

Workshop “La Investigación nuestro mejor medicamento”

23 Noviembre 2023

Aplicación de la nanotecnología para la protección espermática frente al estrés oxidativo

Alejandro Jurado Campos

Grupo SaBio



Índice

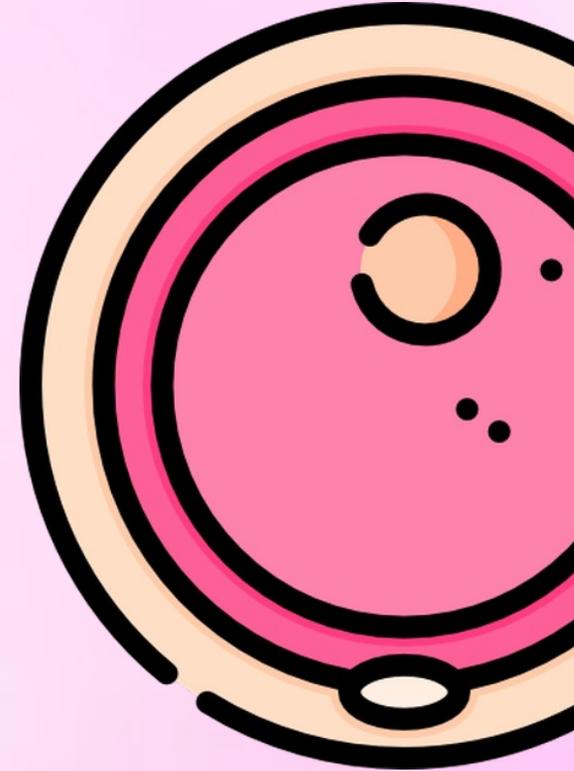
1. Introducción



2. Objetivos

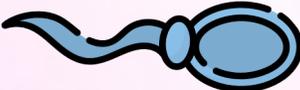


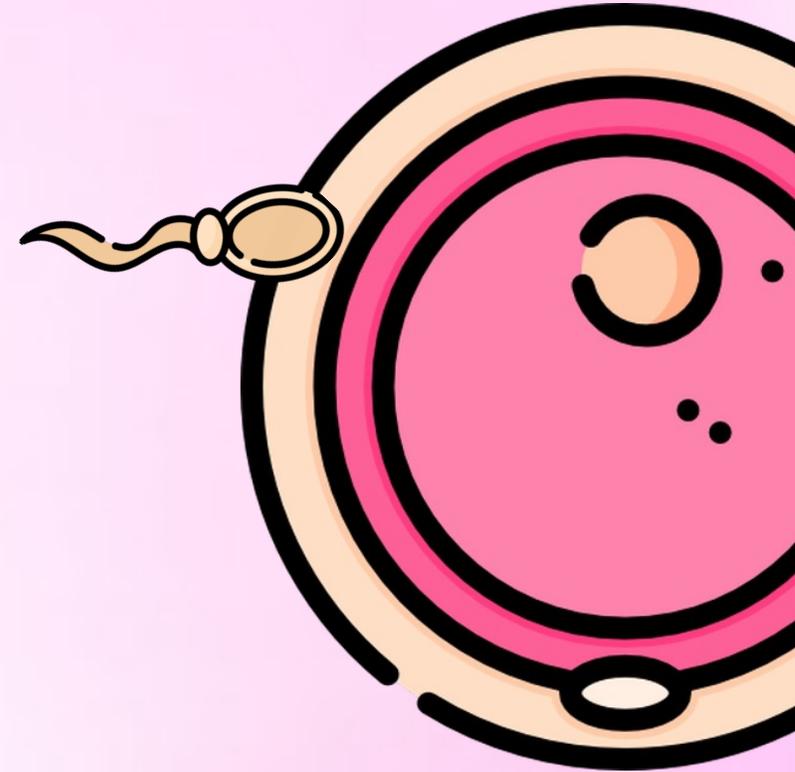
3. Resultados



1. Introducción

2. Objetivos 

3. Resultados 



Grupo SaBio (Sanidad y Biotecnología)



Última década

Más de 600 artículos (SCI)

Más de 20 patentes



Grupo SaBio

2 grandes líneas de investigación

Gestión y monitorización integrada de fauna silvestre

Biotecnología reproductiva



Grupo Biología de la Reproducción

Nuestro grupo



Grupo SaBio de Biología de la Reproducción (Albacete, UCLM)

- Mejora calidad de las muestras espermáticas y tasas de supervivencia.
- Resultados más relevantes:
 - Mejora de la viabilidad mediante antioxidante de muestras refrigeradas;
 - Criopreservadas;
 - Incubadas tras descongelación;
 - E incluso tras separación espermática X e Y mediante CF

ANTIOXIDANTE	PARÁMETRO	Spc	AUTOR
SOD y CAT	Motilidad, viabilidad, acrosomas y membrana		Fernández-Santos <i>et al.</i> 2007
CAT	Motilidad, ROS y ADN		Fernández-Santos <i>et al.</i> 2009
Vitamina C	Motilidad, viabilidad y ADN		Fernández-Santos <i>et al.</i> 2009
Vitamina E	ROS y membrana		Martínez-Pastor <i>et al.</i> 2008 y 2009
Vitamina E	Acrosomas y ADN		Domínguez-Rebolledo <i>et al.</i> 2009
Vitamina E, melatonina y crocina	ROS, LPO, acrosomas y ADN		Domínguez-Rebolledo <i>et al.</i> 20010
DHA, TEMPOL, NAC y rutina	Motilidad, LPO, ROS y ADN		Mata-Campuzano <i>et al.</i> 2015
Vitamina E y GSH	Viabilidad y membrana		Anel-López <i>et al.</i> 2015



¿Por qué es importante esta investigación?



El sector ganadero en la actualidad



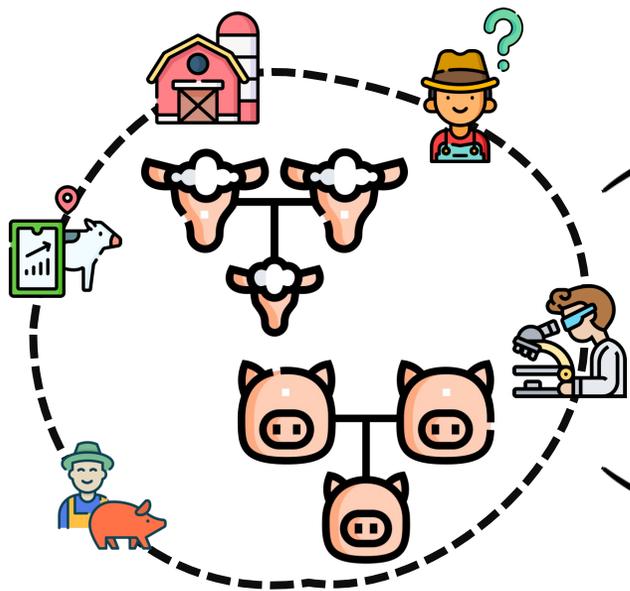
"Sírvanse vuestas mercedes de ordeñar las ovejas manchegas a la antigua usanza y agréguesele flor de cardo manteniendo el condimento a una temperatura de 30 grados para obtener la cuajada. Sáquese del lebrillo con un cuenco o bacía y deposítese en los moldes de pleita, apretando para que escurra... donde se mantendrán en asueto durante 60 días ... Al cabo de los cuales se retirarán de los vasares para el buen yantar en la mesa de canónigos y príncipes".

Miguel de Cervantes (Don Quijote de la Mancha)

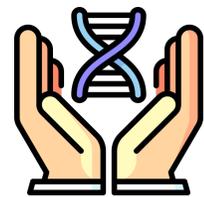


Programas de cría y ganadería

Programas de cría



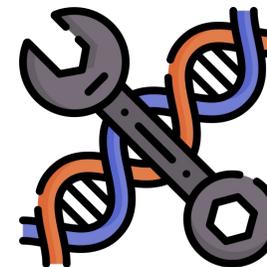
Desarrollo



Mejora



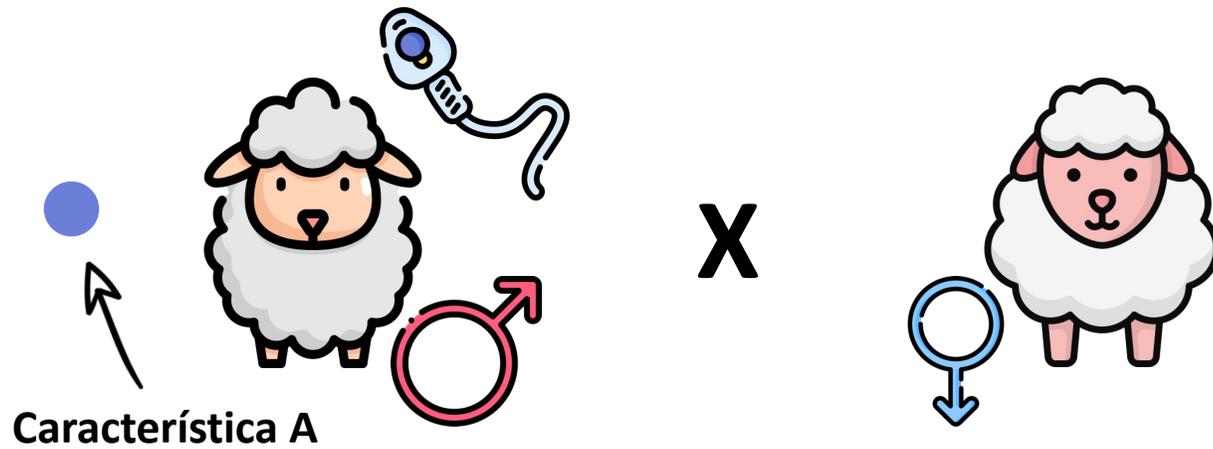
Reproductiva



Genética



Inseminación artificial (IA)



¿Cuáles son las limitaciones de la IA?



Inseminación artificial (IA)

Multifactorial



Sincronización de celos

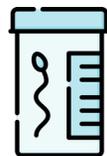


Calidad espermática



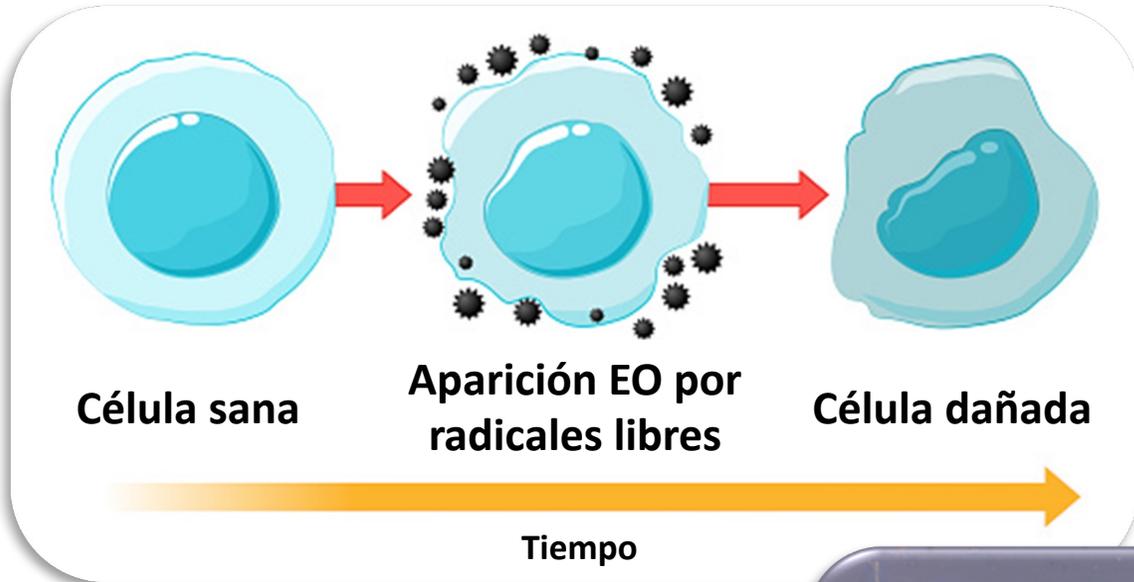
Raza

La IA implica una manipulación de las muestras



Estrés Oxidativo

Espermatozoide vs. Estrés oxidativo



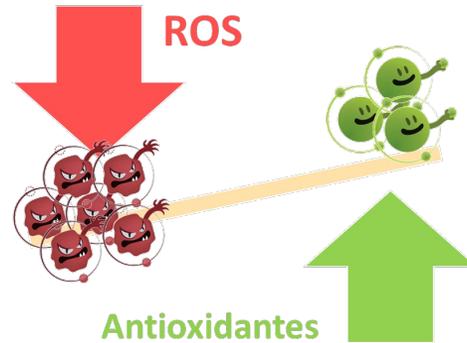
Especies reactivas de oxígeno		Fórmula
Radicales	Hidroxilo	•OH
	Óxido nítrico	NO
	Anión Superóxido	O ₂ ⁻
	Peroxilo	RO ₂
	Peroxil lipídico	LOO-
	Tiilo	RS-
No radicales	Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂
	Peróxido lipídico	LOOH
	Ozono	O ₃
	Ácido hipocloroso	HClO
	Oxígeno singlete	¹ O ₂
Especies reactivas de nitrógeno		Fórmula
Radicales	Peroxinitrito	ONOO-

