

BETA ACTINA: SU IMPLICANCIA EN EL TÚBULO SEMINÍFERO

Juan Carlos Cavicchia^{1,2}, Mabel Fóscolo^{1,2}, Francisco Capani³, Luis López² & Cristian Acosta^{1,2}

1-Facultad de Ciencias Médicas. U.N.Cuyo, Mendoza, Argentina. 2- IHEM (Instituto de Histología y Embriología Mario H. Burgos), Mendoza, Argentina. 3- UBA (Universidad Nacional de Buenos Aires) Argentina. E-mail: jccavic@fcm.uncu.edu.ar

INTRODUCCIÓN: El testículo con los túbulos seminíferos productores de espermios y el intersticio endócrino es una doble glándula con numerosas conexiones paracrinas aún mal comprendidas. Hace años los estudios de Fawcett, Burgos, Dym y Cavicchia contribuyeron a sentar las bases morfológico-funcionales del epitelio seminífero, de la célula sustentacular de Sertoli y de sus uniones Sertoli-Sertoli que contribuyen junto con el citoesqueleto de beta actina a conformar a la barrera hemato-testicular (1). En estudios más recientes Russell y col. demostraron el papel determinante de la beta actina y de otros componentes del citoesqueleto en la conformación, migración y liberación de la espermátide hacia la vía excretora (2). El túbulo seminífero está ciclado e íntimamente coordinado con el intersticio y en cada uno de sus ciclos las relaciones morfo-funcionales varían drásticamente. El presente trabajo tiene como objetivo encontrar utilizando microscopía electrónica tomográfica de alto voltaje y estudios moleculares de Western Blot de los ciclos espermatogénicos mayor información para la comprensión de la gónada masculina.

MÉTODOS: Combinamos técnicas de microscopía óptica: inmuno-fluorescencia para beta actina y prosaposina para contrastar los citoplasmas, microscopía confocal y microscopía electrónica con tomografía. Utilizamos además crio-fractura para observar las membranas celulares en face y las partículas intramembranas constitutivas de las uniones intercelulares junto con Western blot para cuantificar la beta actina in cada estadio del ciclo.

RESULTADOS: La Fig. 1 exhibe por inmunofluorescencia varios túbulos en corte transversal, en el túbulo central la beta actina teñida de amarillo-naranja se ubica alta, cerca de la luz indicando uniones intercelulares de espermátides próximas a la espermiación, los otros túbulos muestran a la beta actina a distintas alturas indicando otros estadios del ciclo. El contraste de prosaposina toma un tinte verdoso. La Fig. 2 muestra por tomografía ultra-estructural varios complejos túbulo-bulbares (flechas) donde se ven gránulos electro-densos que son de beta actina. La Fig. 3 corresponde al análisis por western blot. Las barras corresponden a los siguientes segmentos arbitrarios: **I** (estadio I), **II** (estadios II a VI), **III** (estadios VII-VIII), **IV** (estadios IX a XII) y **V** (estadios XIII-XIV). El control de loading es alfa-tubulina (46 kDa). La gráfica muestra la relación entre la cantidad de beta-actina y alfa-tubulina en cada uno de los segmentos identificados como **I a V**. En cada carril se sembraron 20 µg de proteína total. El nivel de significación es * P<0.05, ** P<0.01 y ***P<0.001. Todas las comparaciones son con respecto al segmento **IV**. Este experimento demuestra que los niveles de beta-actina varían a lo largo del ciclo espermático, alcanzando un pico máximo inmediatamente después de la espermiación.

CONCLUSIONES: Las uniones intercelulares tienen un rol clave en el desarrollo del epitelio seminífero incluyendo la conformación de la barrera hemato-testicular indispensable para la diferenciación plena del espermatozoide (3). La beta actina forma parte obligada de estas uniones por lo tanto su estudio representa un pre-requisito indispensable para planificar terapéuticas destinadas a combatir patologías que cursen con escasa o nula fertilidad.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1) Dym, M.; Cavicchia, J.C. "Further Observations on the Blood-Testis Barrier in Monkey". Biol. Reprod. 1977. 17: 390-403.
- 2) Russell, L.D. & Griswold, M.D. 1993. The Sertoli Cell. Clearwater FL. Cache River Press.

