

GAMETOGENESIS

Andrea Castro Gálvez

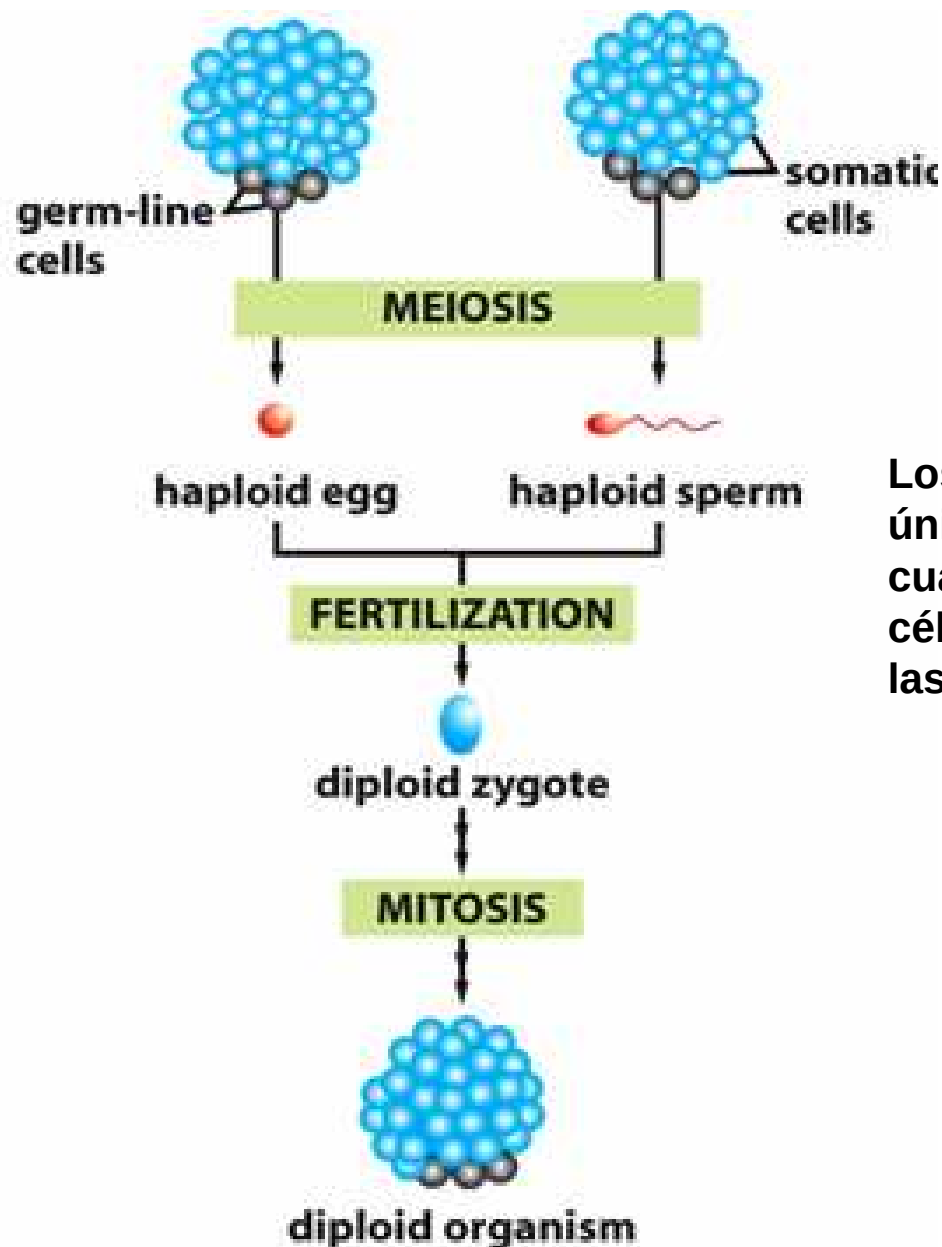
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MATERNO INFANTIL

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE CHILE

*Curso Bases celulares, Genéticas y del Desarrollo Ontogénico Humano
Obstetricia, 2012*

Células haploides y diploides en el ciclo de vida de eucariotas superiores



Los gametos representan las únicas células haploides, las cuales se desarrollan desde células germinales diploides en las gónadas

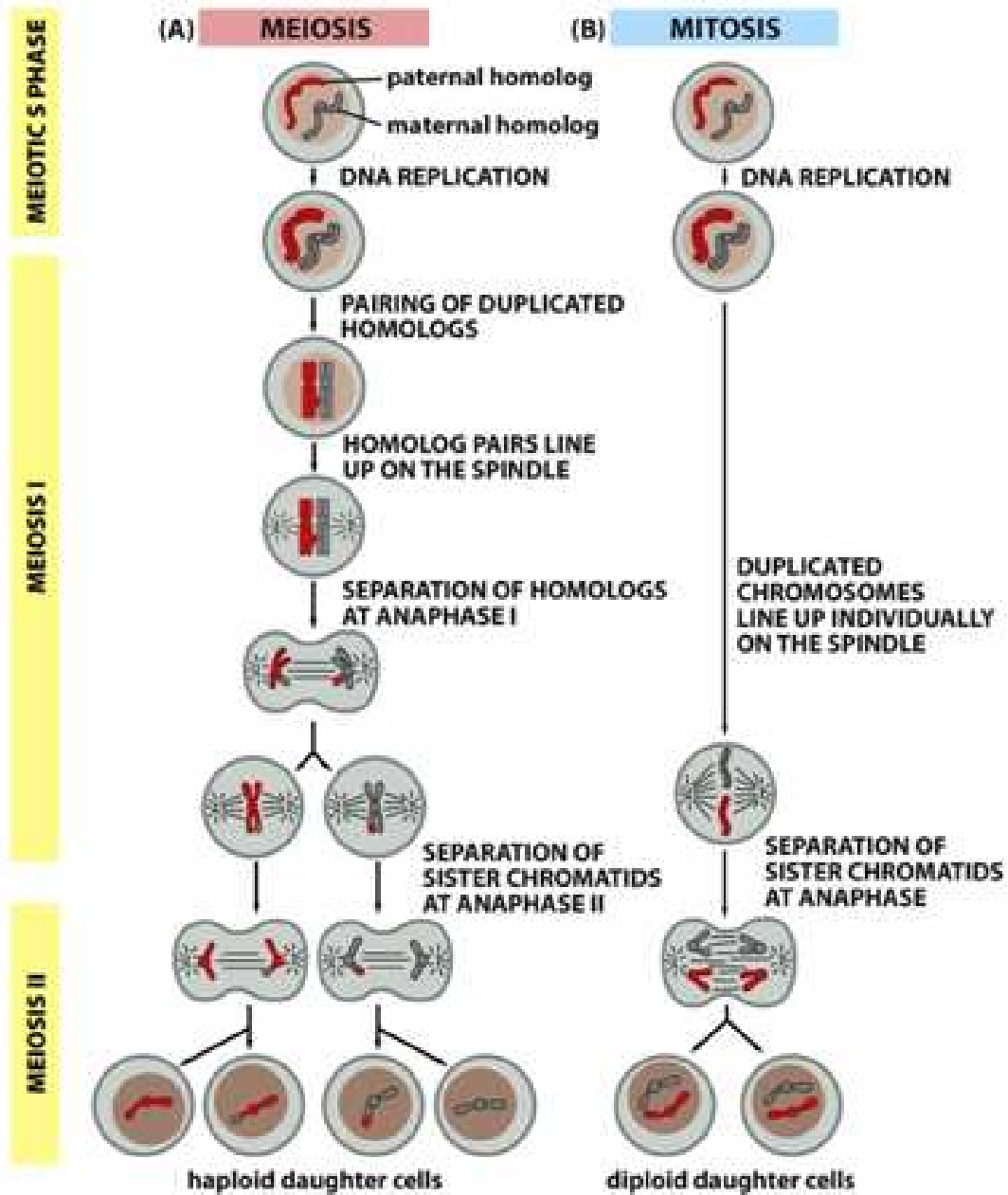
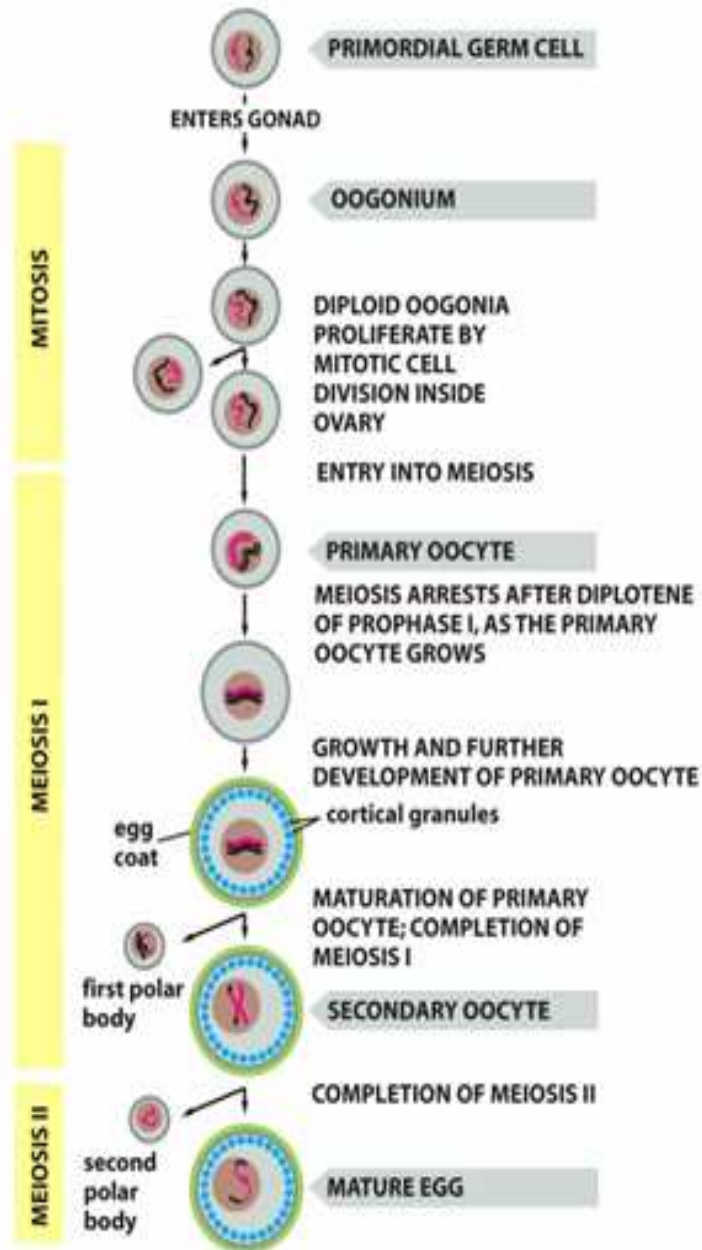
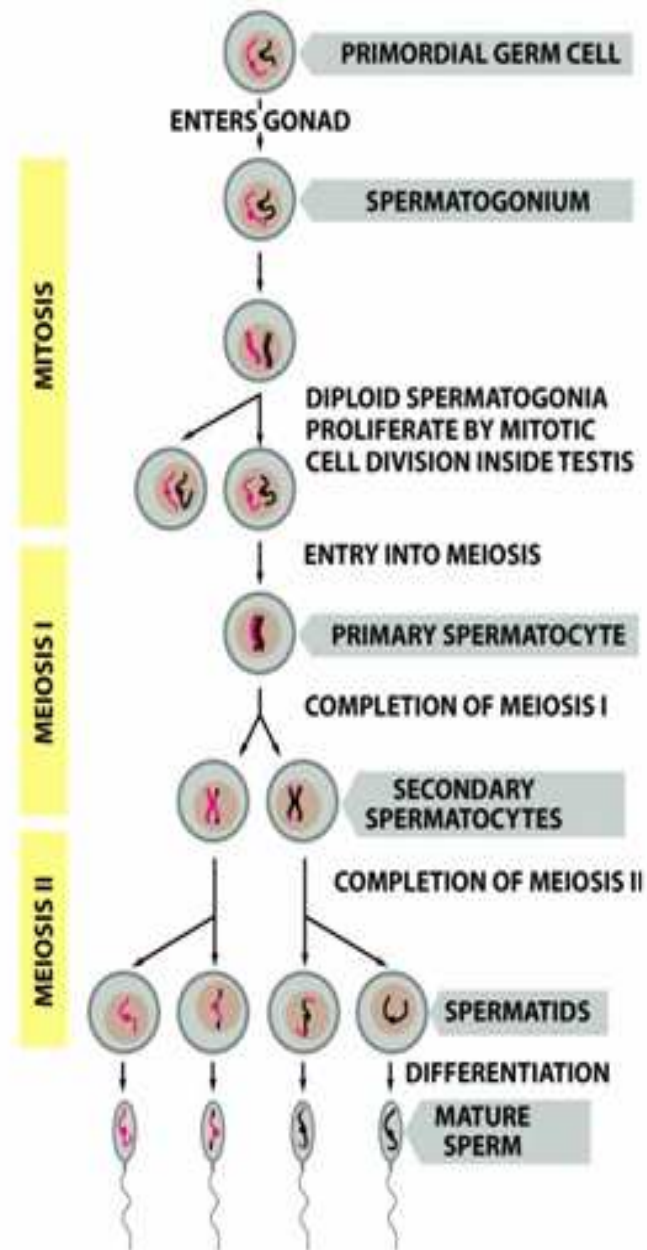


Figure 21-5 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

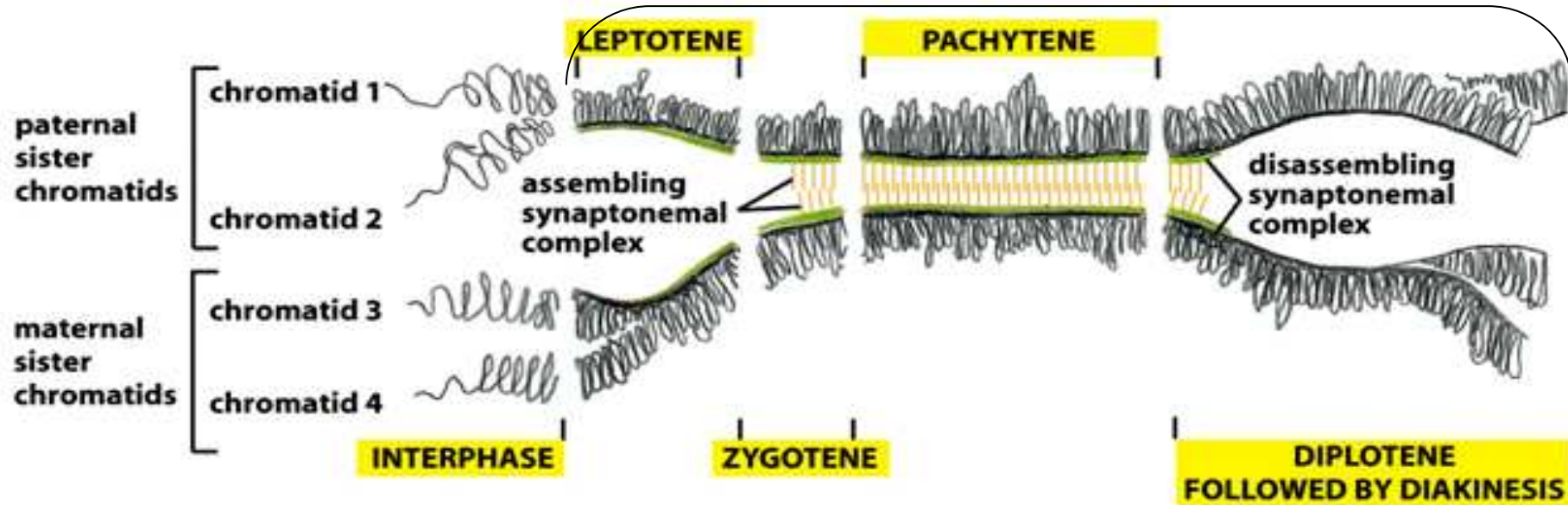
Ovogénesis



Espermatogénesis



Ensamble y desensamble del Complejo Sinaptonémico durante la Profase I



Paquiteno

- Ocurre el intercambio de material genético entre cromosomas homólogos ("crossing-over")
- Esta etapa puede persistir por días a semanas
- Activa transcripción de genes en los espermatoцитos primarios

Diptoteno (Dictioteno)

Los homólogos siguen unidos por los (quiasmas y por cohesinas)

Esta etapa persiste por años en los ovocitos primarios de la mujer y ocurre una activa transcripción de genes, lo cual es necesario para el crecimiento del ovocito y el desarrollo embrionario temprano

GAMETOGENESIS FEMENINA

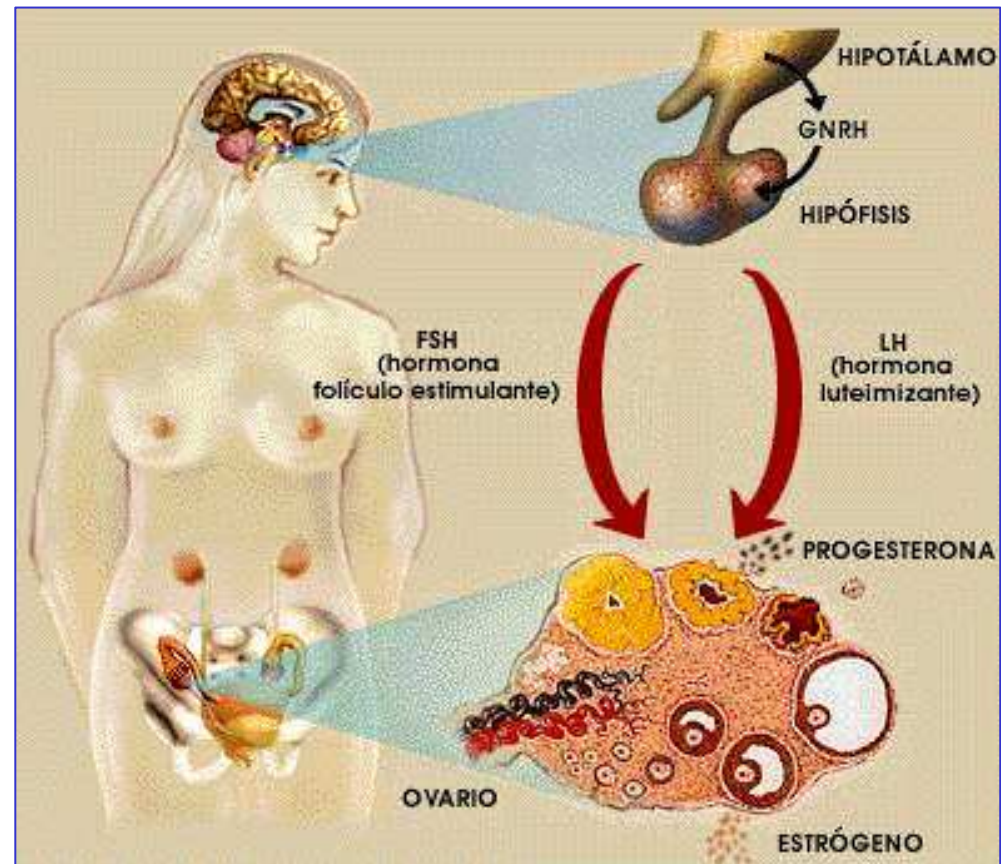
OVARIO

Funciones

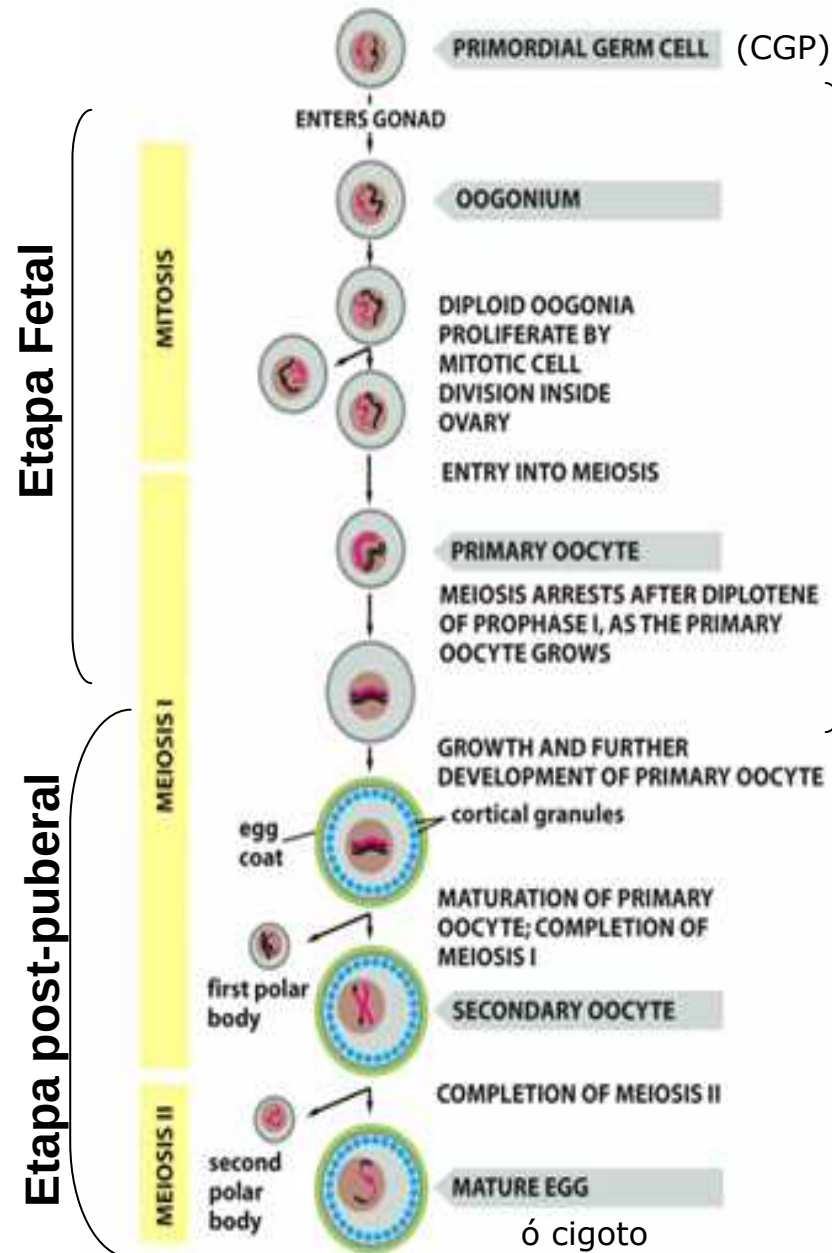
**Gametogénica
(Ovocitos)**

Endocrina

↓
**Estradiol- Progesterona-
Andrógenos**



Ovogénesis



Durante la semana 4-5 de embarazo: las células germinales primordiales (CGP) migran al primordio gonadal (futura gónada) del embrión

