

LA REPRODUCCIÓN EN ANFIBIOS: INTERACCIÓN ESPERMATOZOIDE- OVOCITO EN EL SAPO *B. ARENARUM*.

Florencia Correa Fiz

Becaria de Investigación, Departamento de Biología molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga

Los anfibios son vertebrados primitivos, los primeros que lograron sobrevivir fuera del agua. La fecundación en la mayoría de los anfibios es externa. En este proceso azaroso el macho abrazado a la hembra en el amplexus, descarga los espermatozoides a medida que los ovocitos son liberados en una gran cantidad, para asegurar el éxito del proceso.

Ovulación y deposición del ovocito

Los ovocitos de los anfibios detenidos en profase I pueden estar años en el ovario sin completar la meiosis. Una vez concluida la vitelogénesis y el crecimiento del ovocito, tiene lugar un estímulo hormonal de gonadotrofinas procedentes de la hipófisis, inducido por el hipotálamo en épocas de apareamiento. Esto lleva a que ocurra la primera división meiótica con la formación del primer corpúsculo polar. La segunda división meiótica se detiene en metafase II. Los ovocitos se desprenden del **ovario** y caen a la cavidad celómica transitoriamente, desde donde se dirigen hacia el oviducto (figura 1). Esta liberación al **celoma** ocurre también como resultado de la estimulación hormonal llevada a cabo por la hipófisis, la cual, a su vez, responde a distintos estímulos ambientales (temperatura, luz, lluvia, etc.) (Micei y Cabada, Trends Compar. Biochem. & Physiol, 5, 249-265, 1998). Cuando los ovocitos pasan por la **pars recta** del oviducto, la cubierta celómica se transforma en cubierta vitelina. Estas cubiertas son diferentes en cuanto a sus propiedades biológicas: la envoltura vitelina (**EV**) es fecundable, mientras que la celómica no lo es. Una vez en el **ovisaco**, se almacenan hasta el momento de la deposición, que en condiciones normales ocurre durante el abrazo sexual.

Los espermatozoides que acaba de deponer el

macho inseminan inmediatamente los ovocitos. El espermatozoide penetra a través de la cubierta gelatinosa y la envoltura vitelina, entrando finalmente en contacto con la membrana plasmática del ovocito. Después de la fusión de membranas y la entrada del pronúcleo masculino en el citoplasma de la célula femenina se producen una serie de modificaciones en el ovocito que impiden la penetración de un nuevo espermatozoide.

La EV de anfibios es una entidad única y discreta, que existe en **cuatro** formas relacionadas. La **envoltura ovárica** es la que rodea al ovocito durante su crecimiento en el ovario; la **envoltura celómica**, asociada con la cubierta del ovocito de la cavidad celómica; la **EV** propiamente dicha, característica del ovocito depuesto; y la **cubierta de fecundación**, que sólo aparece en el huevo fecundado o cigoto. Con excepción de las envolturas celómica y ovárica, que presentan las mismas composiciones macromoleculares, estas formas presentan ultraestructuras únicas, que poseen composiciones moleculares diferentes, aunque relacionadas. Cada una de estas estructuras cumple una función distinta durante la fecundación. La EV está implicada en la **unión del espermatozoide**, la **inducción de la reacción acrosómica** y el **bloqueo de la poliespermia**. Se supone, además, que la EV constituye una barrera fundamental para la fecundación cruzada, asegurando la **especificidad de especie**.

La envoltura vitelina está compuesta por glucoproteínas que presentan un dominio característico conocido como **dominio ZP**. Dentro de cada familia existe una considerable conservación en cuanto al número y posición de residuos de cisteína así como de los sitios probables

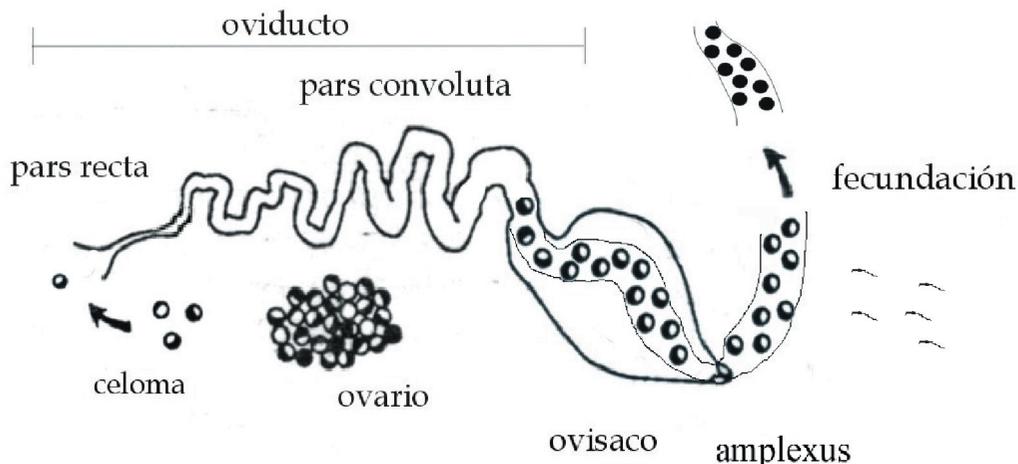


Figura 1. De la ovogénesis a la fecundación. Esquema que indica el camino seguido por los ovocitos desde el ovario, en su paso por el oviducto hasta la deposición en el momento de la fecundación. (Adaptado de Hedrick y Nishihara J. Electron Microsc Tech. 17, 319-335 1991)

