

TESI DOCTORAL

Pepita Giménez Bonafé

*Proteïnes que estructurèn i remodelen
la cromatina espermàtica.
Alguns casos especials*

Novembre, 1999

Fig.III.A.18. Citoplasma residual (gotes citoplasmàtiques) de les espermatides tipus VI. Citoplasma ric en complexos de Golgi molt actius (G), vesícules poc electrodenses (v), i lisosoms primaris (L), entre d'altres. El complexe periacrosomal (CP) presenta una estructura radial (fletxe al seu voltant).

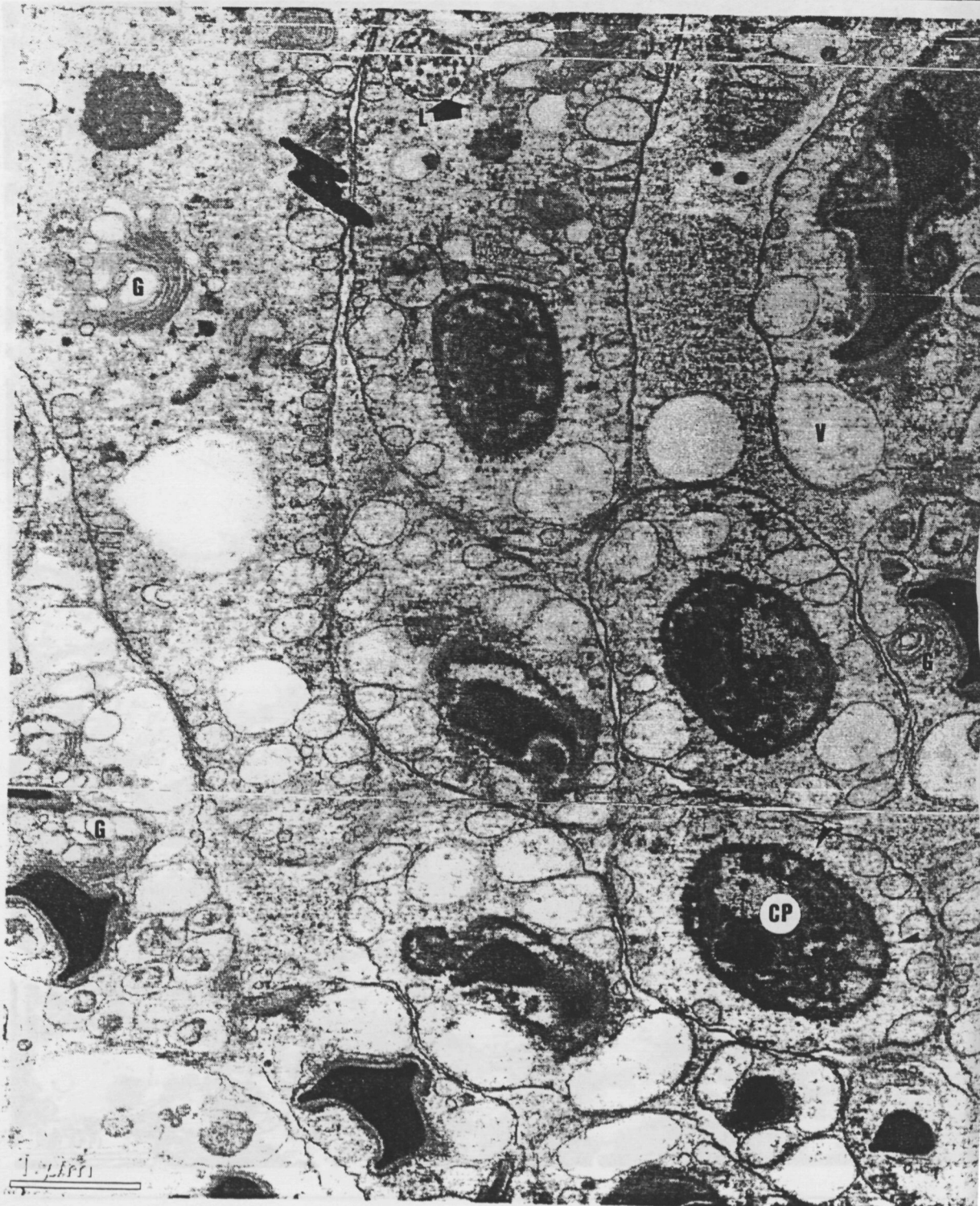
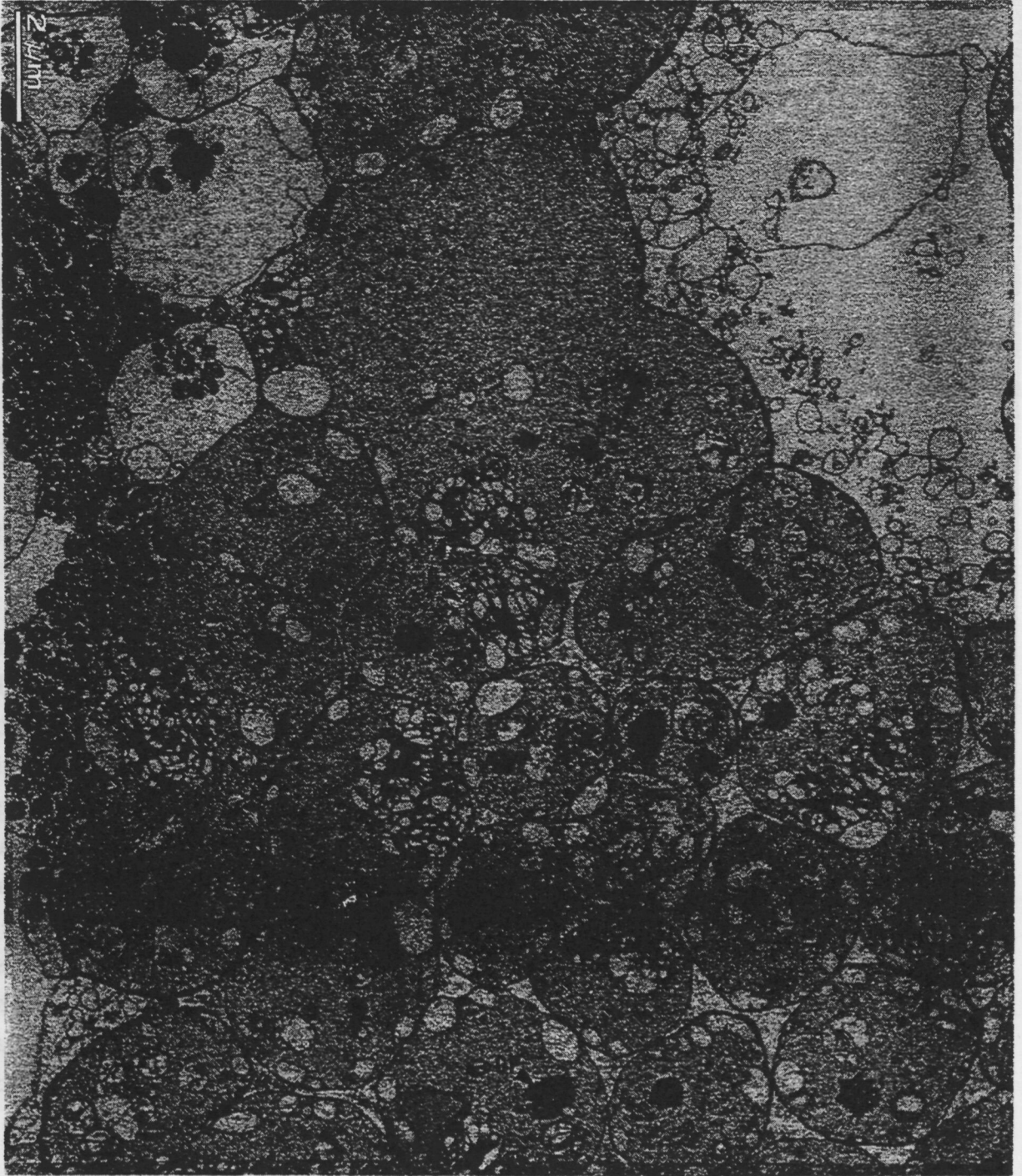


