

Montevideo, 9 de mayo de 2016

Modificaciones Finales realizadas PAIE 49 2014 – Glifosato Espermatozoides

Resumen – Se sustituyó por otro relacionado al poster y se llevó a 250 palabras y menos de 2000 caracteres (no se especifica si es con o sin espacios, tampoco es claro si es menos de 250 palabras o menor a 2000 caracteres lo solicitado dado en el formulario dice 2000 caracteres, pero en la hoja de informe dice 250 palabras).

Poster – Se agregó Resultados que estaba omitido por error de capas y se especificó el número de muestras analizadas de distintos donantes.

Informe financiero – Se adjunta copia del material adquirido, copia de lo entregado por Gastos, Contaduría, Facultad de Medicina, que pudo dar cuenta muy parcial de los gastos efectuados por devaluación, etc. Se adquirieron reactivos y material desechable para registros que se usó para la ejecución del proyecto.

PROFESOR AGREGADO BIOFISICA GONZALO FERREIRA DE MATTOS (MD, MSc, PhD)

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

PROFESOR ADJUNTO HONORARIO

CINV. CHILE

BIOTECNOLOGIA. UNAM. MEX

WASHINGTON UNIV. St LOUIS. MO. USA

INSTITUTES OF MOLECULAR MEDICINE. Huntigton. CA. USA



Universidad de la República - CSIC

Formulario de Informe final del Programa de Apoyo
a la Investigación Estudiantil
Edición 2014



DATOS DEL PROYECTO

- Título del Proyecto: ***Caracterización de los efectos funcionales y morfológicos de la exposición aguda a glifosato en espermatozoides humanos maduros.***
- Número ID del proyecto: 49
- Área de conocimiento: Salud
- Facultad o Servicio: Laboratorio de Canales Iónicos - Biofísica - Medicina
- Nombre completo de los-as Integrantes del equipo: Tacuabé González, Hugo Torres, Carlos Costa, Hector Hartmann, Katherine Bone, William Neil
- Correo electrónico del/de la estudiante referente: tacuabegc@gmail.com
- Nombre completo del/de la docente orientador-a: Gonzalo Rafael Ferreira de Mattos
- Correo electrónico del/de la docente orientador-a:
ferreira@fmed.edu.uy, ferreiragon@gmail.com

INFORME FINAL

(desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

1) Transcriba los objetivos del proyecto

B.1. Objetivos, Hipótesis y Fundamentación Generales.

El *objetivo general* de este proyecto es *estudiar las alteraciones funcionales mótils de espermatozoides humanos maduros ante exposición aguda a agroquímicos.*

La *hipótesis general* de trabajo es que *la exposición aguda a agroquímicos afecte deletéreamente dicha función.* Dicha hipótesis se fundamenta en que dado que numerosos agroquímicos afectan el funcionamiento de canales iónicos y teniendo en cuenta que los canales iónicos son a su vez centrales en la función espermática, esperamos entonces que la exposición aguda a agroquímicos tenga un efecto perjudicial en la función/morfología espermáticas.

B.2. Objetivos, Hipótesis y Fundamentación Específicos.

B.2.A – Nuestro *primer objetivo específico* será *determinar si la exposición aguda a glifosato o preparados comerciales, altera la motilidad espermática en espermatozoides humanos maduros normales.*

La *hipótesis de trabajo* es que *la exposición aguda a glifosato o preparados comerciales alterará los parámetros funcionales de movilidad espermática.*

B.2.B – Nuestro *segundo objetivo específico* es *determinar las curvas dosis-respuesta ante exposición aguda a glifosato o sus derivados comerciales en los parámetros de movilidad obtenidos por CASA.* La *hipótesis de trabajo* es que *se observarán alteraciones de estos parámetros en un rango de concentraciones del herbicida o preparados comerciales, con IC50 menor a mM.* Dicha hipótesis de trabajo se fundamenta en que los espermatozoides maduros son generalmente más sensibles a condiciones y toxicidad ambientales que otras preparaciones, como ser corazón aislado. Nuestra experiencia de repercusión funcional de glifosato o derivados en corazones aislados, indicó un IC50 en el orden mM. Dados estos hallazgos, es que esperamos que IC50 para exposición aguda a glifosato o sus derivados, sea algunos órdenes de magnitud menor en espermatozoides humanos maduros en comparación con el IC50 observado a nivel cardíaco.