Las CGP diferencian en ovogonias, las cuales proliferan y finalmente entran en meiosis

La entrada en meiosis gatilla que células pre-granulósicas rodeen a las ovogonias y se inicie la foliculogénesis

El crecimiento del ovocito se inicia con el reclutamiento de folículos primordiales (detenidos en dictioteno de la profase I)

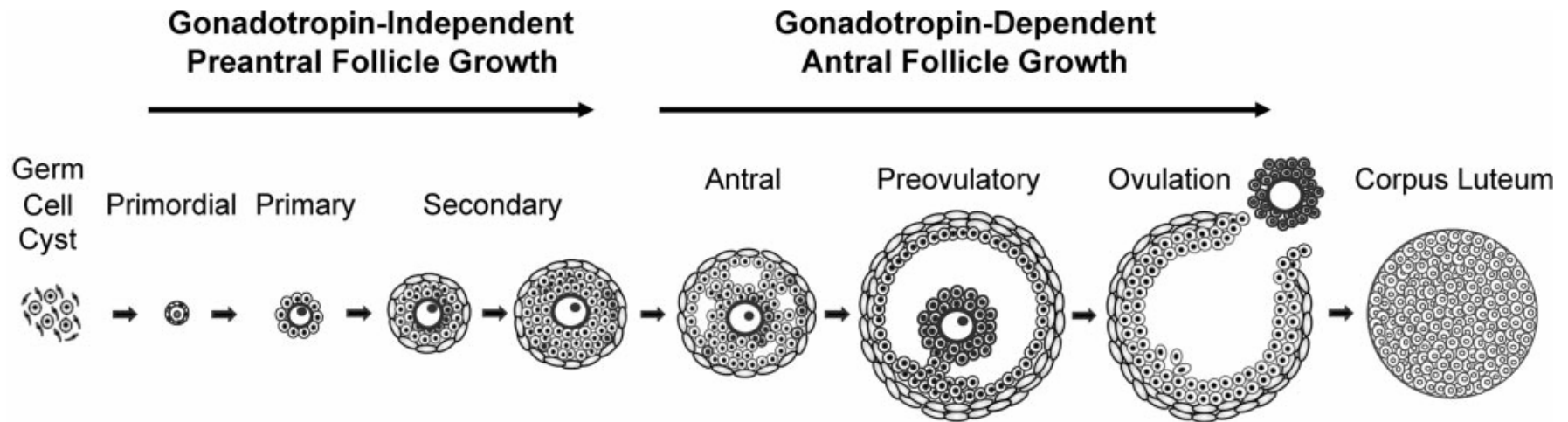
En la mujer, la formación del gameto maduro ocurre de manera cíclica después de la menarquia (primera menstruación). El gameto maduro es un ovocito secundario detenido en Metafase II. La meiosis se completa sólo después de la fecundación

Diferenciación ovárica

A diferencia del testículo, la diferenciación ovárica depende de la influencia de las células germinales sobre las células somáticas del ovario fetal:

En caso que la migración de las células germinales a la cresta genital (primordio gonadal) no ocurra, la diferenciación de las células pre-granulósicas es inhibida y regresiona.

FOLICULOGENESIS



Primera etapa gonadotrofina-independiente:

- Reclutamiento inicial de cohortes de folículos primordiales
- Crecimiento de folículos pre-antrales de distintas cohortes

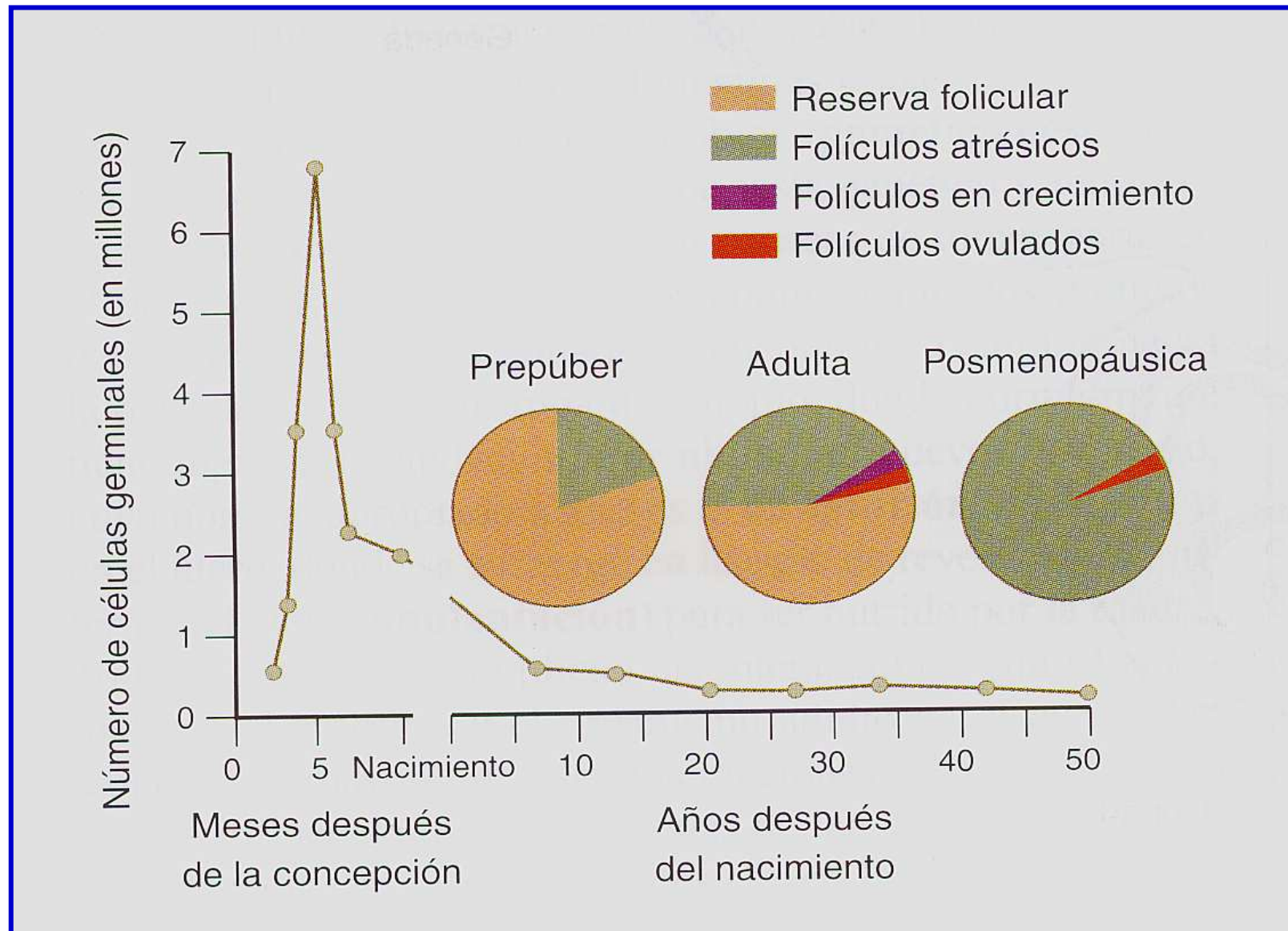
Segunda etapa gonadotrofina-dependiente:

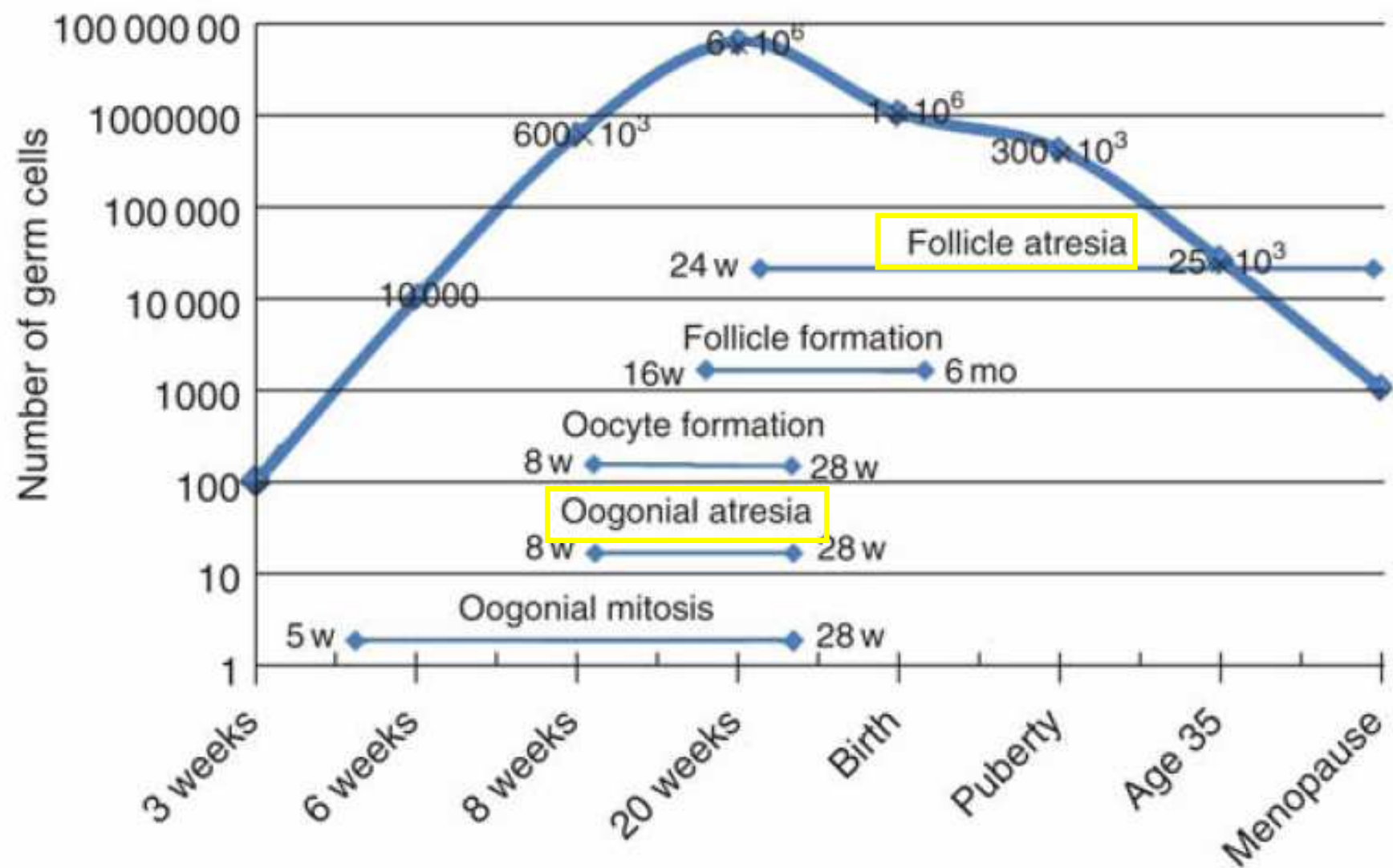
- Selección de folículos pre-antrales tardíos (folículos secundarios) de distintas cohortes
- Dominancia de un folículo Terciario y atresia de los folículos no seleccionados

Reserva ovárica

- Está determinada por el número de folículos primordiales en el ovario.
- La primera etapa de reclutamiento de folículos primordiales es independiente de gonadotrofinas y ocurre a través de interacciones autocrinas y paracrinas entre las células somáticas y el ovocito.
- El número de folículos primordiales reclutados diariamente son alrededor de 15 en una mujer de 20 años de edad y de 1 en una mujer de 40 años de edad.
- La independencia a las gonadotrofinas se refiere a que el crecimiento del folículo no depende de estas hormonas. Sin embargo, los folículos pequeños responden a cambios en la concentración de la gonadotrofinas estimulando la diferenciación y maduración de las células foliculares.

APOPTOSIS DE CELULAS GERMINALES Y DE FOLICULOS

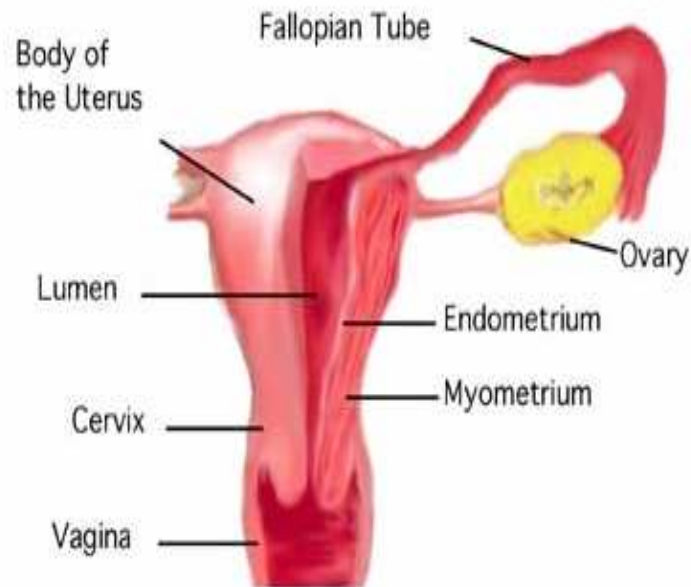




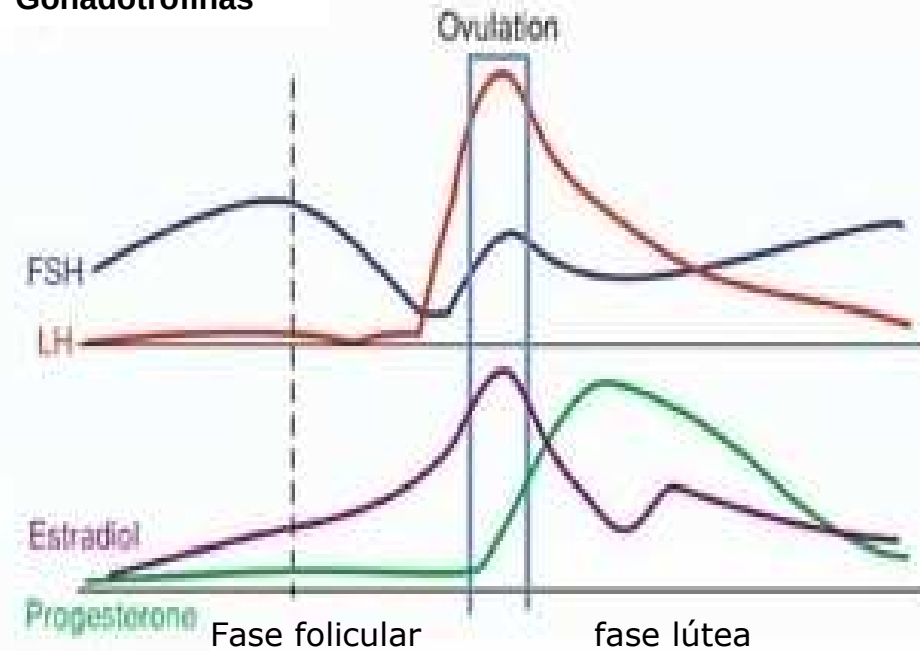
Cambios cíclicos durante el ciclo menstrual en la mujer

La coordinación de los ciclos ováricos y uterinos es controlada por las gonadotrofinas (FSH y LH) y por las hormonas ováricas (Estrógenos y progesterona).

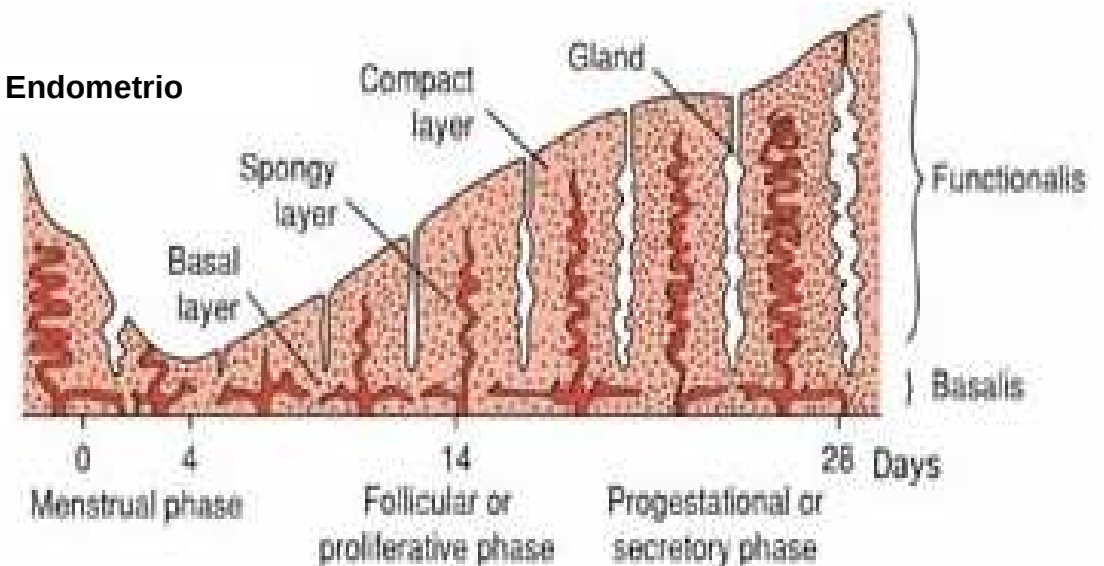
Tracto reproductor femenino



Gonadotrofinas



Endometrio



EL CICLO MENSTRUAL

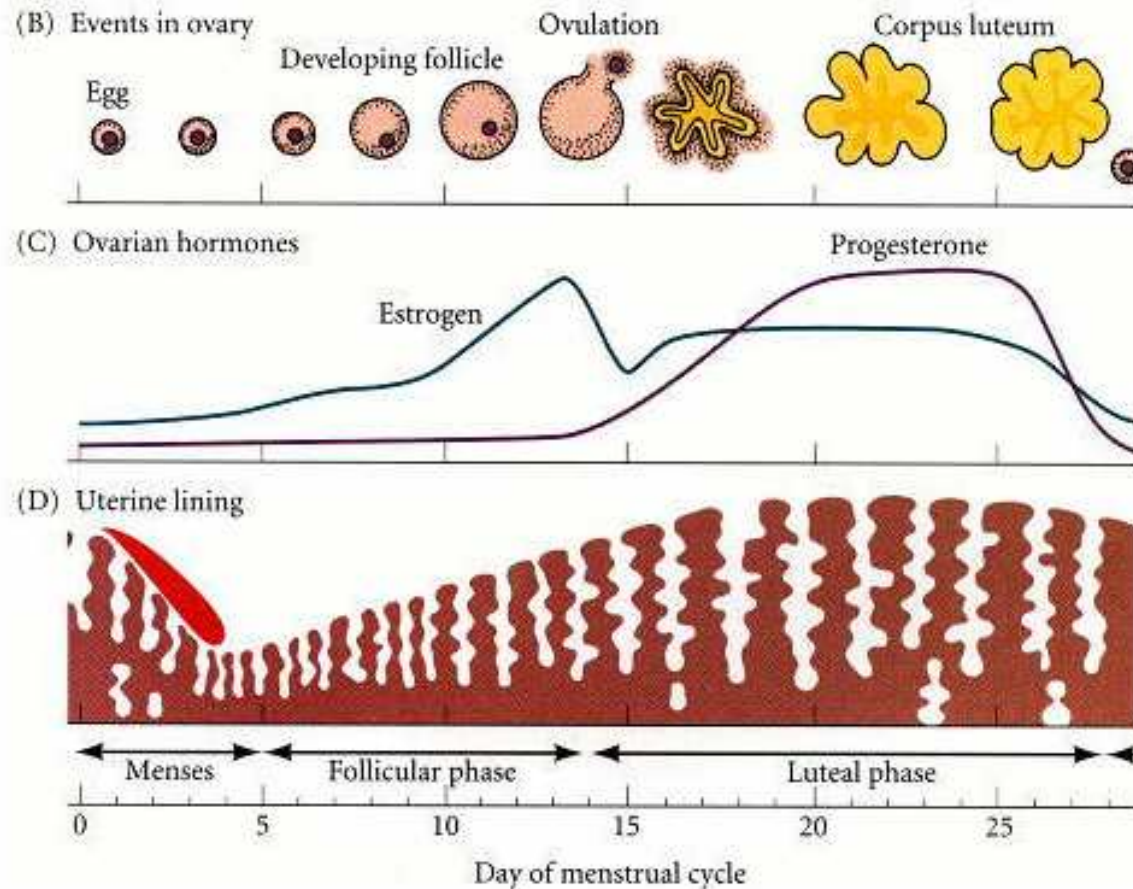
Representa la integración de tres ciclos muy diferentes:

- I. El ciclo ovárico, cuya función es madurar y liberar un gameto femenino maduro (ovocito II en la mujer)
- II. El ciclo uterino, cuya función es proporcionar un entorno apropiado para el desarrollo del embrión (blastocisto)
- III. El ciclo del cuello de útero, cuya función es permitir que los espermatozoides entren en el tracto reproductor femenino sólo en el momento oportuno.

