### 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





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. 3°: Dr. PABLO CETICA

VOC. TIT. 4°: Dra. EVELIN ELIA

VOC. TIT. 5°: Dra. GABRIELA JAITA

VOC. SUPL. 1º: Dra. PAULA VISSIO

VOC. SUPL. 2°: Dra. GABRIELA MERESMAN

### **AGRADECIMIENTOS**







Asociación de Biología de Tucumán

Sociedad de Biología de Rosario

Sociedad de Biología de Cuyo

Sociedad de Biología de Córdoba

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 v atemperado (control) fueron suplementadas con resveratrol v/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<sup>5</sup> 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<sup>1</sup>, Ríos GL<sup>2</sup>, Robert MC<sup>1</sup>, Carnevale M<sup>3</sup>, Antollini SS<sup>4</sup>, Buschiazzo J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Binacional de Investigaciones en Criobiología Clínica y Aplicada (UNR), <sup>2</sup>Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (INTA-CONICET), 

<sup>3</sup>Centro Regional de Energía y Ambiente para el Desarrollo Sustentable (CONICET-UNCA), 

<sup>4</sup>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-βciclodextrina/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  $\pm$  0,06 nL; +col: W=0,48  $\pm$  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 C1, Matamoros Volante A2, Biglione FA1, Steeman TJ1,
Binolfi A1, Rosano GL1, Buffone MG3, Krapf D2, Stival C#1, Krapf D#1

1 Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR- CONICET-UNR), Department of Electrical and Computer Engineering, Colorado State University, Fort Collins, CO, United States, 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