

Congreso Latino Americano Conjunto de Reproducción

Santiago de Chile 12 al 14 de septiembre
Hotel Plaza El Bosque Av. Manquehue N° 656, Las Condes



XXVI REUNIÓN BIENAL ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE INVESTIGADORES EN REPRODUCCIÓN HUMANA (ALIRH) XXX REUNIÓN ANUAL SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO (SCHRD) XVII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD DE ANDROLOGÍA Y GAMETOLOGÍA DE CHILE (SAGACH)

LIBRO DE RESUMENES

Hotel Plaza El Bosque, 12 al 14 de Septiembre de 2019, Santiago, Chile.



RESUMENES

Simposium

GnIH: un neuropéptido inhibidor y su participación en el desarrollo del fenotipo de ovario poliquístico en la rata.

Dra. Valentina Squicciarini R.

Centro de Estudios Neuroquímicos para Enfermedades Endocrinas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es la patología ovárica más frecuente en mujeres en edad fértil. Su origen podría explicarse por un aumento en la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), provocando cambios en la función ovárica. En humano y en rata se ha descrito un aumento en la actividad simpática relacionada con el síndrome. Otro neuropéptido que regula a GnRH, es la hormona inhibidora de gonadotropina (GnIH). GnIH inhibe la producción de GnRH en el hipotálamo. Se ha determinado la presencia de su receptor (NPFF1, homólogo en mamíferos) y de RFRP-3 (homólogo en mamíferos de GnIH) en el ovario y – aunque se conoce poco de su funcionamiento podrían participar como reguladores de la función ovárica. En esta presentación discutiremos si RFRP-3 es un componente local en el desarrollo y mantención de SOP en un modelo de rata expuesta a estrés para producir una sobre activación simpática que regula el desarrollo del fenotipo de SOP.

Al estudiar el efecto sobre la estereoidogénesis ovárica, observamos que RFRP-3 disminuye la producción de testosterona y progesterona inducida por LH/hCG. Observamos también, que el estrés simpático para desarrollar el fenotipo SOP disminuye ambos el péptido y su receptor tanto en el hipotálamo como en ovario. Finalmente estudiamos si el tratamiento intraovárico in vivo con RFRP-3 por 28 días tiene efecto en la dinámica folicular que ha sido modificada por el estrés simpático, observando una disminución en la formación de quistes foliculares y un aumento en los folículos secundarios y antrales.

Estos resultados muestran que RFRP-3 tiene una acción local en el ovario y que podría participar como un péptido protector para el desarrollo del fenotipo de ovario poliquístico en la rata.

Proyecto REDES CONICYT 140061 Y FONDECYT: N°1130049

ENZYMES INVOLVED IN THE BIOSYNTHESIS OF SPHINGOLIPIDS WITH VERY-LONG-CHAIN PUFA CONCUR WITH MALE GERM CELL DIFFERENTIATION.

Oresti GM1, Santiago Valtierra FX1, Reyes JG2 and Aveldaño MI1

1INIBIBB, CONICET-UNS y Dpto. Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, Bahía Blanca, Argentina and 2Instituto de Química, PUCV, Valparaíso, Chile. E-mail: gmoresti@criba.edu.ar.

The sphingolipids sphingomyelin (SM) and ceramide (Cer), of male rodent germ cells (spermatocytes, spermatids) and spermatozoa contain very-long-chain (C28-C32) polyenoic fatty acids (VLCPUFA) in non-hydroxy (n-V) and 2-hydroxy forms (h-V) not present in Sertoli cells. During postnatal development, SM and Cer species with n-V appear in testes concomitantly with pachytene spermatocytes and those with h-V with spermatids. Both are able to biosynthesize their own sphingolipids, the former more actively than the latter. The biosynthesis of n-V requires elongation of PUFA (20:4n-6, 22:5n-6) by elongation of very-long-chain fatty acid (Elovl) proteins, while that of h-V requires a fatty acid 2-hydroxylase (Fa2h). Elovl5 and Elovl2, coding for enzymes responsible for PUFA biosynthesis, and Elovl4, in turn responsible for the formation of PUFA longer than C26, are actively expressed in germ cells. The Elovl4 protein is exclusively expressed in germ cells in a stage-dependent manner, spermatocytes displaying the highest Elovl4 protein levels and enzymatic activity. Along with high proportion of h-V Cer and h-V SM species, the Fa2h protein is mainly concentrated in late spermatids, in the step of spermiogenesis in which they elongate and their heads change shape. Consistently, spermatocytes express the highest levels of ceramide synthase 3, required for the N-acylation of sphingosine with a VLCPUFA, while spermatids express the highest levels of SM synthase 2. Irrespective of the maturation stage, the small raft-like domains of the germ cell plasma membrane contain species of SM and Cer with saturated fatty acids, while those containing n-V and h-V abound in the large non-raft areas. These species, with unique physico-chemical properties, could play a structural role facilitating the germ cell shape changes associated with the progress of

spermatogenesis. If released from such species, free n-V and h-V could be involved in germ cell differentiation as potential precursors of uncommon elovanoic-like bioactive derivatives. Supported by SGCyT UNS-PGI-UNS [24/B272 to GMO and 24/B218 to MIA], FONCyT . [PICT2017-2535 to GMO] and Fondecyt 1140758 to JGR.