3) Losinno A. Lopez L., Capani F., Foscolo M., Ibañez J., Cavicchia J.C. 2012. Beta Actin: its Implication in the Seminiferous Tubule. In "Testis: Anatomy, Physiology and Pathology. Editors: Yoichi Nemoto and Norio Inaba. Nova Publishers. New York.

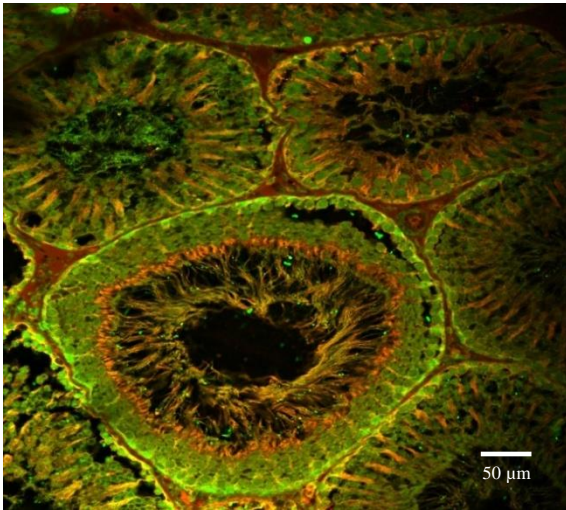


Figura 1. Inmunofluorescencia contra β -actina (amarillo) y prosaposina (verde). Imagen confocal de corte transversal de túbulo seminíferos.

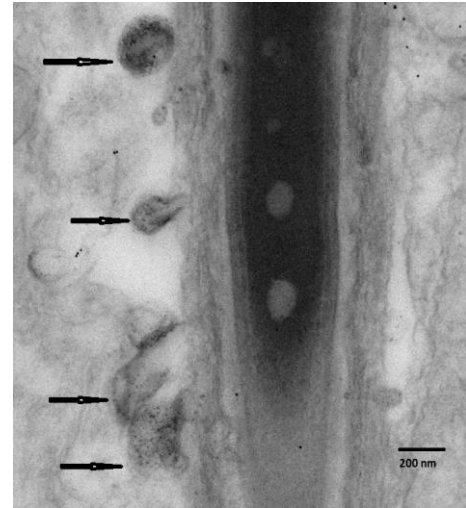


Figura 2. Imagen de microscopía electrónica 3D ultraestructural mostrando complejos túbulo-bulbares (flechas) asociados a una espermátide elongada.

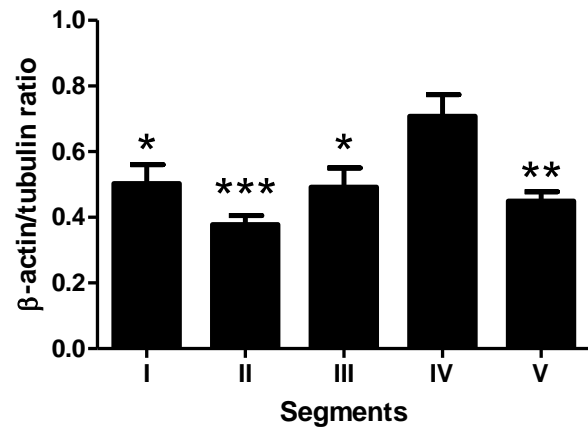
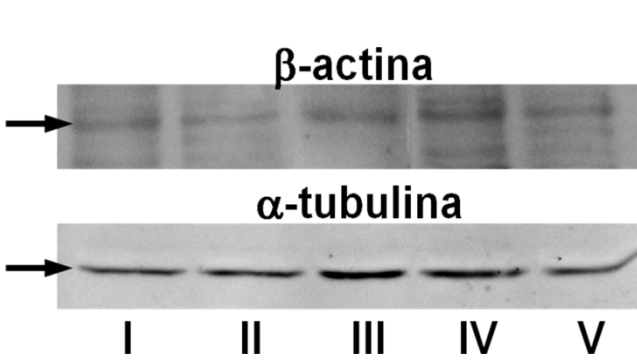


Figura 3. Análisis por Western-blot de la expresión de b-actina a lo largo de la espermiación. Cada número romano corresponde a estadios específicos del ciclo (ver Resultados). Claramente hay una mayor expresión de b-actina en los estadios IX a XII (segmento IV).