

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE Estudio **PERIODO** 01/04/14 al 31/03/15

1. **APELLIDO:** Cantatore

NOMBRES: Sofia, Ernestina

Dirección Particular: Calle: **N°:**

Localidad: Tandil **CP:** 7000 **Tel:**

Dirección electrónica (donde desea recibir información): cantatoresofia@gmail.com

2. **TEMA DE INVESTIGACIÓN** (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

Efecto de la dexametasona como modulador de la respuesta de fase aguda post-servicio de la yegua.

3. **OTROS DATOS** (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/14

2º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/15

BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:*

2º AÑO: *Fecha de iniciación:*

4. **INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS**

Universidad y/o Centro: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires

Facultad: Medicina Veterinaria

Departamento: Clínica

Cátedra: Fisiopatología de la Reproducción

Otros:

Dirección: Calle: Campus Universitario, Paraje Arroyo Seco **N°:** S/N

Localidad: Tandil **CP:** 7000 **Tel:** (0249)-4439850

5. **DIRECTOR DE BECA**

Apellido y Nombres: Fumuso, Elida Ana

Dirección Particular: Calle: **N°:**

Localidad: Tandil **CP:** 7000 **Tel:**

Dirección electrónica: efumuso@vet.unicen.edu.ar

6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO. (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

Durante los primeros meses de la beca, se llevó a cabo un entrenamiento en lectura de cortes histológicos de biopsias endometriales de yeguas de distintos grupos etarios, preparados con técnicas histológicas de rutina. A su vez, se realizó una revisión bibliográfica de lo estudiado hasta el momento sobre el tratamiento aplicado en el presente trabajo.

Antes de comenzar con los muestreos, se procedió con la preparación y organización de todos los materiales necesarios para la toma de muestras, incluyendo lavaje endometrial, inseminación (extracción y procesamiento del semen), biopsia endometrial y para las maniobras de rutina en las revisiones reproductivas diarias.

Dado que el equino es una especie fotoperiódica positiva, se comenzó con el seguimiento ecográfico del sistema reproductivo de las yeguas a fines del mes de agosto. No obstante esto, las mismas no comenzaron a ciclar hasta mediados del mes de octubre, momento en el cual se comenzó con los muestreos. Actualmente se está trabajando con 5 yeguas resistentes (YR) y 5 yeguas susceptibles (YS) a endometritis. En un comienzo, se realizó la bacteriología y citología endometrial de la totalidad de los animales, utilizando como muestra el líquido recuperado tras realizar un lavaje endometrial. Se implementó una antibioticoterapia en aquellas yeguas que dieran un cultivo positivo mediante infusión local y se confirmó posteriormente si el mismo fue efectivo. Para esto, se realizó un nuevo cultivo el cual debía ser negativo para poder continuar con el proyecto; en aquellos casos en los que el cultivo continuó dando desarrollo bacteriano, se repitió la terapia con antibióticos, agregando nuevos antibióticos de acuerdo al antibiograma y aumentando el espectro de acción, hasta obtener un resultado negativo. Una vez realizado esto, se comenzó con la toma de muestras, la cual consiste en inseminar a los animales y, a intervalos previamente establecidos, realizar una biopsia endometrial. Para evitar el efecto acumulativo de la inflamación generada al tomar la muestra, se realizó una única biopsia endometrial por ciclo. Esto se realizó en todos los animales involucrados en el proyecto, y se repitió en las yeguas susceptibles agregando la administración de una dosis de dexametasona (DXT) al momento de la inseminación. Las biopsias endometriales tomadas hasta el momento se dividieron en dos fragmentos, colocando uno de ellos en RNAlater para la determinación de citoquinas, factores de desarrollo pro-inflamatorios y antiinflamatorios como: Interleuquinas: IL-1 β , IL-15; IL-18; IL-6, IL-10, TNF- α (Factor de Necrosis tumoral alfa), TGF- β (Transforming Growth Factor Beta), mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real según Fumuso, et al., 2007 y Horohov, et al., 2010; los mismos permanecieron durante 24 h a 4°C y posteriormente a -20°C, hasta su procesamiento. El fragmento restante se colocó en formol al 10% durante 8 horas, conservándolas luego en alcohol 70° hasta el momento de ser procesadas. Sobre éstas se aplicarán técnicas histológicas de rutina (Hematoxilina de Mayer y eosina) y especiales (tricrómica de Masson), así como también se determinarán iNOS de acuerdo a W Woodward (2013), receptores de estrógenos RE α y Progesterona RP (Fumuso y et al 2012), Actina. Al día de la fecha se están tomando las últimas muestras. Una vez que se concluya con el muestreo, se comenzará con el procesamiento y análisis de las mismas.