Papel de los radicales libres

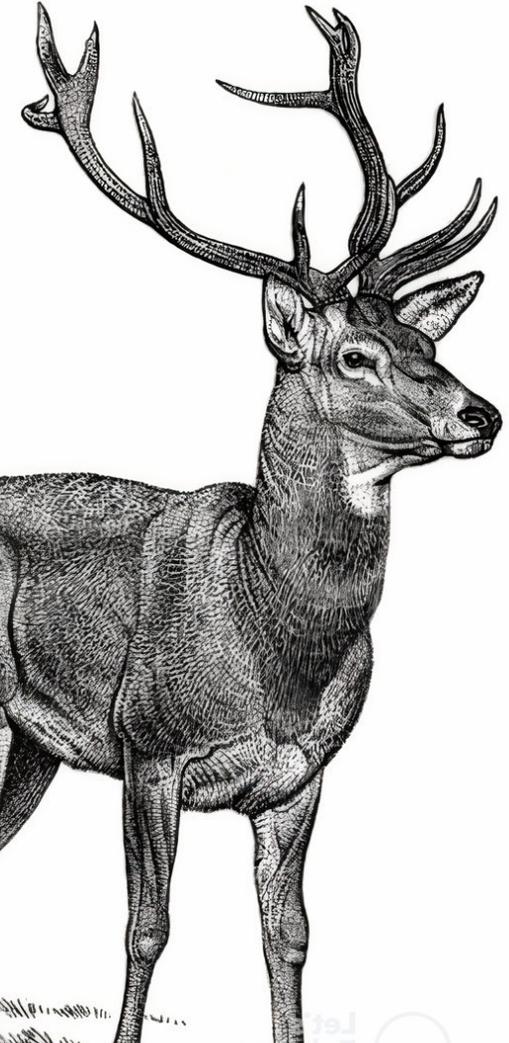
¿Son siempre perjudiciales?

Depende de la concentración

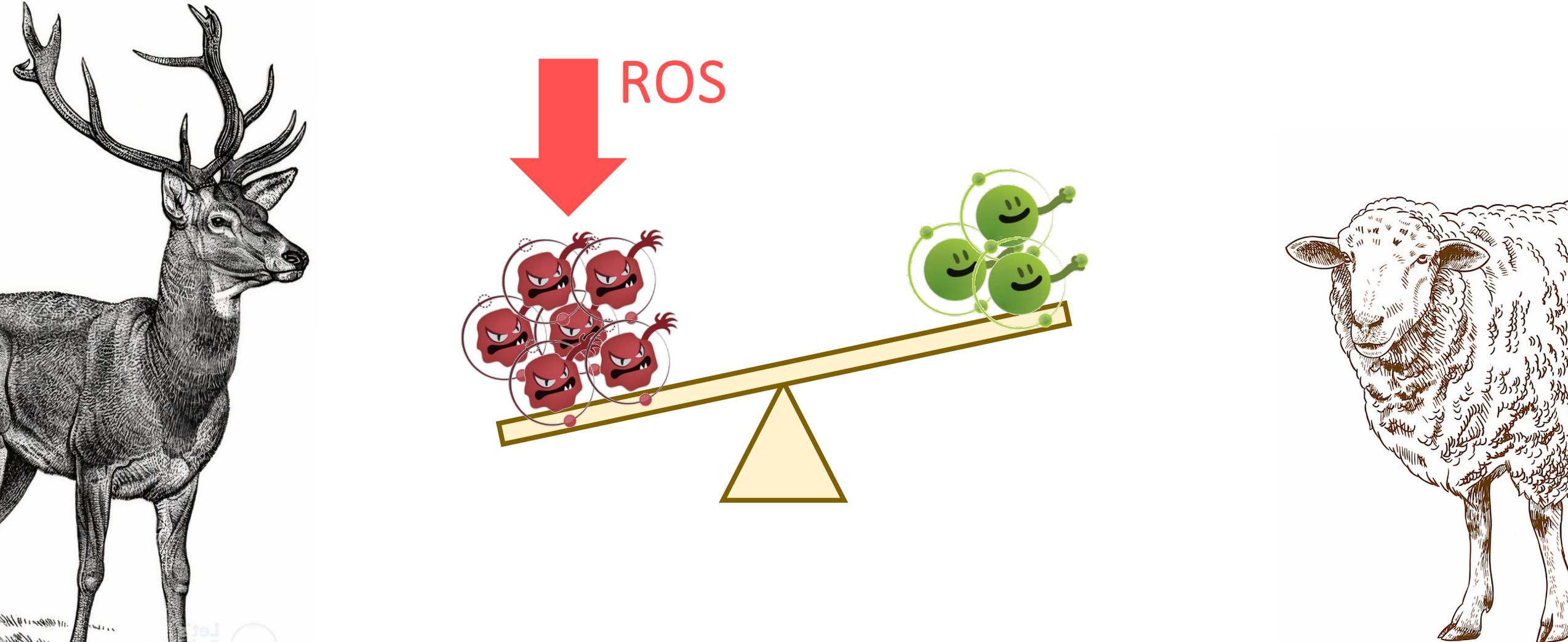
Efectos deletéreos



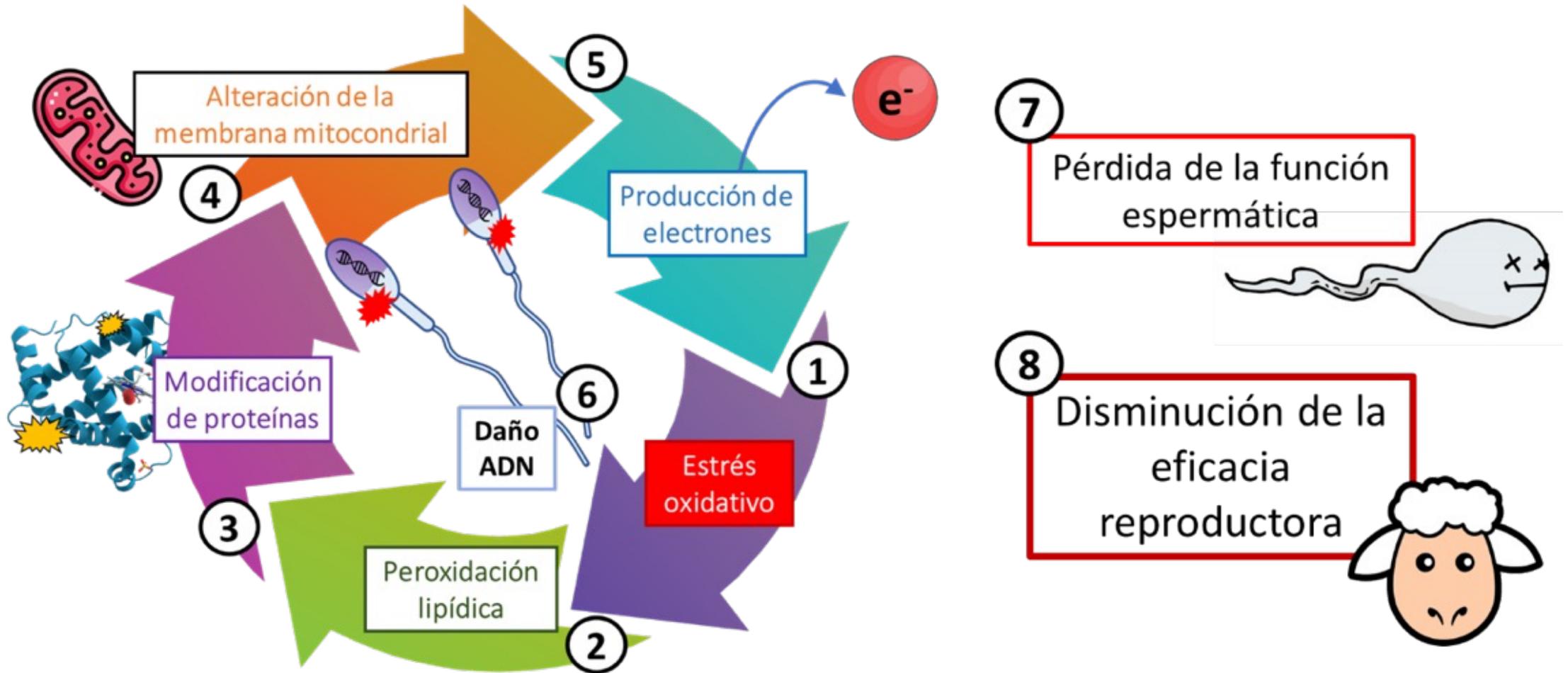
Función fisiológica



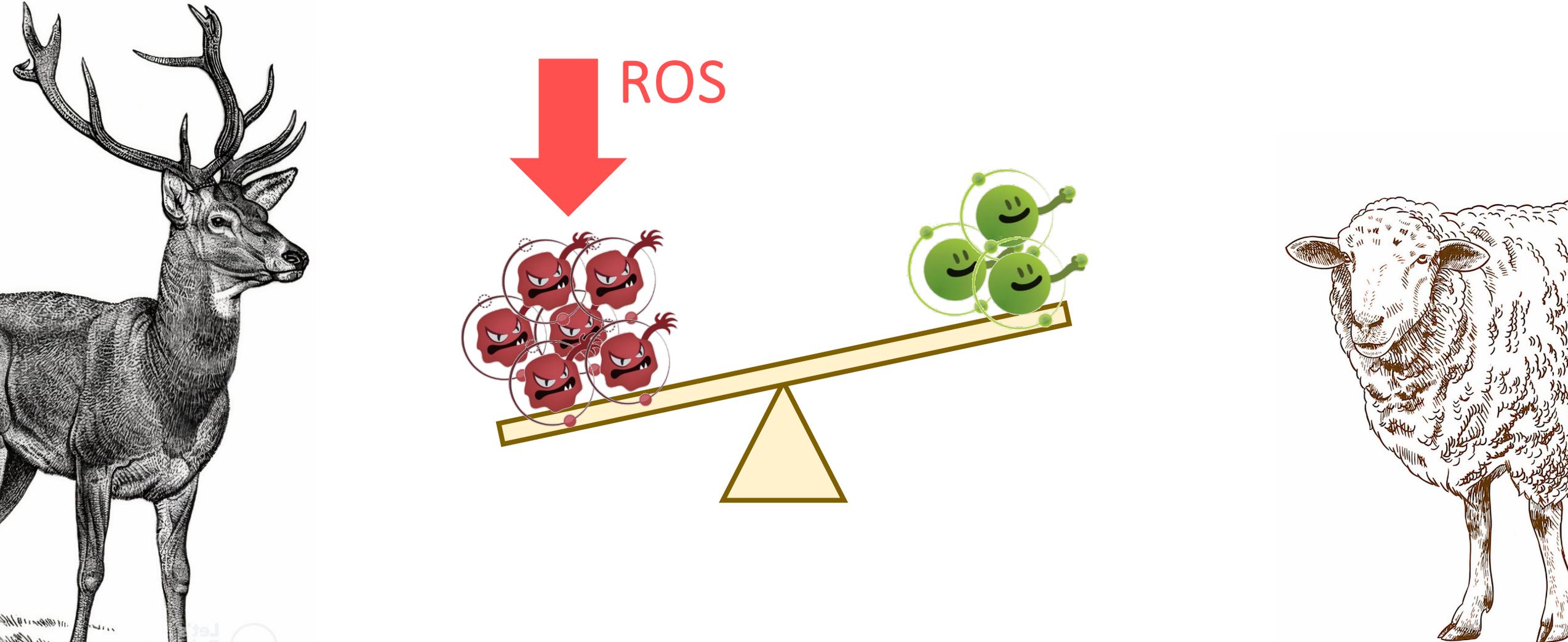
Efectos deletéreos de los radicales libres



