para interactuar con Q-SNAREs en la formación de complejos fusogénicos. VAMP721/2 posee un mecanismo de autoinhibición por el repliegue de su dominio longina N-terminal el cual bloquea su interacción con otros SNAREs. El grado de autoinhibición es regulado por la fosforilación del residuo Y^{57} en el dominio longina. Utilizando diferentes mutantes de este residuo hemos observado que la falta de fosforilación impide la correcta elongación de los hipocótilos, reflejándose en una menor velocidad de elongación de los mismos. De manera similar, se ve afectada la velocidad de germinación. Nuestros resultados muestran, en líneas generales, que tanto la dosis génica como la activación de VAMP721/2 por fosforilación son factores importantes para la elongación de hipocótilos, un proceso que requiere una alta secreción.

BTGN.5

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE UNA PULULANASA RECOMBINANTE DE *Geobacillus sp. G4*

Poma AR[1], Castellanos R[1], Ramirez HE[1], Hamann, PR[2], Polikarpov I[2]

[1]Laboratorio de Investigación en Biotecnología Enzimática, Departamento de Biología, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, 23003 Tacna, Perú, [2]São Carlos Institute of Physics, University of São Paulo, Avenida Trabalhador São-Carlense, 400, Parque Arnold Schimidt, São Carlos 13566-590, SP, Brazil).
E-mail: arpomat@unjbg.edu.pe

En la búsqueda de alternativas sostenibles para procesos industriales, las enzimas utilizadas en el procesamiento del almidón, como las pululanasas, son de gran interés por su alta especificidad y eficiencia. Las pululanasas catalizan la hidrólisis de enlaces α-1,6-glucosídicos en el almidón, amilopectina y pululano, produciendo azúcares fermentables. Las especies del género *Geobacillus* han demostrado ser una fuente prometedora de enzimas termostables. Este estudio se centra en la caracterización de una pululanasa (*PulGk*) producida por *Geobacillus* sp. cepa G4, una bacteria termófila aislada de un geiser del campo geotermal de Calientes, Tacna-Perú. Como resultado, el gen *PulGk* de *Geobacillus* sp. G4 fue amplificado por PCR con un tamaño esperado de 2150 pb. El producto de PCR fue clonado en el vector de expresión pET21a y transformado en *Escherichia coli* BL21(DE3). La expresión de *PulGk* fue inducida con 1 mM de IPTG a 37 °C durante 4 horas. Las células transformadas mostraron una expresión significativa de la enzima recombinante. La enzima recombinante PulGk fue purificada utilizando cromatografía de afinidad con una columna HisTrap, resultando en una única banda proteica, con un peso molecular de 74.5 kDa confirmado mediante análisis SDS-PAGE. Respecto a la caracterización enzimática, la pululanasa recombinante PulGk mostró una actividad relativa óptima a pH 7 y 60 °C. En cuanto a la estabilidad térmica de PulGk, se observó un incremento en la actividad relativa, que se mantuvo en un 130% durante los primeros 60 minutos a temperaturas de 50, 60 y 70 °C, disminuyendo ligeramente a 115% hasta los 240 minutos. A 80 °C, la actividad relativa se mantuvo en un 85% durante los primeros 60 minutos, reduciéndose a 48% después de este período. A 90 °C, la actividad relativa se mantuvo en 18% desde los primeros minutos de incubación. Se evaluaron diversos iones metálicos para determinar su influencia en la actividad de la enzima PulGk. A diferencia de otras pululanasas, la presencia de iones Ca^{2+} no fue esencial para la actividad de PulGk. La actividad relativa de PulGk se incrementó hasta un 140% en presencia de Ca^{2+}, Mg^{2+} y K^{+}, en comparación con el control. Por otro lado, la adición de Cu^{2+} y Mn^{2+} desactivó significativamente la enzima PulGk, mientras que Fe^{2+} y Na^{+} no tuvieron un efecto significativo sobre su actividad relativa. La actividad enzimática de la pululanasa recombinante PulGk no requiere de ion Ca^{2+} cuando es sometida a temperaturas de 60 y 70 °C, lo que simplifica su aplicación en procesos industriales. Estos hallazgos respaldan la viabilidad de utilizar enzimas de *Geobacillus* sp. G4 en aplicaciones biotecnológicas, contribuyendo al desarrollo de bioprocesos más sostenibles y eficientes.