de *N*-glucosilación. Estas proteínas componentes se han agrupado en tres **familias de glucoproteínas ZP**. En un principio el grupo de Dunbar (Dev Biol. 106, 1-14, 1984) agrupó a estas familias de acuerdo a la similitud en aminoácidos con las proteínas originalmente informadas para ratón, y las nombraron con números crecientes de acuerdo a la masa molecular aparente en geles de poliacrilamida. Así, ZP1 es la de mayor masa molecular aparente a la que le sigue ZP2 y ZP3. Esta nomenclatura fue modificada años más tarde por Harris y colaboradores (DNA Seq. 4, 361-193, 1994), quienes agruparon estas proteínas en base a la similitud entre las secuencias de ADNc, llamándolas ZPA, ZPB y ZPC. Basándose en el tamaño del ADNc, denominaron ZPA, al producto que correspondía al ADNc más largo y ZPC al de ADNc más corto. Esta nomenclatura es la que más se utiliza hoy en día.

Composición molecular de la EV de los ovocitos de *B. arenarum*

La envoltura vitelina de *B. arenarum* está compuesta por cuatro proteínas mayoritarias, todas ellas glucoproteínas. Por tal motivo se denominaron con la sigla gp, seguidas de un número correspondiente a sus masas moleculares aparentes en kDa. Así, de mayor a menor se las conoce como gp120, gp75, gp41 y gp38 (Barisone *et al.*, Biol Reprod. 66, 1203-9, 2002). Aunque se ha descrito que todos los componentes de la EV de *B. arenarum* son glucoproteínas que intervienen en el proceso de fecundación, entre ellos en la unión del espermatozoide, aún no se ha descrito cuáles de ellas están realmente involucradas, es decir, cuáles de ellas son los ligandos específicos. En un esfuerzo por identificar los ligandos específicos para el espermatozoide de *B. arenarum*,

se han realizado experimentos de fecundación *in vitro* utilizando una técnica que permite evaluar la cantidad de células móviles (espermatozoides) a macromoléculas inmovilizadas en una superficie de vidrio (proteínas purificadas). Los resultados, aunque no son concluyentes, indican que dos de las cuatro proteínas mayoritarias de la EV estarían involucradas en la unión del espermatozoide *in vitro*.

Aunque existe similitud entre estas glicoproteínas de cubierta oocitaria en distintas especies, los componentes responsables de unión al espermatozoide han mostrado ser diferentes. Así, se describió que ZPC es el ligando principal en ratón (Bleil JD *et al.* Cell 1980; 20:873-882), en cerdo es ZPB (Yonezawa N *et al.*, Eur J Biochem 1997; 248:86-92) y ZPC (Vo LH *et al.*, Biol Reprod 2000; 62:766-744) y ZPA (Tian B *et al.*, J Cell Biol 1997; 136:1099-1108) para el anfibio *X. laevis*. Tales diferencias podrían deberse, al menos en parte, al papel crítico en la unión al espermatozoide que juegan las cadenas de azúcares en estas glucoproteínas.

El continuo estudio de las moléculas involucradas en la interacción espermatozoide-ovocito permitirá conocer al menos uno de los sucesos fundamentales en la generación de un nuevo individuo. Conociendo los puntos de control de la fecundación, así como las moléculas involucradas en el reconocimiento entre gametos, se podría intentar la manipulación de éstos para regular el proceso de fecundación positiva o negativamente. Los resultados obtenidos utilizando este anfibio como **modelo** de estudio permiten inferir sobre lo que podría suceder en **otras especies**, para así plantearse nuevas hipótesis que se deben analizar detalladamente en aquella que sea de interés.

PATRONES GENÉTICOS CONSERVADOS EN LA REGULACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL: INSECTOS FRENTE A MAMÍFEROS

Daniel Pineda Tenor

Becario de Investigación, Dpto. Biología Celular, Genética y Fisiología, Universidad de Málaga

Durante décadas el hombre se ha esforzado en comprender los complejos mecanismos implicados en el desarrollo del sistema nervioso, realizando multitud de experimentos en diversos modelos que abarcan desde la aparente sencillez de los sistemas invertebrados hasta la enorme complejidad presente en la mayoría de los vertebrados. La disparidad aparecida en la morfología de los sistemas nerviosos de estos alejados organismos ha tenido como consecuencia que durante mucho tiempo los investigadores pensasen que los mecanismos de control relacionados con su ontogenia no guardaban relación alguna. Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que, pese a la enorme diferencia anatómica existente entre los cerebros de insectos y mamíferos, se

pueden encontrar similitudes en cuanto a la expresión de los genes reguladores del desarrollo en los sistemas nerviosos de ambos grupos.

El cerebro de *Drosophila*, modelo de insecto por excelencia, se halla constituido por un ganglio supraesofágico anterior, subdividido en protocerebro (PC o b1), deutocerebro (DC o b2) y tritocerebro (TC o b3) y por un ganglio subesofágico posterior, subdividido en los neurómeros mandibular (MD o s1), maxilar (MX o s2) y labial (LB o s3) [Younossi-Hartenstein y cols. J Comp Neurol 370:313-329 (1996)].

El cerebro de los mamíferos, por su parte, difiere bastante del anterior, hallándose estructurado en tres regiones principales que, ordenadas rostrocaudalmente,