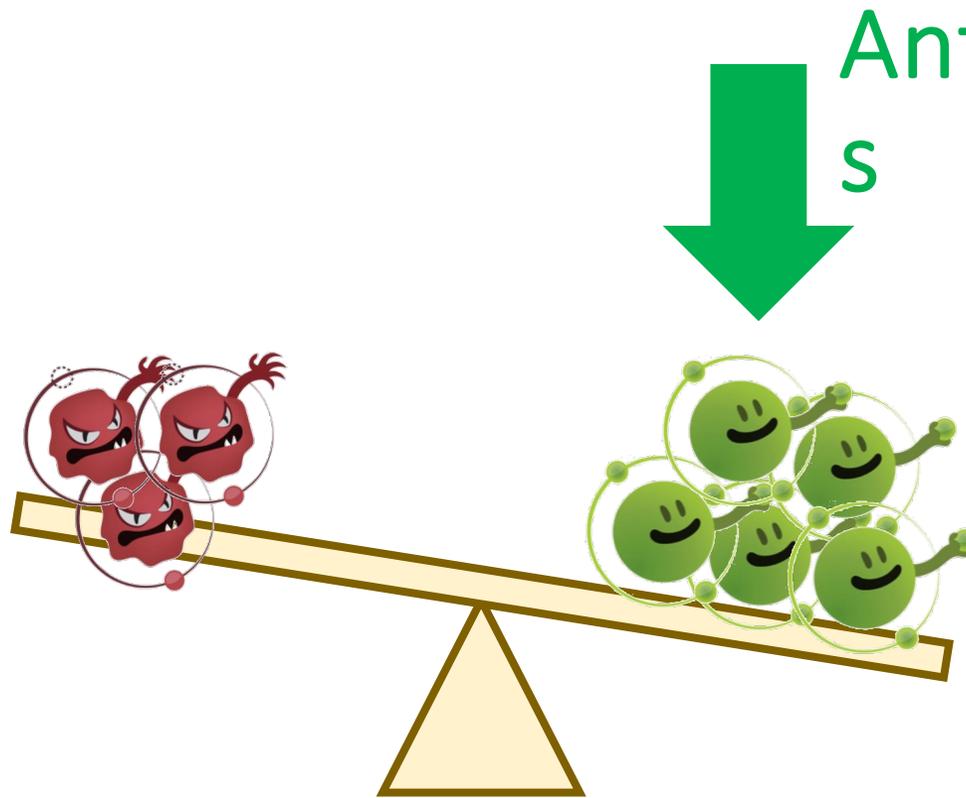
Cascada del estrés oxidativo



Efectos deletéreos de los radicales libres



Funciones fisiológicas de los radicales libres

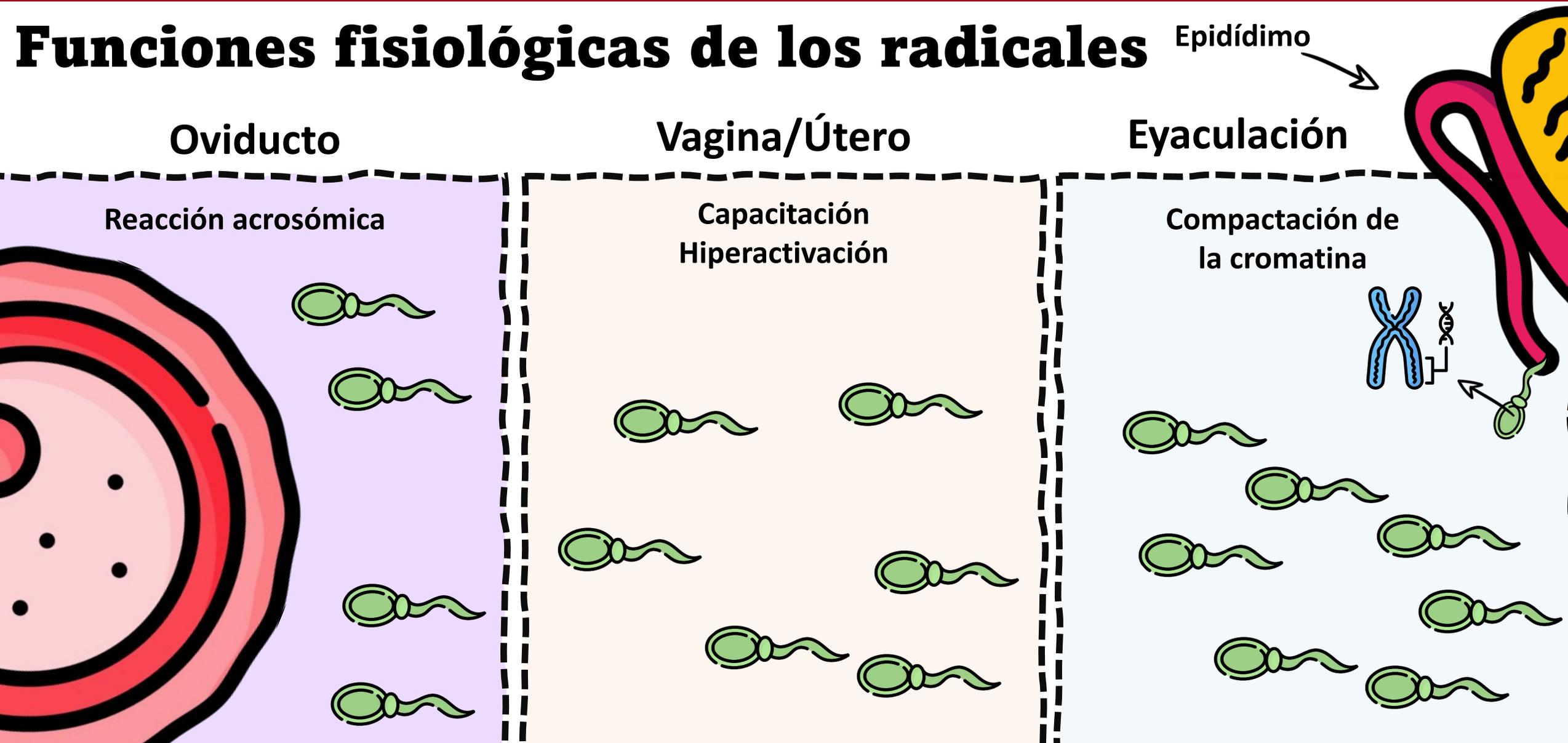


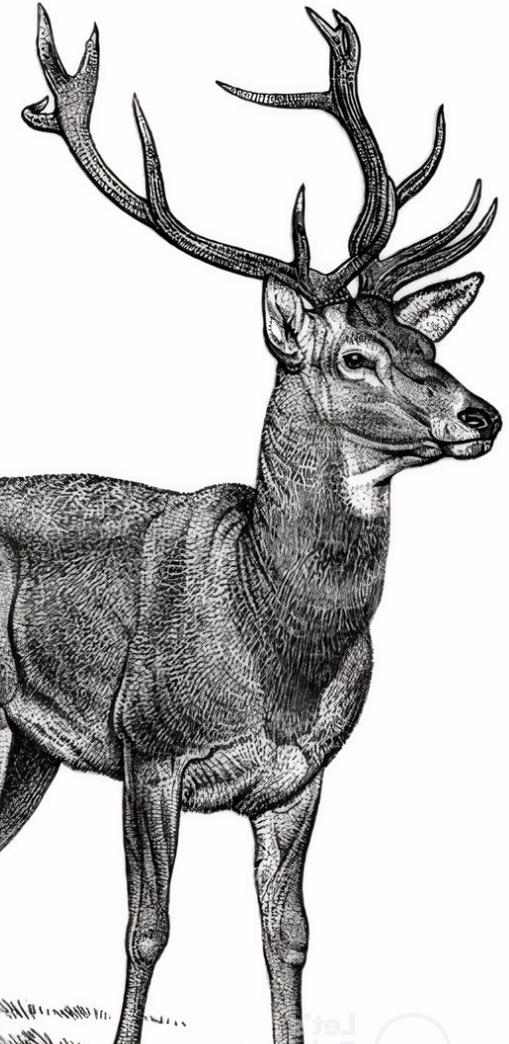
Antioxidantes

s



Funciones fisiológicas de los radicales





Obtener un equilibrio en la cantidad de radicales libres es fundamental



Nanotecnología para la protección espermática

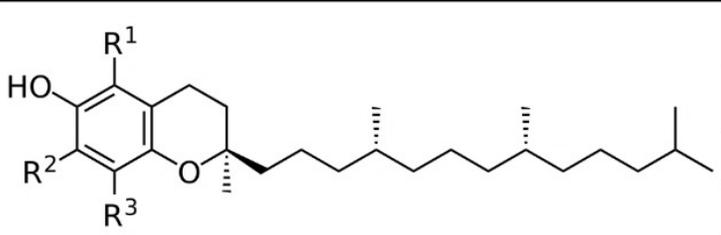


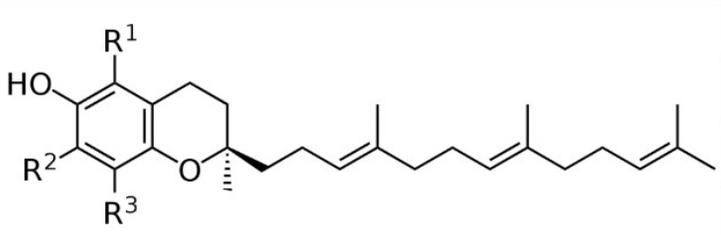
Nanotecnología



Nuestro grupo: Vitamina E

Funciones

Tocoferoles	R1	R2	R3	Nombre
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocoferol
	CH ₃	H	CH ₃	β-tocoferol
	H	CH ₃	CH ₃	γ-tocoferol
	H	H	CH ₃	δ-tocoferol

Tocotrienoles	R1	R2	R3	Nombre
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocotrienol
	CH ₃	H	CH ₃	β-tocotrienol
	H	CH ₃	CH ₃	γ-tocotrienol
	H	H	CH ₃	δ-tocotrienol

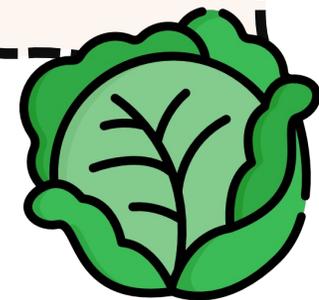
Protección antioxidante

Regulación inmunológica

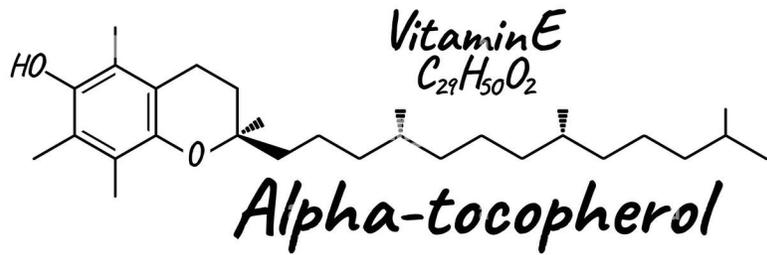
Salud cardiovascular

Formación glóbulos rojos

Protección de la membrana celular



Trolox® (Análogo vitamina E)



¿Podemos mejorarlo?