BTGN.6

PREDICCIÓN DEL COLOR DEL CABELLO A PARTIR DEL ADN MEDIANTE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO

Nowik M[1,2,3], Baltierra S[4], Hohl DM[1,5], Martinez CA[4], García MF[6], García MG[6], González R[1,2,3], Catanesi CI[1,2,3], Barrientos RJ[4]
[1]Instituto Multidisciplinario de Biología Celular IMBICE (CONICET-UNLP-CICPBA), La Plata, Argentina, [2]Fac. de Cs. Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata, La Plata,

Argentina, [3]CONICET, Argentina, [4]Laboratorio LITRP, Depto. DCI, Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile, [5]Profesional de Apoyo Adjunto CIC-PBA, Argentina, [6]Laboratorio MANLAB, Área de Filiaciones, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
E-mail: ccatanesi@imbice.gov.ar

Las investigaciones sobre el genoma humano han permitido identificar genes que determinan, en parte, características visibles externamente (EVC) como el color de ojos, cabello y piel y los rasgos faciales de las personas. Estas características pueden predecirse mediante el análisis de ciertos SNPs (polimorfismos de un nucleótido), siendo importante su aplicación en el ámbito de las Ciencias Forenses, la Salud, y la Biometría. Sin embargo, la precisión de las predicciones disminuye cuando se analizan poblaciones de ancestría mixta. En este trabajo proponemos mejorar las predicciones utilizando modelos de Aprendizaje Automático (AA) sobre datos genéticos y de color del cabello de la población de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Los datos provienen de 214 bonaerenses entre 18 y 58 años de edad. Se evaluaron 38 SNPs de los genes *MC1R*, *OCA2*, *ASIP*, *SLC45A2*, *TYR*, *TYRP1* y *PIGU*. El color de cabello se determinó mediante clasificación visual: 12 rubios/claros, 121 castaños/medios y 81 negros/oscuros. Se incluyeron atributos adicionales como sexo, edad, lugar de nacimiento del voluntario, los padres y los abuelos. Se desarrollaron 2 modelos de AA basados en Extreme Learning Machine (ELM) y Random Forests (RF). Los atributos de entrada para el modelo ELM fueron los SNPs rs1042602, rs1393350, rs1800407, rs28777, rs683, rs1312768986 y rs885479, edad, sexo y lugar de nacimiento de los abuelos. Para el modelo RF el número de atributos fue reducido -SNPs rs1042602, rs1393350, rs28777 y rs683, edad y sexo- por lo cual se generó un 30% de datos sintéticos adicionales mediante la librería SDV basada en Inteligencia Artificial Generativa. Se aplicó la técnica Grid Search para la obtención de los mejores hiper-parámetros de ambos modelos en tanto que para un mejor entrenamiento del modelo RF se usó la técnica de Validación Cruzada. Se alcanzó un *accuracy* del 69% en fase de prueba para el modelo ELM con *F1-Score* entre 67% (para la clase rubio/claro) y 72% (castaño/medio). Respecto del modelo RF, se obtuvo un *accuracy* del 84% con *F1-Score* entre 67% (para rubio/claro) y 89% (castaño/medio). Los modelos predictivos propuestos fueron competitivos respecto a la bibliografía científica actual. Esto fue posible mediante técnicas de análisis de datos, reducción de dimensión, configuración de hiper-parámetros, entrenamiento intensivo de modelos y generación de datos sintéticos.

BTGN.7

EMBRIONES DE CONEJO EXPRESANDO GFP OBTENIDOS POR IATF Y SMGT

Díaz Pumará PZ[1], Blanco DA[2]
[1]Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), [2]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.
E-mail: diazpumara@biozootec.com

Los biorreactores o el estudio de enfermedades humanas en modelo animal, tienen en los conejos modificados genéticamente (GM) una herramienta ventajosa. La glicosilación proteica es un aspecto importante a la hora de seleccionar tejidos heterólogos para producir moléculas de aplicación farmacológica en el modelo humano. El modelo conejo presenta menor riesgo

de generar oligosacáridos que puedan inducir una respuesta inmune humana indeseable. Comparativamente con los rumiantes, además, son de intervalo generacional más corto y de mayor prolificidad, esto resulta en generación de más eventos GM por ensayo y tiempo. La transferencia génica mediada por espermatozoides (SMGT) asociada a inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) al ser método de transfección natural, sin uso de herramientas invasivas que generen daño del citoesqueleto, son métodos clave para aumentar las tasas de eventos GM viables por camada. Por esto, intentamos ampliar nuestra experiencia en SMGT a la especie *Oryctolagus cuniculus*. Encontramos la dificultad que, la fracción espermática del eyaculado de conejo se encuentra asociada a microgotas de fosfolípidos (PL). Los PLs inducen cambios en la estabilidad de la membrana espermática, además, las microgotas, son similares en tamaño y peso a los espermatozoides, por lo que, la centrifugación no las separa de estos. Esta condición conspira contra nuestro método de estabilización de membrana que favorece la entrada del ADN exógeno al núcleo del espermatozoide. Para obtener tasas de inclusión de ADN, similares a las observadas en rumiantes, fue necesario añadir un método de remoción de PLs. Para esto, se ensayó una incubación de espermatozoides en colagenasa a tiempo/concentración controladas. Para evaluar los resultados, muestras de semen se dividieron en tres grupos: control; co-incubada con GFP; tratada con colagenasa y luego co-incubada con GFP. Las muestras tratadas con colagenasa mostraron una tasa de captación de ADN superior al 60%, las muestras no tratadas captaron menos del 10%. 8 conejas hembra fueron estimuladas hormonalmente y sincronizadas para ovular a tiempo fijo. Cuatro de ellas recibieron IATF vaginal con espermatozoides tratados con colagenasa y luego co-incubados con GFP; las otras cuatro, grupo control, fueron inseminadas con semen sin GFP. 48 h después de la IA, se realizó ablación quirúrgica del tracto genital para lavar los oviductos y cuernos uterinos y colectar estructuras embrionarias (EE). Se colectaron 44 EE que fueron analizadas por microscopía confocal de fluorescencia. 29 de ellas eran mórulas de alta calidad (15 del grupo tratado, 14 del grupo control). Quince mórulas del grupo tratado fueron GFP positivos en todos los blastómeros, sin evidencias de mosaicismo, 14 mórulas del grupo control y 15 ovocitos no fertilizados fueron negativos a la fluorescencia.