Una de las mayores dificultades presentadas en el transcurso del proyecto, fue la alteración en la ciclicidad de 3 de las yeguas, lo cual atrasó la toma de muestra de las mismas. Dos de ellas tuvieron que ser reemplazadas; una por presentar un anestro el cual no tuvo respuesta al tratamiento y otra de ellas por la formación reiterada de hematomas ováricos los cuales tardaban en resolver, no permitiendo a su vez que la yegua ciclara normalmente. La restante, tras un período de normal ciclicidad, ingresó en un estado de anestro, el cual respondió favorablemente al tratamiento hormonal. A pesar de eso, fue necesario repetirlo en reiteradas oportunidades, ya que de lo contrario, el anestro se imponía nuevamente.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

7.1. PUBLICACIONES. Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

1- Fumuso Elida, MT Carmo, MF Herrera, SE Cantatore, FC Landim, D Lombardo, AE Felipe, JJ Rosatti; C Redolatti, MA Alvarenga. "Acción del tratamiento con células madre de médula ósea sobre la matriz extracelular endometrial." XXV Conferencia Internacional de Veterinaria Equina 30 de junio y 1° de julio de 2014 en el Salón Tattersal del Hipódromo de San Isidro, Provincia de Buenos Aires.

2- Fumuso, E; Carmo, MT; Herrera, MF; Cantatore, SE; Landim, FC; Lombardo, D; Felipe, AE; Rosatti, JJ; Redolatti, C; Alvarenga, MA. "Smooth Muscle Actin and Collagen Immunohistochemical evaluation in the endometrium of mares treated with bone marrow stem cells". Trabajo presentado en el XIth International Symposium On Equine Reproduction, 26-31 de febrero de 2014. Journal of Equine Veterinary Science, Volume 34, Issue 1, January 2014, Page 155.

7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA. (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

1- Marinone AI; Losinno L; Fumuso E; Rodriguez EM; Redolatti C; Cantatore S; Cuervo-Arango J. "The effect of mare's age on multiple ovulation rate, embryo recovery, post-transfer pregnancy rate, and interovulatory interval in a commercial embryo transfer program in Argentina." Animal Reproduction Science, 7 de enero de 2015.

7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

7.5. COMUNICACIONES. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN. (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)

8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS. (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

8.1. DOCENCIA

8.2. DIVULGACIÓN

8.3. OTROS

9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS. (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

- Curso de Manejo Reproductivo en Haras y Neonatología Equina. Facultad de Ciencias Veterinarias, Casilda. UNR. 29 y 30 de octubre de 2014. Duración: 16 hs.

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Colaboración en las actividades prácticas desarrolladas en el área de Fisiopatología de la Reproducción.

Colaboración en las actividades prácticas desarrolladas en el área de Clínica Médica y Quirúrgica de Grandes Animales.

13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TÍTULOS ANTERIORES (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

14. TÍTULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

Efecto de la dexametasona como modulador de la respuesta de fase aguda post-servicio de la yegua.

Tareas a desarrollar durante en 2° año de la beca de estudio:

1- Se trabajará sobre las muestras tomadas durante la temporada 2014/15 a partir de dos grupos: YR (n:5) y YS (n:5), realizando las siguientes tareas:

1.A) Biopsias endometriales fijadas en formol:

- Las muestras se procesarán con técnica de rutina hasta inclusión en parafina y se efectuarán cortes seriados de 5 µm.

- Se aplicarán técnicas histológicas de rutina (Hematoxilina de Mayer y eosina) y especiales: tricrómica de Masson.

- Se clasificarán las muestras de acuerdo a las escalas de Kenny & Doig y la de Hoffman.

- Inmunohistoquímica: Se determinará iNOS, receptores de estrógenos REα y Progesterona RP, y Actina.

1.B) Biopsias endometriales conservadas en RNALater:

- Se evaluará el patrón de expresión de citoquinas y factores de desarrollo relacionados con la inflamación mediante RT-PCR

NOTA: Las técnicas anteriormente mencionadas se aplicarán tanto a las muestras del grupo no tratado como el grupo al cual se le administró dexametasona.

2- Una vez procesadas las muestras, se realizará la lectura y el análisis de las mismas, a través de la comparación de las variables en ambos grupos, a fin de establecer las características de la respuesta de fase aguda en YR y YS a endometritis luego de la IA con semen muerto frente a determinados marcadores de inflamación, y evaluar el efecto de la DXT en YS que reciben IA con semen muerto.

Se realizará una revisión bibliográfica con lo publicado hasta el momento acerca del efecto de la dexametasona como modulador de la respuesta de fase aguda post-servicio de la yegua. A su vez, se desarrollarán publicaciones en base a los resultados obtenidos tras el análisis de las biopsias endometriales.

3- En caso de ser necesario, se realizarán nuevos muestreos.

Condiciones de Presentación

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:
- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
 - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
 - c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

Nota: El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....
Firma del Director

.....
Firma del Becario