Bajas concentraciones (0.1 mM)

↓ Estrés oxidativo Protege el ADN ↓ LPO Protege el acrosoma

Motilidad → 

Altas concentraciones (2 mM)

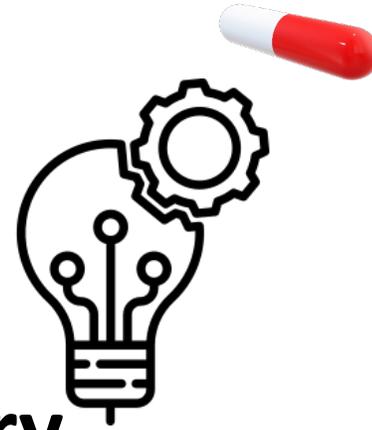
↓ Estrés oxidativo Protege el ADN ↓ LPO Protege el acrosoma

Motilidad → 

Efectividad de la terapia

¿De qué depende la efectividad de una terapia?

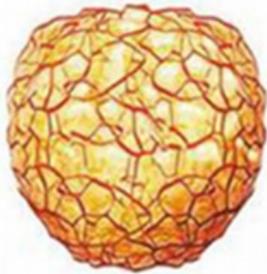
¿Podemos mejorar dicha efectividad?



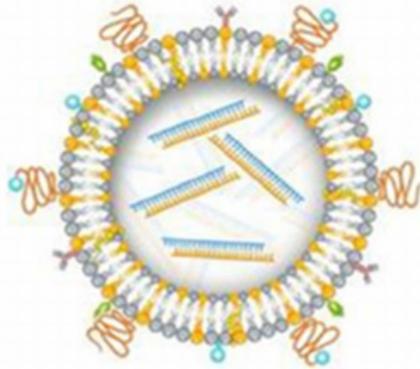
~~Drug Delivery Systems~~



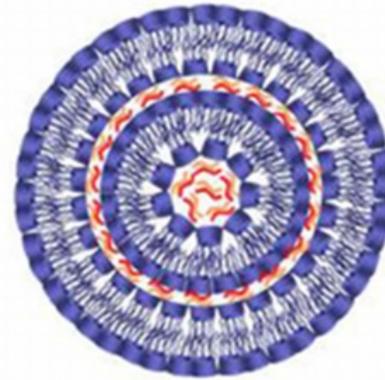
Drugs Delivery Systems (DDS)



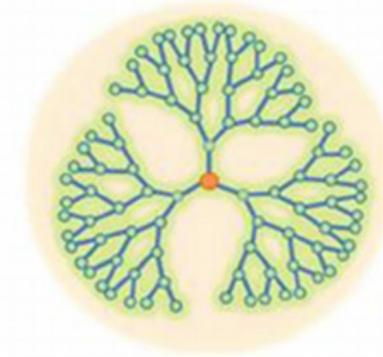
a) Polímeros



b) Liposomas



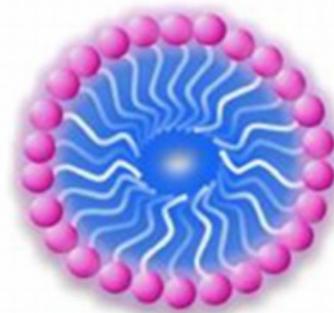
c) Ciclodextrinas anfifílicas



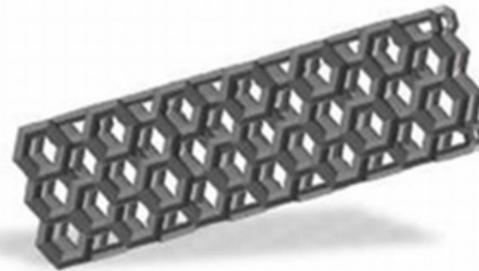
d) Dendrimeros



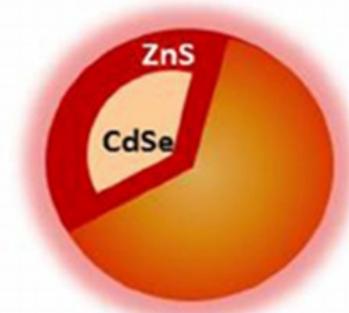
e) Partículas de oro



f) Micelas



g) Nanotubos de carbón



h) Puntos cuánticos

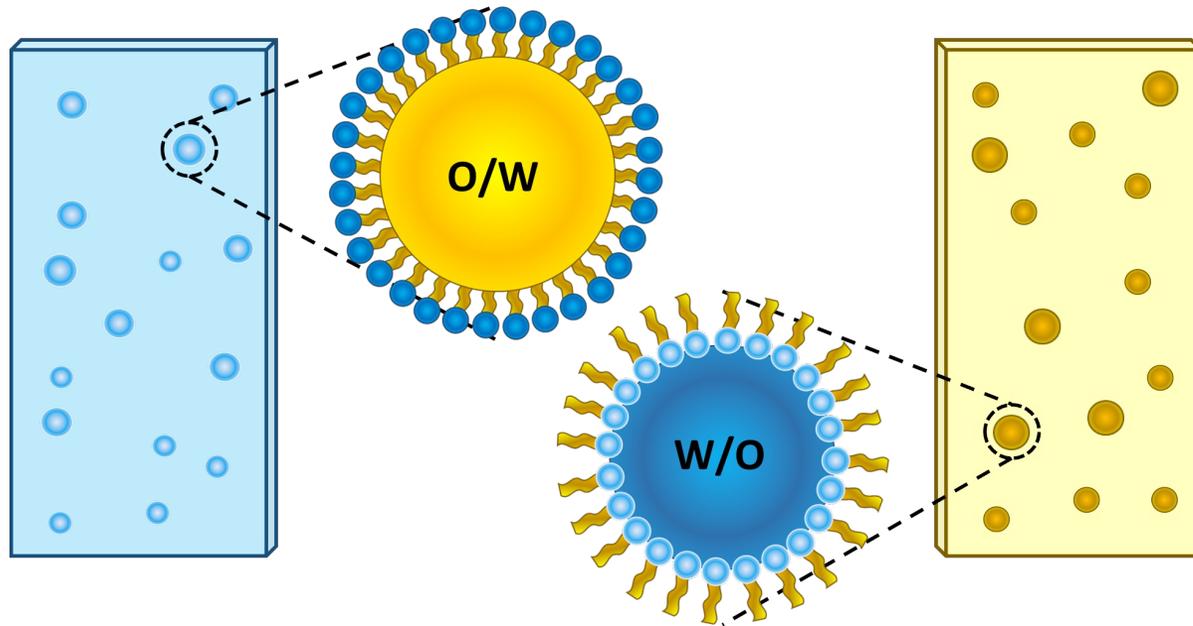
Nanotecnología para la protección espermática



Nuestra propuesta



Drugs Delivery Systems (DDS)



Nanoemulsiones

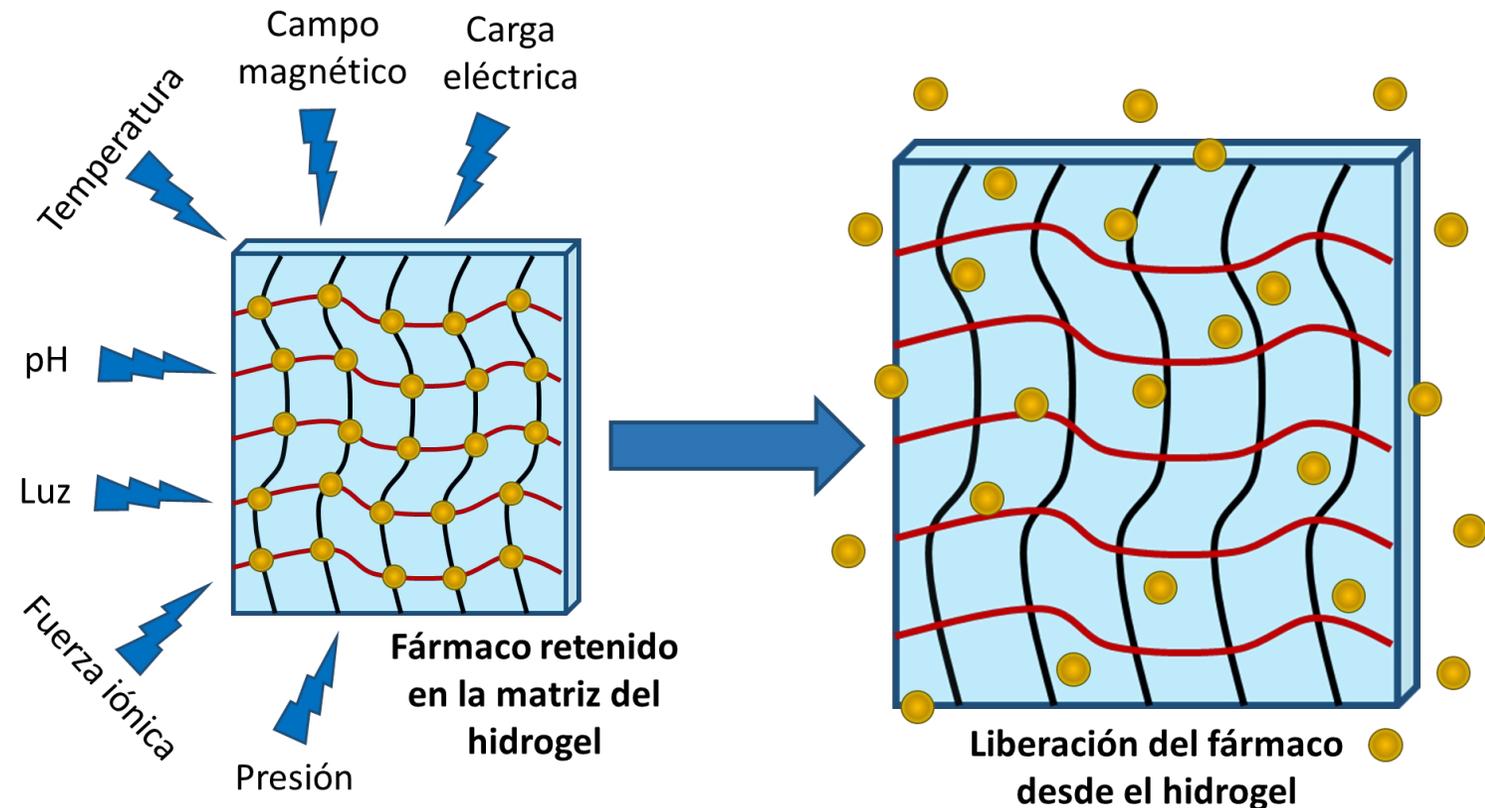
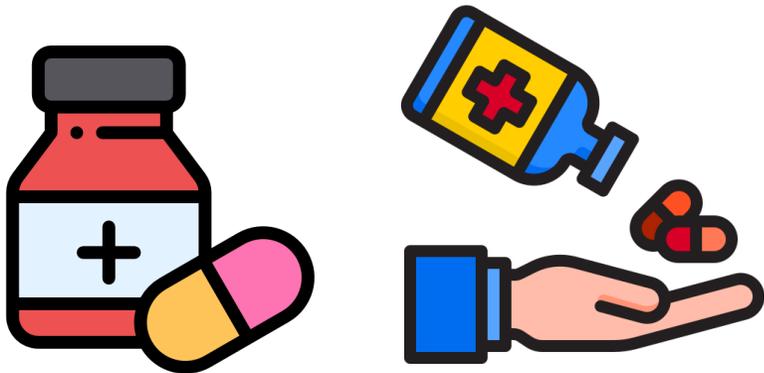
- ↑ Hidrosolubilidad
- ↑ Estabilidad
- ↑ Biodisponibilidad
- ↑ Protección fármaco



