

CAMBIOS ESTRUCTURALES Y ULTRAESTRUCTURALES DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS EN EL TESTÍCULO DE CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS.

Layla Simón, Abi Funes, Amanda Vincenti, Tania Saez y Miguel Fornés.

Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza. IHEM, CCT CONICET-Mendoza y Área de Histología y Embriología de la FCM- UNCUYO. Mendoza Argentina.

mfornes@fcm.uncu.edu.ar

La hipercolesterolemia es un claro marcador de riesgo –más aún en pacientes adultos- de padecer patologías crónicas (1). Estas patologías comprenden diabetes, obesidad, cardiopatías entre otras pero en la actualidad, también se asocia a infertilidad masculina (2). Uno de los modelos aceptados en medicina traslacional para estudios de estas patologías crónicas del adulto es el de conejos de raza Neozelandés. La implementación aguda de grasa en el alimento balanceado conlleva a una hipercolesterolemia y trastornos seminales como malformaciones espermáticas y disminución del número de gametas en semen (3). La forma de los espermatozoides está en relación directa a la espermiogénesis. Por ello el estudio de la espermatogénesis/espermiogénesis nos permite estudiar el mecanismo de estas patologías seminales. Se mantuvieron conejos con dietas normales (control: NCR) y con dietas grasas (experimental = alimento balanceado + grasa bovina, HCARDA) reproduciendo la metodología de experiencias previa (3). Luego fueron sacrificados a diferentes tiempos y sus testículos fueron procesados para microscopía de luz y electrónica por métodos convencionales. En otra serie idéntica, se aislaron células de los túbulos e inmunomarcaron para seguir la evolución normal y anormal del complejo Golgi/acrosoma bajo microscopía de fluorescencia clásica. Las células se aislaron desde túbulos seminíferos aislados y tratados con tripsina que deja bajo lupa una visión de los estadios del ciclo seminífero. Los estadios el VI a VIII permiten ver el complejo Golgi/acrosoma en desarrollo y el *manchette* (conjunto de microtúbulos perinuclear responsable en parte de la forma final de la cabeza espermática) . El anticuerpo anti alfa tubulina fue reconocido por un anticuerpo secundario acoplado a FITC y para determinar la forma nuclear – etapa celular - se contrastaron con Ioduro de Propidio los núcleos. Las observaciones se realizaron en un EM Zeiss 901 y FM Nikon TE 2000. Los resultados mostraron una marcada alteración del Golgi que perdió su simetría característica y los microtúbulos responsables – *manchette* – no traccionaron de manera simétrica generando núcleos anormales y flagelos mal posicionados. Si bien el mecanismo que originaría las malformaciones espermáticas estaría parcialmente demostrado por los resultados acá presentados (trabajo en revisión) faltaría aún el detalle de las moléculas/microestructuras involucradas.

REFERENCIAS

- [1] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD 28.a CONFERENCIA SANITARIA PANAMERICANA. 64.a. Washington, D.C., EUA, del 17 al 21 de septiembre del 2012. SESIÓN DEL COMITÉ REGIONAL
- [2] Whitfield M., (2015) “Posttesticular sperm maturation, infertility, and hypercholesterolemia” Asian J Androl 17:742-8. Available from: <http://www.ajandrology.com/text.asp?2015/17/5/742/155536> - DOI: 10.4103/1008-682X.155536
- [3] Saez Lancellotti T., (2010) “Hypercholesterolemia impaired sperm functionality in rabbits” PLoS One. Oct 18;5(10):e13457.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del Servicio de Microscopía del IHEM, Ings. Domizio, Bocanegra e Ibañez. Subsidios: CONICET, PIP; Programa y proyecto, UNCUYO y proyecto CIUDA, UDA.

Fig. 1

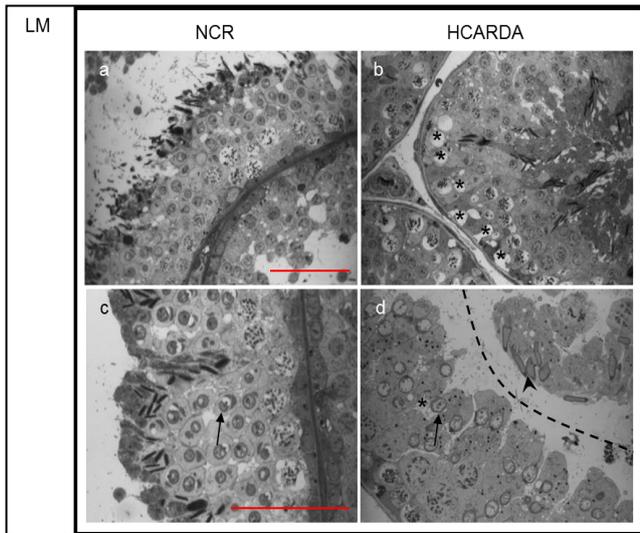


Fig. 1: LM (microscopía fotónica). Secciones semi-delgadas de NCR (a y c) y HCARDA (b y d). Se muestran los cambios normales desde espermatogonias a células espermatogoniales (Fig. 1 LM a), y en particular la composición celular típica del estadio VI/VIII (Fig. 1 LM c). Obsérvese la transformación de Golgi en acrosoma (Fig. 1 LM c, flecha). En su lugar se observaron vacuolas en el epitelio (Fig. 1 LM b, asteriscos) que podrían corresponder a las gotas de lípidos extraídos por la preparación histológica. El desarrollo anormal de la cabeza del espermatozoide (Fig. 1 LM d, cabeza de flecha) y espermátidas redondas, se demuestra por: una gran vacuola cerca de núcleo con características anormales del Golgi (Fig. 1 LM d, flecha), espermátidas alargadas, que contienen Golgi asimétricos y núcleos flexuosos (Fig 1 LM d, punta de flecha.). a y b igual magnificación; c y d igual magnificación, las barras rojas corresponden a 50µm.