Fig.III.A.19. Gotes citoplasmàtics de les espermatides tipus VIa, que destaquen per ser molt riques en complexes de Golgi (G); CP- complex periacrosomal; GL- gota lipídica.



En la Fig.III.A.18 també es pot veure com el complex periacrosomal presenta espais no electrodensos en el seu interior, i al voltant d'ell es pot apreciar una estructura radial, estructura que ja havíem trobat en la Fig.III.A.14B. Una possibilitat és que aquestes estructures radials puguin ser l'origen d'aquest complex, ja que apareixen quan encara el complex periacrosomal no s'ha format.

Les gotes citoplasmàtiques (citoplasma residual encara no després de la cèl.lula) es van omplint de complexos de Golgi, Fig.III.A.19, i en aquest estadi les espermàtides encara no s'han individualitzat. La Fig.III.A.20 mostra amb més detall un dels complexos de Golgi tan actius i organitzats presents en aquests citoplames, així com les unions establertes entre diferents citoplames.

Sembla clar que la funció dels microtúbuls és la causa concreta dirigida a l'espiralització del nucli. De fet, una vegada el nucli ha quedat espiralitzat comença un **procés de destrucció i dissolució del sistema de microtúbuls**, que tindrà lloc en el que anomenarem **espermàtida tipus V1b** (ja una espermàtida en estat molt avançat). Tot i que Maxwell descriu uns "cristalls" (estructura paracristal.lina) i els interpreta com les restes de microtúbuls eliminats un cop han realitzat la seva funció, el procés sembla molt més complex i catabòlic, és a dir, els microtúbuls no es conserven com a tals sinó que aniran convertint-se en un material amorf. El procés comença per una separació dels microtúbuls així com del material periacrosomal (el que suggereix que tots dos sistemes funcionen com un tot). Els microtúbuls es van desorganitzant i associant a d'altres estructures (encara no identificades, però que podrien ser lisosomes) que poden ser o estar relacionades amb la degradació. Aquestes estructures són complicades, sobretot en la part de l'acrosoma i en la concrecència citoplasmàtica. En aquest estadi es poden observar molts complexos de Golgi, gotes lipídiques, grànuls formats pel material periacrosomal i grànuls que poden ser lisosomes primaris derivats de Golgi, i/o lisosomes secundaris. A la Fig.III.A.21A-B es pot veure com tant el complex periacrosomal com els microtúbuls adhosats al nucli s'han desintegrat al mateix temps que ressegueixen l'espiral. En aquest punt, el citoplasma de l'espermàtida curiosament sembla que hi hagi augmentat de volum, i és que hi ha una gran activitat per part dels complexos de Golgi, i com a resultat una gran vesiculació.