Drugs Delivery Systems (DDS)

Hidrogeles

- ↑ Biocompatibilidad
- ↑ Flexibilidad
- ↑ Contenido acuoso

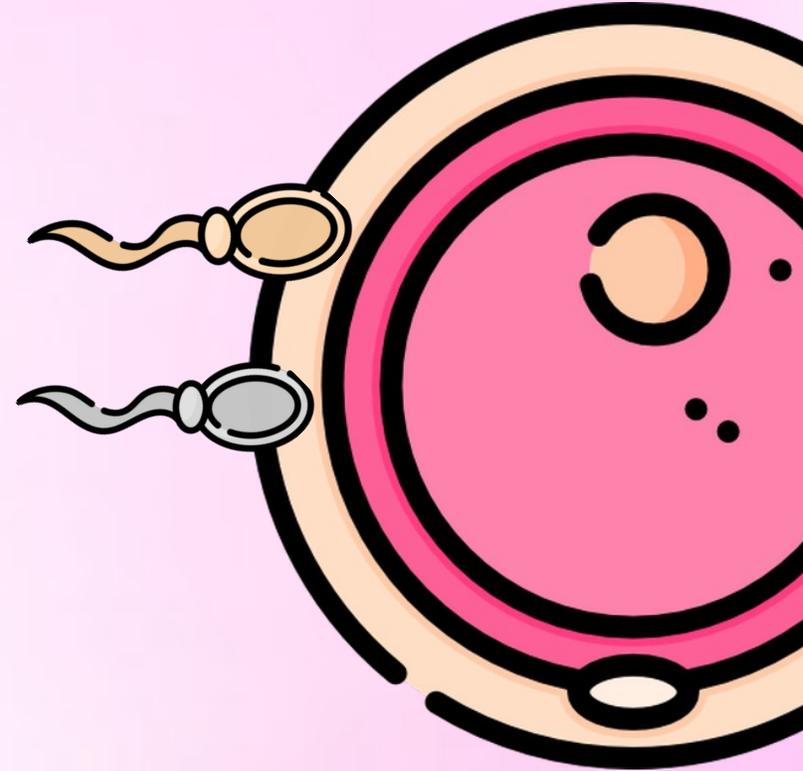


Índice

1. Introducción

2. Objetivos

3. Resultados



Objetivos

- 1 Examinar la citotoxicidad de estas nanoestructuras de liberación controlada de fármacos, sobre la célula espermática.
- 2 Estudiar el efecto de dichas nanoestructuras de liberación controlada de Vitamina E frente a la Vitamina E libre.
- 3 Determinar la concentración idónea de encapsulación de vitamina E dentro de las diferentes nanoestructuras.
- 4 Estudiar el efecto protector de la vitamina E encapsulada en nanoemulsiones durante el transporte/incubación de muestras espermáticas a diferentes temperaturas (22 °C frente a 15 °C).
- 5 Evaluar el efecto de las nanoemulsiones e hidrogeles de Vitamina E, de forma individual y conjunta, en presencia o ausencia de agente oxidativo exógeno, en espermatozoides descongelados.

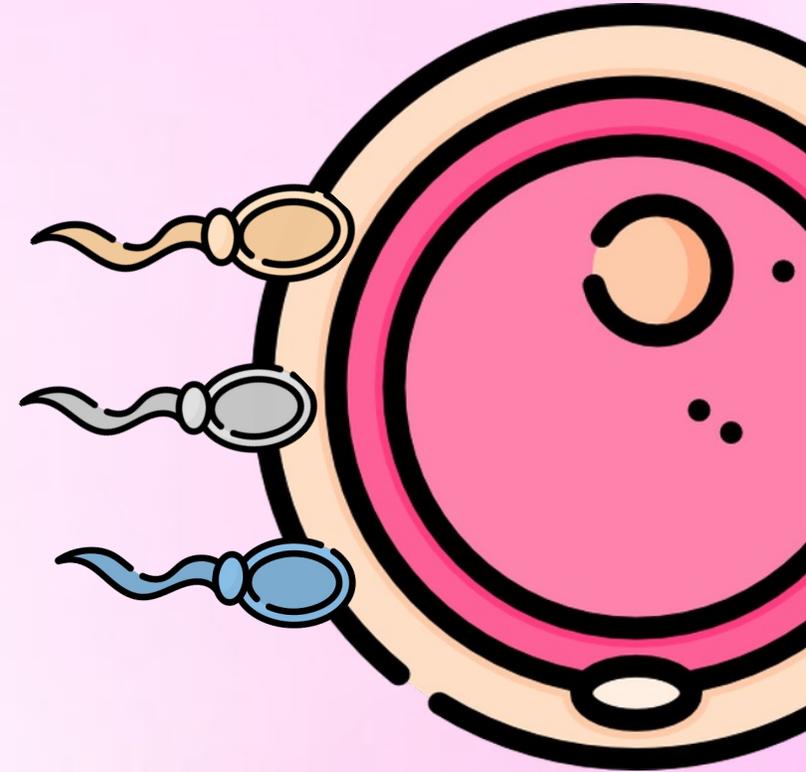


Índice

1. Introducción

2. Objetivos

3. Resultados



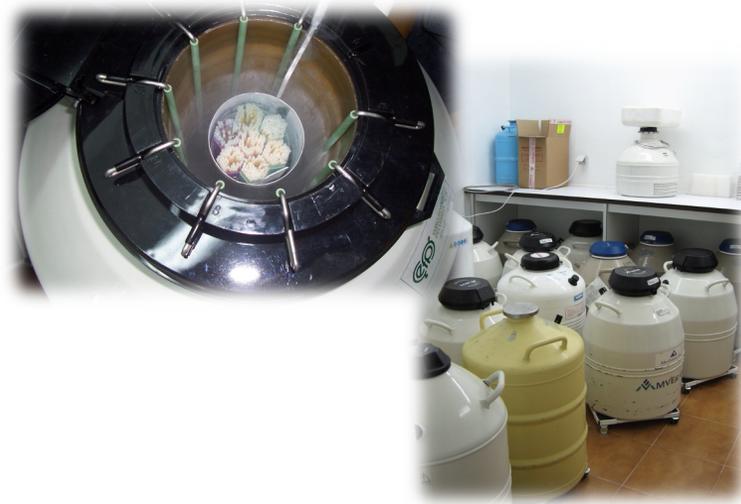
Muestras empleadas: **Animales**

Experimentos 1 y 2



**Granja de
experimentación
animal de la UCLM**

Experimento 3



Actividad cinegética

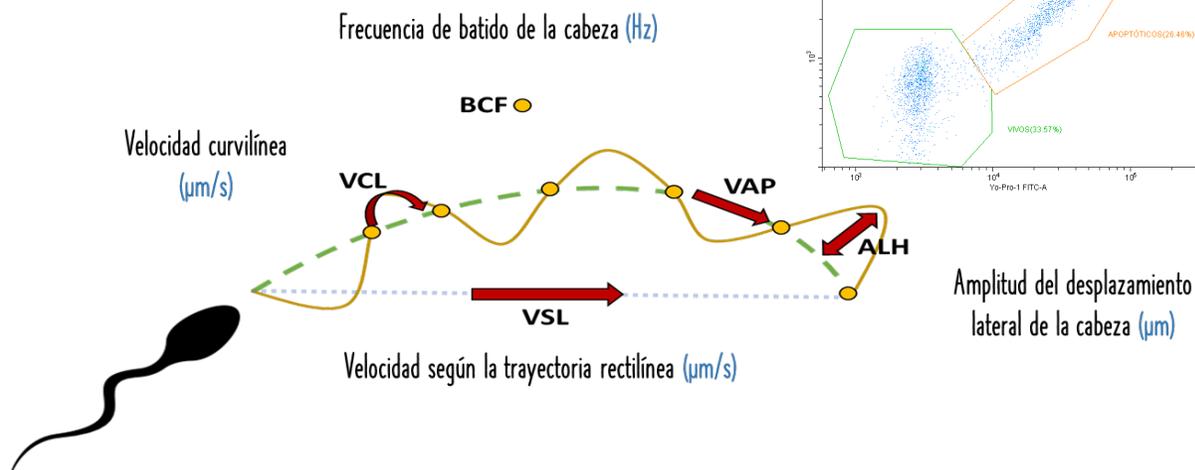


Resultados

Análisis de motilidad: CASA®

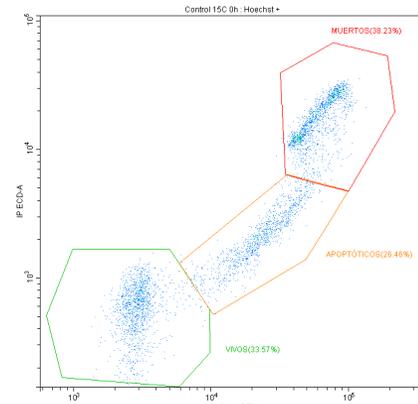


MT: Motilidad total (%)
MP: Motilidad progresiva (%)
LIN: Linealidad (%)
STR: Rectitud (%)
WOB: Índice de oscilación (%)