VIERNES 6 DE DICIEMBRE

FARMACOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y ECOTOXICOLOGÍA (FATOX)

AULA DR. CHARREAU (3° PISO) – 9 A 11 HS
COORDINADORES: Dra. Andrea Randi y Dra. Mariana Rey

FATOX.1

EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN IN-VITRO A BENZOFENONAS 2 O 3 SOBRE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE LHβ Y FSHβ EN CÉLULAS LβT2 E HIPÓFISIS

Riaño Gómez JM, Lux-Lantos VAR, Sorianello EM, Fernandez MO
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
E-mail: juanrianog@gmail.com

Las benzofenonas (BPs), perturbadores endócrinos usados como filtros UV en plásticos y productos de uso personal, inhiben la expresión génica de GnRH inducida por kisspeptina-10 en células GT1-7. En este trabajo evaluamos los efectos de la exposición in-vitro a BP2 o BP3

en la expresión génica de las subunidades beta de las gonadotrofinas (LHβ y FSHβ) en la línea celular de gonadotrofos LβT2 y en hipófisis.
Métodos: Las células LβT2 fueron expuestas a BP2, BP3 ($1x10^{-7}$ or $1x10^{-9}$ M; BP2-7, BP2-9, BP3-7, BP3-9) o control (C: DMSO), por 6 o 24h, n=5. Hipófisis de ratones C57Bl/6 machos y hembras fueron cortados por la mitad, incubados con BP2, BP3 ($1x10^{-9}$M) o medio solo (C) por 8h, n=4. Se extrajo el ARNm de las células e hipófisis, se realizó la retrotranscipción, y la expresión génica fue evaluada por qPCR. Los resultados se expresaron como Media±SEM y analizados por ANOVA de una vía o Test-t apareado.
Resultadoss: En las células LβT2, BP3-7 aumentó FSHβ luego de 24h de exposición [C: 0.9±0.1, BP3-7: 1.3±0.2, BP3-9: 1.0±0.1;$p<0.05$]. BP3-9 disminuyó LHβ respecto de C luego de 24h de exposición [C: 0.9±0.1, BP3-7: 1.0±0.1, BP3-9: 0.6±0.1;$p<0.05$]. BP2-7 disminuyó LHβ respecto de C luego de 6h de incubación [C: 1.1±0.1, BP2-7: 0.5±0.2, BP2-9: 1.4±0.2; $p<0.05$]. La exposición a BP2-7 durante 24h incrementó significativamente LHβ respecto de C [C: 0.9±0.1, BP2-7: 1.3±0.1, BP2-9: 1.2±0.3; $p<0.05$], sin alterar FSHβ.
En las hipófisis de los machos, BP2 disminuyó FSHβ (C: 1.6±0.2, BP2-9: 0.5±0.1, $p<0.05$) e incrementó LHβ (C: 1.1±0.2, BP2-9: 1.7±0.3, $p<0.05$). BP3 tuvo efectos contrarios, incrementando FSHβ (C: 1.0±0.1, BP3-9: 1.6±0.1, $p<0.01$) y disminuyendo LHβ (C: 1.0±0.1, BP3-9: 0.2±0.1, $p<0.01$).
Conclusiones: La exposición a BP2 y BP3 altera la expresión génica de las subunidades beta de las gonadotrofinas en las células LβT2 y en hipófisis de machos adultos. Se están llevando a cabo más experimentos para comprender mejor los efectos observados.
Con el apoyo de: CONICET, ANPCyT, Fund. R. Barón, Fund. Williams, Fund. H. Bigand.