Fig.III.A.20. Complexes de Golgi presents en el citoplasma residual de les espermàtides tipus VIa.

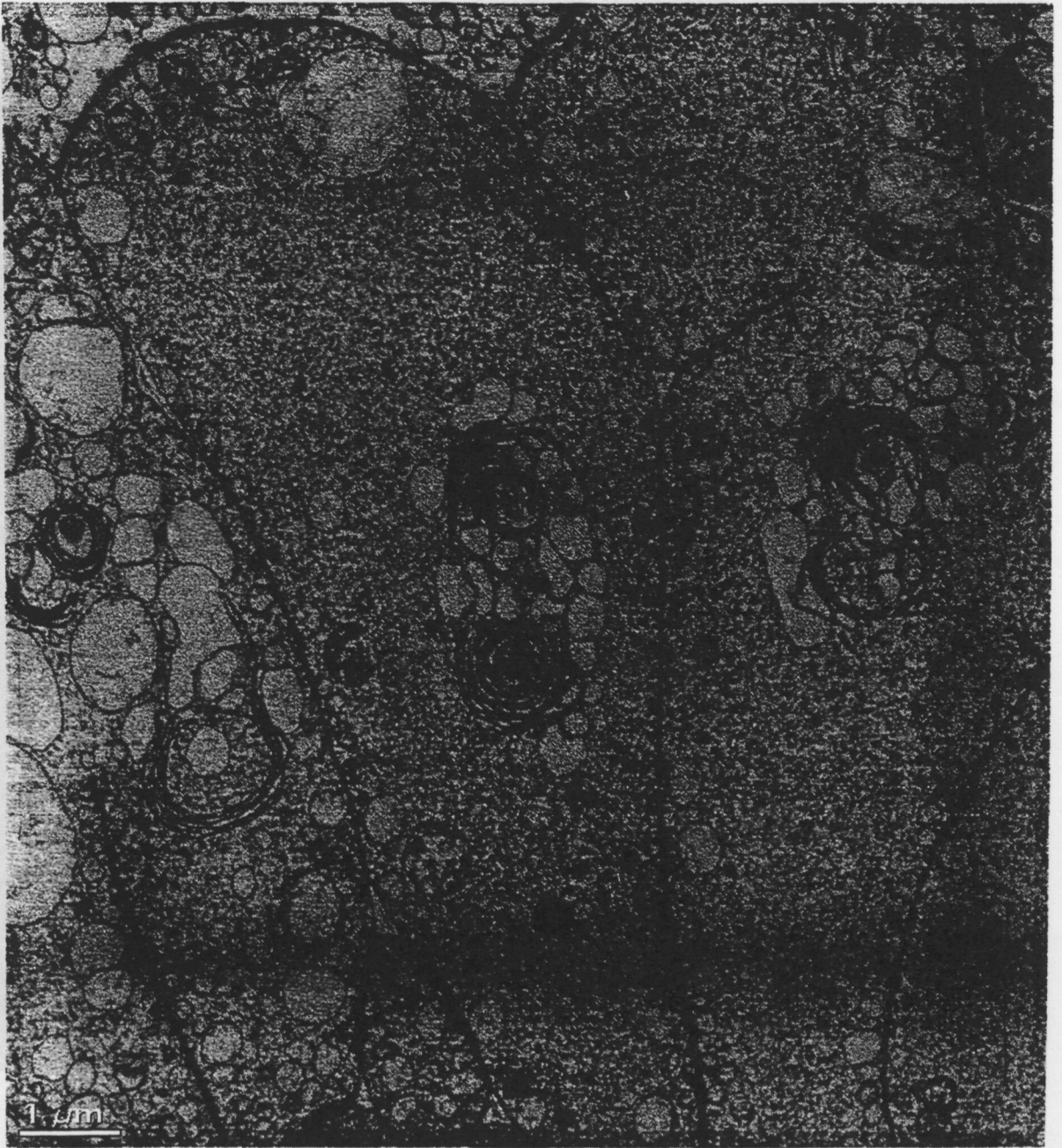
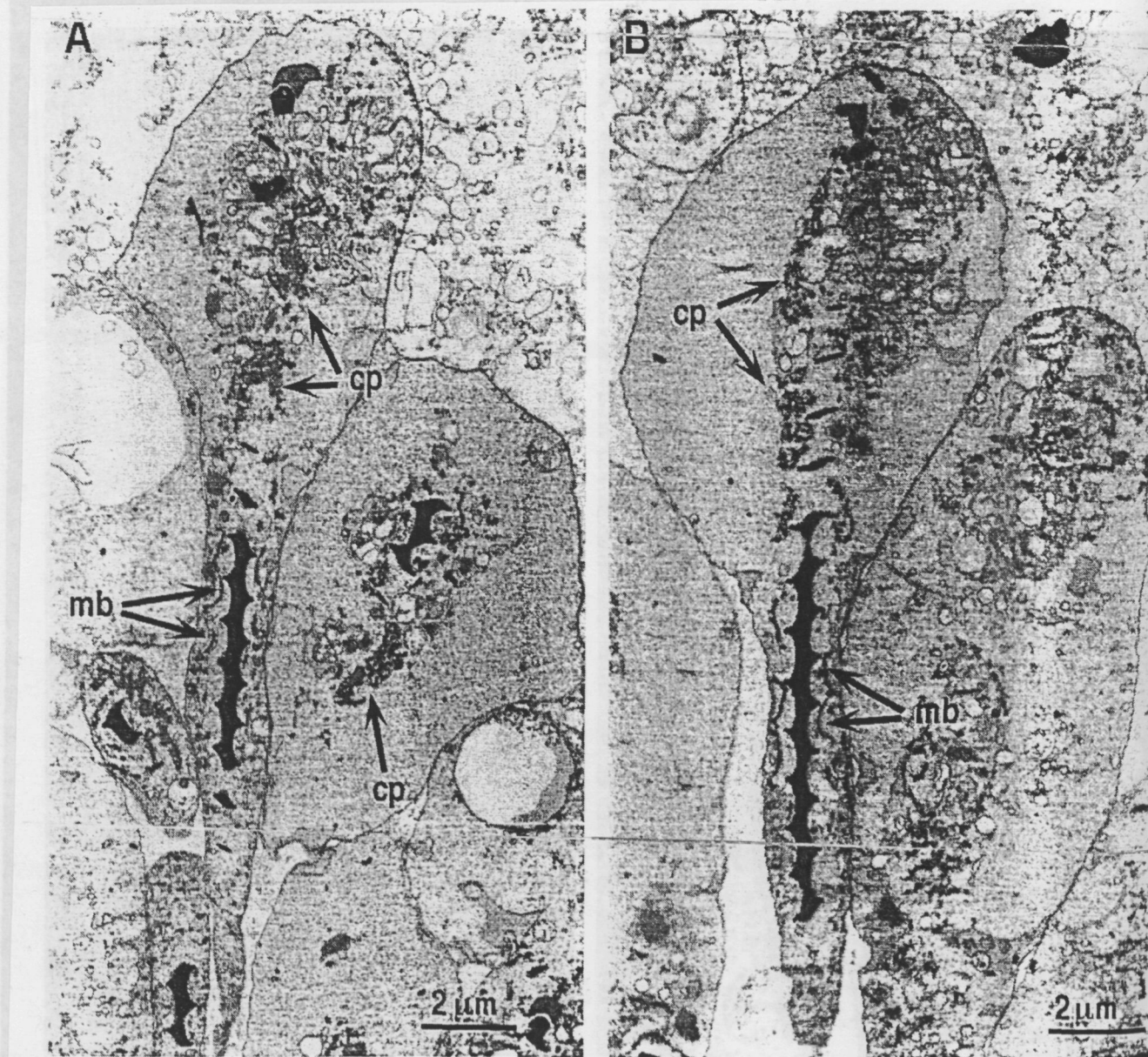


