

Título: Proliferación de las células germinales: estudio de la regulación molecular y endócrina en el pez teleosteo *Oryzias latipes*

Tesista: Biólogo Omar David Moreno Acosta

Director: Juan Ignacio Fernandino

RESUMEN

La producción de gametos es un proceso fundamental para la reproducción; sin embargo, la exposición al estrés, como el aumento de la temperatura, puede disminuir o incluso interrumpir este proceso, con consecuencias negativas en la fertilidad. Es por esto que la supervivencia de las células madre espermatogoniales (*spermatogonial stem cells* o SSC) es crucial para la recuperación de la espermatogénesis en situaciones estresantes. En esta tesis demostramos que la vía de Notch está implicada en dicha supervivencia, al proteger las SSC contra el estrés térmico. Primero, corroboramos el deterioro de la espermatogénesis bajo estrés por calor en medaka, observando una detención en la metafase I a los 10 días de tratamiento térmico, un aumento en el número de espermatocitos y una regulación negativa de genes clave involucrados en la proliferación y diferenciación de las espermatogonias, como *ndrg1b* y *sycp3*. Además, a los 30 días de tratamiento térmico se observó una interrupción de la espermatogénesis con una fuerte pérdida de espermatocitos y espermátidas. Además, la exposición de machos adultos a condiciones de estrés térmico indujo apoptosis principalmente en células espermatogénicas y somáticas de soporte, con excepción de la región germinal, donde se ubican las SSC. Al mismo tiempo, los genes relacionados con la vía Notch estaban regulados positivamente, incluidos los ligandos (*dll4*, *jag1-2*) y los receptores (*notch 1a-3*). Concomitantemente durante el estrés térmico, presenilin enhancer-2 (*pen-2*), la subunidad catalítica del complejo γ -secretasa de la vía Notch, se restringió a la región germinal del testículo medaka, observado en las células somáticas que rodean las espermatogonias tipo A. La importancia de la vía Notch se vio respaldada aún más por un enfoque *ex vivo*, en el que la inhibición de la actividad de esta vía indujo una pérdida de SSC. En resumen, este estudio respalda la importancia de las vías de Notch para la protección de las SSC bajo estrés térmico crónico.

Palabras claves: presenilin enhancer-2, células germinal, testículo, medaka, apoptosis

ABSTRACT

Gamete production is a fundamental process for reproduction; however, exposure to stress, such as increased environmental temperature, can decrease or even interrupt this process, affecting fertility. Thus, the survival of spermatogonial stem cells (SSCs) is crucial for the recovery of spermatogenesis upon stressful situations. Here, we show that the Notch pathway is implicated in such survival, by protecting the SSCs against thermal stress. First, we corroborated the impairment of spermatogenesis under heat stress in medaka, observing an arrest in metaphase I at 10 days of heat treatment, an increase in the number of spermatocytes, and downregulation of *ndrg1b* and *sycp3*. In addition, at 30 days of treatment, an interruption of spermatogenesis was observed with a strong loss of spermatocytes and spermatids. Then, the exposure of adult males to thermal stress condition induced apoptosis mainly in spermatogenic and supporting somatic cells, with the exception of the germinal region, where SSCs are located. Concomitantly, the Notch pathway-related genes were upregulated, including the ligands (*dll4*, *jag1-2*) and receptors (*notch1a-3*). Moreover, during thermal stress presenilin enhancer-2 (*pen-2*), the catalytic subunit of γ -secretase complex of the Notch pathway was restricted to the germinal region of the medaka testis, observed in somatic cells surrounding type A spermatogonia (SGa). The importance of the Notch pathway was further supported by an *ex vivo* approach, in which the inhibition of this pathway activity induced a loss of SSCs. Overall, this study supports the importance of Notch pathways for the protection of SSCs under chronic thermal stress.

Keywords: presenilin enhancer-2, Germline, Testis, Medaka, apoptosis