

**DR12- ACCIONES DE ALOPREGNANOLONA SOBRE LA FISIOPATOLOGÍA OVÁRICA, ANÁLISIS A DIFERENTES NIVELES DE CONTROL NEURO-ENDÓCRINO**

Cáceres A R R<sup>1</sup>, Cardone D A<sup>1</sup>, Sanhueza M<sup>1</sup>, Giuliani F A<sup>1</sup>, Abramovich D<sup>4</sup>, Laconi M R<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiopatología ovárica. Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU).

<sup>2</sup> Facultad de Ingeniería, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud. Universidad de Mendoza. Mendoza-Argentina.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales. Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza – Argentina.

<sup>4</sup> Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires – Argentina.

E-mail: mlaconi@yahoo.com

Allopregnanolona (ALLO) es un neuroesteroide derivado de la progesterona; su acción en el SNC es bien conocida. ALLO modula la neurotransmisión GABA con efectos antidepresivos, ansiolíticos, anticonvulsivantes y anestésicos. Los niveles de ALLO fluctúan bajo estrés y durante el ciclo estral, menstrual, la gestación y la menopausia. El objetivo de este trabajo fue evaluar la acción de ALLO sobre la fisiopatología ovárica de la rata, desde el efecto global en el SNC a su acción a sobre las células de la granulosa. Diseñamos diferentes modelos experimentales para diferenciar cuatro niveles de acción. Luego de una curva dosis/respuesta, se seleccionó la dosis de 6 µM de ALLO, que fue capaz de alterar el eje hipotálamo-hipófiso-ovárico causando cambios morfo-fisiológicos significativos (atresia folicular aumentada,  $p < 0.001$ ; formación de quistes,  $p < 0.001$ ; apoptosis en cuerpos lúteos,  $p < 0.001$ ; e inhibición de la ovulación,  $p < 0.001$ ) mediante la interacción central con GABA<sub>A</sub>R. Esta dosis cambió la expresión total del receptor de progesterona a nivel ovárico ( $p < 0.01$ ). En el cultivo *ex vivo* del sistema GMS-PNO-ovario, se demostró el efecto periférico de ALLO sobre la esteroidogénesis ovárica incrementando la secreción de P4 ( $p < 0.05$ ) mediante la modulación de la innervación adrenérgica. La administración intra-bursa local de ALLO afectó la morfo-fisiología ovárica (aumento de atresia folicular,  $p < 0.001$  y diámetro de cuerpos lúteos,  $p < 0.05$ ), a través de GABA<sub>A</sub>R, pero no logró inhibir la ovulación. Finalmente, en el cultivo primario *in vitro* de células de la granulosa ovárica tratadas con ALLO, se observó una disminución significativa en el antígeno del PCNA ( $p < 0.05$ ). Esta es la primera evidencia de las acciones globales de ALLO sobre el control neuroendócrino de diferentes puntos del eje reproductivo, utilizando diferentes rutas de administración. ALLO es una molécula de gran versatilidad y con un gran potencial farmacológico en la fisiología reproductiva femenina.

**DR13- DESARROLLO DE CONSTRUCCIONES ENDOMETRIALES TRIDIMENSIONALES (3D) Y CULTIVOS CELULARES DECIDUALIZADOS PARA EL ESTUDIO DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA Y PATOLOGÍAS ENDOCRINAS HUMANAS.**

Carnovale N<sup>1</sup>, Oviedo M F<sup>1</sup>, Ganiewich D<sup>1</sup>, Oppenheimer F<sup>2</sup>, Leirós G J<sup>2</sup>, Olivares C<sup>1</sup>, Bilotas M<sup>1</sup>, Meresman G F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), <sup>2</sup>ICT Milstein (FPC-CONICET), Buenos Aires, Argentina

E-mail: nrcarnovale@gmail.com

La diferenciación de los fibroblastos del estroma endometrial en decidua secretora, es una transformación necesaria para la correcta implantación embrionaria humana. La decidualización inadecuada constituye una de las causas del fracaso de la implantación y el consiguiente aborto espontáneo temprano del embrión. Los sistemas endometriales *in vitro* representan una herramienta útil para estudiar aspectos fisiológicos y fisiopatológicos de la biología reproductiva humana. Los objetivos de este trabajo fueron optimizar un modelo de decidualización *in vitro* utilizando la línea celular estromal endometrial humana (T-HESC) y desarrollar un sistema 3D que imite la arquitectura del endometrio humano. El sistema 3D se desarrolló mediante la siembra de células T-HESC en colágeno bovino tipo I como sistema de andamiaje. Luego de la gelificación, se añadieron células epiteliales endometriales humanas (ECC-1) y se incubaron durante 7 días. Las construcciones fueron fijadas con formalina, embebidas en parafina y teñidas con hematoxilina-eosina. La expresión de citoqueratina se evaluó por inmunohistoquímica. La optimización del protocolo de decidualización *in vitro* se realizó utilizando células T-HESC con distintas concentraciones y combinaciones de cAMP, Medroxiprogesterona (MPA) y Estradiol en DMEM / F12 con distintos porcentajes de suero fetal bovino completo o charcolizado (cFBS) durante 7 o 9 días. Cada 3 días, se recogieron los medios condicionados y se renovaron el medio de cultivo y los estímulos. Diariamente se tomaron fotografías de todos los cultivos. Finalmente, las células se recolectaron para la extracción de ARN para su posterior análisis.

En el sistema 3D se observaron células t-HESC alargadas y extendidas incorporadas al andamiaje, así como contracción del colágeno generado por las células estromales. Además se visualizó, una capa de células epiteliales de tipo estratificado que intentaron penetrar en la matriz del estroma, indicando el comienzo de la formación espontánea de glándulas. Por otro lado, la optimización de la decidualización resultó exitosa cuando se partió de 80 % de confluencia utilizando DMEM / F12 + 10% de cFBS en presencia de cAMP 0,5 mM, MPA 10<sup>-6</sup>M y Estradiol 10<sup>-8</sup>M. A partir de estos datos podemos sugerir que se logró mimetizar un principio de estructura endometrial en las construcciones 3D y que el andamiaje de colágeno proporcionó un ambiente adecuado para el crecimiento celular endometrial y la formación de glándulas. Este desarrollo innovador junto con la optimización del protocolo de decidualización artificial de t-HESC, aportan nuevas e importantes herramientas para estudiar los mecanismos involucrados en el proceso de implantación humana y el impacto de patologías endocrinas en la salud endometrial.