Fig.III.A.21. Espermatida tipus VIIb. Destrucció i dissolució del sistema de microtúbuls (mb) i complex periacrosomal (CP).



Tot aquest procés de destrucció de la major part de les estructures organitzades al voltant de l'acrosoma i nucli (complex periacrosomal i microtúbuls) resulta ser complex quan s'estudia al microscopi electrònic, ja que s'involucren un gran nombre de vesícules, lisosomes, i existeix trencament d'estructures cel.lulars. Es evident que s'inicia un procés catalític molt important, amb una també important despesa energètica i dissolució d'estructures, el que indica que ha d'existir un control del procés molt elaborat. També queda clar que el centre principal on comença la destrucció és a la part apical de la gota citoplasmàtica, principalment a nivell de l'unió nucli-acrosoma: la destrucció comença en el complex periacrosomal i va en direcció cap a la peça mitja, tal i com es pot veure a la Fig.III.A.22; en la mateixa figura es pot observar com l'estructuració que presentava el complex periacrosomal i els mateixos microtúbuls s'ha perdut, quedant un material desorganitzat i "amorf", material que queda més separat cap a l'àpex del nucli que cap al centre del mateix, i a més a més, la zona que s'està desorganitzant presenta una elevada vesiculació, havent-hi complexes de Golgi, vesícules de formes i tamanyos diferents, lisosomes primaris, etc (Fig.III.A.23), mentre que la resta del citoplasma tendeix a ser homogeni.