2) Enumere y describa las principales actividades desarrolladas en el marco de su proyecto.

-Entrenamiento en preparación de espermatozoides humanos por técnica de swim up
-Espermiogramas
-Valoración de las muestras control y expuesta a glifosato vía Computer Assisted Sperm Analysis (Proyecto escrito y ejecutado por el Dr. Ferreira para fortalecer RRHH en el área de reproducción),

3) Indique si se han efectuado todas las etapas planteadas en el cronograma de ejecución del proyecto. En caso de que su cronograma haya sufrido alteraciones o no se haya podido cumplir con todas las etapas definidas en el cronograma, aclare los motivos de tal situación.

Existieron inconvenientes para la valoración morfológica por falta de recursos económicos necesarios para efectuar estos estudios con el monto asignado.

- 4) Indique los principales resultados obtenidos. Aclare hasta qué punto coinciden - o no - con los resultados esperados por parte del equipo.

1. La exposición aguda a preparaciones comerciales de glifosato disminuye el número de espermatozoides móviles.

2. La exposición aguda a preparaciones comerciales de glifosato disminuye la velocidad de los espermatozoides móviles.

3. La exposición aguda a preparaciones comerciales de glifosato a bajas concentraciones produce un aumento en la velocidad de los espermatozoides móviles, principalmente la velocidad rectilínea, pero no la curvilínea. Esto podría indicar un cambio en el patrón del batido flagelar. Dado que la movilidad está relacionada con mecanismos de fosforilación/defosforilación y calcio intracelular que a su vez están relacionados a canales iónicos, glifosato puede ser capaz de afectar (directa o indirectamente), los canales iónicos relacionados a los mismos. Experimentos futuros contribuirán a aclarar estos puntos.

- 5) Indique si los resultados parciales o finales del proyecto fueron difundidos a través de alguna actividad (charlas, seminarios, talleres, prensa, edición de materiales impresos, etc.).

Si, Sociedad Uruguaya de Biociencias, Seminarios internacionales y pensamos hacerlo en Jornadas CSIC.

- 6) En caso de haber enfrentado dificultades en el desarrollo del proyecto de investigación, realice una breve descripción de las mismas.

Tres compañeros dejaron de venir porque les cambió la realidad de cursos y exámenes entre ago-set 2014 y marzo-abril 2015 (Hartmann, Boné y Neil).

- 7) En base a su experiencia de trabajo en equipo en el marco de este Programa, le solicitamos que realice sugerencias o comentarios para ser tomados en cuenta en futuras ediciones del mismo.

Demasiada demora entre que se escribe y se ejecuta el proyecto.

- 8) **Resumen publicable de no más de 250 palabras** que sea accesible para un público amplio, y en un lenguaje dirigido a no especialistas en la temática de la investigación. En este resumen se debe dar cuenta de los objetivos del proyecto, los pasos seguidos para cumplirlos y los principales resultados alcanzados.

El uso de agroquímicos, compuestos químicos o biológicos usados para aumentar el rendimiento de productos agropecuarios deseados y/o el control de plagas, se ha incrementado enormemente en los últimos años en nuestro país y en el mundo. La enorme mayoría de los mismos afecta a canales iónicos de manera directa/indirecta. Uno de los más usados en nuestro país comprende el herbicida Glifosato. De acuerdo a OMS, se clasifica de categoría III (baja peligrosidad), aunque se reportan casos de intoxicación por el mismo, con un 3 a 4 % de mortalidad. Los espermatozoides son bastante dependientes en su funcionalidad de canales iónicos y señalización intracelular. Se han descrito efectos de Glifosato en espermatozoides de