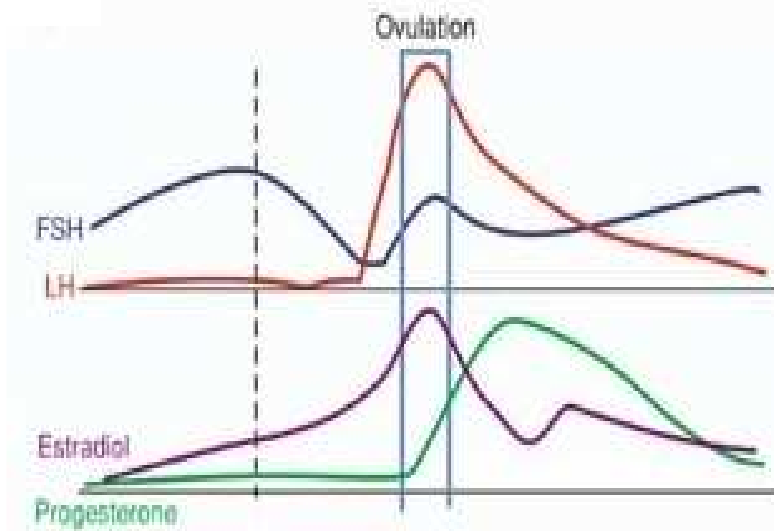
Estas tres funciones se integran a través de las hormonas del hipotálamo, la hipófisis, y el ovario.

Foliculogénesis, hormonas esteroidales y endometrio

Durante la fase folicular, el ovocito madura dentro del folículo, y el revestimiento del útero (endometrio) se prepara para recibir el blastocito (Embrión que se implantara). El ovocito maduro es liberado alrededor del día 14 (ovulación). Si no hay fecundación no habrá un embrión (blastocisto) que se implante en el útero, y la pared del útero se desprenderá (menstruación).

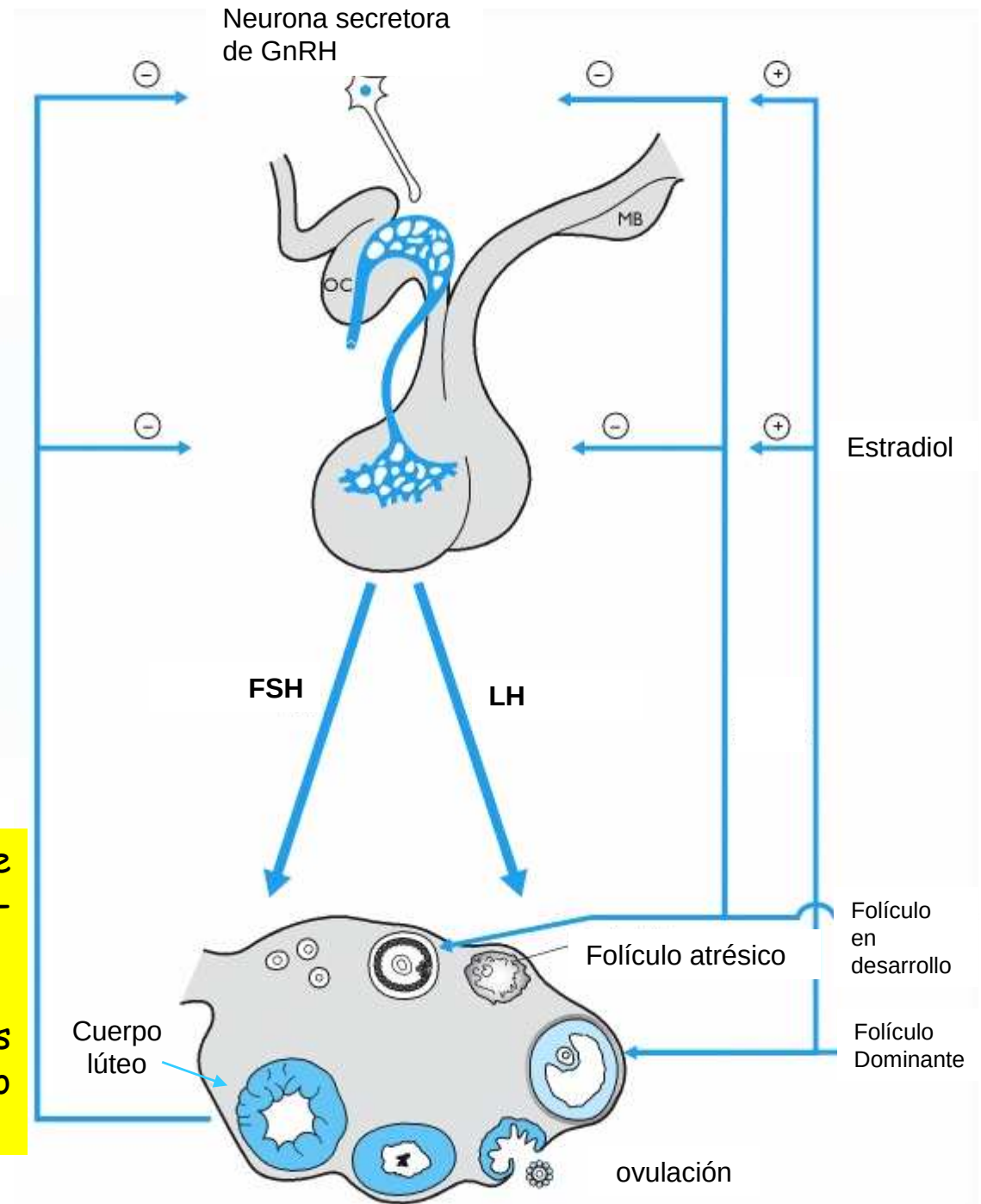


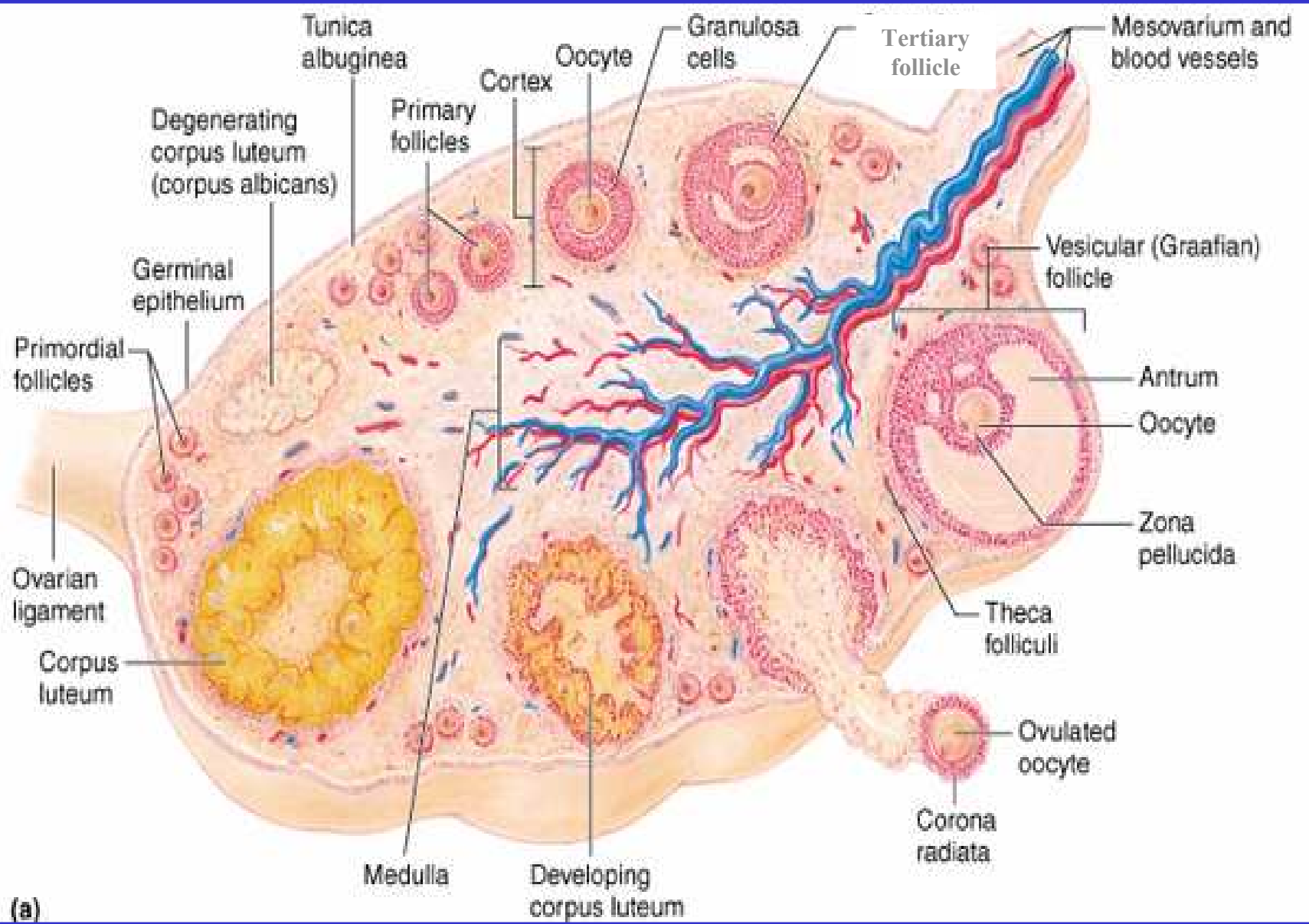
Eje hipotálamo-pituitaria-ovario (HPO)



Una elevada concentración de estradiol induce el pico pre-ovulatorio de LH

Estradiol en concentraciones relativamente bajas tiene un efecto inhibitor sobre el eje HPG





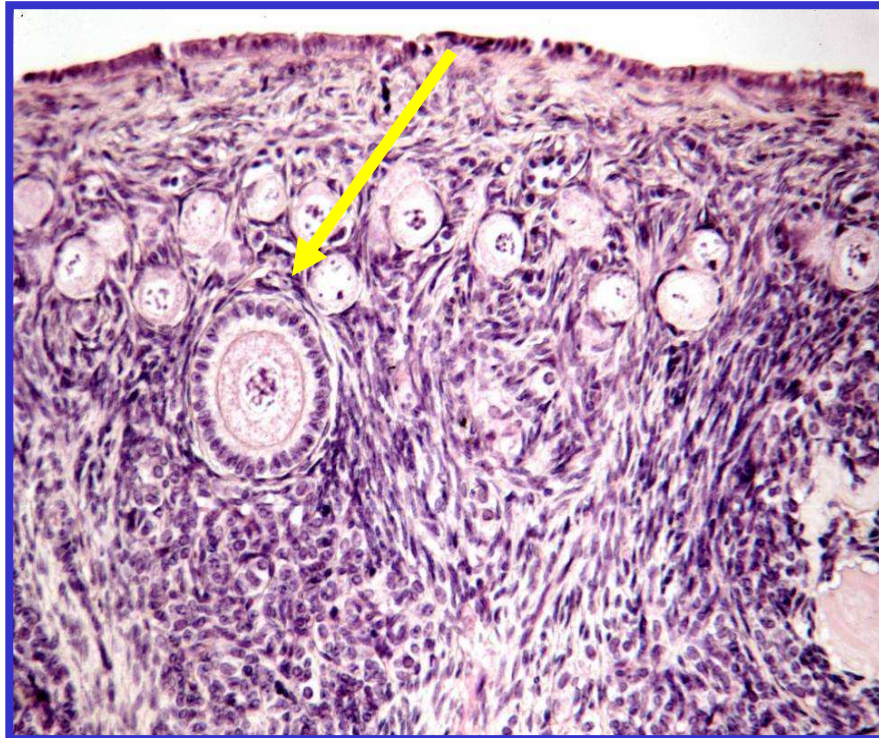
FOLICULO PRIMARIO

CG cambian de forma (planas a cúbicas)

Se forma la ZP

Adquisición de R-FSH (cito diferenciación de CG)

Se inicia la síntesis de E2 (aromatasa)



FOLICULO SECUNDARIO (PRE-ANTRAL)

E2 aumenta (aromatasa)

Proliferación de las CG (4-5 capas)

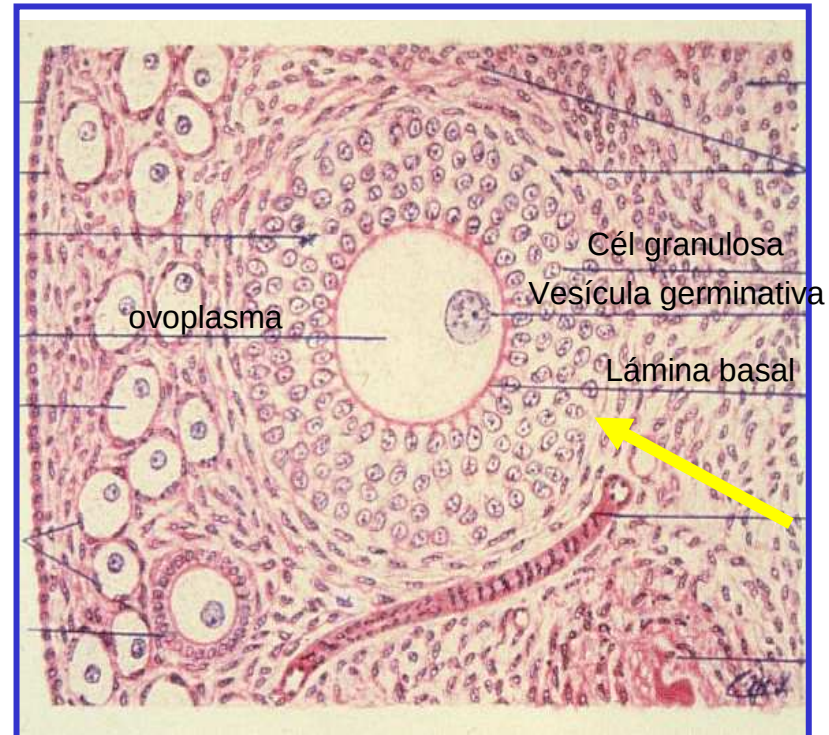
ZP gruesa

El ovocito completa su crecimiento

Al final de esta etapa:

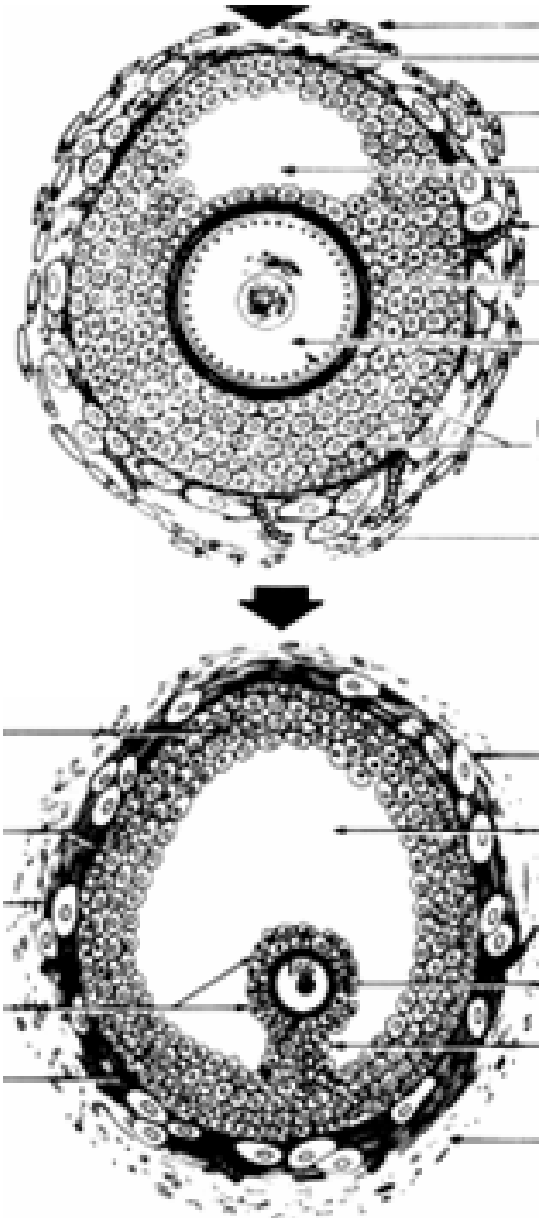
Las células mesenquimáticas del estroma rodean a la lámina basal (teca presuntiva al final de esta etapa)

Expresión receptores de estrógenos (RE) en CG



CRECIMIENTO DEL OVOCITO

- Por qué el gameto femenino es mucho mas grande que el masculino?
 - proteínas (vitelo)
 - Ribosomas
 - tRNAs
 - mRNAs (inactivos hasta después de la fecundación)
 - factores morfogénéticos
 - factores protectores (ej: enzimas de reparación, pigmentos)



FOLICULO TERCIARIO

En el folículo terciario se han formado las células de la teca interna y las de la teca externa

Formación del antro (fluido folicular entre las CG): productos de secreción de las CG y transudado de los capilares sanguíneos que rodean a las células de la teca interna (TI), las cuales se activan e inician la síntesis de andrógenos en respuesta a LH (expresión de R-LH)

Formación de uniones gap (*gap junction*) entre el ovocito-células de la corona radiada

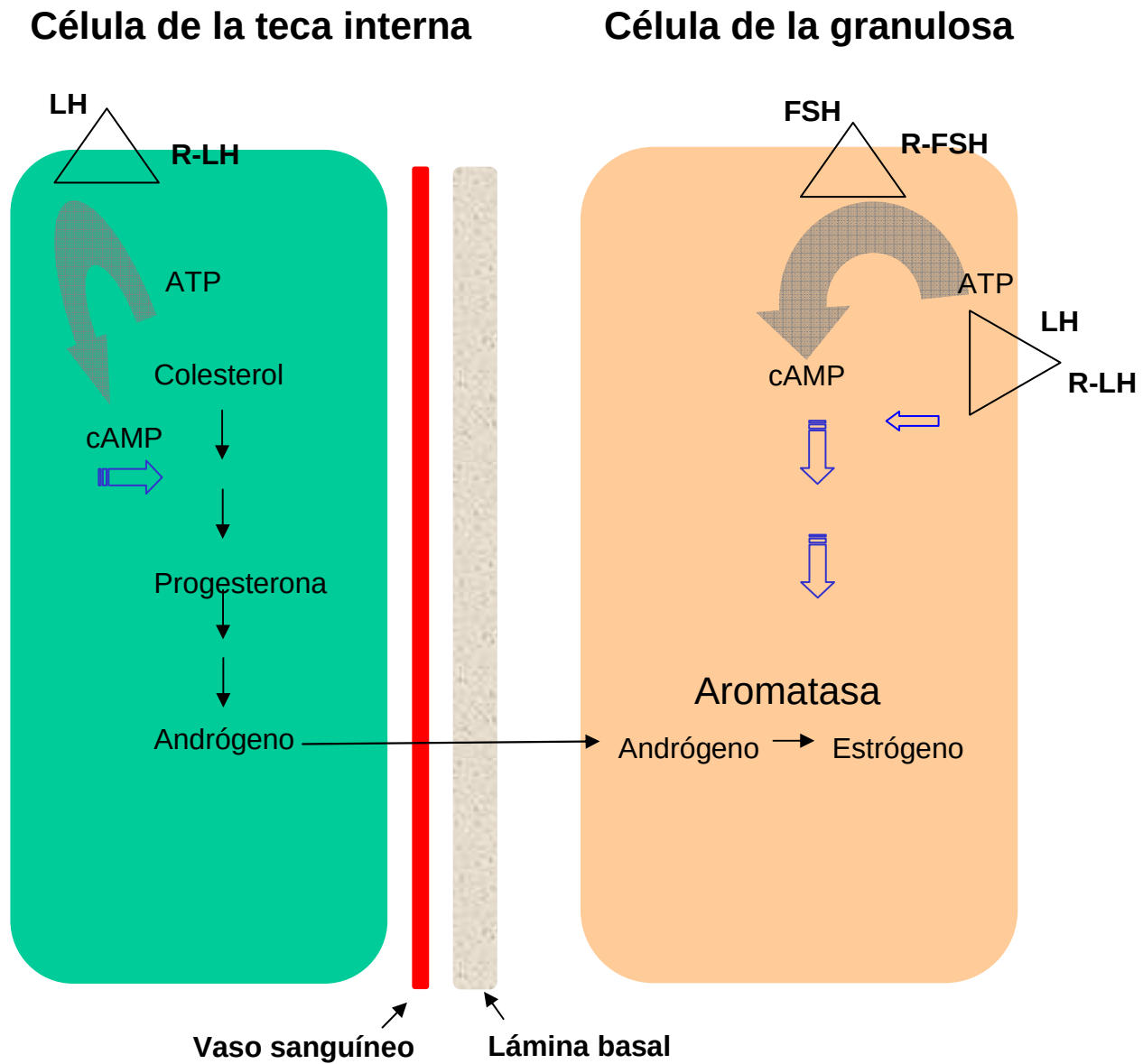
FOLICULO PRE-OVULATORIO (DE GRAAF)