Si s'observen talls transversals d'aquest tipus d'espermàtida trobarem el que es veu a la Fig.III.A.24: en el n°1 es veu com els microtúbuls encara es reconeixen com a tals, però el que s'observa és que es separen del nucli; el n°2, és l'estadi posterior, on els microtúbuls comencen a perdre la seva identitat; el n°3 és un cos cristal·lí descrit per Maxwell (1974), que l'autor l'interpreta com un dipòsit de microtúbuls en degeneració, però això no és correcte, en primer lloc perquè els microtúbuls encara estan presents, i en segon lloc, perquè quan degeneren adopten una estructura amorfa; el n°4 representaria una porció de complex periacrosomal; en la mateixa figura s'observen complexos de Golgi (n°5) que formen vesícules no electrodenses i lisosomes primaris (n°6), on un d'ells sembla que s'hagi trencat i alliberat el seu contingut (n°7).

Fig.III.A.22. Espermàtida tipus VIb. Destrucció i dissolució del complex periacrosomal (CP) en direcció cap a la peça mitja; els microtúbuls que abans envoltaven al nucli han desaparegut, donant lloc a un material desorganitzat (MB); A- acrosoma, L- lisosomes primaris. 11,500x

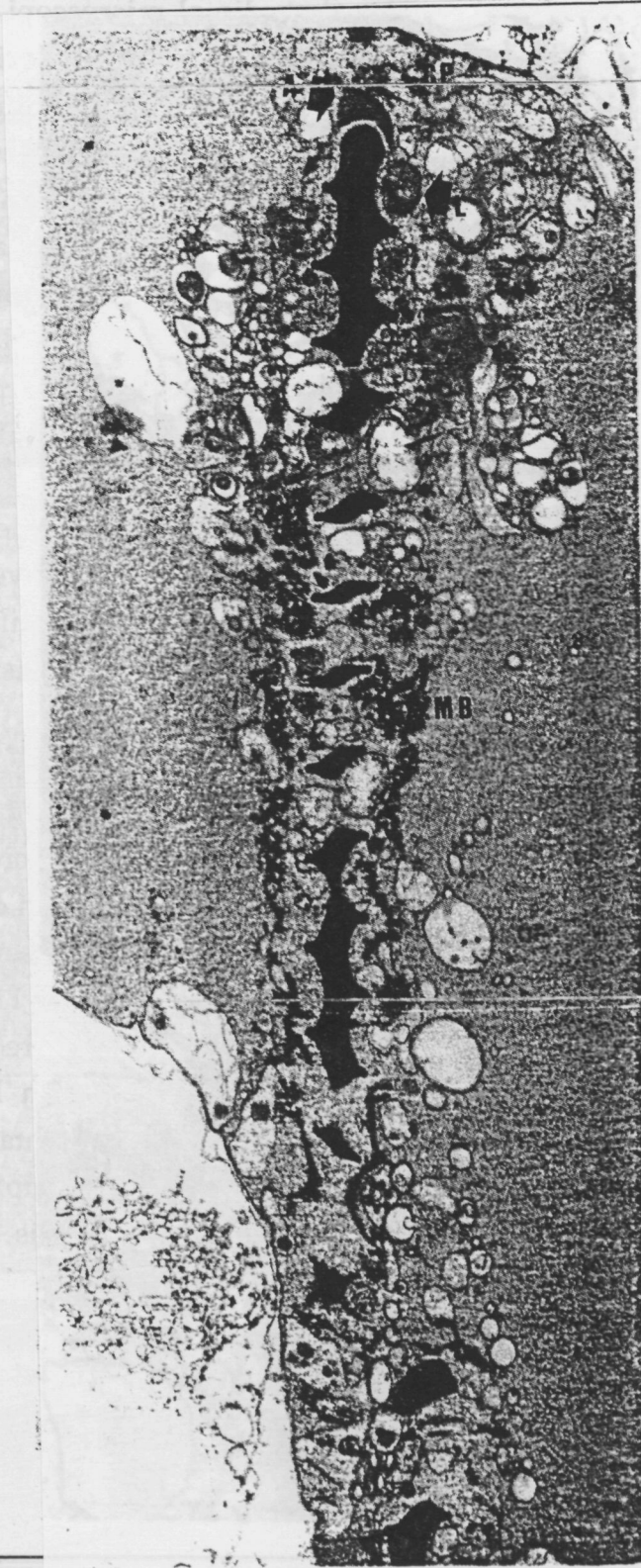
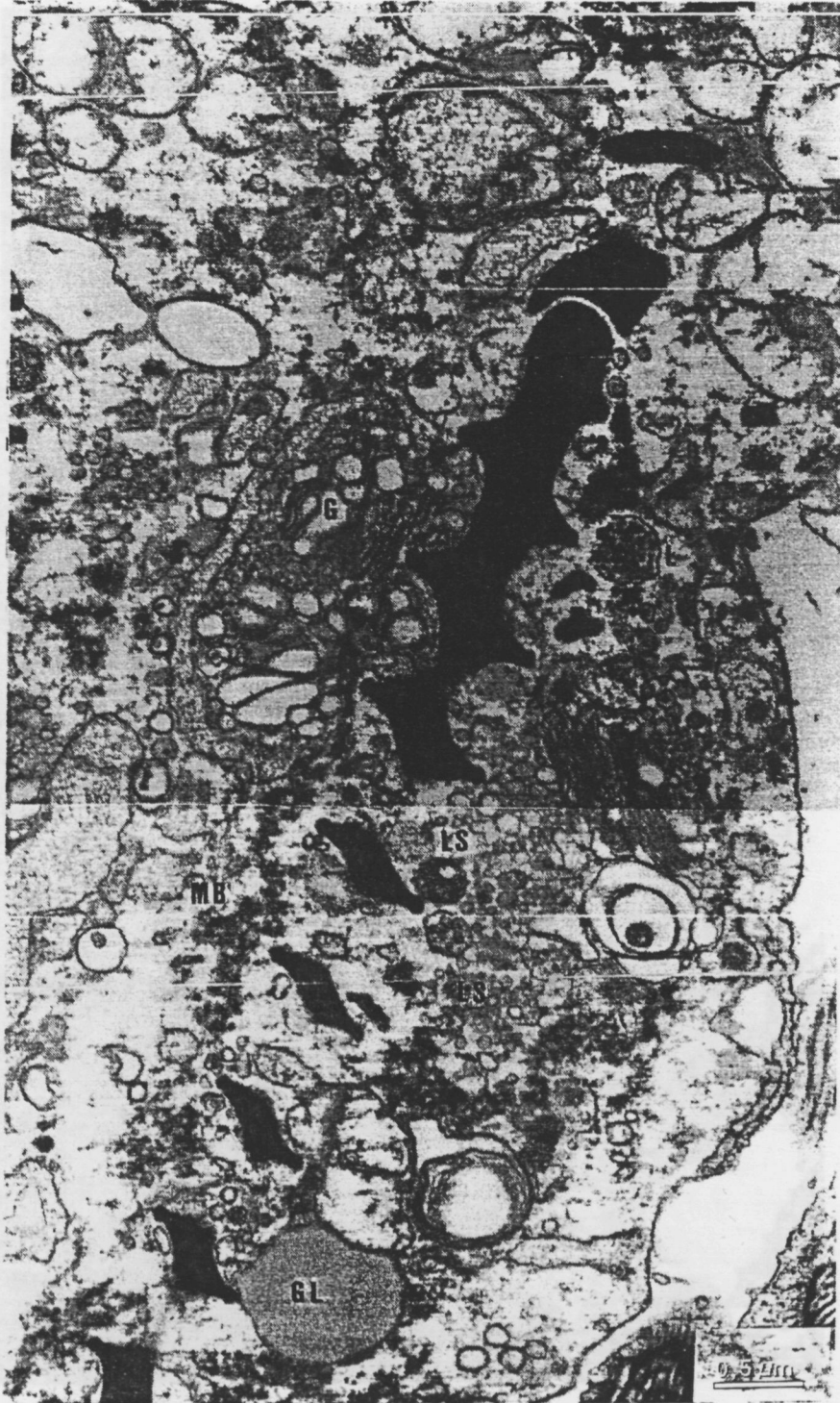