Análisis por citometría

- CYTOFLEX (Beckman Coulter, EE.UU)
↓
CytExpert software v.2
↓
IDEAS software

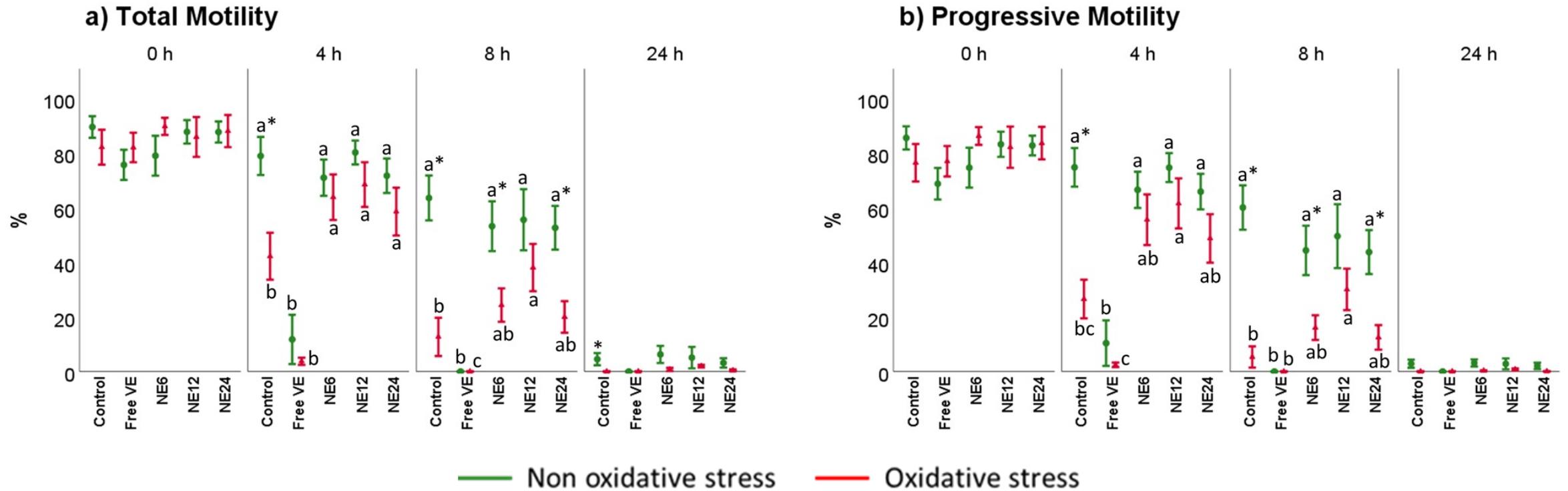




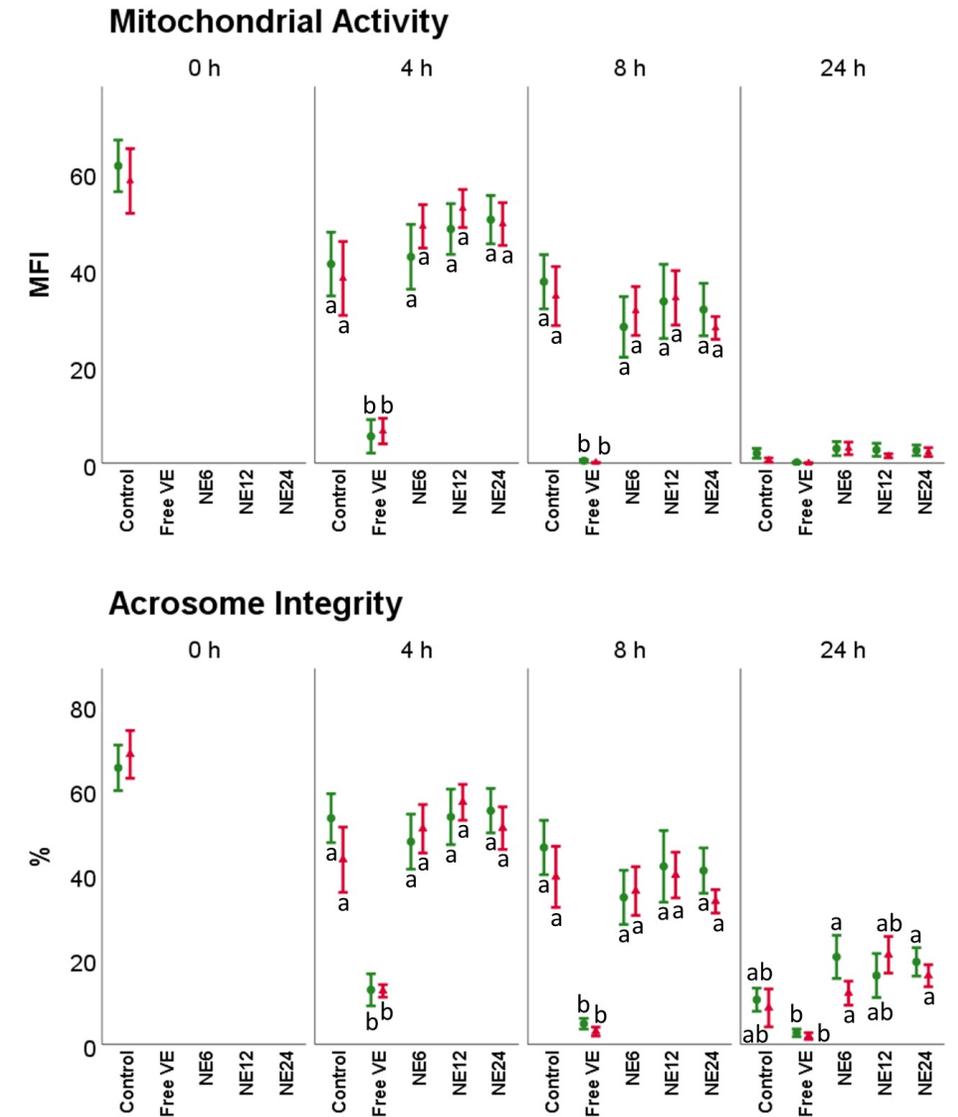
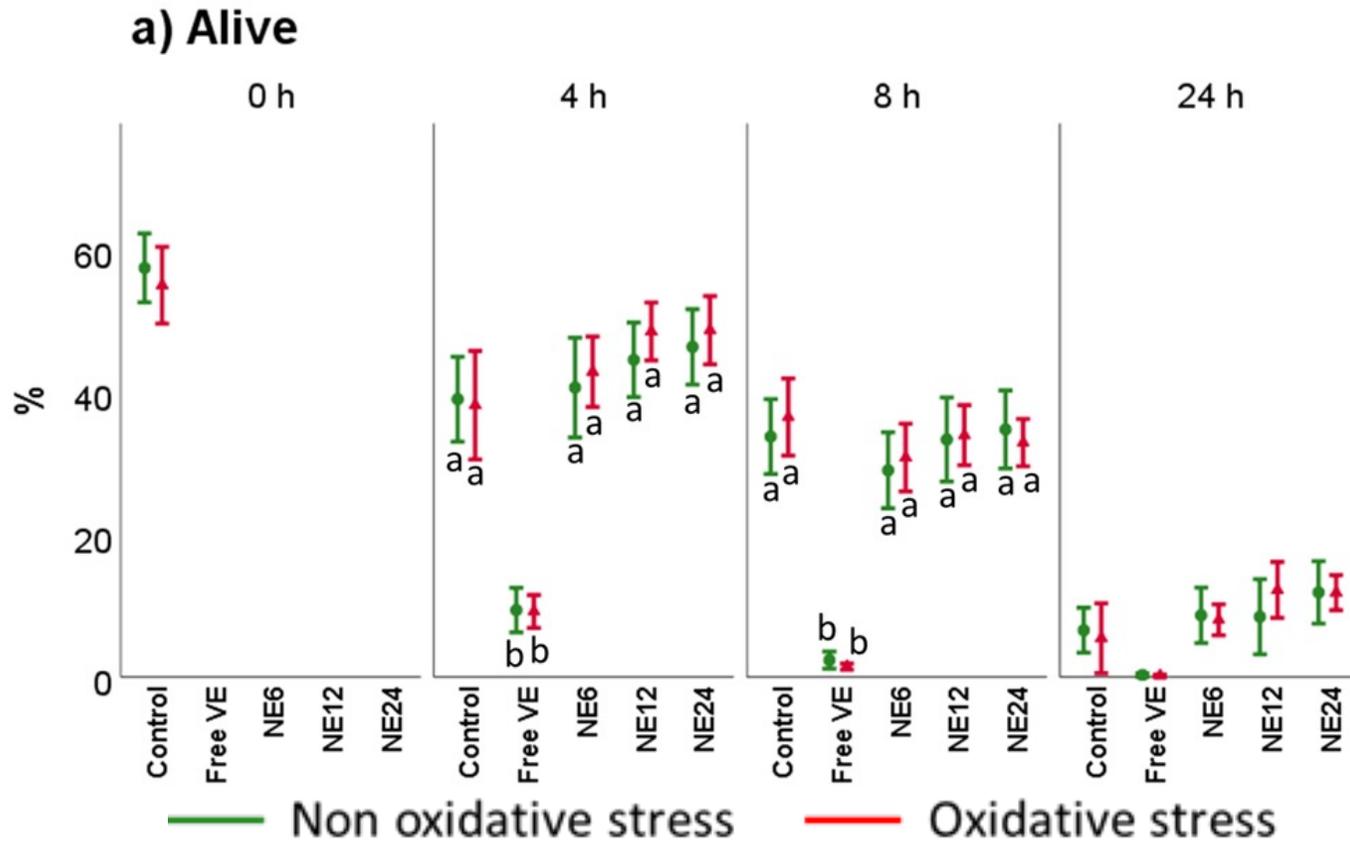
Idoneidad de las
nanoemulsiones
para la liberación
de vitamina E