FATOX.2

BIOACUMULACIÓN DE LITIO EN PLANTAS DE *Distichlis spicata*

Orden A[1], Cortez F[1], López L[2], Bellozas Reinhard M, Moldes CA[1,2]
[1]Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, [2]Instituto de Ciencias de la Tierra y Medio Ambiente de La Pampa (INCITAP)- CONICET.
E-mail: moldesc@gmail.com

Distichlis spicata es una planta herbácea halófita que se encuentra comúnmente en las zonas salinas de La Pampa, Argentina. La capacidad de esta especie para absorber minerales del suelo o de sustratos acuosos ha sido poco explorada. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar la respuesta de *D. spicata* a la exposición al litio y analizar la bioacumulación de litio en sus raíces y partes aéreas. Las plantas se recolectaron en la Laguna Don Tomás (Santa Rosa, Argentina) y se colocaron en macetas dentro de una cámara de crecimiento a 25°C, con un fotoperíodo de 16:8 horas de luz-oscuridad. El diseño experimental consistió en cuatro réplicas aleatorizadas en dos tratamientos: (1) plantas de control sin aplicación de litio y (2) una solución de LiCl aplicada tres veces durante un periodo de 60 días, alcanzando una aplicación final de litio de 30 mg Kg^{-1}. Veinte días después de la última aplicación de litio, se recolectaron las partes aéreas y las raíces para medir la altura de la planta, la peroxidación de lípidos, la capacidad antioxidante, la actividad de la peroxidasa y el contenido de litio mediante espectrometría de absorción atómica. Aunque se observó un aumento significativo en la altura de las plantas tratadas con litio, no se detectaron diferencias en la peroxidación de lípidos, la capacidad antioxidante ni la actividad de la peroxidasa entre los grupos de control

y tratamiento, lo que sugiere que el litio no actuó como un factor de estrés. Sin embargo, el contenido de litio fue significativamente mayor en las plantas tratadas en comparación con el control, con acumulación en ambas partes aéreas y raíces. Se acumuló una media de 58 mg Kg^{-1} de litio en las partes aéreas, mientras que en las raíces se encontró una media de 164 mg Kg^{-1}. Estos resultados destacan el potencial de *D. spicata* como fitoextractor de litio, sugiriendo su posible uso en la fitorremediación

---

FATOX.3

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE YERBA MATE *(Ilex paraguariensis)* SOBRE CÉLULAS TUMORALES MAMARIAS MURINAS

Serrano AN[1], Cesario M[1], Olea G[2], Maiocchi M [1], Bustillo S[1]
[1]Grupo de Investigaciones Biológicas y Moleculares (GIByM), [2]Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM). IQUIBA-NEA Universidad Nacional del Nordeste (UNNE) –CONICET.
E-mail: natalia.serrano@comunidad.unne.edu.ar

Ilex paraguariensis (A.St.-Hil. 1822), conocida popularmente como “yerba mate” (YM), es una especie nativa de América del Sur, cuya distribución natural se limita a Brasil, Paraguay y Argentina. Es sabido que posee propiedades antioxidantes, que protegen al organismo del daño oxidativo y contribuyen a la prevención de diversas enfermedades como el cáncer. Es por ello que, el objetivo del presente trabajo, fue evaluar el potencial efecto citotóxico sobre células tumorales mamarias murinas de extractos acuosos de YM. Los extractos acuosos de YM se prepararon a partir de bolsas comerciales de “mate cocido” (Marca Unión), agregando 3 g *de I. paraguariensis* a 200 mL de agua destilada de reciente hervor y se dejaron reposar durante 5 minutos. La infusión, se filtró, se liofilizó y se almacenó a -20ºC. Los ensayos de citotoxicidad se realizaron sobre la línea celular LM3 (CVCL_D269) proveniente de un neoplasma maligno de glándula mamaria murina. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos (2.5 x 10^4 cél/pocillo) en medio de cultivo DMEM-SFB al 5%. Al alcanzar un 80% de confluencia, se añadieron diferentes concentraciones de extractos de YM (0.05-1.5 mg/mL) en el mismo medio. Luego de 24h de incubación a 37°C-5%CO_2, la viabilidad celular se evaluó mediante tinción con cristal violeta comparando con los controles (100% viabilidad). Por otro lado, se evaluó la apoptosis celular a través de la detección de fragmentación del ADN mediante tinciones con hematoxilina/eosina (HE) y la técnica de TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling-POD-ROCHE). Las células LM3, sembradas sobre cubreobjetos (1x10^6 células/cubre), fueron tratadas con 0.25 mg/mL de extracto de YM durante 24h. Se incluyeron controles negativos (PBS) y positivos (ADNasa grado I). Luego del tratamiento, se adicionó el reactivo Converter-POD, seguido por la solución de sustrato. Las secciones se observaron bajo microscopía óptica, se evaluaron las características morfológicas asociadas a la apoptosis y se calculó el índice apoptótico mediante la siguiente fórmula: IA:(Número de células TUNEL positivas/Número total de células) ×100. Los resultados mostraron en primer lugar un aumento en la vacuolización citoplasmática indicador morfológico de apoptosis luego de la tinción con HE. Este hallazgo se confirmó con los resultados obtenidos mediante el ensayo TUNEL donde el IA fue del 20% luego de los tratamientos, en comparación con el grupo control que mostró un IA menor al 1%. En conclusión, estos resultados sugieren que uno de los mecanismos por los cuales el