Fig.III.A.23. Espermàtida tipus VIb. Detall de la zona apical del nucli on s'està efectuant la destrucció del complex periacrosomal. Zona molt catalítica i rica en complexos de Golgi (G), lisosomes primaris (L), secundaris (LS), gotes de lípids (GL), i molta vesiculació. Els microtúbuls (MB) també estan desintegrats.



I una visió més detallada del procés de desensamblatge dels microtúbuls i desorganització del complex periacrosomal, la podem tenir a la Fig.III.A.25. Totes dues estructures ja es troben en un estat amorf, i estan éssent desintegrades (nº1, 6 i 6'); en el citoplasma contigu continuem trobant complexos de Golgi (nº2), i altres vesícules que podrien estar associades al procés de "destrucció/dissolució" del material (nº4 i 5); en el nº8 trobem restes de microtúbuls. Finalment els microtúbuls acaben per desaparèixer al complet.

Possiblement en les fases més avançades de la desorganització del citoplasma (sobretot el més proper al nucli), apareixen una gran quantitat de gotes amb aparença de ser **gotes de lípids** (per la seva electrodensitat), Fig.III.A.26A. En alguns casos, com ocorre en la Fig.III.A.26B i 27, sembla que el material desorganitzat provinent dels microtúbuls les envolti, i potser arriba a penetrar en elles.

Com hem fet en altres estadis d'espermàtides, anem a **resumir** el procés que sofreixen les **espermàtides tipus VIIb**. El que destaca d'aquestes espermàtides és l'important destrucció i eliminació d'estructures que experimenten. Entre aquestes estructures que desapareixen destaquen el complex periacrosomal i els microtúbuls que envolten al nucli; el citoplasma també sofrirà una desorganització, i finalment es perdrà, s'alliberarà de la cèl.lula, que aleshores es convertirà en espermatozoide.

La forma en la que es produeix aquesta destrucció resulta ser un procés complex (i no està clar del tot), però la morfologia suggereix que els complexos de Golgi (els quals es troben en gran nombre i gran activitat) hi juguen un paper molt important. De fet, el complex de Golgi és una estructura dinàmica, actuant com a un centre de transformació de vesícules; per una banda, en ell es generen un gran nombre de vesícules poc electrodenses que omplen el citoplasma de l'espermàtida, i per altra banda donen lloc als lisosomes primaris, fagosomes, etc.