Ocurre un aumento considerable de tamaño (25mm) a expensas del aumento del antro y de la proliferación de las CG y TI (5-8 capas)

Formación de las células del cúmulo ooforo (CC)

CG expresan receptores de LH

Interacción entre las células de la teca interna y las células de la granulosa (teoría de las 2 células)



Folículo dominante

Es el folículo que alcanza el mayor índice mitótico en sus células de la granulosa (CG)

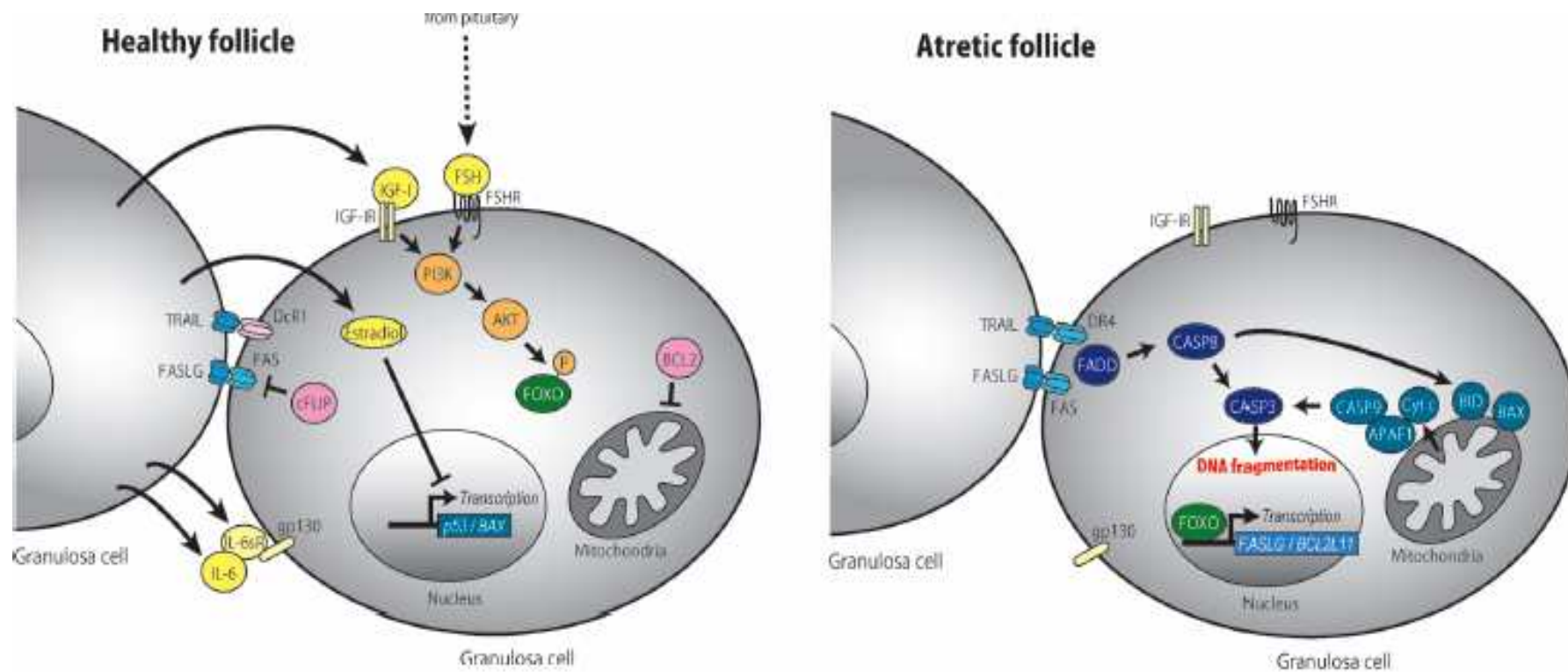
Aquel que sintetiza mayor cantidad de estrógenos producto de una mayor adquisición de receptores de FSH que conduce a una mayor expresión de la enzima aromatasa (enzima que convierte andrógenos a estrógenos)

La mayor adquisición de receptores de LH en las CG, permite una mayor concentración de cAMP, contrarestando la disminución del aporte de FSH

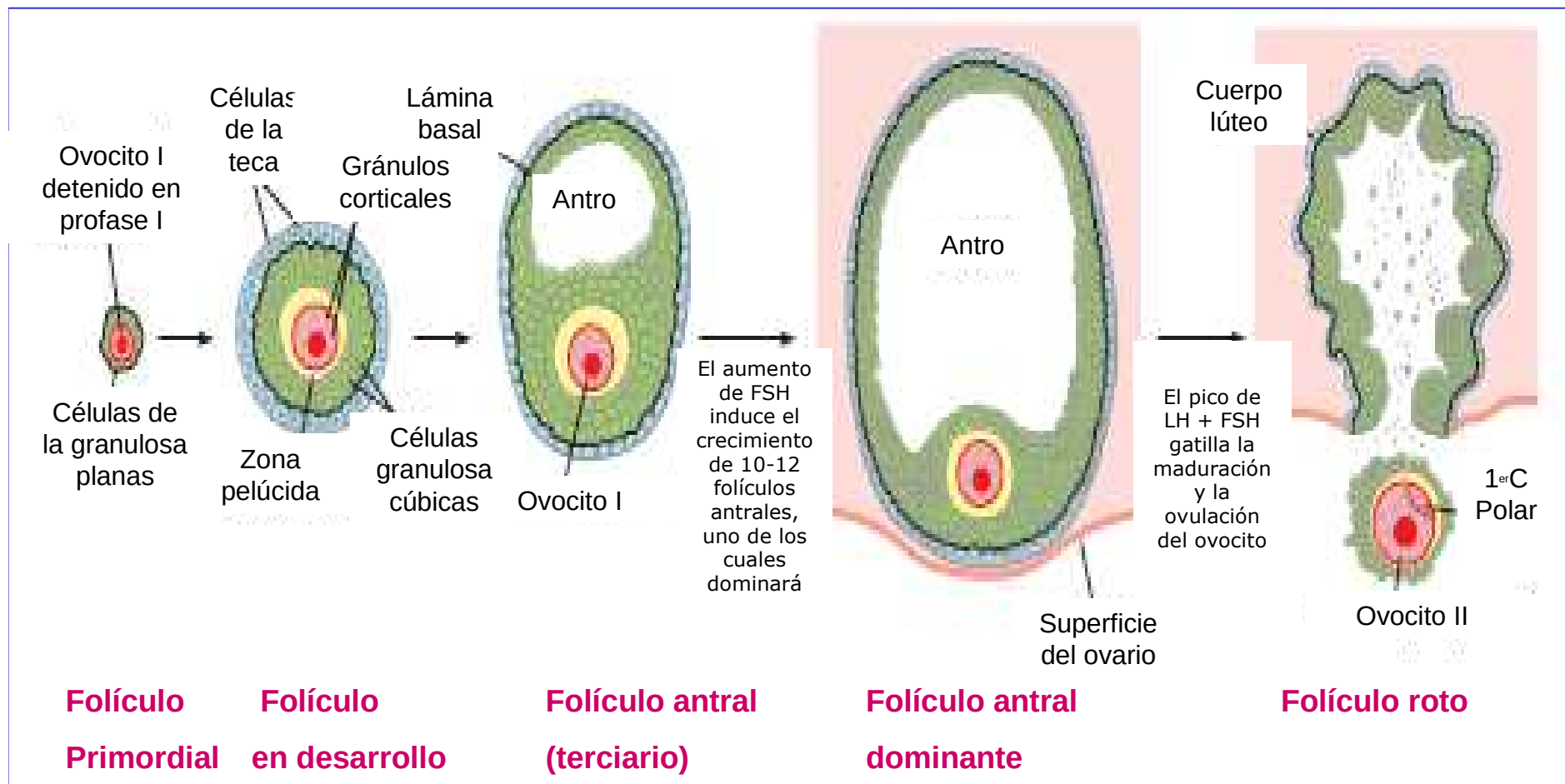
Factores intraováricos producidos por las CG amplifican la acción de la FSH (estradiol, IGF-I, IL6).

Es decir, la dominancia requiere de la acción de LH y FSH, así como de la interacción funcional de las CG y de la células de la teca interna (TI), y que se denomina teoría de las dos células

CÉLULAS DE LA GRANULOSA EN UN FOLÍCULO SANO VERSUS UN FOLÍCULO APOPTÓTICO



Matsuda et al, J Reprod Develop 58:44-50, 2012

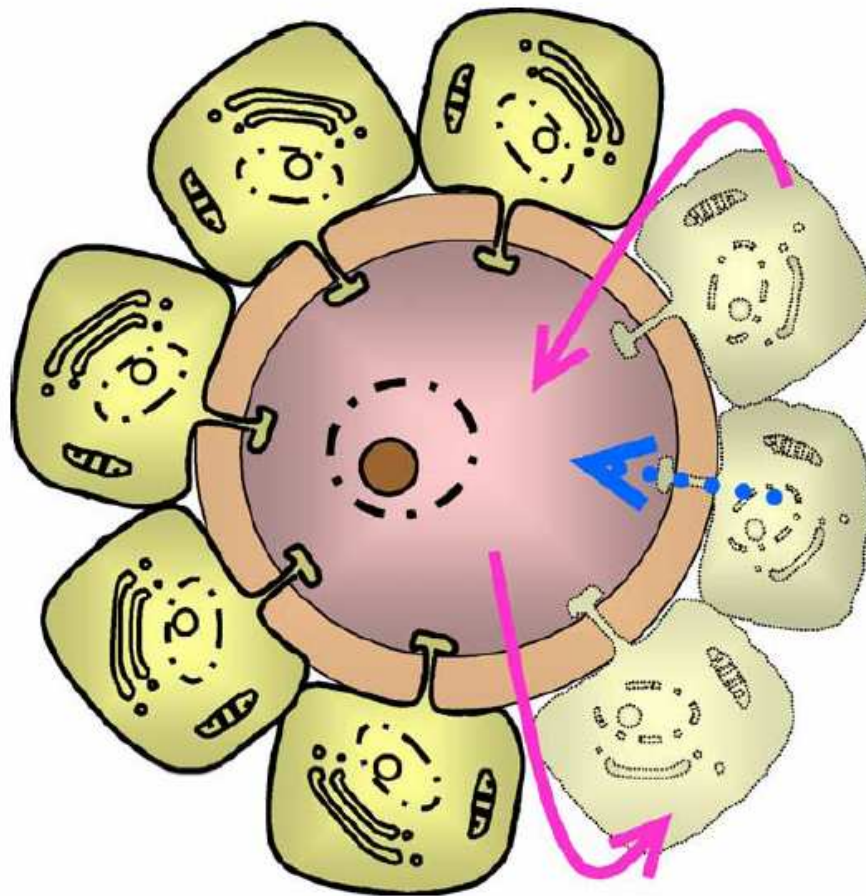


**CRECIMIENTO
OVOCITARIO: 20-120 μm**

**MADURACION
OVOCITARIA**

OVULACION

COMUNICACION BIDIRECCIONAL ENTRE EL OVOCITO Y LAS CELULAS DE LA GRANULOSA ES ESENCIAL PARA EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL OVOCITO Y DEL FOLICULO



CC al ovocito

Kit-L

Gap junction

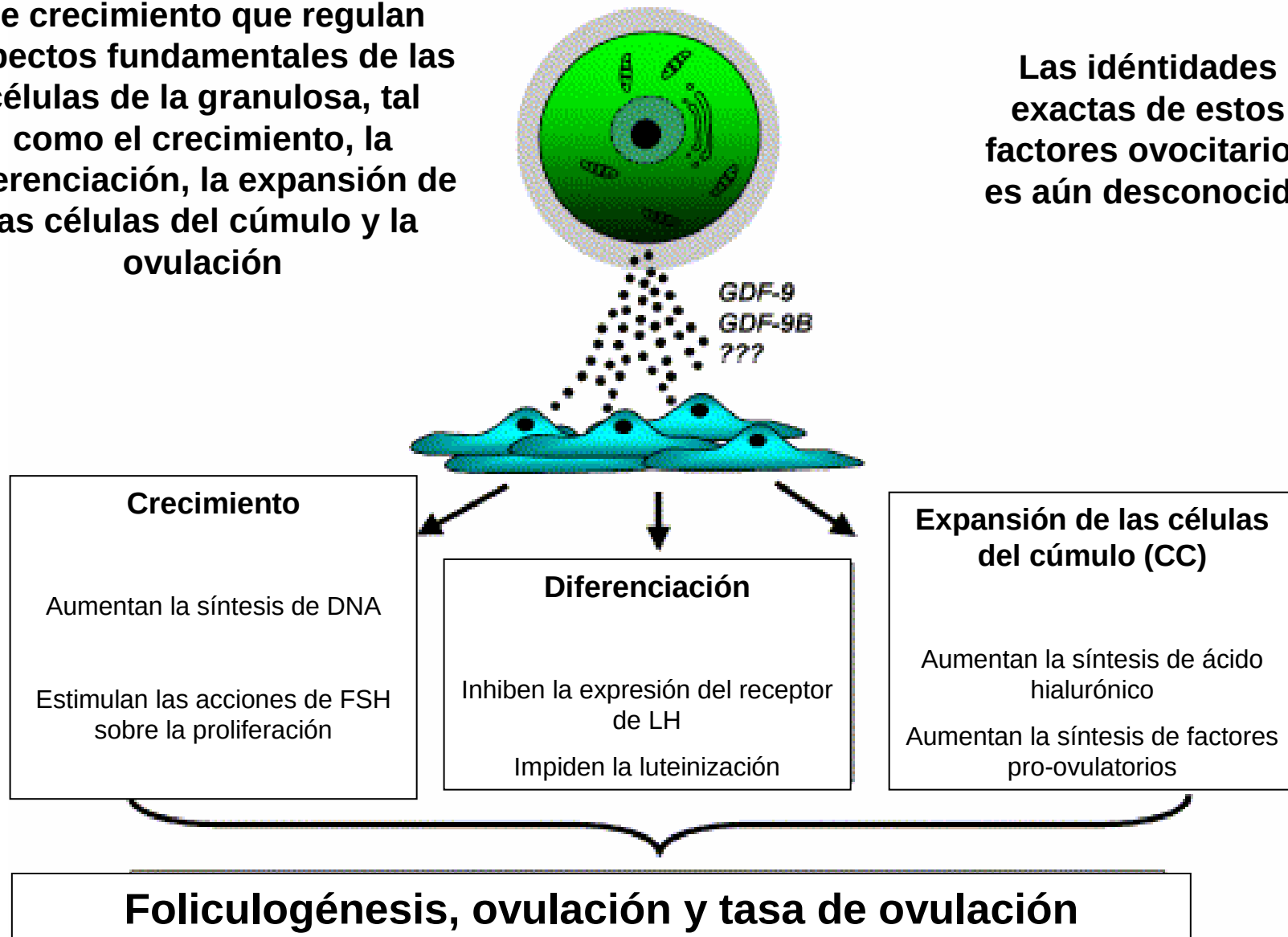
purinas, pirimidinas,
aa, metabolitos,
cAMP

Factores secretados por el ovocito a las CC

GDF-9, GDF-9B
BMP-6 ..etc

Los ovocitos secretan factores de crecimiento que regulan aspectos fundamentales de las células de la granulosa, tal como el crecimiento, la diferenciación, la expansión de las células del cúmulo y la ovulación

Las identidades exactas de estos factores ovocitarios es aún desconocida



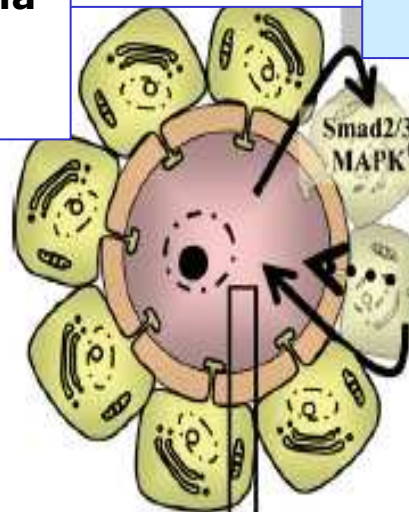
INTERACCION ENTRE CELULAS DE LA CORONA RADIADA Y EL OVOCITO

OVOCITO

Metabolismo
Crecimiento
Detención de la
meiosis
Maduración

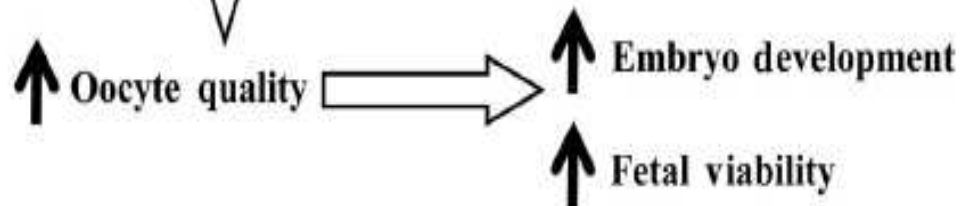
COMUNICACIÓN:

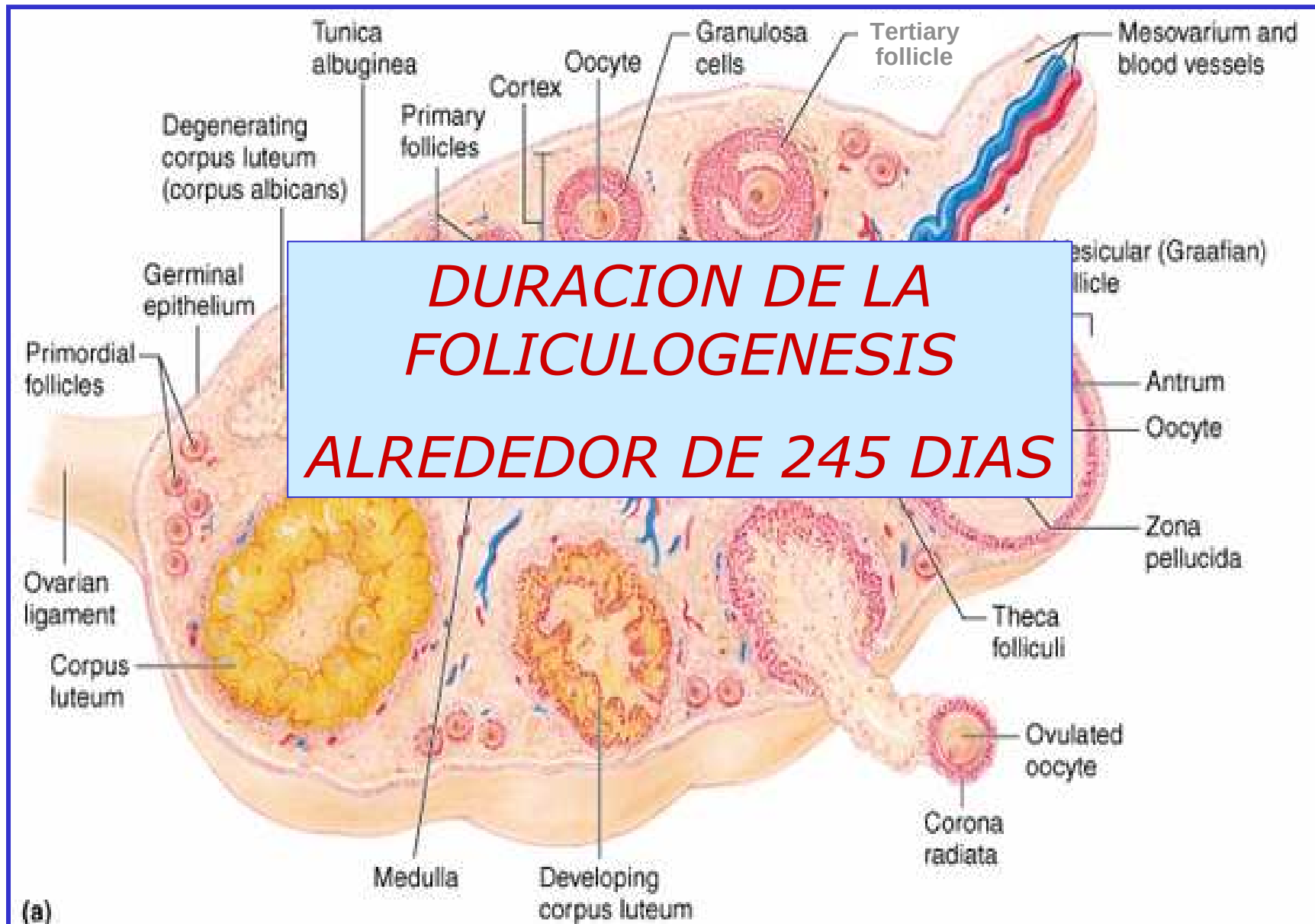
PARACRINA
UNIONES GAP



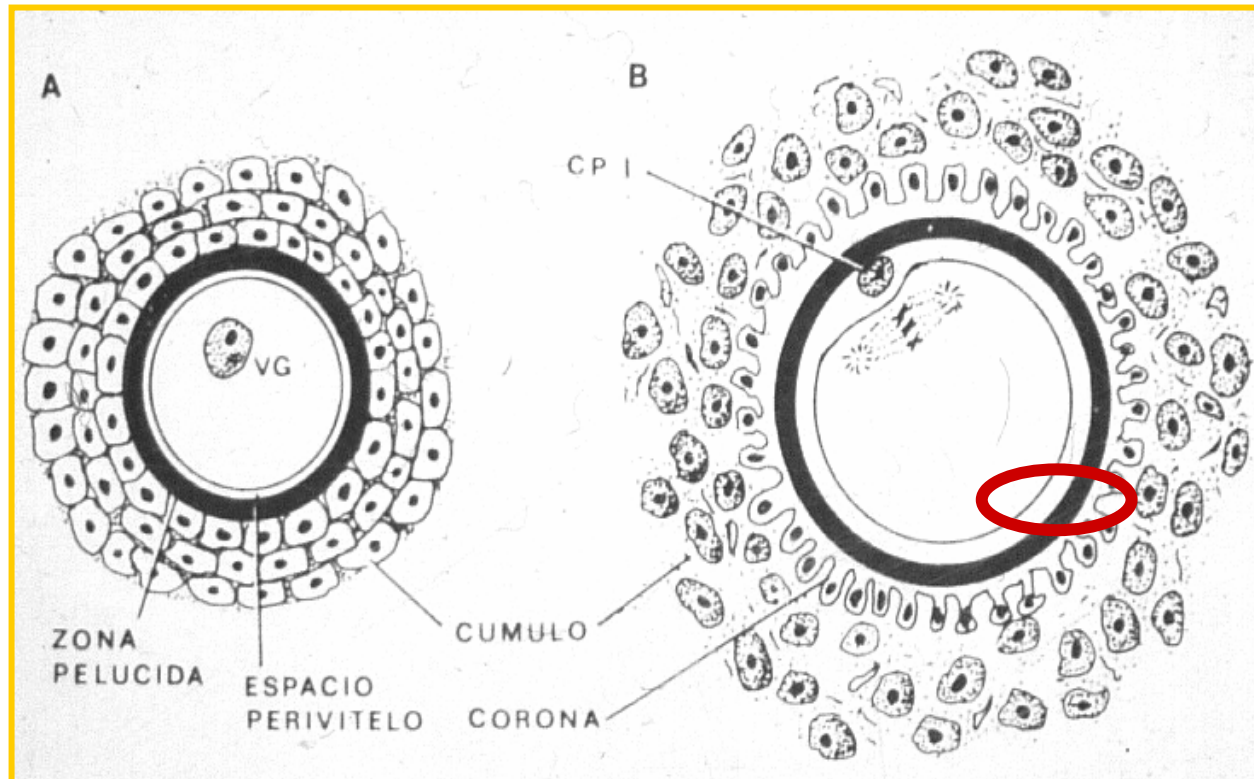
Regulation of CC functions

- Proliferation
- Apoptosis
- Luteinisation
- Metabolism
- Expansion





COMPLEJO CUMULO-CORONA-OVOCITO ANTES Y DESPUES DEL ALZA DE LH



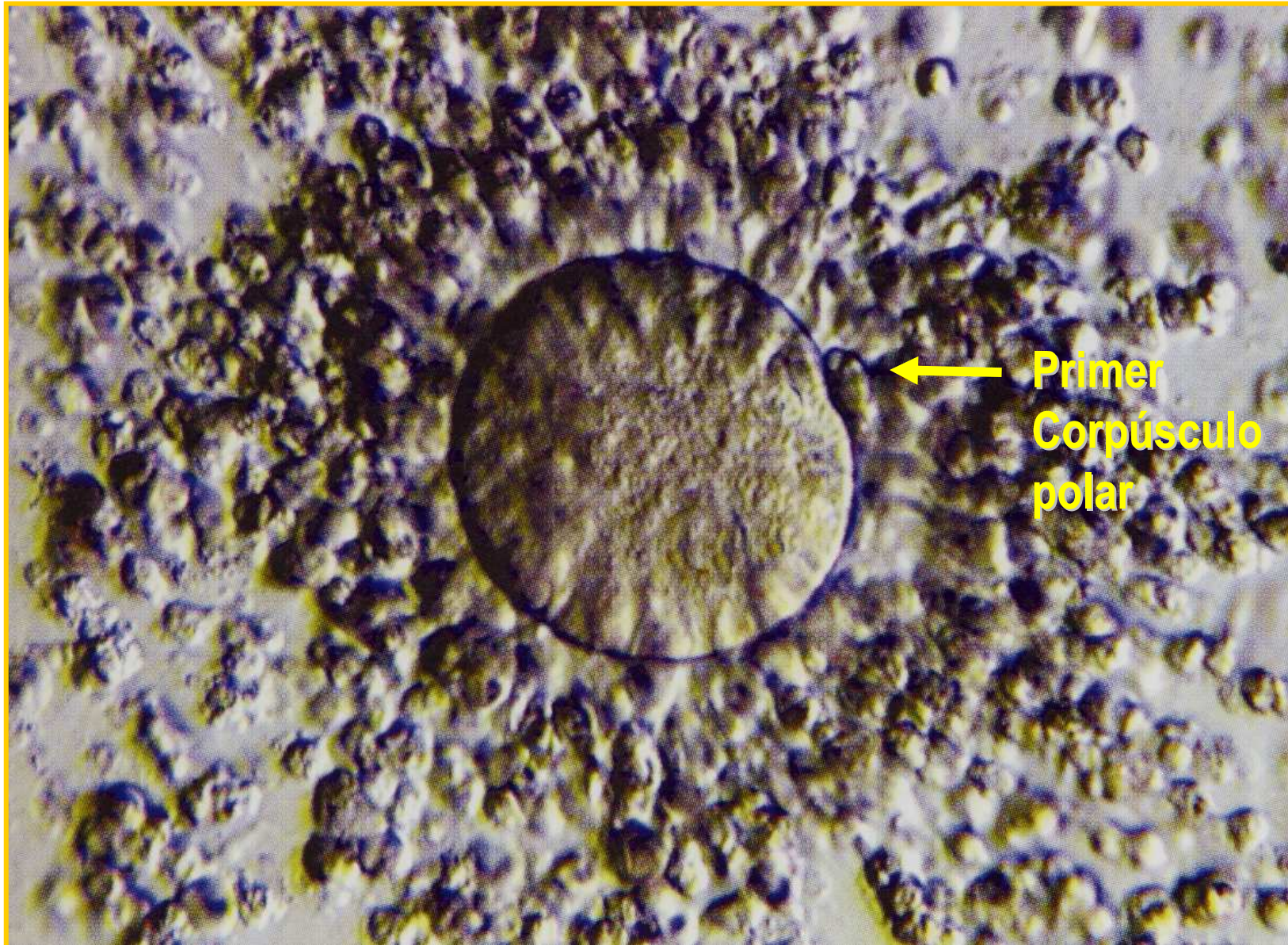
EL PEACK DE LH OCURRE 24 A 36 HORAS ANTES DE LA OVULACION

**CIERRE DE UNIONES GAP ENTRE LAS CELULAS DEL CUMULO (CC) Y LA CORONA RADIADA
(INHIBIDORES DE LA MEIOSIS NO PUEDEN ACTUAR)**

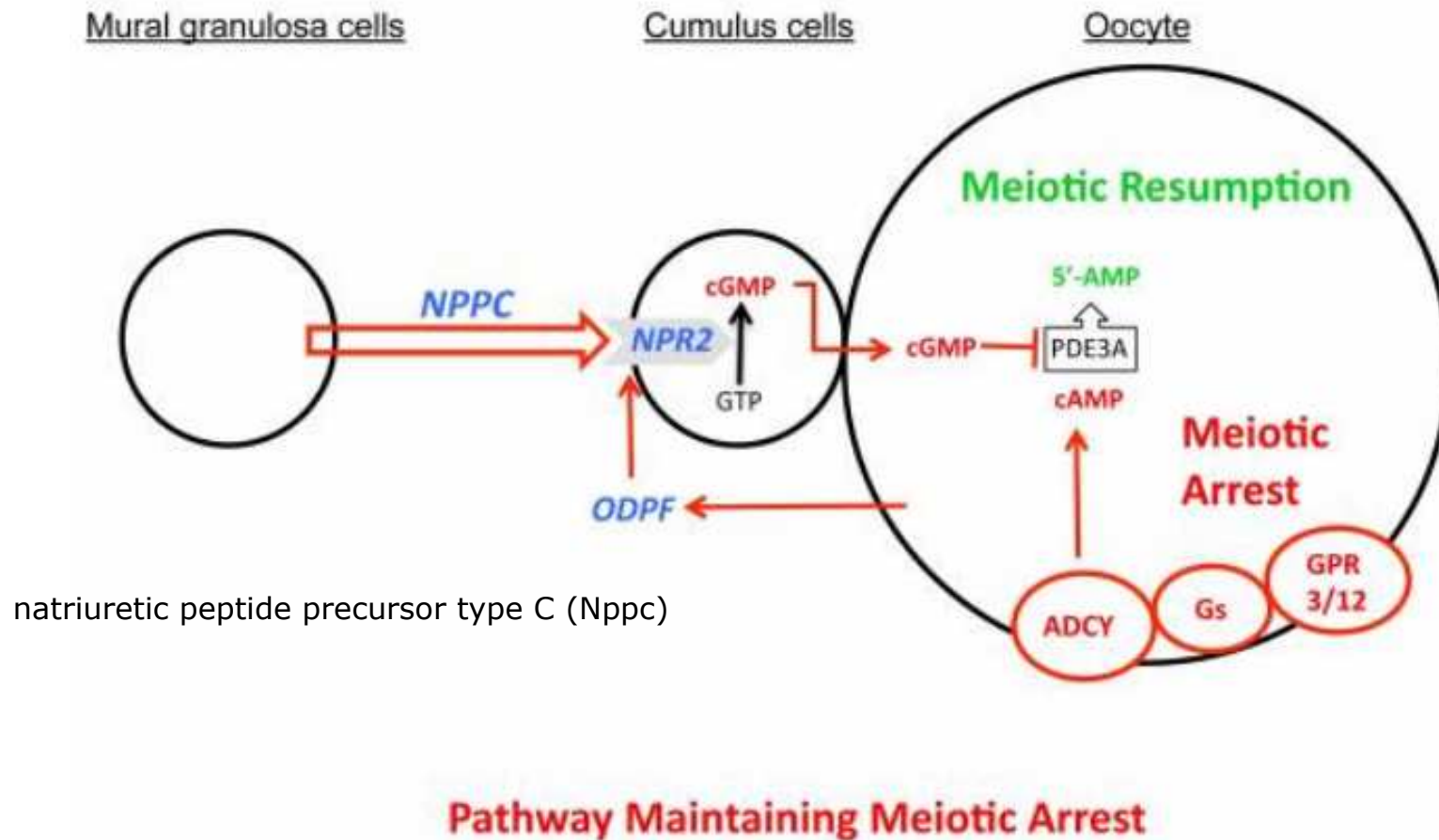
**REACTIVACION DE LA MEIOSIS (3-4 HORAS ANTES DE LA OVULACION)
Y DETENCIÓN EN METAFASE II**

SINTESIS DE GLICOSAMINOGLICANOS POR LAS CC LLEVA A LA EXPANSION DE ESTAS CELULAS

Complejo Cúmulo-Corona-Ovocito. Reactivación de la meiosis

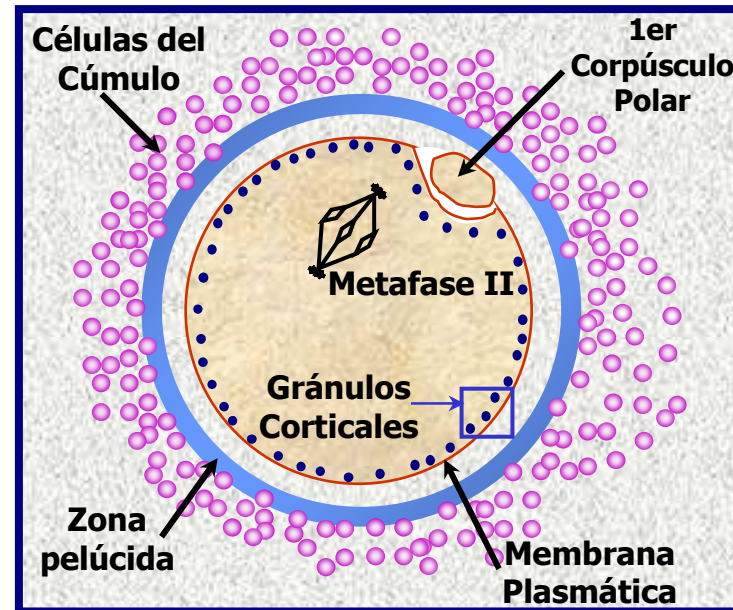


En ratonas, la mantención del ovocito en Dictioteno depende de la producción de cGMP en las células de la granulosa del cúmulo, mediante la acción de un factor producido por las células de la granulosa murales. Factores paracrinos derivados del ovocito I (ODFP) también contribuyen.



natriuretic peptide precursor type C (Nppc)

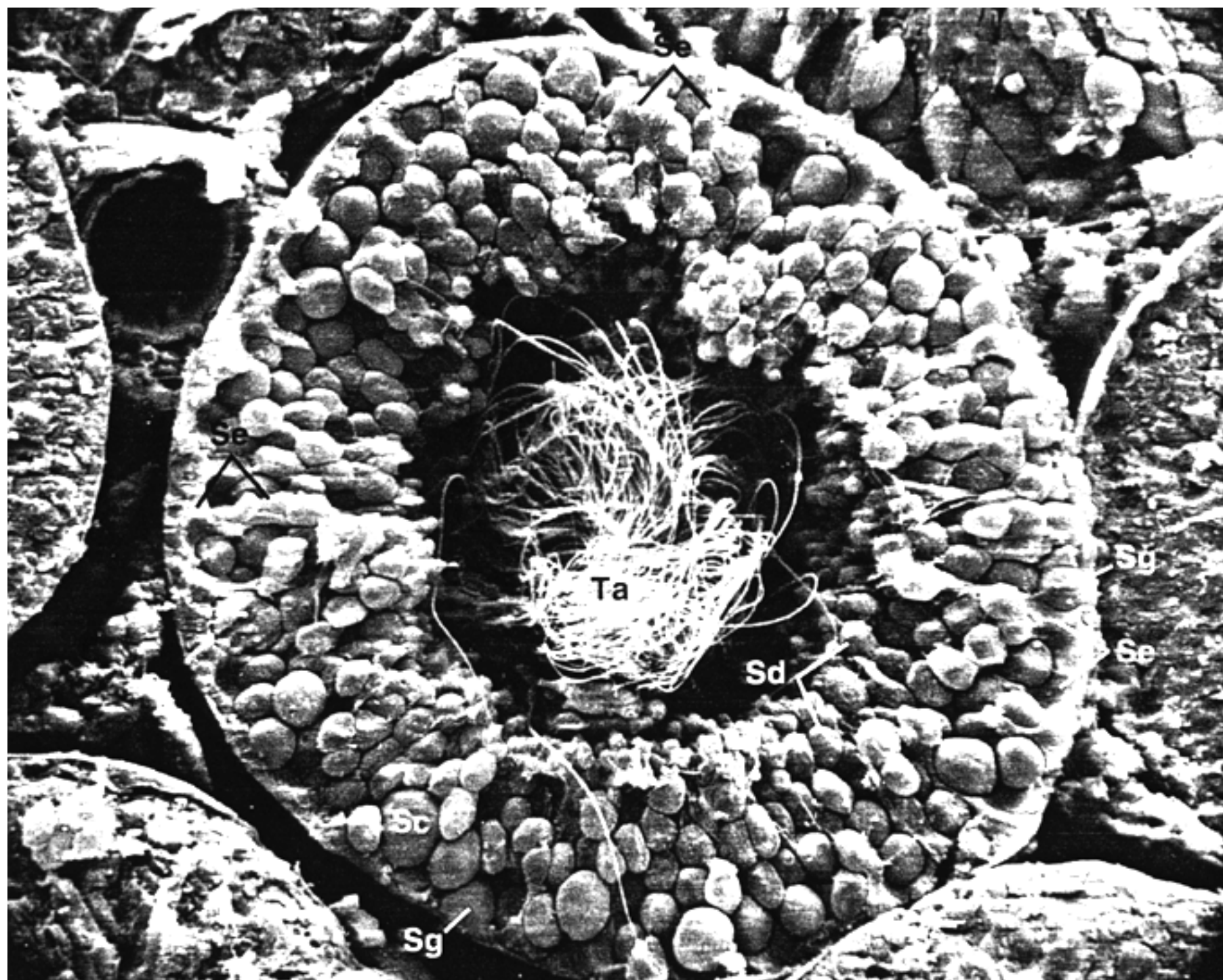
COMPLEJO CUMULO-OVOCITO



- **Constitución cromosómica** : **23, X**
- **Vida fértil** : **<24 hrs**
- **Número** : **1/ciclo/mes**