extracto de YM podría inhibir la proliferación de las células tumorales sería la inducción de apoptosis, lo que podría indicar un posible efecto citotóxico selectivo sobre las células malignas y que podría estar vinculado a la presencia de compuestos antioxidantes en el extracto. Futuros estudios centrados en la expresión de moléculas clave relacionadas con la muerte celular programada, permitirán avanzar en esta línea de investigación.

FATOX.4

DESNUTRICIÓN CRÓNICA Y CONTAMINACIÓN AÉREA: ESTRESORES NO GENÉTICOS Y SU IMPACTO EN ÓRGANOS EXCRETORES

Masci I[1], Lezón C[2], Álvarez L[3], Bonetto J[1], Tasat DR[1, 4], Kurtz M[1]
[1]Laboratorio de Bio-Toxicología Ambiental, ITECA, ECyT, UNSAM–CONICET. [2]Cátedra de Fisiología, FO, UBA.[3]Dpto. Bioquímica Humana, FMED, UBA–CONICET. Cátedra de Anatomía Patológica, FO, UBA.
E-mail: mkurtz@unsam.edu.ar

Los niños, debido a sus características fisiológicas, son una subpoblación altamente vulnerable tanto a la contaminación aérea (gases y material particulado-MP) como a la desnutrición. El estrés oxidativo y la inflamación son los principales mecanismos por los cuales el MP afecta negativamente la salud. Los efectos del MP se evidencian no sólo a nivel local en los pulmones sino también en órganos a distancia, como el hígado y los riñones, esenciales para la detoxificación de xenobióticos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la exposición subcrónica a cenizas residuales de la combustión del petróleo (Residual Oil Fly Ash-ROFA, un sucedáneo del MP aéreo), en pulmón, hígado y riñón de animales con desnutrición crónica. Ratas Wistar al destete fueron alimentadas *ad libitum* (Control-C) o con una dieta restringida 20% respecto de C (Nutritional Growth Retardation-NGR) durante 4 semanas, y fueron instiladas intransalmente con ROFA (0.17 mg/kg peso) o su vehículo (PBS) 3 veces por semana, definiéndose los siguientes 4 grupos experimentales: C, ROFA, NGR, NGR+ROFA. El metabolismo oxidativo se evaluó espectrofotométricamente mediante la determinación de la actividad de las enzimas antioxidantes (Catalasa -CAT y Superóxido dismutasa-SOD) y la lipoperoxidación (TBARS) en los tres órganos. Además, el proceso inflamatorio se evaluó a través del análisis de la expresión de interleuquinas (IL-6 e IL-10) por RT-PCR. El grupo NGR evidenció modificaciones en los niveles de defensa antioxidante respecto a C, movilizándose tanto la actividad de CAT en pulmón como de SOD en todos los órganos evaluados ($p<0.05$). A su vez, ROFA provocó una disminución de la actividad de CAT en el grupo C a nivel pulmonar (13%, $p<0,05$) y un aumento de SOD en hígado del grupo NGR (16%, $p<0,05$). A pesar de estas variaciones en la actividad antioxidante, la exposición a ROFA indujo lipoperoxidación en pulmón del grupo NGR (28%, $p<0,05$). El estado inflamatorio en pulmón e hígado mostró un patrón similar. Los animales del grupo NGR presentaron mayores niveles de IL-6 e IL-10 respecto de C. La exposición a ROFA indujo aumento de los niveles de ILs en C, por el contrario en NGR+ROFA no hubo respuesta. En riñón, sólo el grupo ROFA mostró una disminución de IL-10.
Nuestros resultados ponen de manifiesto el impacto negativo, tanto a nivel local como a distancia, de la exposición crónica a MP en los órganos encargados de la detoxificación del organismo. Estos pueden sufrir alteraciones en su funcionamiento debido a la desnutrición

crónica, lo que podría comprometer su capacidad de respuesta, afectando el procesamiento y eliminación de xenobióticos

---

FATOX.5

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ALEXITÉRICA DEL LÁTEX DE *Croton urucurana* EN EL TRATAMIENTO TÓPICO DE LESIONES INDUCIDAS POR VENENO DE *Bothrops diporus*

Sosa Escalante S[1], Rodriguez FE[2,1], Todaro JS[1], Torres AM[2,3], Ferrini L[2,1], Melana Colavita JP[1,2], Rodriguez JP[2,1]

[1]LiBIM Facultad de Medicina UNN, [2]IQUIBA Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura UNNE, [3]Toxicología y Química Legal, Departamento de Bioquímica de la UNNE.