Fig.III.A.24. Espermàtida tipus VIb. Detall del que ocorre durant la destrucció tant del complex periacrosomal com dels microtúbuls. 1,2- restes de microtúbuls; 3- cos cristal·lí; 4- complex periacrosomal; 5- complexos de Golgi; 6,7- lisosomes primaris. Per més detalls, v. text. 31,500x

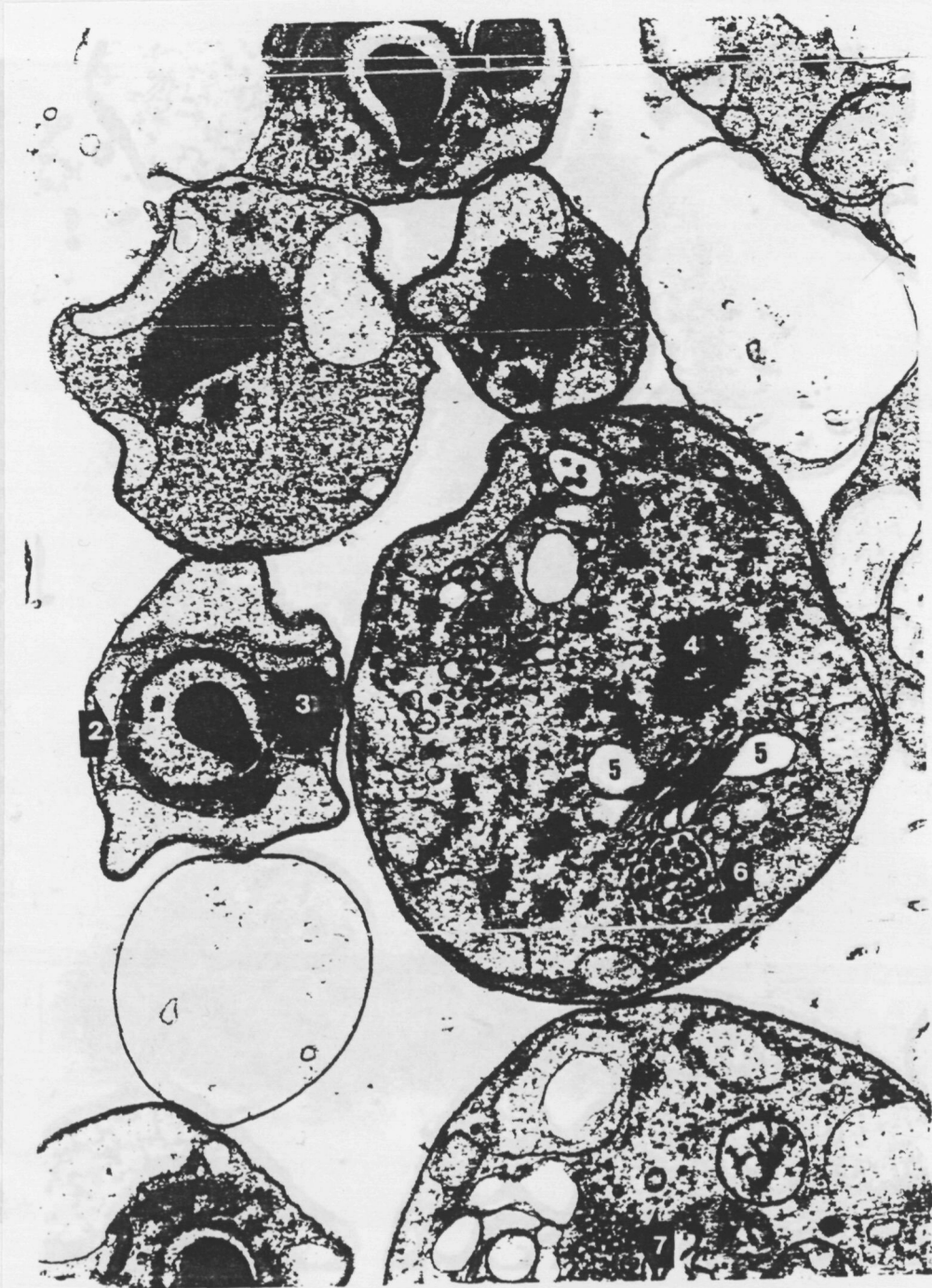
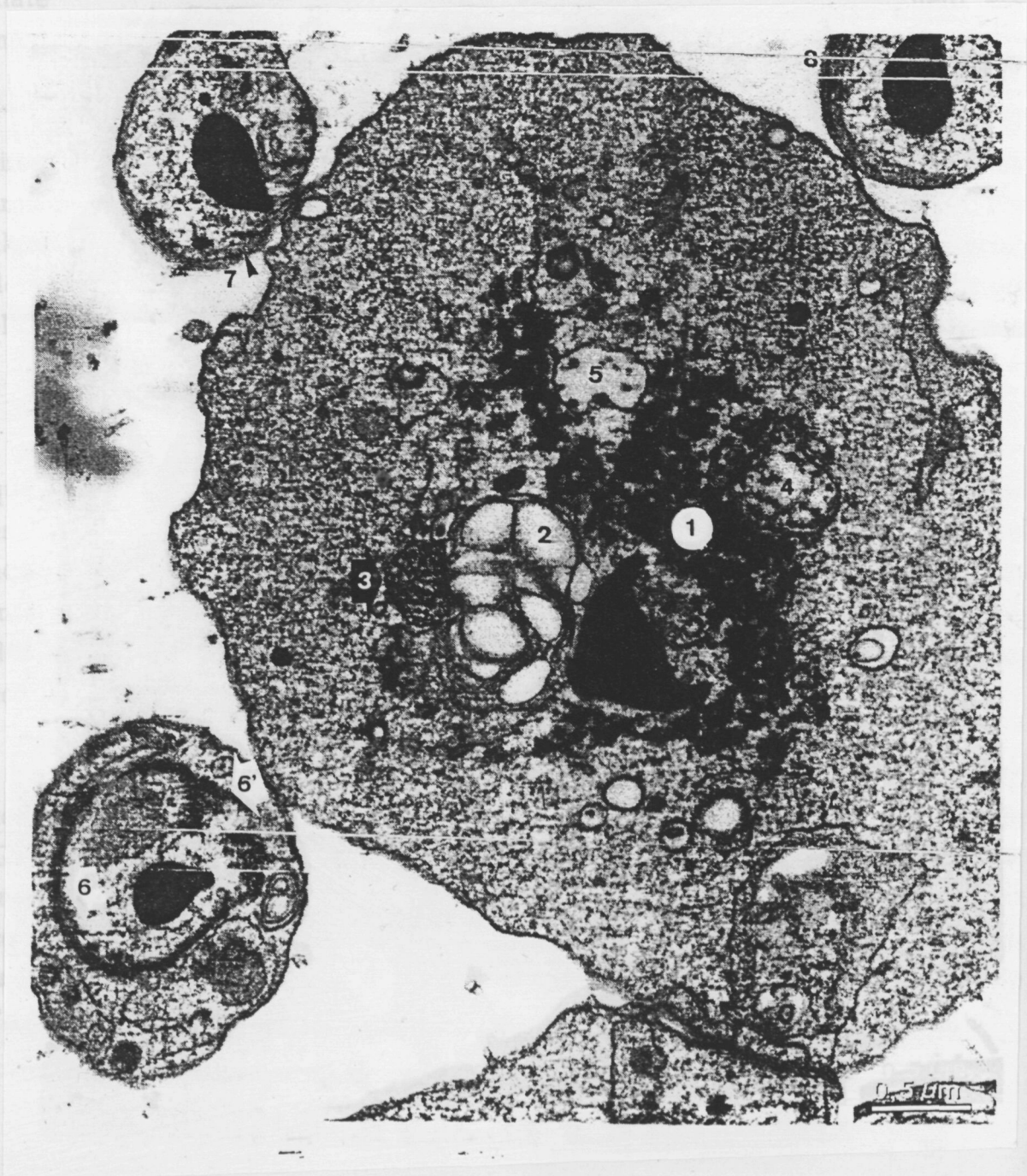


