



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Genética y Biotecnología

**Participación de la proteína ADAM17 en la muerte de
células germinales masculinas de ratón
(*Mus musculus*) inducida por shock térmico y el
agente quimioterapéutico etopósido**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo Genetista
Biotecnólogo

AUTOR

Sergio Miguel CASTAÑEDA ZEGARRA

ASESOR

Martha VALDIVIA CUYA

Lima, Perú

2017

RESUMEN

En las últimas décadas se ha registrado una disminución en la fertilidad masculina y se ha reportado que parte de la responsabilidad de ello es que en la actualidad nos encontramos expuestos a diversos factores externos inductores de muerte celular, como los trabajos que realizamos, así como factores de ocio que involucran un alza de temperatura escrotal, como los baños termales o baños de vapor.

En los últimos años, se ha reportado que la ausencia de la proteína ADAM17 (una desintegrina y metaloproteasa 17), puede prevenir la muerte celular en ensayos *in vitro* ante agentes inductores de muerte celular. Por ello en el presente estudio se evaluó dos agentes externos inductores de muerte celular, el shock térmico (Baño termorregulado a 43 °C durante 15 minutos, previa anestesia) y el agente quimioterapéutico etopósido a una concentración de 10 mg/kg, previa curva dosis-respuesta, en ensayos *in vivo* en ratones púberes de 21 días de edad de los genotipos salvaje, heterocigotos y *Knock-out* de ADAM17 en células germinales meióticas y post-meióticas, con la finalidad de evaluar si la ausencia de ADAM17 podría prevenir la muerte de células germinales.

Para ello se hallaron diferentes índices de muerte celular, mediante densitometría de PARP (Poli ADP-Ribosa Polimerasa) por *Western Blot*, conteo de células picnóticas y células caspasa-3 activa por túbulo seminífero por técnicas histológicas. Los resultados obtenidos muestran que los ratones tratados con temperatura poseen diferencias significativas en el número de células caspasas-3 activa, respecto a los grupos control. En cuanto a los ratones tratados con 10 mg/Kg de etopósido, muestran diferencias significativas en los 3 índices de muerte celular con respecto a los tratados con vehículo.

En conclusión, la ausencia de ADAM17 previene la muerte celular por apoptosis de células germinales meióticas y post-meióticas ante los agentes inductores de muerte celular shock térmico y etopósido.

Palabras clave: ADAM17, shock térmico, etopósido, *Western Blot*, apoptosis.

ABSTRACT

Over the last few decades, there has been a reduction in the male fertility and it has been reported that part of the responsibility is because currently we are exposed to several external factors inductors of cell death, such as the jobs that we do, as well as factors of leisure that involve an increase in the scrotal temperature, such as thermal bath or steam bath.

Over the previous years, it has been reported that the absence of the ADAM17 protein (A Desintegrin And Metalloprotease 17), can prevent cell death in *in vitro* assays faced with cell death inductor agents. For this reason, in the present study, two external cell death inductor agents have been evaluated, heat stress (a thermostatically controlled water bath at 43 °C for 15 minutes, previous anesthesia) and the chemotherapeutical agent etoposide in a concentration of 10 mg/Kg, doing a dose-response curve previously, in *in vivo* assays in wild type, heterozygous and *Knock-out* of ADAM17 in meiotics and postmeiotics germ cells pubescent mice of 21 days of age, with the purpose to assess if the absence of ADAM17 could prevent death of germ cells.

Because of this, different cell death indexes were measured by means of densitometry of PARP (Poly ADP-Ribose Polymerase) by *Western Blot*, evaluating number of picnotic cells and active caspase-3 cells by seminiferous tubule with histological techniques. The results obtained showed that temperature-treated mice have significant differences in the number of active caspase-3 cells, when compared to the control groups. As for mice treated with 10 mg/Kg etoposide, they show significant differences in all three rates of cell death compared to those treated with the vehicle.

In conclusion, the absence of ADAM17 prevents cell death by apoptosis of meiotic and postmeiotic germ cells when faced with inductors of heat stress and etoposide cell death.

Key words: ADAM17, heat stress, etoposide, *Western Blot*, apoptosis.