

05 DE SEPTIEMBRE DE 05

Un disparo: Investigadores toman fotos de los eventos de fusión que le permiten al espermatozoide penetrar la cubierta del óvulo

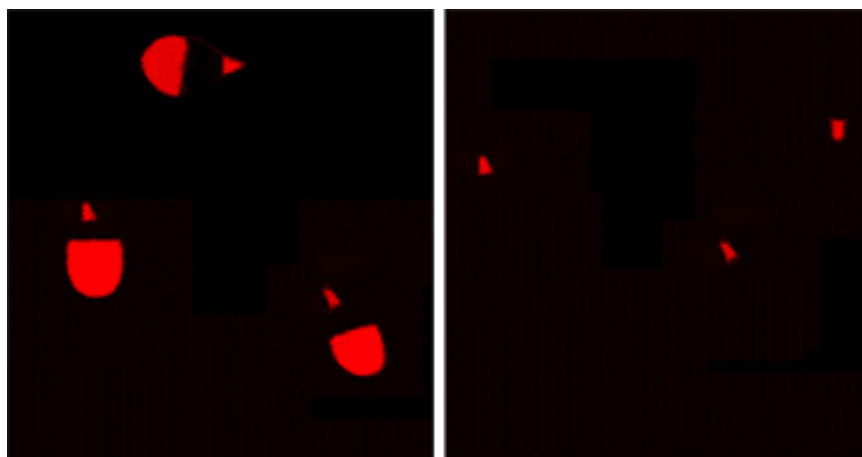


Image Title: Espermatozoides humanos teñidos de rojo con un anticuerpo que reconoce la proteína SNARE llamada syntaxina. En el panel izquierdo se ve que la neurotoxina botulínica no afecta a la syntaxina de espermatozoides en reposo porque la proteína está protegida en los complejos cis-SNAREs. A la derecha, la neurotoxina está digiriendo la syntaxina de espermatozoides en los que se ha estimulado la exocitosis con calcio. - Luis Mayorga y Gerardo De Blas

Unos investigadores han aprovechado las características únicas de una célula espermática para observar la fusión de membranas celulares durante la fertilización, rastreando toda la cascada de eventos por primera vez. Los resultados podrían revelar nuevas formas de aumentar o bloquear la fertilización, así como también la forma de controlar la secreción de neurotransmisores y de hormonas tales como la insulina.

Luis Mayorga, becario internacional de investigación del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI), y sus colegas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Cuyo en Mendoza, Argentina, aprovecharon la

especialización celular que hace que el espermatozoide tenga sólo una oportunidad irreversible de fertilizar un óvulo.

El grupo observó la secreción espermática de las enzimas utilizadas para penetrar la cubierta externa protectora que rodea al óvulo. “Dado que el espermatozoide tiene una sola oportunidad, esta secreción tiene que estar muy bien regulada”, dijo Mayorga. “Si el espermatozoide no responde justo a tiempo, no podrá atravesar la cubierta del óvulo”. Y puesto que la fertilización es unidireccional se trata de un proceso a todo o nada, como así también lo es el evento de fusión que libera las enzimas del espermatozoide. Este control riguroso le permitió al laboratorio de Mayorga tomar una película molecular de la fusión a medida que sucedía. Sus resultados se publican en el número de septiembre de la revista *Public Library of Science Biology*.

"Si el espermatozoide no responde justo a tiempo, no podrá atravesar la cubierta del óvulo."

- Luis Segundo Mayorga

Dentro del espermatozoide, las enzimas están contenidas en una pequeña bolsa que se conoce como acrosoma. Durante la fertilización, a medida que la membrana acrosomal se encuentra con la membrana externa del espermatozoide, las dos se fusionan y las enzimas se liberan afuera de la célula -de forma muy semejante a una burbuja que sube hasta la superficie de una bebida gaseosa y libera su gas en el aire-.

Mayorga, quien ha estudiado la fusión de membranas por más de 15 años, reconoció el potencial inexplorado de este simple evento de secreción, llamado exocitosis acrosomal (EA). Experimentos preliminares mostraron que la EA utiliza las mismas moléculas de fusión básicas que las células neuronales y endocrinas. Sin embargo, la EA es mucho menos complicada que la fusión de estos otros tipos de célula porque sólo ocurre una vez; otras células segregan las mismas sustancias una y otra vez, lo que hace necesario que la maquinaria de fusión recicle varias veces.

El equipo estudió las moléculas que unen a las membranas para que se fusionen. Estas moléculas, llamadas SNAREs, funcionan como un cierre de tipo Velcro que mantiene a las membranas lo suficientemente juntas para que se fundan. En el espermatozoide, la membrana acrosómica que contiene las enzimas tiene un tipo de SNARE y la membrana externa del esperma tiene otro.

Al inicio, los SNAREs acrosómicos están pegados entre sí y los SNAREs de la membrana externa se pegan entre sí formando pares llamados pares

cis-SNAREs. Éstos deben estar separados para que los SNAREs acrosómicos se puedan aparear con los SNAREs de la membrana externa formando pares *trans*-SNAREs. Cuando un espermatozoide encuentra la superficie del óvulo, se libera calcio en la célula espermática, lo que activa a las moléculas que rompen las uniones entre los pares *cis*-SNAREs.

Los científicos argentinos descubrieron que inmediatamente después de este paso, se forman pares *trans*-SNAREs débiles entre la membrana acrosómica y la membrana externa del espermatozoide. Se ha pensado que existen tales formaciones débiles de SNARE pero nunca se ha demostrado su existencia directamente. El grupo de Mayorga trató con toxinas las uniones *trans*-SNAREs antes de la etapa final de fusión y encontró que algunas de las toxinas, pero no todas, inhibían el proceso. Esto indicó que los SNAREs no estaban completamente libres, lo que los haría más susceptibles a las toxinas, ni que estaban agrupados en su configuración final y fuerte, lo que los haría resistentes a las toxinas.

Luego los investigadores encontraron que los pares *trans*-SNAREs fuertes que se forman finalmente lo hacen después de que se libera más calcio desde el interior del acrosoma. Una vez que la membrana acrosómica se pega a la membrana externa del espermatozoide mediante estos pares fuertes, un factor fusogénico hace que las dos membranas se fusionen, formando un poro que libera las enzimas afuera del espermatozoide donde pueden comenzar a digerir la cubierta que rodea al óvulo.

“En nuestros experimentos, es muy claro que esos complejos tienen una forma débil y que están esperando al calcio para terminar la fusión”, dijo Mayorga. “Mostramos paso a paso la forma en la que realmente ocurre la fusión de membranas en la exocitosis acrosomal”.

Muchos de los factores involucrados en la EA serán importantes para manipular la fertilización -ya sea para mejorarla o para bloquearla-, dijo Mayorga. El conocer los pasos exactos del simple sistema de EA del espermatozoide también podría ayudar a los investigadores que trabajaban en procesos más complicados de fusión de membranas que son críticos en divisiones celulares apropiadas, infecciones bacterianas y virales de células, y secreción de hormonas y de neurotransmisores.

“El campo de investigación está buscando muy activamente formas de regular la exocitosis -para regular las células beta del páncreas que producen insulina para evitar la diabetes o para lograr que se liberen neurotransmisores en el cerebro en el momento correcto o en la concentración correcta-”, hizo notar Mayorga. “Todos ellos son ejemplos de exocitosis regulada y la EA es un modelo simple que se puede utilizar”.