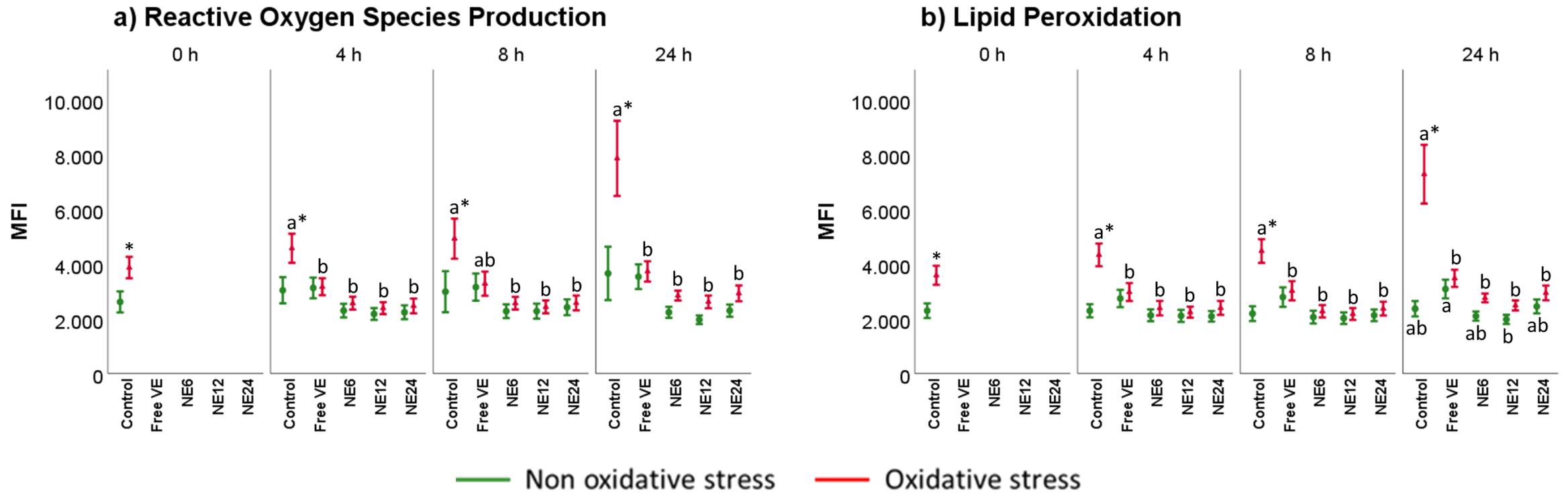
Motilidad



Fisiología espermática



Estrés oxidativo



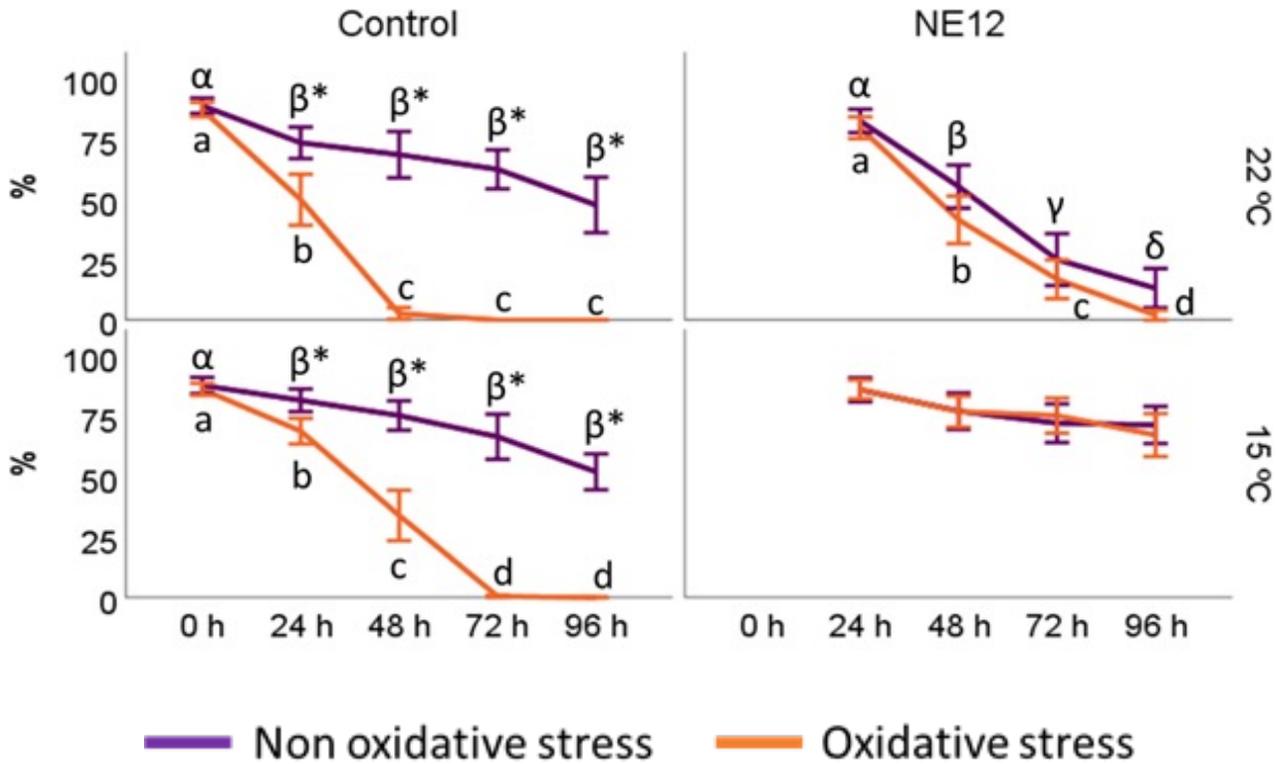


Eficacia en el
transporte de
muestras a
diferentes
temperaturas

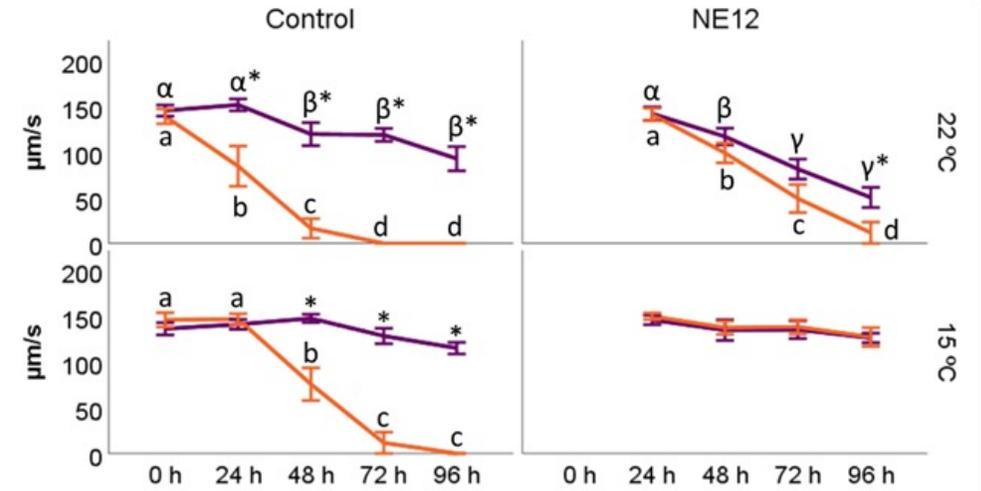


Motilidad

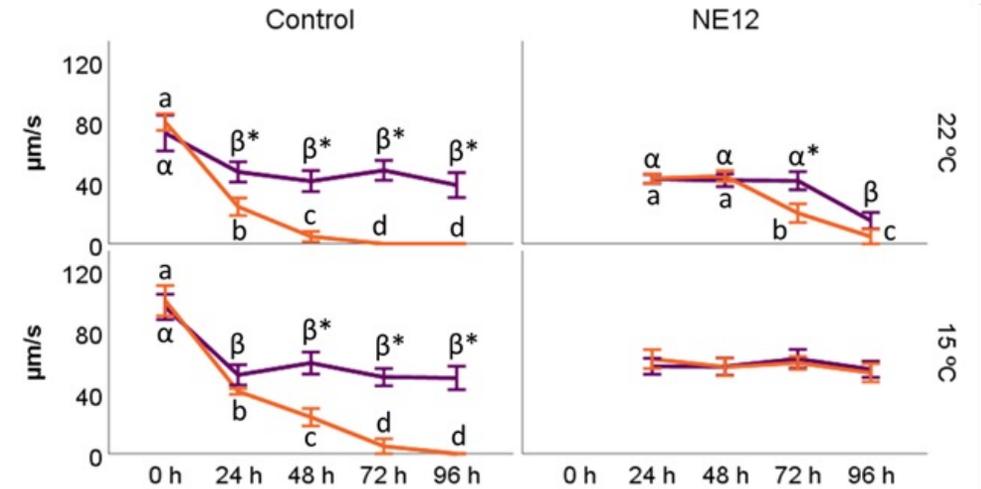
b) Progressive motility



a) Curvilinear velocity

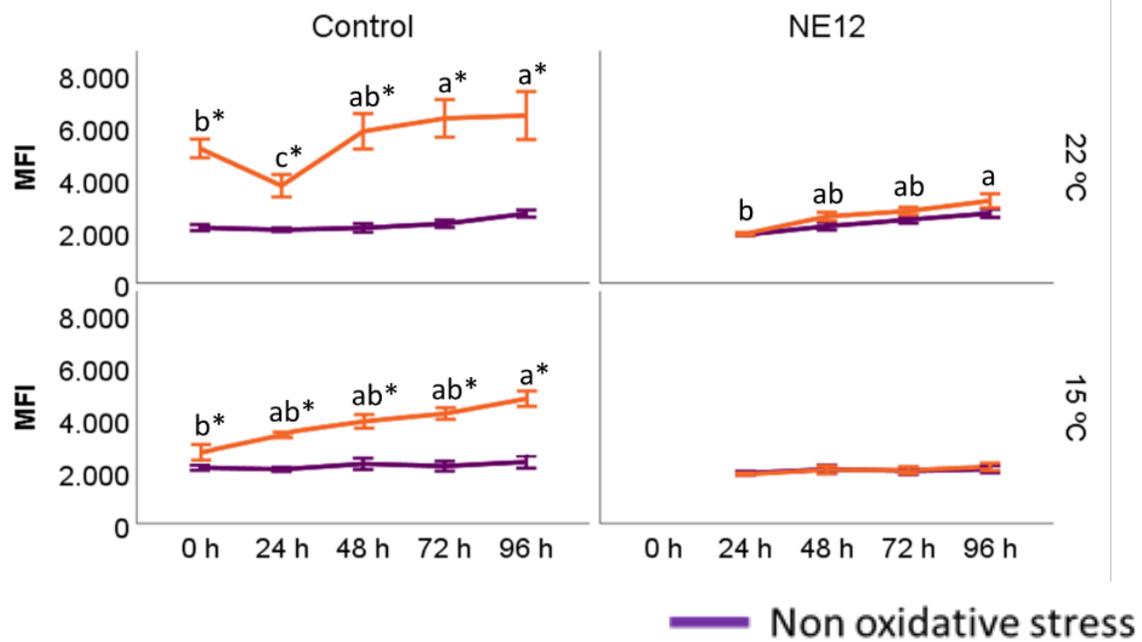


b) Straight-line velocity

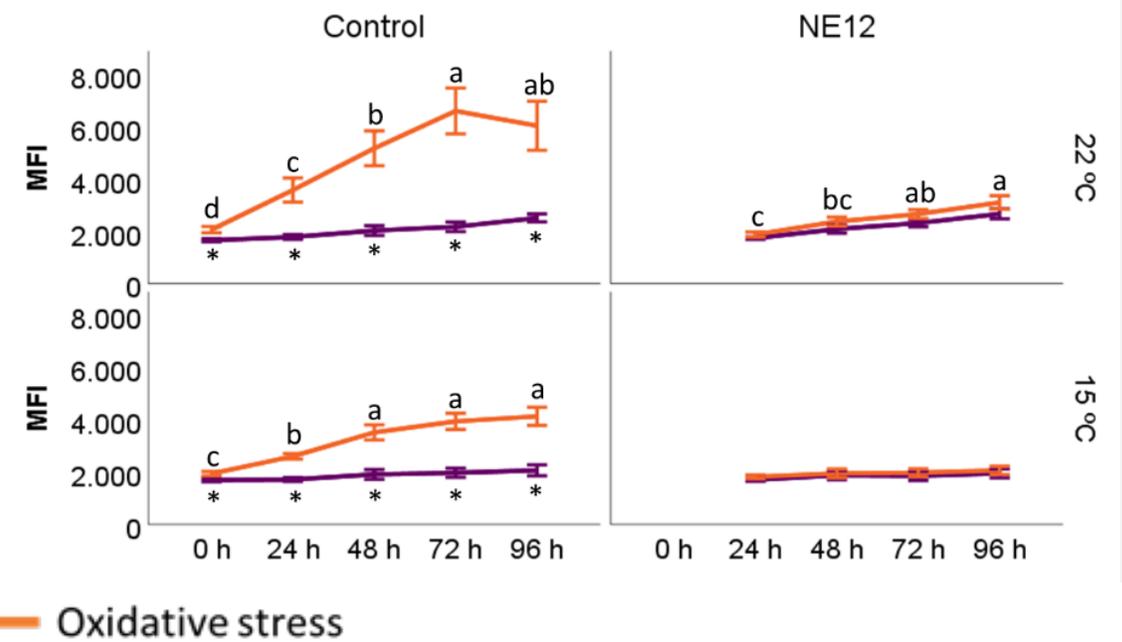


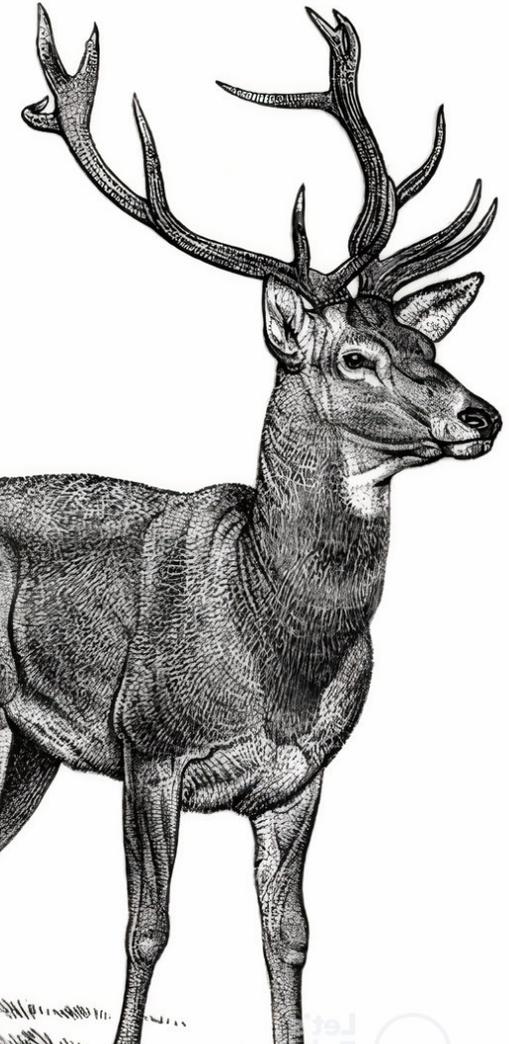
Estrés oxidativo

a) Reactive oxygen species production



b) Lipid peroxidation



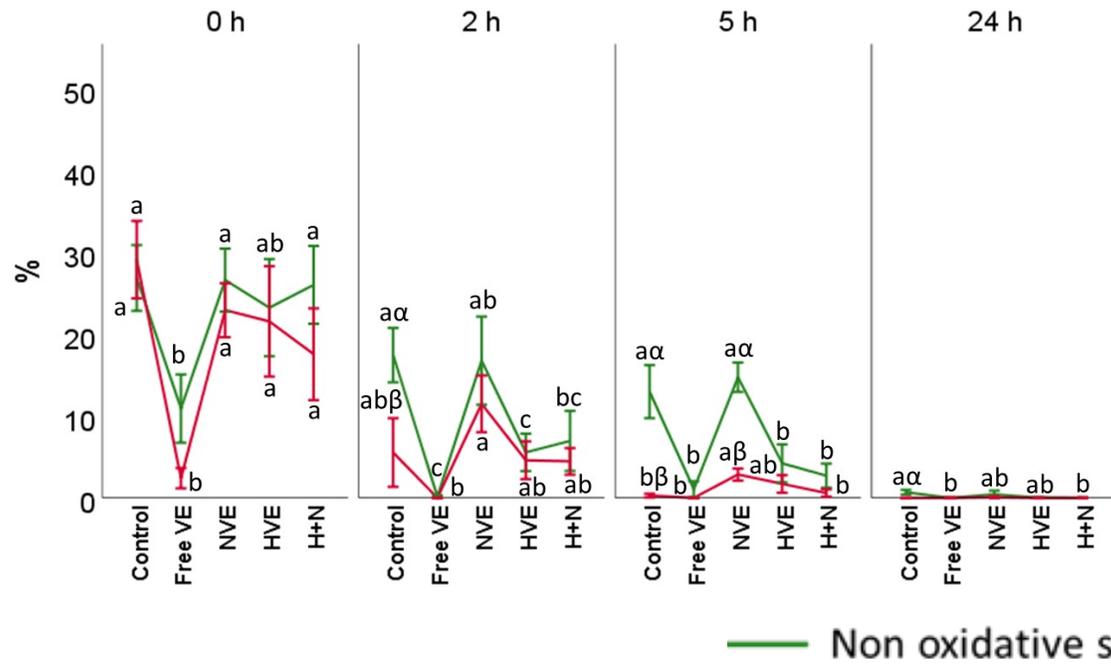


Eficacia de las
terapias
combinadas