varias especies (Ackha et al., 2012, Dellagrave et al., 2007). Teniendo en cuenta estos antecedentes decidimos investigar con Computer Assisted Sperm Analysis, el efecto de glifosato en la motilidad de espermatozoides humanos maduros. A bajas concentraciones (10 a 20 uM), glifosato produce un incremento de espermatozoides estáticos (20% aprox). Para dosis altas (mayores a 250 uM), este porcentaje aumenta (50 % aprox). Interesantemente, 10-20 uM Glifosato produce un aumento de 20% de la motilidad global de los espermatozoides móviles, medidos como velocidad curvilínea, rectilínea y su promedio. A dosis mayores a 250 uM, decae a 10% del control, teniendo un IC50 de 150 uM. Los resultados indican que glifosato afecta la motilidad de espermatozoides humanos y muestran una diversidad de respuestas en los espermatozoides afectados, indicando la heterogeneidad de la funcionalidad espermática en semen eyaculado.

El resumen debe contener la siguiente información:

título del proyecto

servicio

nombre de los integrantes del equipo

nombre del docente orientador

Resumen publicable:

Caracterización de los efectos funcionales y morfológicos de la exposición aguda a glifosato en espermatozoides humanos maduros.

Hugo Torres^{1#}, Juan Impagliazzo^{1#}, Tacuabé González^{1#}, Carlos Costa^{1#} y Gonzalo Ferreira^{1&}

1 Laboratorio de Canales Iónicos. Departamento de Biofísica. Facultad de Medicina. UdelaR. Montevideo. Uruguay. # Igual contribución al trabajo y & autor correspondiente, docente orientador.

Agroquímicos son compuestos químicos o biológicos usados para aumentar el rendimiento de productos agropecuarios deseados y/o control de plagas, tóxicos contra seres vivos no deseados. No son 100% específicos, pudiendo producir efectos secundarios de contaminación ambiental/enfermedad en especies que no se desea afectar. La reproducción es la producción de organismos individuales nuevos a partir de organismos parentales. Infertilidad es la incapacidad de reproducirse. Ha aumentado aproximadamente un 4% desde 1980, afectando actualmente a alrededor de un 10% de la población mundial. La principal causa de infertilidad masculina es disminución de espermatozoides maduros debido a causas genéticas, congénitas o ambientales. Entre los tóxicos ambientales, la exposición a agroquímicos tiene una alta incidencia. El glifosato es un ácido débil formado por una molécula de glicina y otra de fosfonometilo (C₃H₈NO₅P). En Uruguay es uno de los agroquímicos más usados a nivel agrícola-empresarial y doméstico. Puede alterar la reproducción impactando espermatozoides en múltiples especies. No hay estudios sistemáticos de motilidad o morfología ante exposiciones agudas mediante Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) en espermatozoides humanos maduros. El objetivo de este proyecto es estudiar las alteraciones funcionales de espermatozoides humanos ante exposición

aguda a glifosato. Los agroquímicos suelen afectar el funcionamiento de canales iónicos, centrales en la motilidad espermática, por lo que la exposición aguda a agroquímicos afecta deletéreamente la función/motilidad espermática. Este proyecto de 9 meses estudia el impacto a exposiciones agudas de este herbicida en espermatozoides humanos, estudiando su movilidad, con curvas dosis- respuesta mediante CASA.

243 palabras 1783 caracteres con espacios.

- 9) En la siguiente tabla ingrese la información solicitada en relación a los **equipos y la bibliografía adquiridos con fondos del PAIE**. Recuerde que debe entregar todos los ítems adquiridos en los dos rubros antes mencionados, para que éstos formen parte del acervo de su institución y puedan ser utilizados por equipos financiados en posteriores ediciones de este programa.

Se gastó el dinero en la compra de dispositivos de adquisición de señales desechables. Se necesitó de DMEM-F12 estéril, necesario para el trabajo con espermatozoides, cámaras asociadas y glifosato (principio activo y formulaciones comerciales), que se adquirieron con otros fondos. Se adjunta la hoja de cálculo correspondiente de ejecución financiera que es copia fiel de la existente en sección gastos contaduría. Los fondos adjudicados dieron cuenta MUY PARCIALMENTE de los gastos que demandó este proyecto, en parte debido al desfasaje de entrega de fondos con momento en que se escribió el proyecto y la devaluación del peso frente al dólar.