Fig. 2

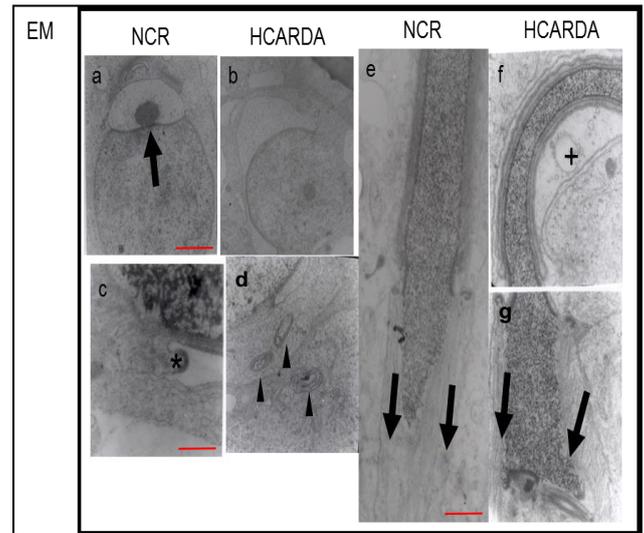


Fig. 2: EM (microscopía electrónica). Ultraestructura del desarrollo de Golgi y el núcleo de NCR (Fig. 2 EM, a, c y e) y HCARDA (Fig. 2 EM, b, d y f). El gránulo acrosomal se encuentra en el interior del acrosoma inicial (Fig. 2 EM, a, flecha) sólo en el eje central con distancias iguales de ambos extremos. Cada extremo acrosomal (Figs. 2 EM, a y c), los microtúbulos paralelos (Fig. 2 EM, e, flechas paralelas) y el anillo perinuclear (Fig. 2 EM, c, asterisco) están distribuidos simétricamente desde el eje espermático central. En cambio, HCARDA, mostró espacios estrechos combinados con zonas expandidas en acrosomas asimétricos (Fig. 2 EM b), así como varios remolinos de membrana (Fig. 2 EM d, puntas de flecha) y microtúbulos – manchete – no paralelos (Fig. 2 EM, g, flechas no paralelas). Algunas vacuolas de membrana dentro del acrosoma también se detectaron (Fig 2 EM f, +). a y b igual magnificación, la barra roja corresponde a 2µm. c y d igual magnificación, la barra roja corresponde a 0,5µm. e, f y g igual magnificación, la barra roja corresponde a 1µm.

Fig. 3

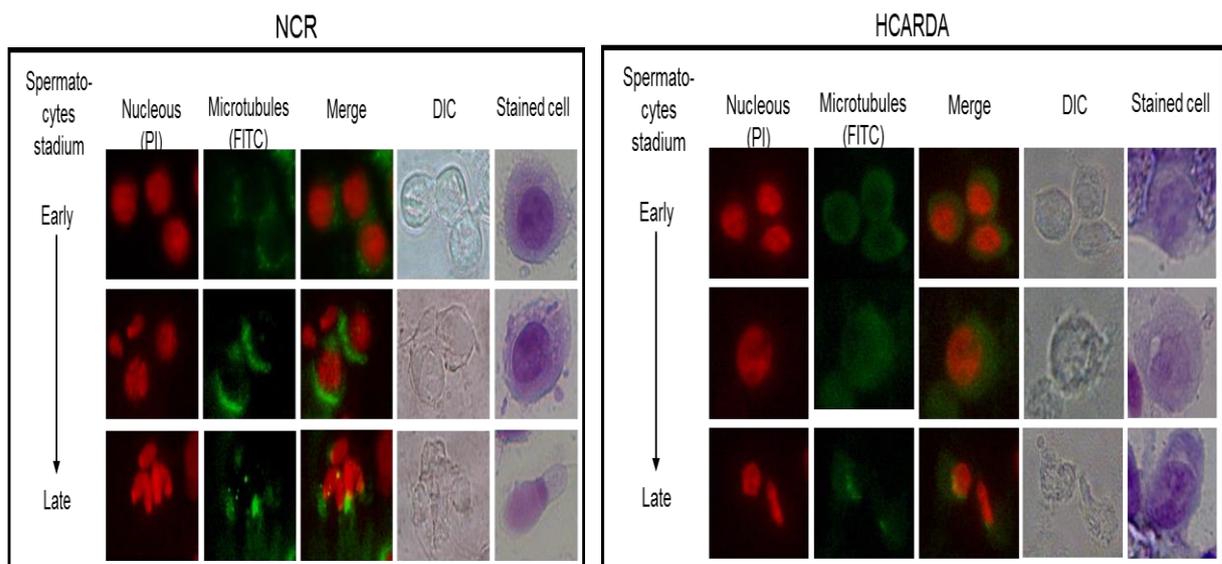


Fig. 3: Espermátidas aisladas fueron, teñidas y ordenadas desde Golgi a Acrosoma de acuerdo al desarrollo. Las células de la condición NCR presentaron un manchete polarizado opuesto al acrosoma (verde) y el núcleo condensado (rojo). Las células de la condición HCARDA tienen un manchete menos polarizado, la condensación nuclear anormal y la persistencia de los cuerpos residuales. En ambos paneles se incluyeron: una columna que corresponde al contraste de fases y células teñidas del mismo estadio como referencia. Estas células no eran las mismas células mostradas en las otras columnas.