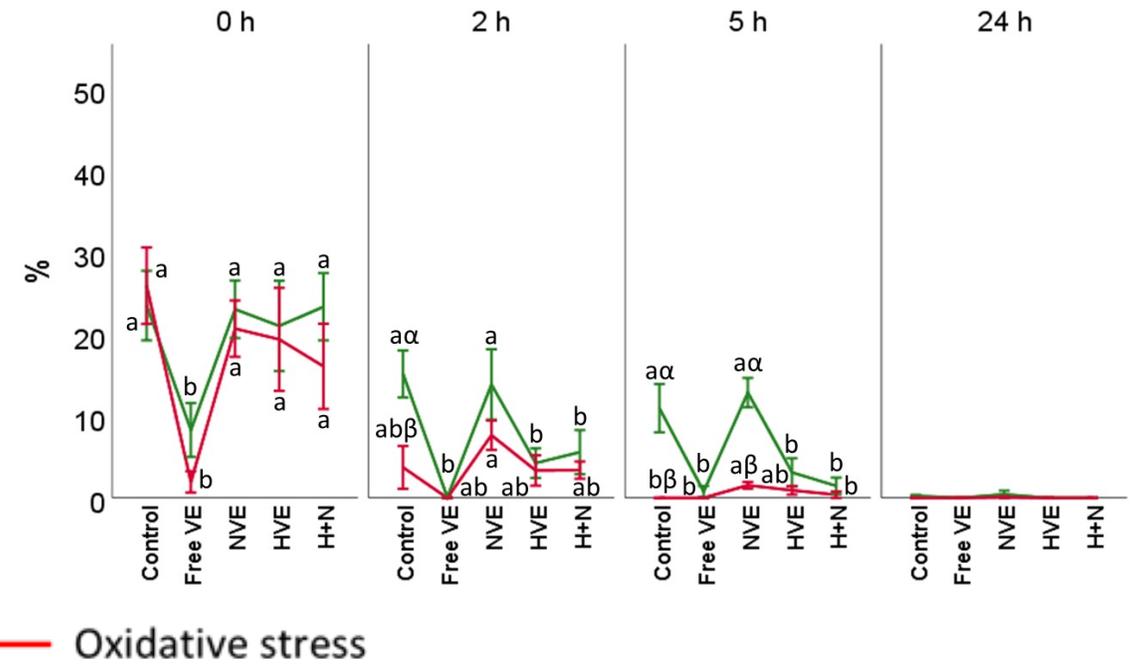


Motilidad

a) Total Motility

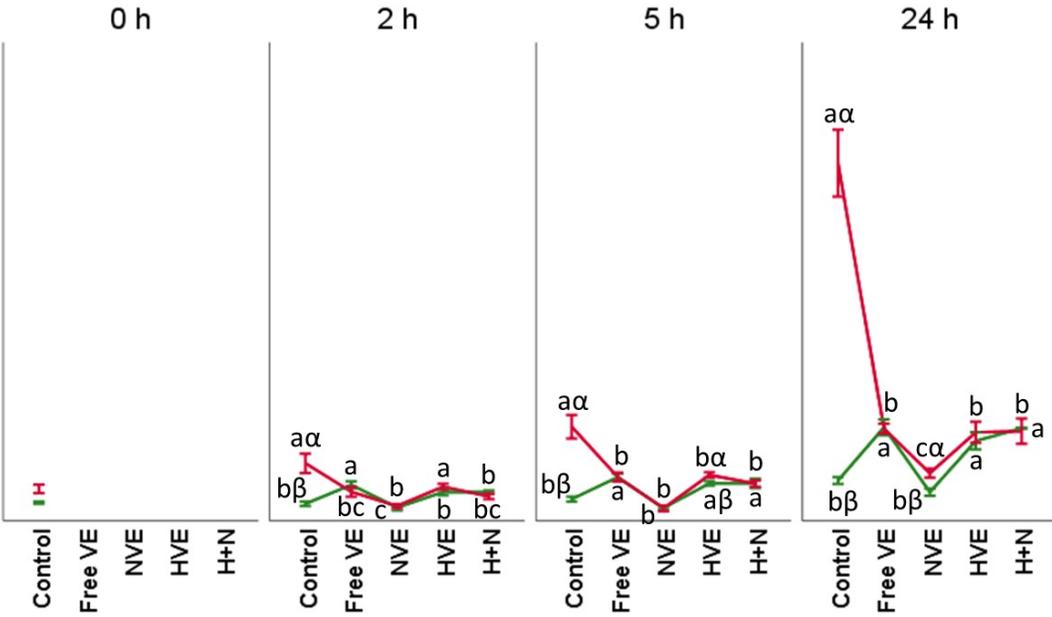


b) Progressive Motility

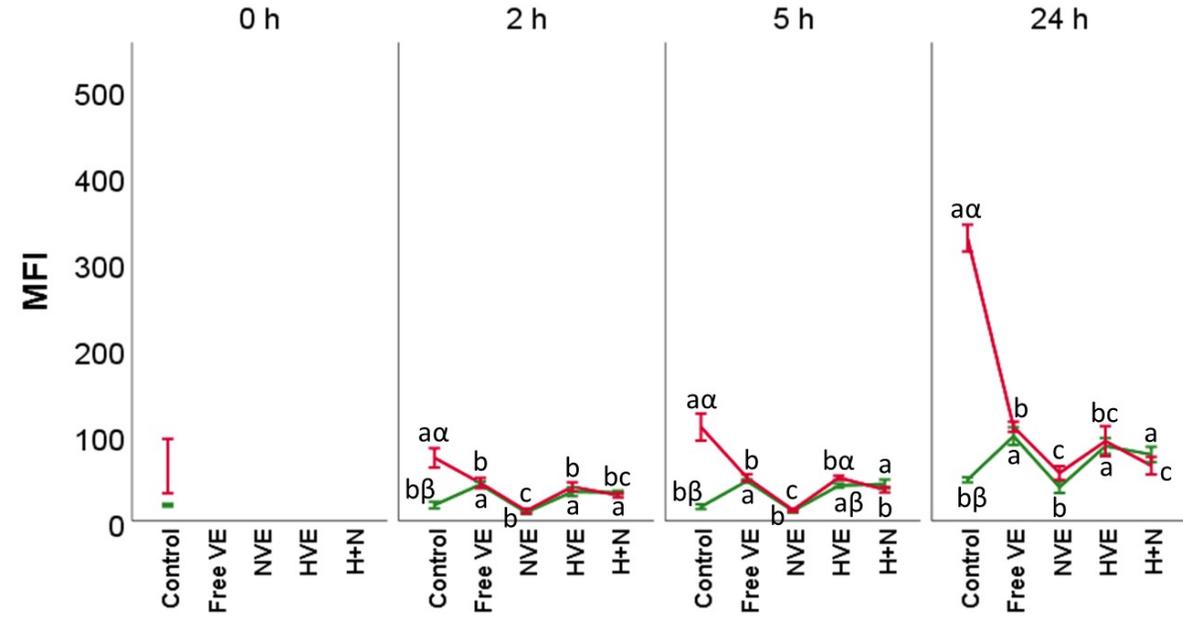


Actividad antioxidante

a) ROS production



b) Lipid Peroxidation



— Non oxidative stress — Oxidative stress

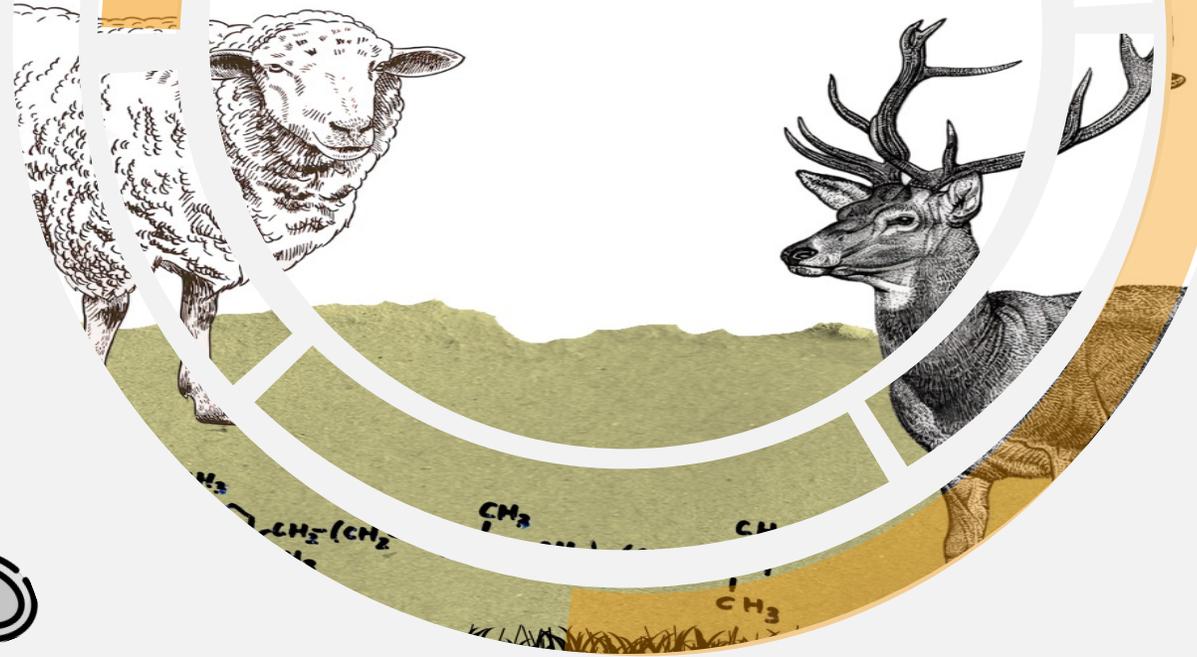


Turno de preguntas

Aplicación de la nanotecnología para la protección espermática frente al estrés oxidativo

Alejandro Jurado Campos

APLICACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA PARA LA PROTECCIÓN ESPERMÁTICA FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO



Directora: María del Rocío Fernández Santos