EQUIPOS	
cantidad	ítem - descripción

BIBLIOGRAFÍA	
cantidad	autor(es), título, editorial, año

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I+D de los Servicios lo siguiente:

- Un CD con el **informe final** en formato .odt o .pdf. Y con el **póster** en su versión digital en formato .jpg o .pdf
- Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)


 Tacuabé 4.577.763-0

 FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al **docente orientador** que brinde una **opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes** durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los **resultados** expuestos a través de este informe y el contenido de su **resumen publicable**. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

Desempeño estudiantes

Trabajaron muy bien todos los estudiantes que figuran como autores en el resumen. El resto de los estudiantes, anotados para el proyecto y que contribuyeron a escribirlo, tuvieron una participación muy escasa en la realización del mismo. El problema central es que toman gran ímpetu al escribir el proyecto llegando los fondos varios meses después, cuando los estudiantes se ven enfrentados a otra realidad.

Resultados y resumen

La contaminación por agroquímicos es un grave problema a nivel nacional. Este proyecto evalúa por primera vez a nivel internacional como se afecta la movilidad espermática por glifosato, a varios niveles.

Evaluación del Programa

Es algo que desalienta a este orientador acerca de la continuidad futura de estos proyectos con los estudiantes que concurren al laboratorio entusiasmados por acercarse a la ciencia, sobre todo los informes y trámites minuciosos que hay que hacer por \$25000, comparable a lo que se realiza en proyectos de mayor monto a nivel nacional, regional o internacional. Eso, unido al desfase entre el armado del proyecto y la ejecución del mismo meses después, son factores que a éste docente le hacen dudar sobre posibles emprendimientos futuros en otros llamados. En mi opinión se ha ido de más a menos con la complejidad agregada.


.....
FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR

PAIE – Gonzalo Ferreira “Stress oxidativo provocado por agentes químicos”
 PAIE – Gonzalo Ferreira “Caracterización de los efectos funcionales morfológicoshumanos maduros”

Asignación Inicial Gastos 2015 52,500

Ejecución	Empresa	Factura	
06/01/15 Colaginasa P:2015191b	Worthington		9,108
07/22/15 Gastos terminales colaginasa Worthington – FEDEX	Fundación Manuel Pérez	85578	1,100
07/22/15 Gastos terminales colaginasa Worthington – TCU	Fundación Manuel Pérez	26569	1,515
06/18/2015 Tarjeta de adquisición P:2015194a	Optical Science Shop	150521-01	30,246
06/18/15 Tarjeta de adquisición GASTOS TERMINALES	Fundación Manuel Pérez		5,430
06/18/15 Tarjeta de adquisición BAJA GASTOS TERMINALES	Fundación Manuel Pérez		-5,430
11/20/15 Gastos terminales Optical Science – T Vazquez	Fundación Manuel Pérez	172465	420
11/20/15 Gastos terminales Optical Science – TCU	Fundación Manuel Pérez	50714	515
11/20/15 Gastos terminales Optical Science – Sibel	Fundación Manuel Pérez	85488	750

Total Gastado 43,655

Saldo del Proyecto al 31/12/15 8,845

PAIE – Gonzalo Ferreira “Stress oxidativo provocado por agentes químicos”
 PAIE – Gonzalo Ferreira “Caracterización de los efectos funcionales morfológicoshumanos maduros”
 PAIE – Gonzalo Ferreira “Electromiografía uterina como método paraclínico....”

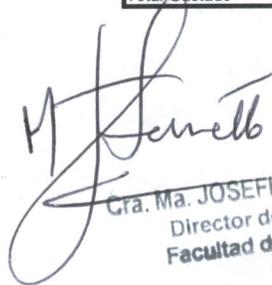
Saldo 2015 8,845
 Asignación Inicial Gastos 2016 27,500

Ejecución	Empresa	Factura	
04/28/16 Reintegro gastos varios	Gonzalo Ferreira		8,845

Total Gastado 8,845

Saldo del Proyecto al 06/05/16 27,500

AVAL CONTABLE INSTITUCION – FIRMA


 Gra. Ma. JOSEFINA SERVETTO
 Director de División
 Facultad de Medicina