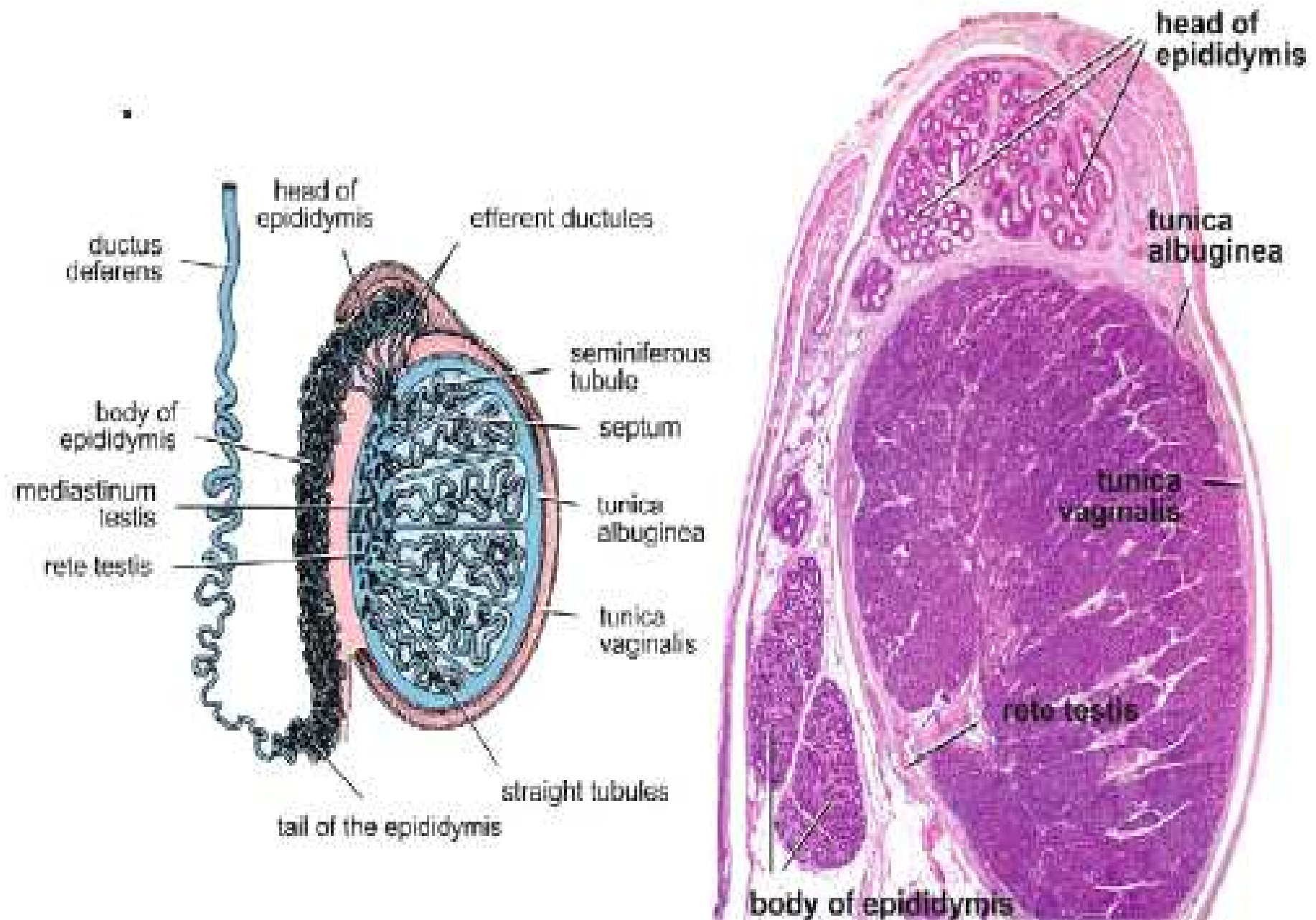
Metafase II



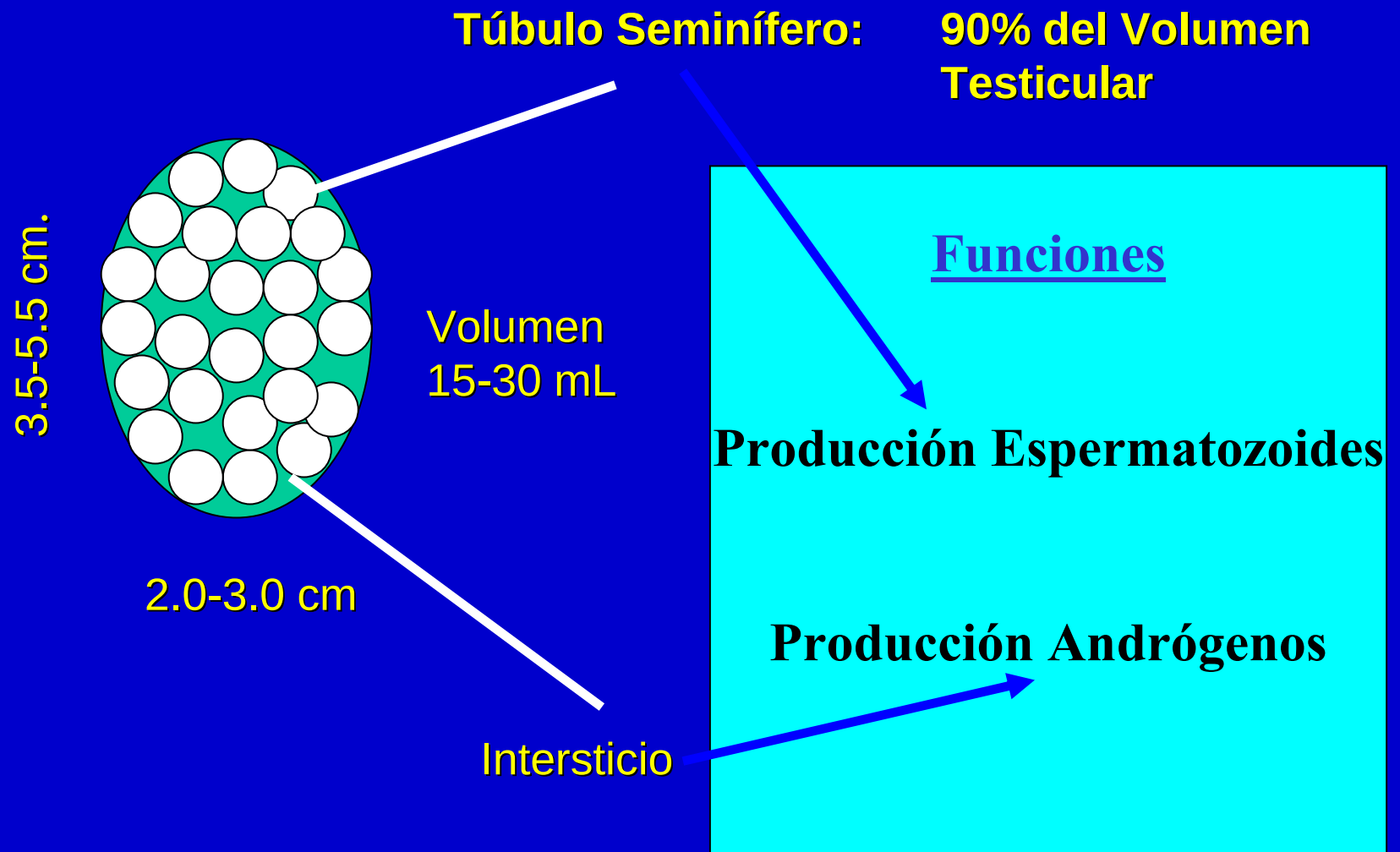


ESPERMATOGENESIS

Proceso altamente ordenado que comprende divisiones celulares múltiples y procesos de diferenciación complejos en donde las espermatogonias dan origen a los espermatozoides.

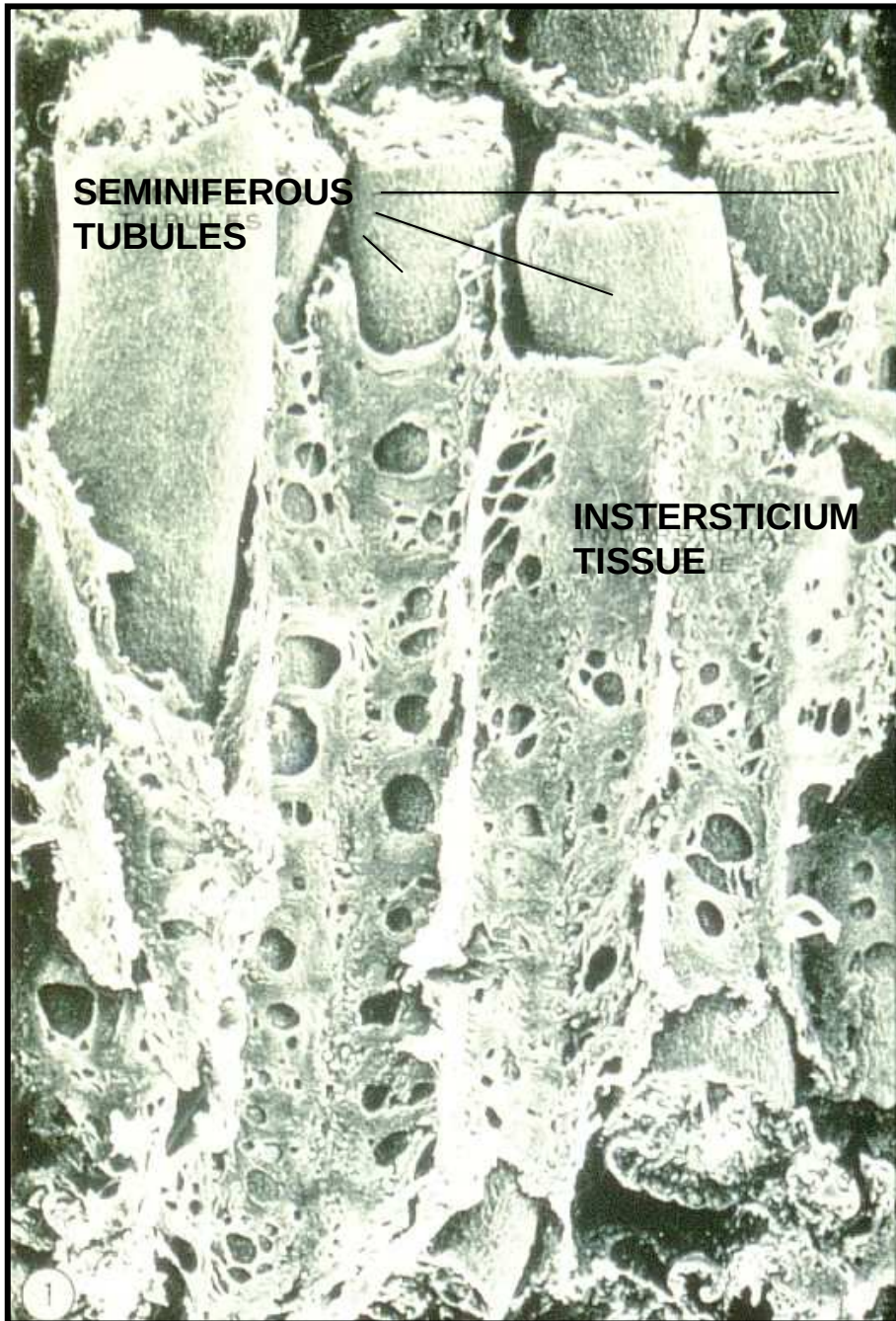


250 lóbulos/testículo; 1-4 túbulos seminíferos/lóbulo; 30-80 cm= 75-800 m de túbulos seminíferos (150-250 μ m en diámetro).



TUBULO SEMINIFERO

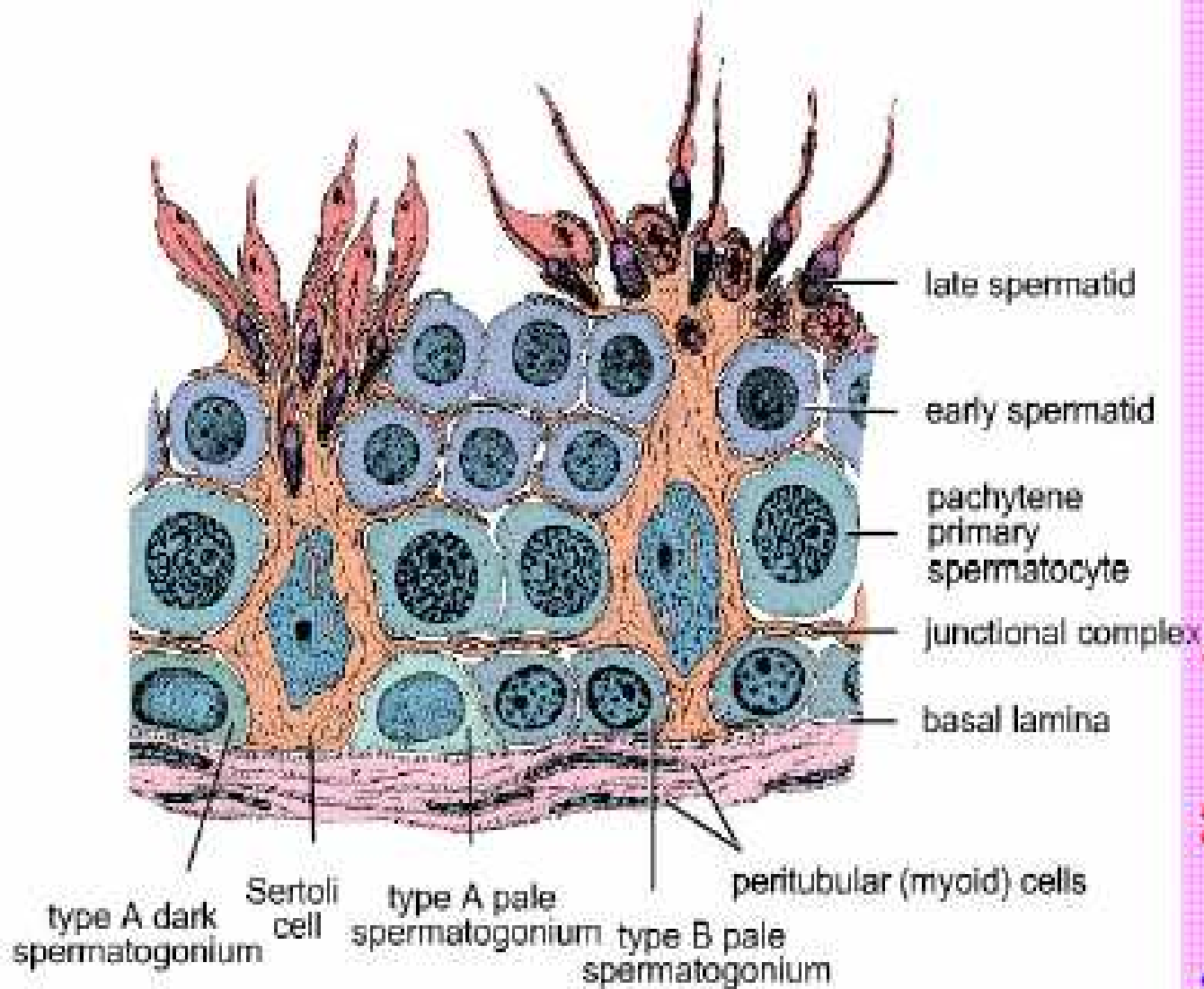
Compartimento histológico tubular del testículo que contiene células germinales en desarrollo, rodeadas por células de Sertoli, y donde ocurre la espermatogénesis y el transporte de los espermatozoides