Fig.III.A.25. Espermàtida tipus VIIb. Visió més detallada del procés de desensamblatge i desorganització dels microtúbuls i complex periacrosomal. Desintegració de microtúbuls i complex periacrosomal (1) i estadis posteriors al desensamblatge dels microtúbuls (6 i 6') que acaben per desaparèixer (7); complexos de Golgi (2), lisosomes primaris (3) i vesícules associades al procés de dissolució del material (4,5). Restes de microtúbuls (8).



La direcció i control de tots aquests processos és complexa i a més, es produeix quan el nucli es troba completament condensat, éssent impossible l'activitat transcripcional, de manera que tots els esdeveniments s'han de controlar a través de mRNA's emmagatzemats en les espermatides, o bé centres de traducció especials (un aspecte interessant seria el veure si el complex periacrosomal i els cossos que s'hi assemblen contenen RNA).

Les espermatides tipus VIb acabaran perdent el citoplasma residual i convertint-se en els espermatozoides testiculars. Aquest darrer procés no l'hem pogut captar, però el que està clar és que el citoplasma es perd. Una possibilitat és que les gotes citoplasmàtiques quedin englobades pel citoplasma de les cèl·lules acompanyants que es troben associades a aquestes parts, tal i com la Fig.III.A.27 ens suggereix (però no ens assegura).

Les observacions que hem fet de l'**espermatozoide madur** afegixen poc al que diu Maxwell (1974). Es per això que només s'explicaran certes característiques morfològiques que ens ajudaran a comprendre millor els propers apartats d'aquest capítol.

El **nucli** de l'espermatozoide madur arriba a la màxima condensació i queda finalment recobert per una fina capa de citoplasma; la llargaria és de 40µm i conté 42 voltes en espiral. L'**acrosoma**, amb estructura granular homogènia i també espiralitzat (3 voltes d'espiral que acaben en una punta, i 3 µm de llarg), presenta en la base una estructura interna cònica amb una periodicitat de bandes, no trobada per Maxwell (1974), Fig.III.A.28 (també descrita a *Octopus*) que desapareix si l'espermatozoide es tractat amb SDS i β-mercaptoetanol (Selmi 1996); aquesta estructura ja va ser descrita per Selmi (1996), però no descriu què és ni quin és el seu significat.