E-mail: florencia0066@gmail.com

El látex de *Croton urucurana*, conocido por sus propiedades medicinales tradicionales en América del Sur, ha sido utilizado durante siglos para tratar diversas dolencias, incluyendo su aplicación tópica como agente cicatrizante y su uso oral como antidiarreico. Estudios previos han demostrado que el látex de esta planta tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antitumorales. Además, inhibe la actividad hemolítica de venenos botrópicos y tiene actividad proteolítica neutralizante, lo que lo hace un candidato prometedor para el tratamiento de las mordeduras de serpientes venenosas. Por otro lado, el veneno de *Bothrops diporus*, una serpiente conocida como "Yarará chica", es altamente tóxico y causa graves daños en los tejidos, como necrosis, inflamación y destrucción celular en el lugar de la mordedura. En estos casos, la inmunoterapia inmediata es esencial, aunque los tratamientos etnofarmacológicos, como el uso del látex de *C. urucurana*, podrían ofrecer una alternativa o complemento al tratamiento tradicional. Este estudio se centró en evaluar el efecto alexitérico del látex de *C. urucurana* contra el veneno *de B. diporus* mediante un modelo experimental in vivo en ratones. Se analizaron los efectos de una crema tópica de látex en la prevención y mitigación del daño tisular inducido por el veneno. El veneno, conocido por su efecto dermonecrotizante, provoca una destrucción severa de la epidermis y dermis, acompañada de infiltración inflamatoria y necrosis. En el experimento, se formaron cuatro grupos de ratones: uno sin tratamiento, otro tratado solo con veneno, otro con solo crema de látex, y un cuarto con veneno y tratamiento con crema. Se aplicaron técnicas histológicas como la tinción con hematoxilina-eosina y tricrómica de Gomori para evaluar el estado de los tejidos. Los resultados mostraron que los ratones tratados solo con veneno presentaron un daño tisular severo, mientras que los ratones tratados con la crema de látex después de la inoculación del veneno mostraron una reducción significativa en los signos de necrosis y daño. El colágeno en la dermis fue menos desorganizado y el proceso de reparación tisular fue más evidente en comparación con el grupo tratado solo con veneno. Este es el primer estudio que demuestra la actividad alexitérica del látex de *C. urucurana* contra el veneno de *B. diporus*. Los resultados sugieren que el látex tiene un potencial significativo para ser utilizado como un tratamiento terapéutico alternativo para mordeduras de serpientes venenosas. Esto abre la posibilidad de bioprospección del látex para desarrollar nuevos fármacos basados en sus propiedades biológicas sin efectos citotóxicos locales. En conclusión, el látex de *C. urucurana* podría ser un recurso valioso en el tratamiento de accidentes ofídicos.

FATOX.6

EFECTO DE LA L-CARNITINA SOBRE LA FUNCIÓN OVÁRICA EN UN MODELO DE FALLA OVÁRICA PREMATURA INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA

Neira M[1], Herrero Y[1], Bordaquievich M[1], Velázquez C[1], Prost K[2], Abramovich D[1], Parborell F[1]

[1]Laboratorio de estudios de la Fisiopatología del Ovario. Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME), Buenos Aires, Argentina. [2]Hospital Dr. Pedro Fiorito Buenos Aires, Argentina.