TUBULOS SEMINIFEROS

MICROSCOPIA DE BARRIDO

Spermatogenesis



Spermatogonic cells

Spermatogonia

Type Ad

mitosis ↓

Type Ap

mitosis ↓

Type B

mitosis ↓

1' spermatocyte

1st meiosis ↓

2' spermatocytes

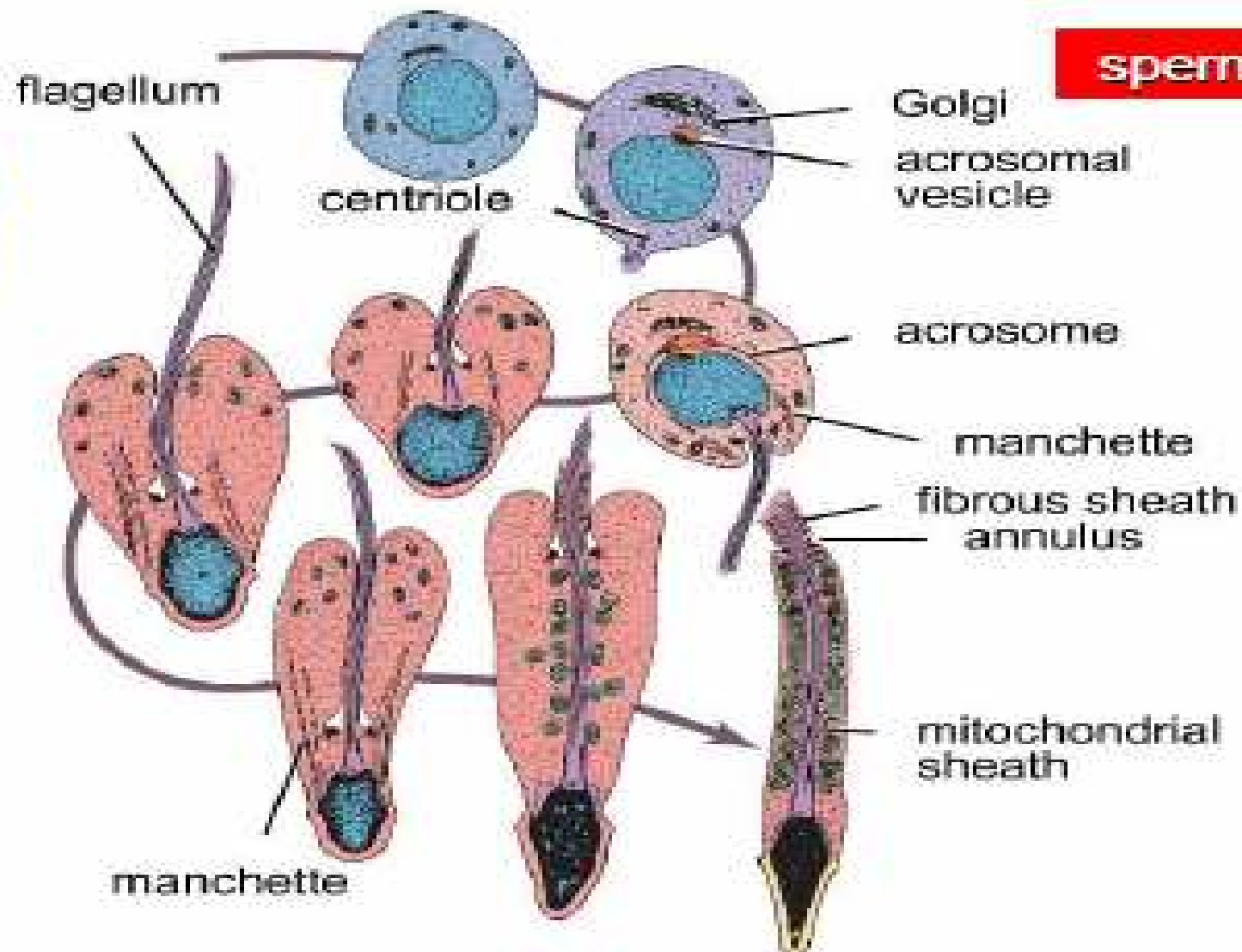
2nd meiosis ↓

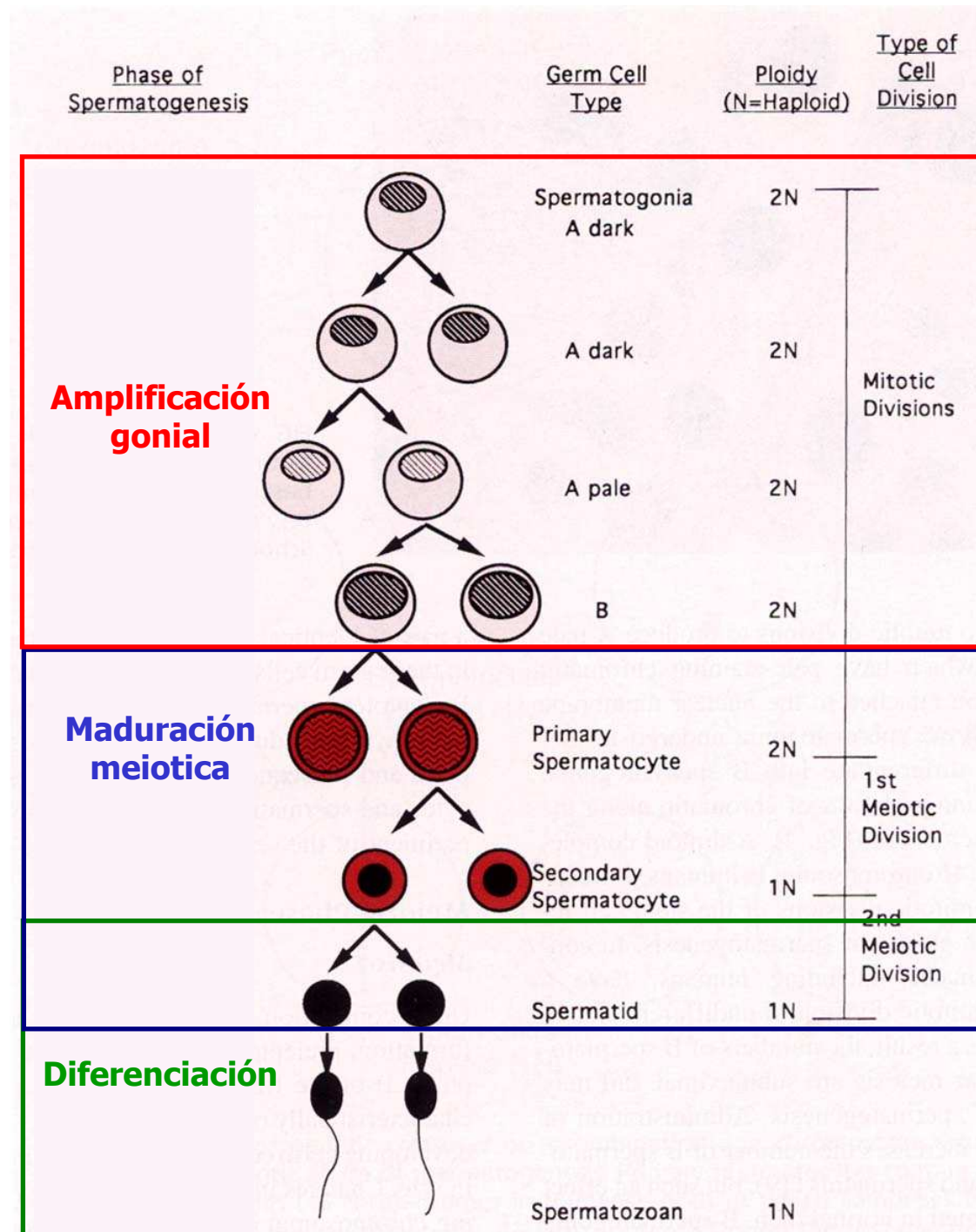
Spermatid

spermiogenesis ↓

Spermatozoa

spermiogenesis





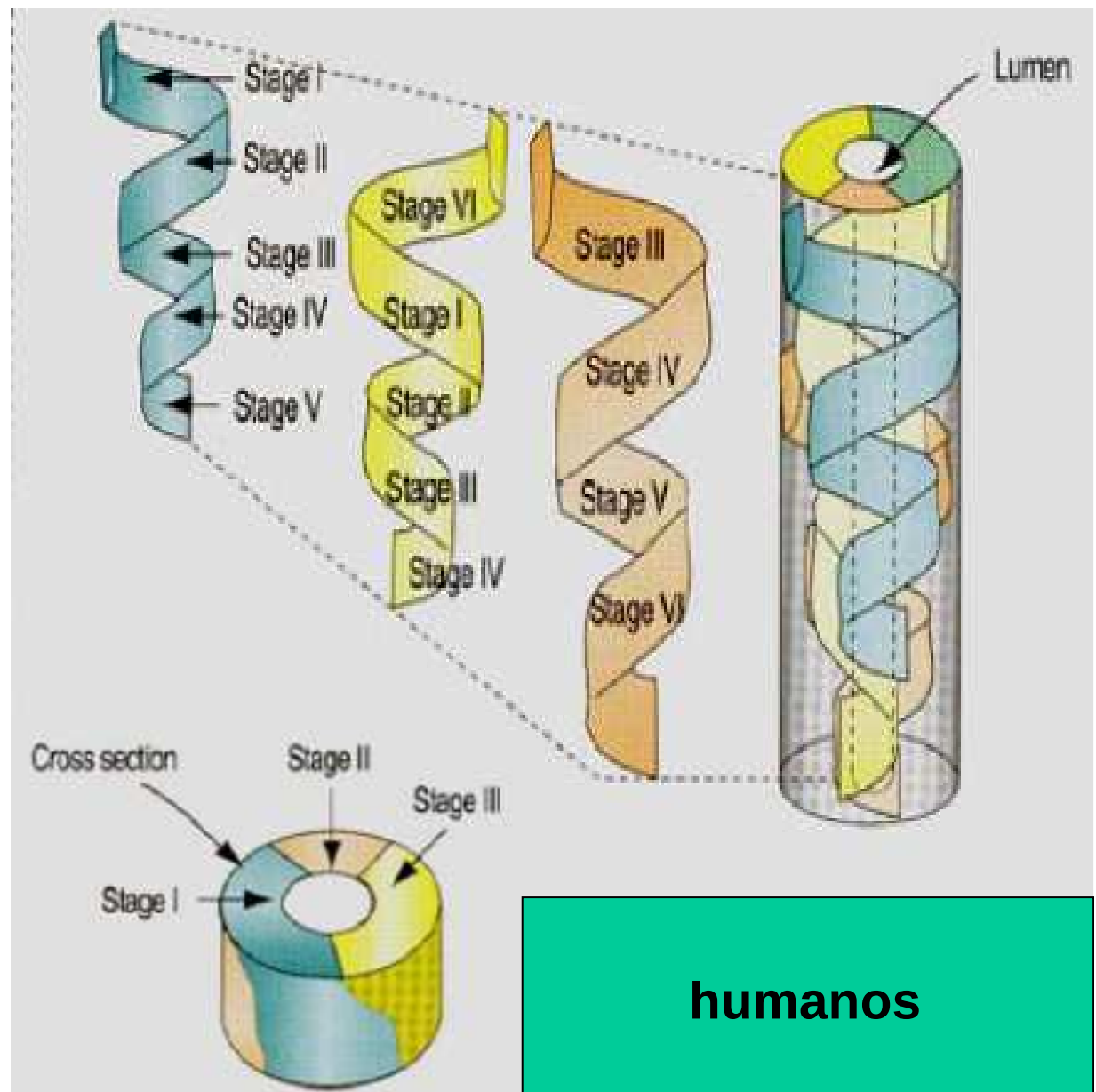
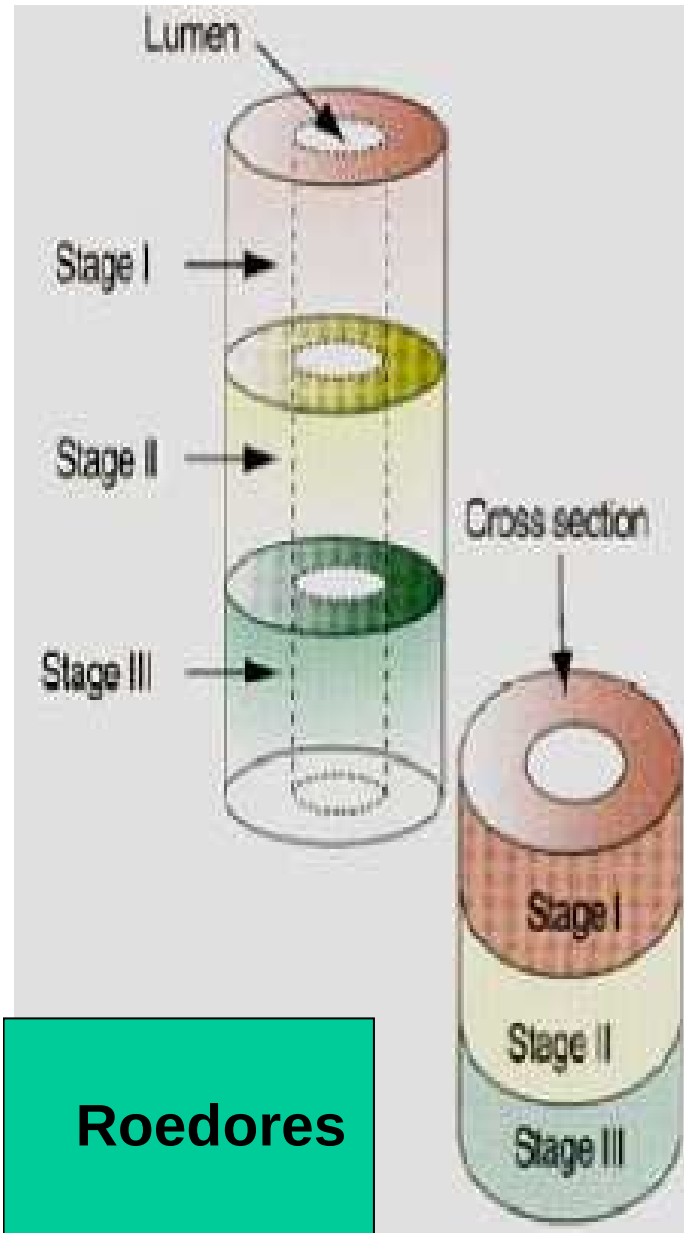
CICLOS DEL EPITELIO SEMINIFERO

Asociación celular o estado: es una asociación constante de distintas células germinales que se designan por un número romano:

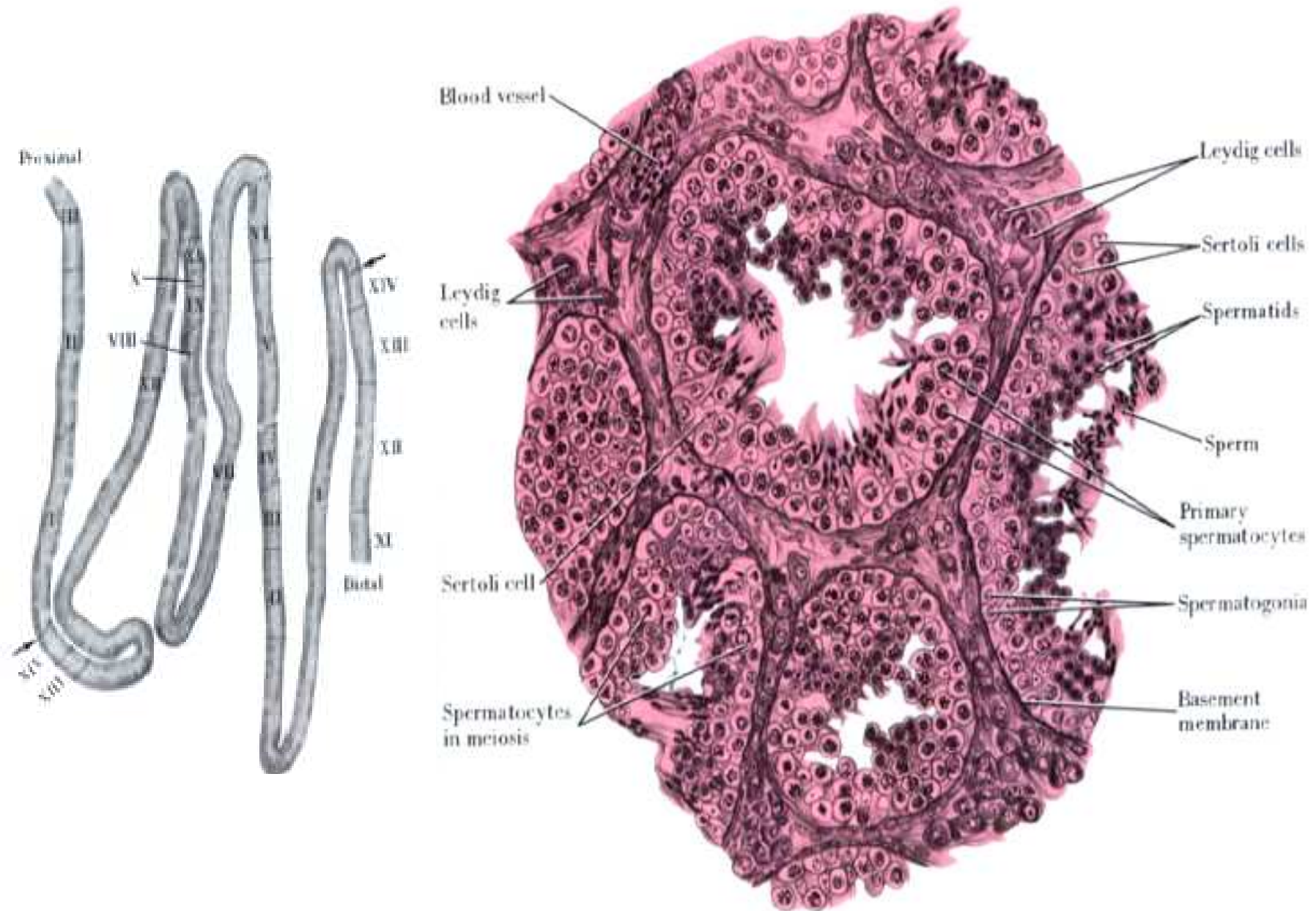
Ciclo: es la serie de las diferentes asociaciones celulares o estados

Duración de la espermatogénesis: tiempo necesario para que se produzcan espermatozoides a partir de una espermatogonia (más de un ciclo)

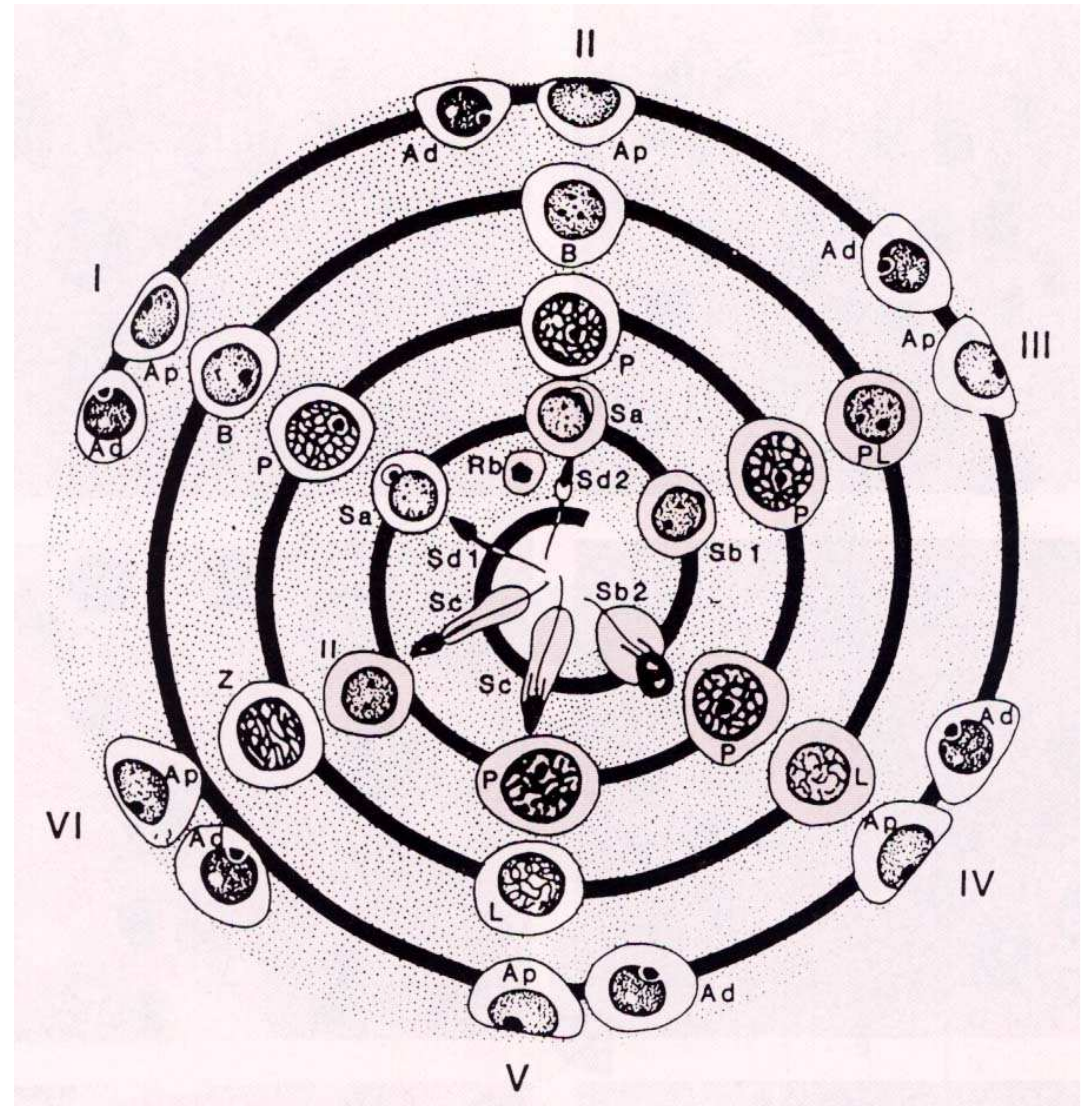
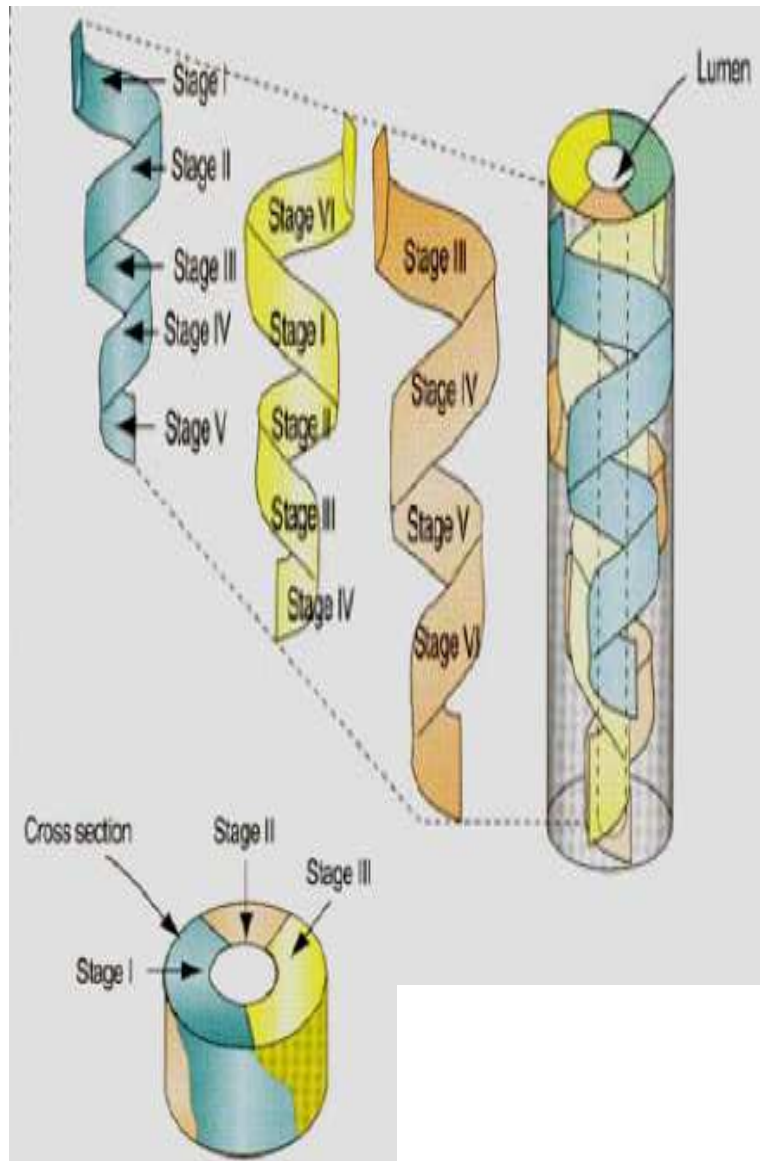
TIPOS DE ASOCIACIONES CELULARES EN TUBULOS SEMINIFEROS



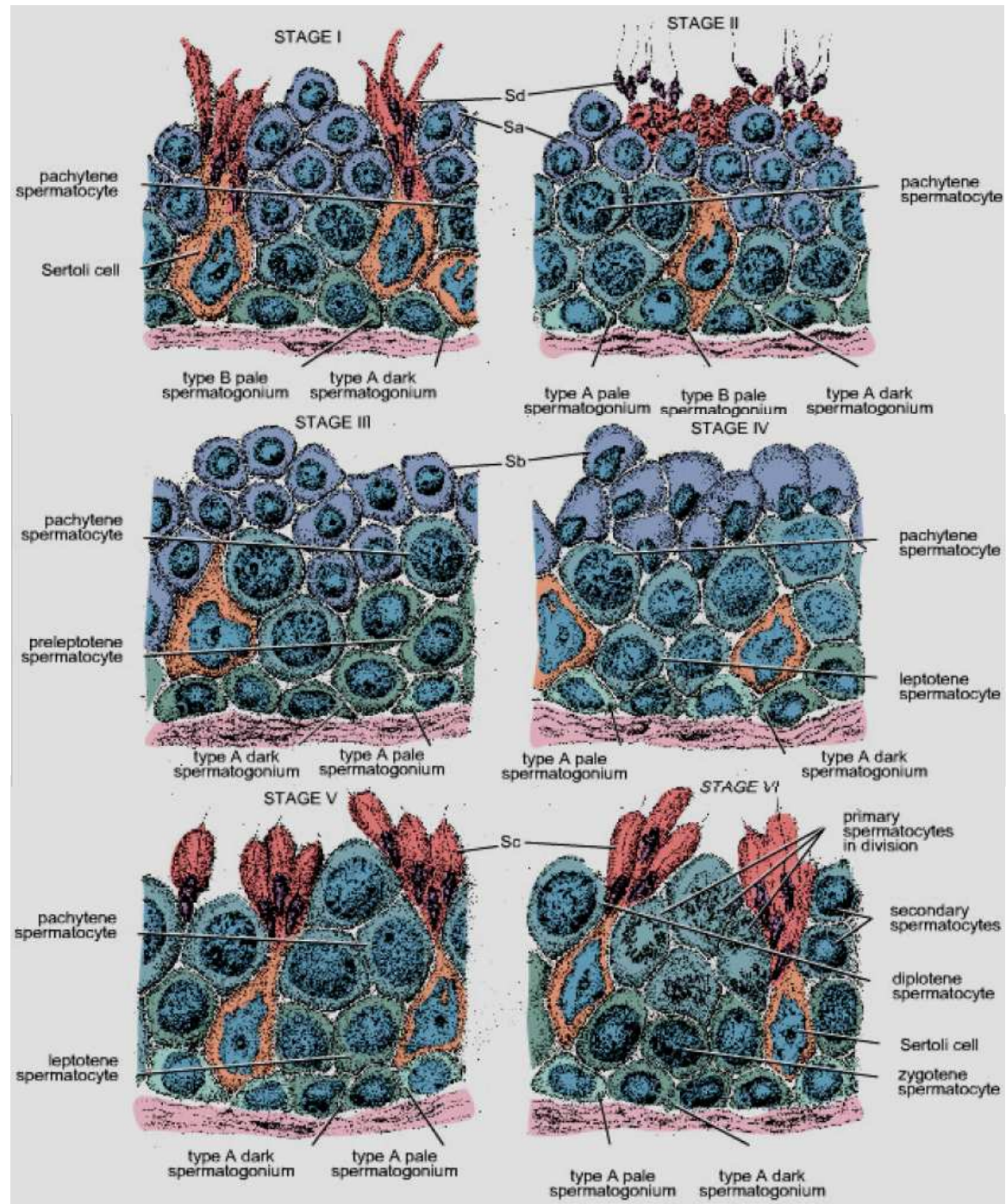
Túbulos seminíferos en corte transversal (rata)



