



Aspectos Moleculares de la Adhesión de los Gametos, Exocitosis y Fusión

José Luis Untama

La fecundación es la unión de dos células germinales: el óvulo y el espermatozoide, luego de la cual el número de cromosomas somáticos es restaurado y se inicia el desarrollo de un nuevo individuo con características propias de la especie. Si esta fecundación no se lleva a cabo, ambas células germinales degeneran rápidamente en el tracto reproductor femenino. La fertilización se da en varios pasos ordenados: 1) Unión del espermatozoide a la cubierta extracelular del óvulo, llamada zona pelúcida (ZP), 2) Inducción de la reacción del acrosoma, que es una vacuola que cubre el espermatozoide y 3) Fusión del espermatozoide con el óvulo. La espermatogénesis y la oogénesis preparan al espermatozoide y al óvulo para la fertilización, pero la capacitación final se da en el tracto reproductor femenino; para el óvulo hay una maduración meiótica y para el espermatozoide una capacitación. Esta capacitación del espermatozoide incluye aumento en las concentraciones del calcio, cambios de pH y fosforilación de proteínas tirosina kinasas (PTK), dependiente de AMP cíclico (AMPc). La probabilidad de encuentro de los gametos es muy baja, para cada espermatozoide es de aproximadamente 0.002%. Para superar este inconveniente los espermatozoides responden a un gradiente químico (quimiotaxia espermática), principalmente a la gradiente del factor folicular del óvulo. La fecundación interespecies es evitada fundamentalmente por la presencia de la membrana pelúcida (ZP), evitando: 1) La unión inicial del óvulo al espermatozoide, 2) La reacción acrosómica y 3) La penetración del espermatozoide; lo que se ha demostrado *in vitro*, viéndose que a óvulos sin ZP se les unen múltiples espermatozoides sin importar la especie. Estas restricciones no son absolutas pero sí confieren un alto grado de especificidad (por ejemplo, se pueden presentar híbridos como las mulas que son producto de la unión de un espermatozoide de burro y un óvulo de yegua).

La ZP se encuentra cubriendo totalmente al óvulo, está compuesta únicamente por tres glicoproteínas (ZP1, ZP2 y ZP3 y sus homólogos en ratones: mZP1, mZP2 y mZP3) consistentes en polipéptidos glicosados heterogéneamente con oligosacáridos unidos

a asparragina (N-) ó serina-treonina (O-). La ZP2 y la ZP3 se unen por enlaces no covalentes, intercaladamente, formando largos filamentos (de 14-15mm), siendo estos filamentos conectados por la ZP1. Las glucoproteínas están muy relacionadas en todos los mamíferos (la ZP3 y la mZP3 mantienen los residuos de cisteína en las mismas posiciones), y en los demás vertebrados están ligadas filogenéticamente. El espermatozoide se une sólo a la ZP3, esto se demostró al agregar moléculas ZP3 altamente purificadas al medio, evitándose la fertilización, pues la ZP3 se unía a los espermatozoides con el acrosoma intacto. Ratones knockout machos para mZP3 (mZP3^{-/-}) no presentaban alteración fenotípica, mientras que las hembras mZP3^{-/-} son estériles y sus óvulos no presentan zona pelúcida. Al exponer mZP3 a temperaturas altas, detergentes desnaturizantes, agentes reductores ó desnaturización por proteólisis limitada, no pierde su capacidad de unión al espermatozoide; pero, cuando se remueven enzimáticamente los oligosacáridos O- ó N- la mZP3 pierde su capacidad de unión al espermatozoide. Esto sugiere que la unión del espermatozoide al óvulo esta mediada por carbohidratos. Por estudios con mutagénesis directa, cambio de exones y proteólisis limitada se sabe que en sólo dos de los cinco residuos de serina se localizan los oligosacáridos. Las proteínas que se unen al óvulo (EBP) han sido extensamente investigadas, éstas incluyen proteínas parecidas a lectinas y hasta enzimas (ver TABLA 1).

ASPECTOS MOLECULARES DE LA UNION ACROSOMICA

El acrosoma es una gran vesícula secretora que cubre el núcleo espermático por la región apical; su membrana subyacente al núcleo es la membrana acrosómica interna y la membrana subyacente a la membrana plasmática es la membrana acrosómica externa. La reacción acrosómica es la unión de la membrana acrosómica externa con la membrana plasmática, con formación de vesículas híbridas, exposición de la membrana acrosómica interna y liberación del contenido del acrosoma. Existe una serina-proteasa, la acrosina, que se consideró fundamental para la fertilización, pero experimentos en ratones knockout para esta serina-proteasa, demostraron que éstos eran fecundos, es decir, la acrosina no es esencial para la fecundación.

La reacción acrosómica depende de interacciones multivalentes, que incluyen: 1) Proteínas G, los receptores para ZP3 activan una proteína G y ésta a una segunda proteína G (proteína G q/11) y ésta

genera segundos mensajeros como el AMPc, 2) Canales iónicos: la ZP3 estimula canales de calcio dependientes de voltaje tipo T, llevando a despolarización de la membrana de -60mV a -30mV, 3) Elevación del pH, debido a un antiporte HCO₃⁻/Cl⁻ dependiente de sodio que conlleva finalmente a la unión de inositol trifosfato (IP3) con su receptor en el retículo endoplásmico y la subsecuente liberación de calcio intracelular (Ca⁺⁺), y 4) Activación de la adenilciclasas, proteína fosfatasa, proteína quinasas A y C, tirosina quinasas y fosfolipásas A2,C y D que llevan finalmente a elevación de IP3 y Ca⁺⁺ intracelular.

“Artículo presentado por nuestro miembro José Luis Untama, en el boletín y página del Círculo de Calidad de Genética y Desarrollo”

<http://www.geocities.com/ccgeaqp/boletin3.htm#3>