E-mail: m.neira@ibyme.org.ar

Los avances en el diagnóstico temprano del cáncer y en los tratamientos han mejorado las tasas de supervivencia, pero la toxicidad ovárica por quimioterapia y radiación sigue siendo un problema significativo en pacientes en edad pediátrica y adulta joven. Esto, aumenta el riesgo de falla ovárica prematura (FOP), menopausia precoz, trastornos endocrinos ováricos y subfertilidad o infertilidad. Por tanto, los efectos secundarios de los tratamientos oncológicos, así como la calidad de vida a largo plazo después de la enfermedad, han adquirido mayor relevancia Este estudio tiene como objetivo evaluar si L-Carnitina (L-CAR) actúa como un micronutriente protector del ovario en la FOP inducida por el agente alquilante Ciclofosfamida (CTX) a través de la modulación de los mecanismos biológicos claves que regulan la función ovárica (morfología, apoptosis, esteroidogenésis y angiogénesis) en un modelo de roedor. Se utilizó como modelo animal ratones F1 (BALBalb x C57BL) (8-10 semanas, n=6/grupo). Se conformaron 4 grupos. Grupo CTX recibió i.p CTX (75 mg/kg) y grupo control, solución fisiológica. Grupo CTX+L-CAR (200 mg/kg) recibió CTX el día 1 del tratamiento y 5 dosis de L-CAR i.p (200 mg/kg). Otro grupo recibió solo L-CAR (200 mg/kg). El sacrificio fue realizado el día 15. Los ovarios se analizaron por histología e inmunohistoquímica para CD34 (endotelio) y - actina (periendotelio). También se analizó por Western blot la expresión de proteínas esteroidogénicas (3β-BHSD, aromatasa, P450scc y STAR), proteínas implicadas en angiogenésis (VEGF) y proteínas pro y anti-apoptóticas (BAX yBCL-2). Además, se midieron los niveles séricos de progesterona por kits de elisa. El análisis estadístico se realizó utilizando ANOVA seguido de la prueba de Tukey. El tratamiento con CTX redujo el porcentaje de folículos primarios, antrales tempranos y maduros comparado al grupo control ($p<0.05$). Sin embargo, L-CAR con o sin CTX incrementó el porcentaje de estas estructuras ($p<0.05$). Mientras que CTX aumentó el porcentaje de folículos atrésicos comparado con el grupo control, L-CAR con o sin CTX lo disminuyó ($p<0,05$). No se observaron diferencias significativas en la expresión de proteínas esteroidogénicas y en los niveles de progesterona entre los grupos. CTX redujo el área endotelial y periendotelial comparado al grupo control. ($p<,05$) mientras que L-CAR fue capaz de incrementarla en presencia de CTX ($p<0,05$). No existen diferencias significativas en la expresión de VEGF y en el cociente BAX/BCL-2 entre los distintos grupos experimentales. Los resultados de este estudio sugieren que la L-CAR podría actuar como un protector de la función ovárica en la FOP, mitigando los efectos adversos de la CTX sobre la morfología folicular y la vasculatura. Estos hallazgos sugieren que la L-CAR representaría una estrategia no invasiva y de bajo costo para preservar la fertilidad en mujeres jóvenes bajo quimioterapia.

FATOX.7

EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO CAUSADO POR LA COMBINACIÓN DE MICROPLÁSTICOS Y CIPERMETRINA EN EL PEZ NEOTROPICAL *Phalloceros caudimaculatus*

Cardascia F, Cabaleiro M, Ruiz de Arcaute C, Soloneski S
Cátedra de Citología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, 64 n° 3 esq. 120, La Plata, Argentina. CONICET.
E-mail: floren.cardascia@gmail.com

Los microplásticos (MPs) son fragmentos de polímeros sintéticos menores a 5 mm que se encuentran de manera generalizada en los ecosistemas naturales, siendo particularmente abundantes en ambientes acuáticos. El polietileno (PE) es un polímero altamente utilizado en áreas agrícolas para proteger los cultivos, eliminar malezas, regular la temperatura, entre otros. Una vez que alcanzan los cuerpos de agua, estos contaminantes emergentes al contar con una naturaleza hidrofóbica y una gran relación superficie/volumen, tienden a interactuar con otros compuestos presentes en el medio, como es el caso de la cipermetrina (CYP), un insecticida piretroide de tipo II ampliamente utilizado en la agricultura. El objetivo de este estudio fue evaluar la genotoxicidad inducida por ambos contaminantes, tanto de manera individual como combinada, mediante el análisis de micronúcleos. Para ello, se llevó a cabo una exposición aguda de 96 horas en la que individuos adultos de *Phalloceros caudimaculatus* fueron expuestos a diferentes tratamientos utilizando concentraciones detectadas en el ambiente. Uno de ellos consistió en una solución de 60 mg/L de polietileno (tamaño de partículas entre 34-50 µm); otro de 1 µg/L cipermetrina (Glextrin 25®); y un tercer tratamiento fue la combinación de ambos compuestos en sus respectivas concentraciones. Además, se incluyeron controles negativos utilizando agua declorinada. Todas estas soluciones tuvieron un recambio cada 24hs. Los resultados no mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la frecuencia de micronúcleos al comparar la mezcla con los tratamientos individuales y el control. Sin embargo, se detectó un incremento notable de otras anormalidades nucleares, como hendiduras nucleares, núcleos lobulados, yemas nucleares y células binucleadas. Estos datos sugieren que la presencia conjunta de ambos contaminantes en el ambiente tiene un efecto sinérgico, siendo más perjudicial para la biota la exposición a las mezclas de ambos compuestos que la exposición individual. Teniendo en cuenta que en condiciones ambientales normales coexisten numerosos contaminantes, estudios de ésta índole son de vital importancia para comprender como interactúan y el verdadero impacto que generan en el ambiente.