APOPTOSIS OF MALE GERM CELLS INDUCED BY XENOESTROGENS: ROLE OF ARACHIDONIC ACID IN THE ADAM17 ACTIVATION.

Urriola-Muñoz P1,2, Moreno RD2 and Reyes JG1.

1Instituto de Química, Facultad de Ciencias, PUCV, Valparaíso, Chile.

2Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC, Santiago, Chile.

Germ cell apoptosis induced by the xenoestrogens Bisphenol-A (BPA) and 4-Nonylphenol (NP) depends on the transmembrane metalloproteases, ADAM17. These xenoestrogens also promote the release of Arachidonic Acid (AA) from Sertoli cells, which in turn induces apoptosis of male germ cells. However, we do not know whether these events are part of the same mechanism.

Our aim was to determine whether AA induces germ cell apoptosis by activating ADAM17 induced by BPA or NP. We determined that AA induces the activation of ADAM17 in primary spermatocytes cultures and the cell lines GC-1 and GC-2. AA induces an increase in $[Ca^{2+}]_i$ and the activation of PKC α/β that leads the activation of ADAM17. BPA and NP induce the release of AA in primary cultures of Sertoli cells and TM4 cell lines (mouse Sertoli cells) but not in primary cultures of spermatocytes or GC-1 and GC-2 cell lines. Furthermore, when using a pharmacological inhibitor of PLA2, a decrease in BPA and NP-induced apoptosis was observed in cultures of mouse seminiferous tubules. We observed the activation of ADAM17 in GC-1 and GC-2 cell lines using a conditioned medium from TM4 cells (Sertoli) previously treated with BPA or NP, and not with the direct treatment with these compounds. Finally, we observed a decrease in AA-induced apoptosis in primary cultures of ADAM17-KO spermatocytes when compared to wild-type spermatocytes.

In conclusion, we determined that the AA from Sertoli cells is involved in the activation of ADAM17 induced by BPA and NP, which lead to germ cell apoptosis. Funding FONDECYT N° 3160273.

Comunicaciones Libres

EFEECTO DE GTPASAS RHO BACTERIANAS EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS

(Effect of bacterial Rho GTPase on human spermatozoa)

Boguen R1, González D2, Lefillanca K2, Gaepi P2, Uribe P3,4, Villegas JV3,5

1Departamento de Procesos Diagnósticos y Evaluación, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Temuco, Temuco Chile.

2Carrera de Tecnología Médica, Universidad de la Frontera, Temuco Chile.

3Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco Chile.

4Centro de Excelencia de Medicina Traslacional (CEMT), Universidad de La Frontera, Temuco Chile.

5Centro de Excelencia de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR), Universidad de La Frontera, Temuco Chile.

La presencia de bacterias en el semen se asocia con deterioro de la calidad espermática. Durante su patogenia ciertas toxinas bacterianas regulan la actividad de GTPasas Rho, las que se relacionan con distribución de actina del citoesqueleto y la función en células somáticas, sin embargo el efecto de esas GTPasas en espermatozoides humanos no ha sido estudiado. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la modulación de GTPasas Rho bacterianas en la función de espermatozoides humanos. Espermatozoides humanos seleccionados se incubaron con activador e inhibidor de GTPasas Rho adquiridos comercialmente siendo producidos a partir de bacterias. También se incluyó un control basal de espermatozoides libre de moduladores. En primer lugar se incubaron los espermatozoides por 2 horas a 37 °C para lograr un efecto moderado Rho, evaluando motilidad progresiva por medio de CASA, daño en membrana plasmática y producción de especies reactivas del oxígeno intracelular (ROSi) por medio de citometría de flujo (CMF). En un segundo experimento los espermatozoides se incubaron por 4 horas a 37 °C para lograr un efecto robusto Rho, usando solo el activador de GTPasas Rho para evaluar sumado a lo anterior, el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) por CMF y la polimerización de actina usando microscopia de fluorescencia. A las 2 horas de incubación, la concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$ del inhibidor de GTPasas Rho redujo significativamente la motilidad progresiva, sin alterar otras variables. El