

2016 Mayo, 6(2): 1-1

## **LA ENZIMA GLICEROL-3-FOSFATO ACILTRANSFERASA 2 (GPAT2) ES NECESARIA PARA LA ESPERMATOGÉNESIS EN EL RATÓN**

*García Fabiani MB; Stringa P; Cattáneo E; Pellon Maison M; Henning F; Montanaro M; González Baró MR*

*Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata "Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner" (INIBIOLP)-Fac. de Cs. Médicas, CONICET-UNLP. C.P: 1900. Correo electrónico: mbgarciafabiani@yahoo.com.ar*

### **Introducción**

Las enzimas glicerol-3-fosfato aciltransferasas (GPAT) catalizan la reacción entre el glicerol-3-fosfato y acil-CoA, siendo su producto el ácido lisofosfatídico. En células de mamífero se han descrito cuatro isoformas de GPAT; las GPAT1, 3 y 4 están involucradas en la síntesis de novo de glicerolípidos y su expresión está asociada a tejidos lipogénicos. GPAT2, si bien presenta alta homología de secuencia proteica con GPAT1, presenta un patrón de expresión anómalo ya que se expresa prominentemente en testículo. La transcripción del gen a lo largo de la maduración sexual posnatal en el ratón tiene un pico de expresión a los 15 días post parto y en este momento como en la adultez se expresa prominentemente es espermatoцитos en paquiteno. Hemos demostrado que esta proteína además se expresa en tejidos tumorales humanos y que su expresión aberrante está regulada al menos en parte por mecanismos epigenéticos, pudiendo clasificar a esta enzima como un antígeno cáncer testículo.

### **Objetivos**

Comprender el rol fisiológico de GPAT2 en relación con la espermatogénesis y la fertilidad así como los mecanismos que regulan su transcripción. Hipotetizamos que, como sucede con otros genes cáncer-testículo, el silenciamiento de Gpat2 murina afectaría negativamente el proceso espermatogénico y que este gen podría estar regulado por algún mecanismo epigenético.

### **Materiales y métodos**

Se silenció a Gpat2 in vivo mediante un sistema lentiviral que expresa un shRNA específico contra Gpat2, inyectando in situ en los túbulos seminíferos de ratones de 11 días de edad. Como control, se inyectó un shRNA que no silencia ningún gen conocido (Scramble, SCR). Al alcanzar la madurez sexual, se colocaron en una jaula con dos hembras cada uno hasta que cada una tuviera tres camadas de cría (dos grupos de ratones uno sh-Gpat2 y otro SCR). Luego se sacrificaron, se realizaron los cálculos estadísticos con la cantidad de crías que tuvo cada grupo de ratones y los testículos fueron utilizados para medir la expresión de Gpat2 y genes marcadores de distintos estadios de la espermatogénesis. Además se estudió el estado de metilación de la región promotora de Gpat2 durante la maduración sexual en ratón mediante tratamiento del ADN con bisulfito de sodio, para determinar si el estado de metilación correlaciona con el perfil de expresión de esta enzima durante la maduración sexual del ratón.

### **Resultados**

Logramos silenciar exitosamente Gpat2 in vivo con el sistema lentiviral; el análisis histológico e inmunohistoquímico de cortes de testículos con Gpat2 silenciada mostró una disminución severa del número de células espermáticas maduras en los túbulos seminíferos de los animales con expresión reducida de Gpat2. El grupo de ratones sh-Gpat2 tuvo un número de crías significativamente menor que el grupo SCR en la primer camada y el análisis de la expresión de genes marcadores revela que la expresión de Gpat2 en los ratones sh-Gpat2 detiene la espermatogénesis en el estadio de paquiteno, lo que coincide con el análisis histológico. Además, verificamos que la expresión de esta enzima está regulada a nivel epigenético ya que, a diferencia de otras edades, a los 11 días post parto la región promotora de Gpat2 se encuentra totalmente desmetilada.

### **Conclusiones**

Estos resultados demuestran que GPAT2 es importante para el progreso normal del ciclo espermatogénico durante el desarrollo testicular postnatal, como así también para la fertilidad masculina, y que su expresión durante la maduración testicular posnatal está regulada, a menos en parte, epigenéticamente por metilación de su promotor.

**Palabras claves:** GPAT2, ESPERMATOGENESIS, EPIGENETICA