FATOX.8

EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN IN-VITRO A BISFENOL A, BENZOFENONAS 2 O 3 SOBRE LA EXPRESIÓN PROTEICA DE PROTEINAS PRO-INFLAMATORIAS EN HEMI-HIPOTÁLAMOS DE RATONES C57BL/6 ADULTOS

Riaño Gómez JM, Lux-Lantos VAR, Sorianello EM, Fernandez MO
Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET).
E-mail: juanrianog@gmail.com

De acuerdo con un reporte del Programa de Naciones Unidas por el Ambiente, y la Secretaría de los Convenios de Basilea, Rotterdam y Estocolmo (1), alrededor de 13.000 sustancias químicas están involucradas en la producción de plásticos. Entre estas sustancias químicas, encontramos monómeros, aditivos y sustancias no añadidas intencionalmente. Muchos químicos usados en plásticos son perturbadores endócrinos o PE. Ejemplos de PE son Bisfenol A (BPA), un monómero de plásticos de policarbonato, y las benzofenonas, filtros UV. Nuestra hipótesis es que la exposición a estos PE causa inflamación en el sistema nervioso. Resultados previos muestran que la exposición in-vitro a BPA aumenta la expresión génica de la Proteina Fibrilar Ácida de la Glía (GFAP) en hipotálamos enteros de ratones macho adultos. En este trabajo, se incubó hemi-hipotálamos de ratones adultos C57BL/6 en medio Krebs-Ringer en presencia o ausencia de BPA, BP2 o BP3 ($1x10^{-9}$ M) or medio solo (C) por 8 hs. Los tejidos fueron lisados en buffer RIPA con inhibidores de proteasas y la concentración de proteínas por Bradford. Las proteinas se separaron en geles de poliacrilamida y transferidas a membranas de PVDF. Iba1, GFAP y tubulina fueron detectadas usando anticuerpos específicos. Los resultados fueron expresados como Media±SEM y analizados por test-t apareado (Statistica). La exposición a todos los PE aumentaron la expresión de Iba1 en los hipotálamos de ratones macho (Iba1, C=1.0±0.1, BPA=1.5±0.1, test-t apareado $p<0.05$, n=7; C=0.9±0.1, BP2=1.1±0.1, test-t apareado $p<0.05$, n=7; C=0.9±0.1, BP3=1.3±0.2, test-t apareado $p<0.05$, n=7). La exposición a BP2 aumento los niveles de GFAP respecto de C (C=1.0±0.1; BP2=1.3±0.1, test-t apareado $p<0.05$, n=7). Ni BPA ni BP3 alteraron la expression proteica de GFAP. Estos resultados nos ayudarán a comprender el efecto de la exposición a PE afecta la neuroinflamación. Se están llevando a cabo más estudios para explorer los efectos observados.

Con el apoyo de: CONICET, ANPCyT, Int. Soc. for Neurochemistry, Fund. René Barón, Fund. Williams, Fund. H. Bigand.

Referencia; 1. BRS. Global governance of plastics and associated chemicals. Secretariat of the Basel, Rotterdam and Stockholm Conventions, United Nations Environment Programme, Geneva. Raubenheimer K, Urho, N. 2023.

FATOX.9

EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO DE PROCIMIDONA EN LARVAS DE *Rhinella arenarum*

Pérez-Ponce M, Laborde M, Ruiz de Arcaute C, Soloneski S
Cátedra de Citología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, 64 n° 3 esq. 120, La Plata, Argentina. CONICET.
E-mail: cruizdearcaute@fcnym.unlp.edu.ar

La exposición a sustancias químicas sintéticas, como los pesticidas, es la causa de diversos efectos negativos en una variedad de especies de vertebrados. La procimidona es un fungicida de amplio espectro, perteneciente al grupo de las dicarboximidas. Actúa por contacto y es de actividad sistémica, inhibiendo la germinación de las esporas y bloqueando el desarrollo del micelio. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto genotóxico inducido por Sumilex® (50% Procimidona), una formulación comercial basada en este fungicida actualmente comercializada en nuestro país, mediante el empleo del ensayo cometa (EC) en células circulantes de larvas de *R. arenarum* expuestas en laboratorio de manera sub-

crónica. Los individuos fueron expuestos durante 14 d a dos concentraciones, dentro del rango de las concentraciones ambientales, 1 y 5 µg/L. Luego de 7 y 14 d de exposición, se tomaron 10 individuos de cada concentración para la realización del EC. Como control negativo se empleó agua declorinada y como control positivo 40 mg/L ciclofosfamida. Los resultados mostraron un incremento significativo de rupturas primarias en el ADN en ambas concentraciones utilizadas, tanto a los 7 d como a los 14 d de exposición. Estos resultados destacan la necesidad de continuar evaluando el efecto de concentraciones factibles en el medio ambiente de los pesticidas aplicados en nuestro agro y su efecto en la fauna autóctona de nuestro país, especialmente durante periodos de exposición prolongados.

XXVI JORNADAS ANUALES
DE LA **SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOLOGÍA**

"Modelos convencionales y no convencionales para el estudio en Biología"

Sociedad Argentina de Biología

www.biologia.org.ar

https://jornadaanualsab.ar

-- 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)

Escanéa el QR y asociate !!

AUSPICIANTES

Biodynamics