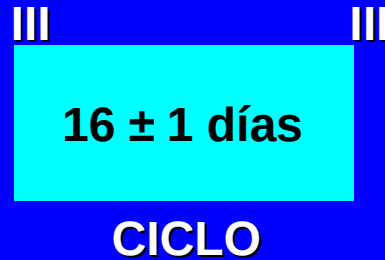
ASOCIACIONES CELULARES EN TESTICULO HUMANO



4.6 ciclos espermatogénicos

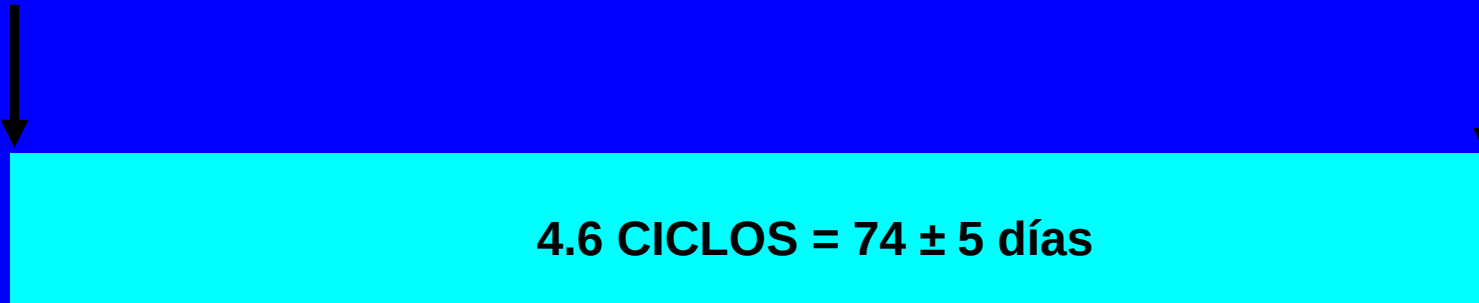


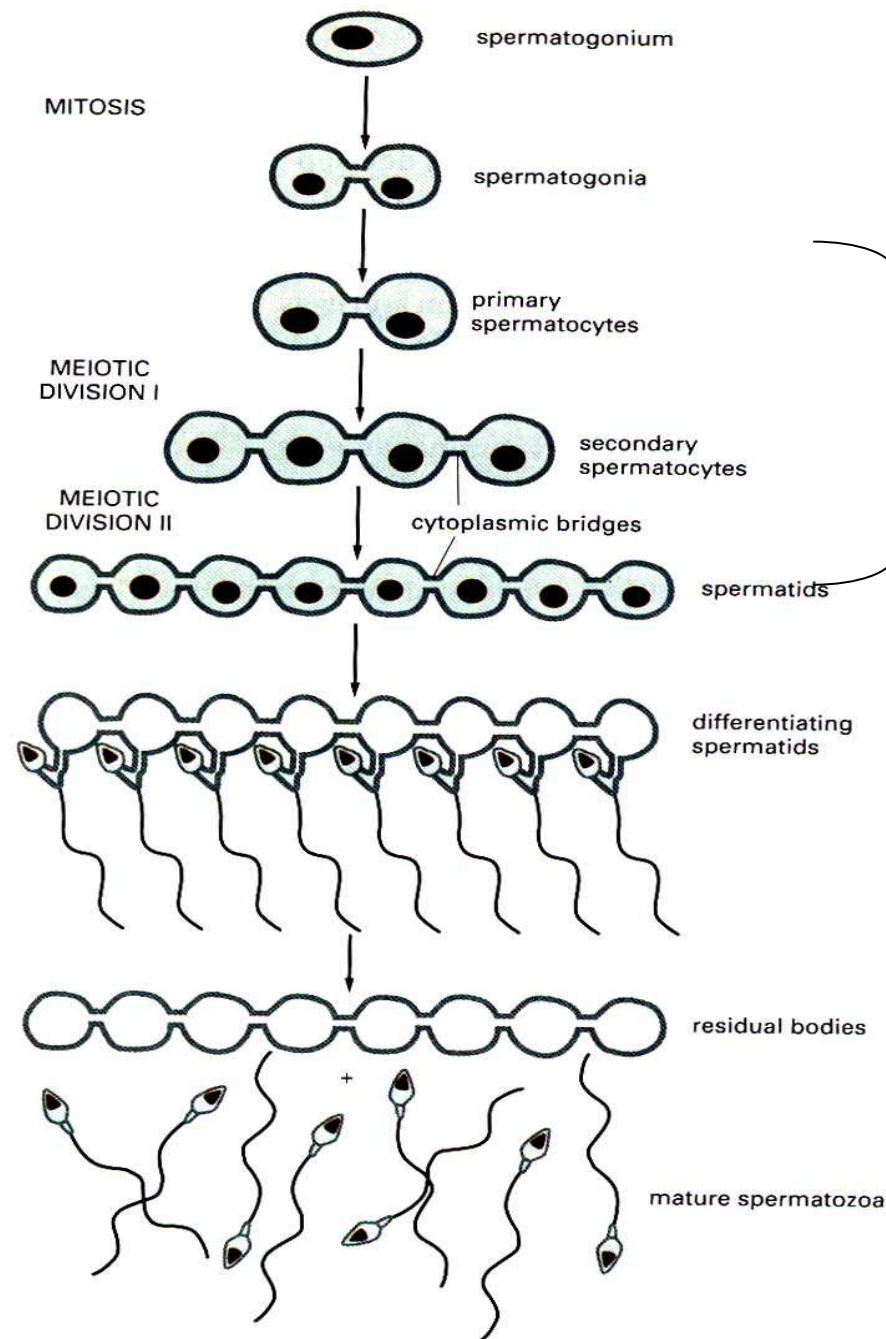
DURACION DEL PROCESO ESPERMATOGENICO HUMANO



Espermatogonia

Espermatozoide





**Meiosis
24 días**

**Espermatogénesis
74 ± 4 días**

SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS Y PROTEÍNAS DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS

PROLIFERACIÓN GONIAL

Síntesis de DNA hasta pre-leptoteno (sin G2)

Síntesis de RNA y proteínas

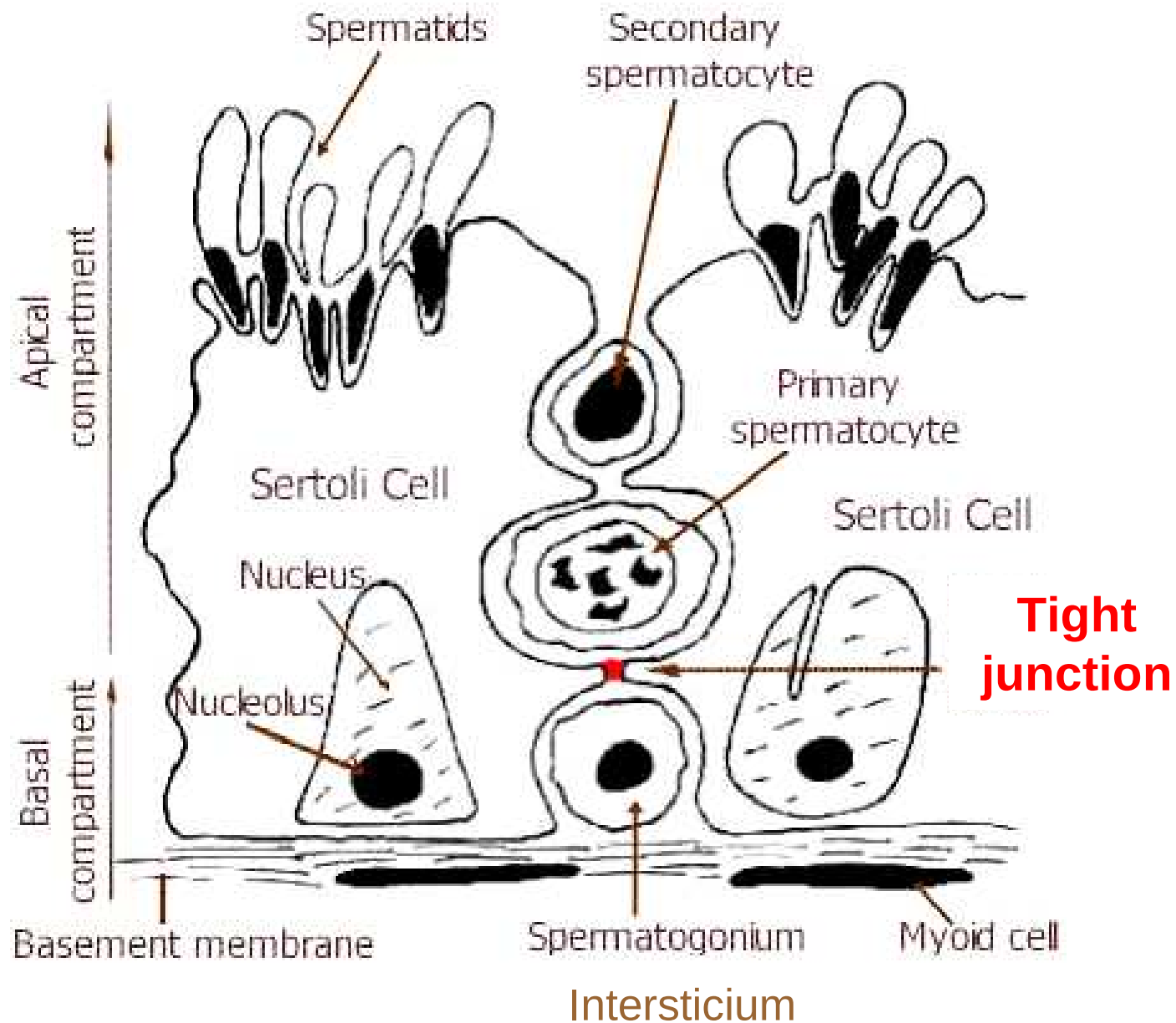
MEIOSIS

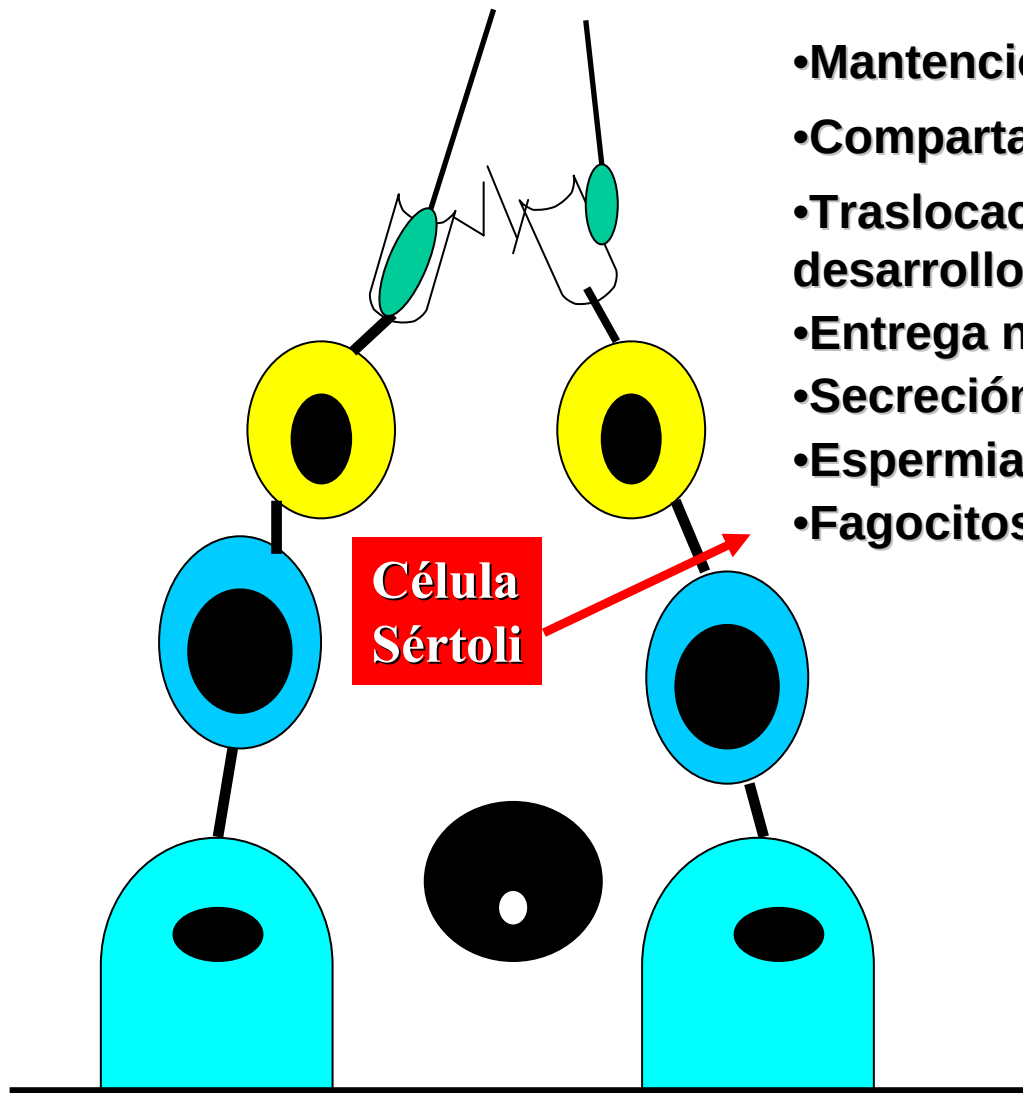
Síntesis de RNA (más activa en paquitenio, 12 días)

ESPERMIOGÉNESIS

Activa síntesis de proteínas durante la espermiogénesis con RNAs estables sintetizados previamente (excepto RNA de protaminas en espermátidas redondas)

BARRERA HEMATO-TESTICULAR





- Mantenimiento de la estructura del Túbulo
- Compartimentalización del epitelio seminíf.
- Traslocación de células germinales en desarrollo
- Entrega nutrientes a las células germinales
- Secreción de proteínas
- Espermiación
- Fagocitosis

FUNCIÓN DE LA BARRERA HEMATO-TESTICULAR

- **Impide el paso de sustancias al compartimento adluminal del túbulo seminífero (moléculas grandes, hormonas esteroidales y iones)**
- **Previene la respuesta inmune (anticuerpos o células linfoides) por reconocimiento de antígenos específicos de espermátocitos y espermátidas.**
- **Genera dos compartimientos (basal y adluminal)**
- **En el compartimiento basal las espermatogonias son las únicas células accesibles a factores reguladores endocrinos y paracrinós provenientes desde el intersticio.**
- **En el compartimiento adluminal genera un microambiente necesario para la meiosis y la espermiogénesis.**

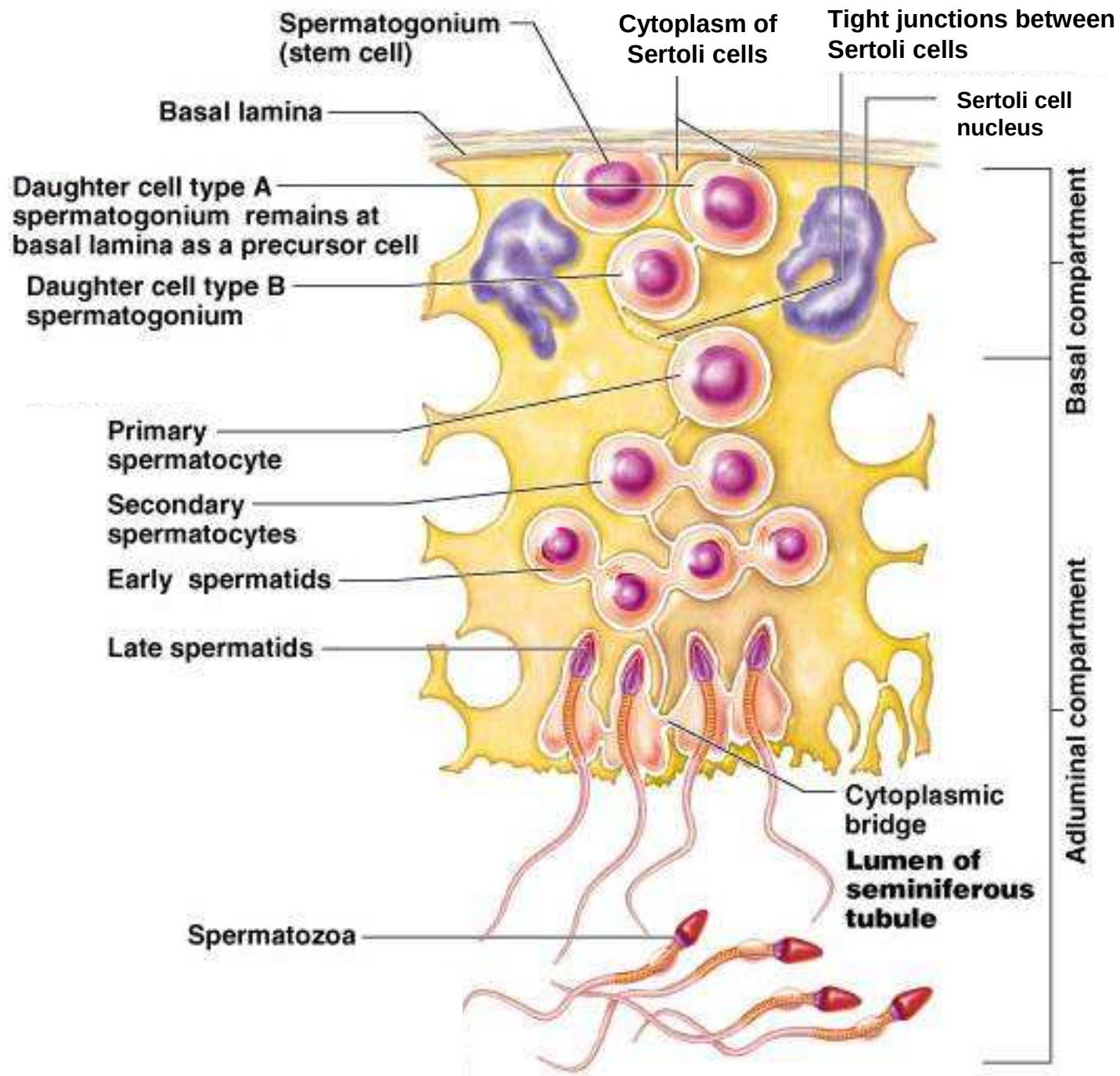
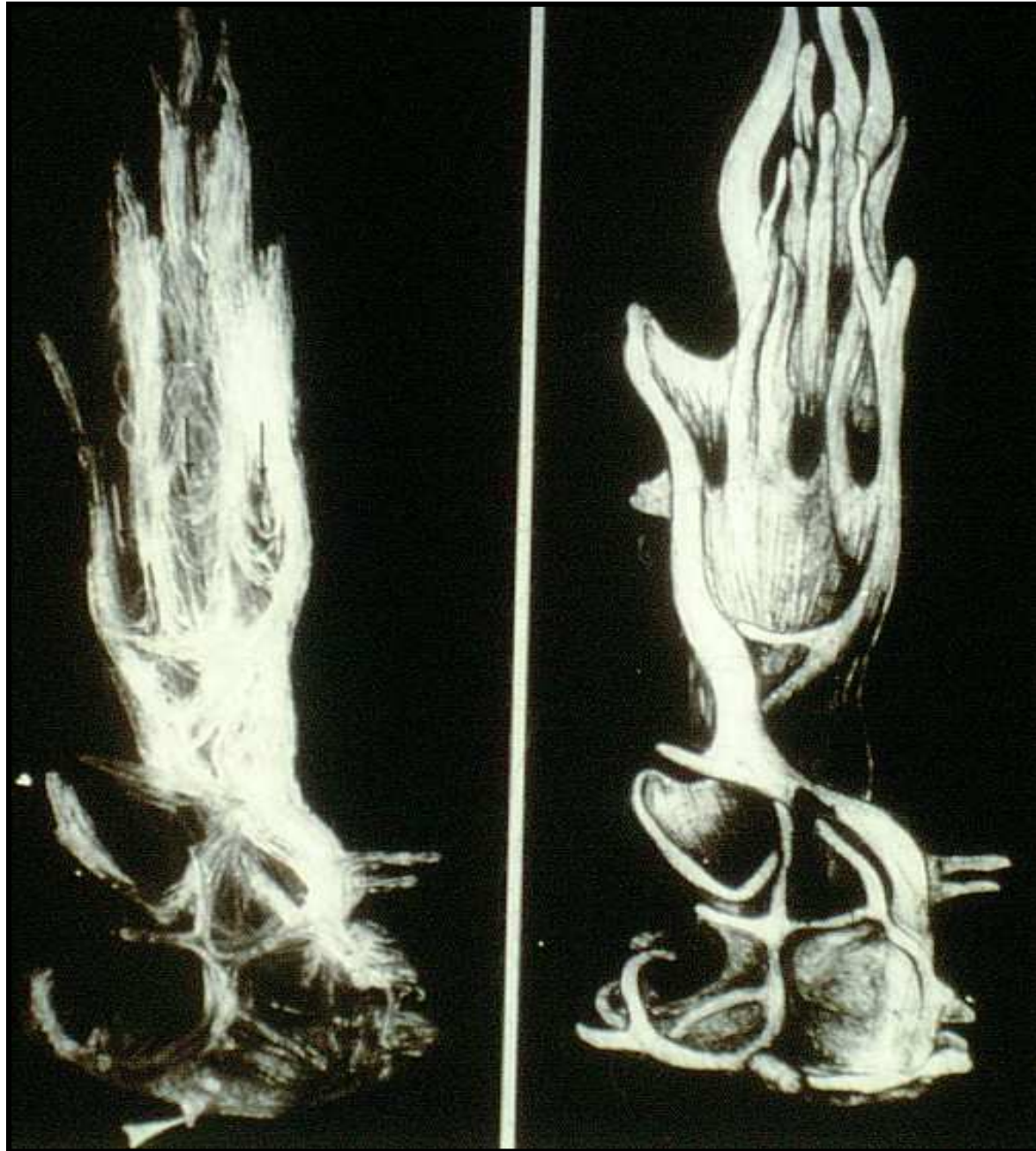
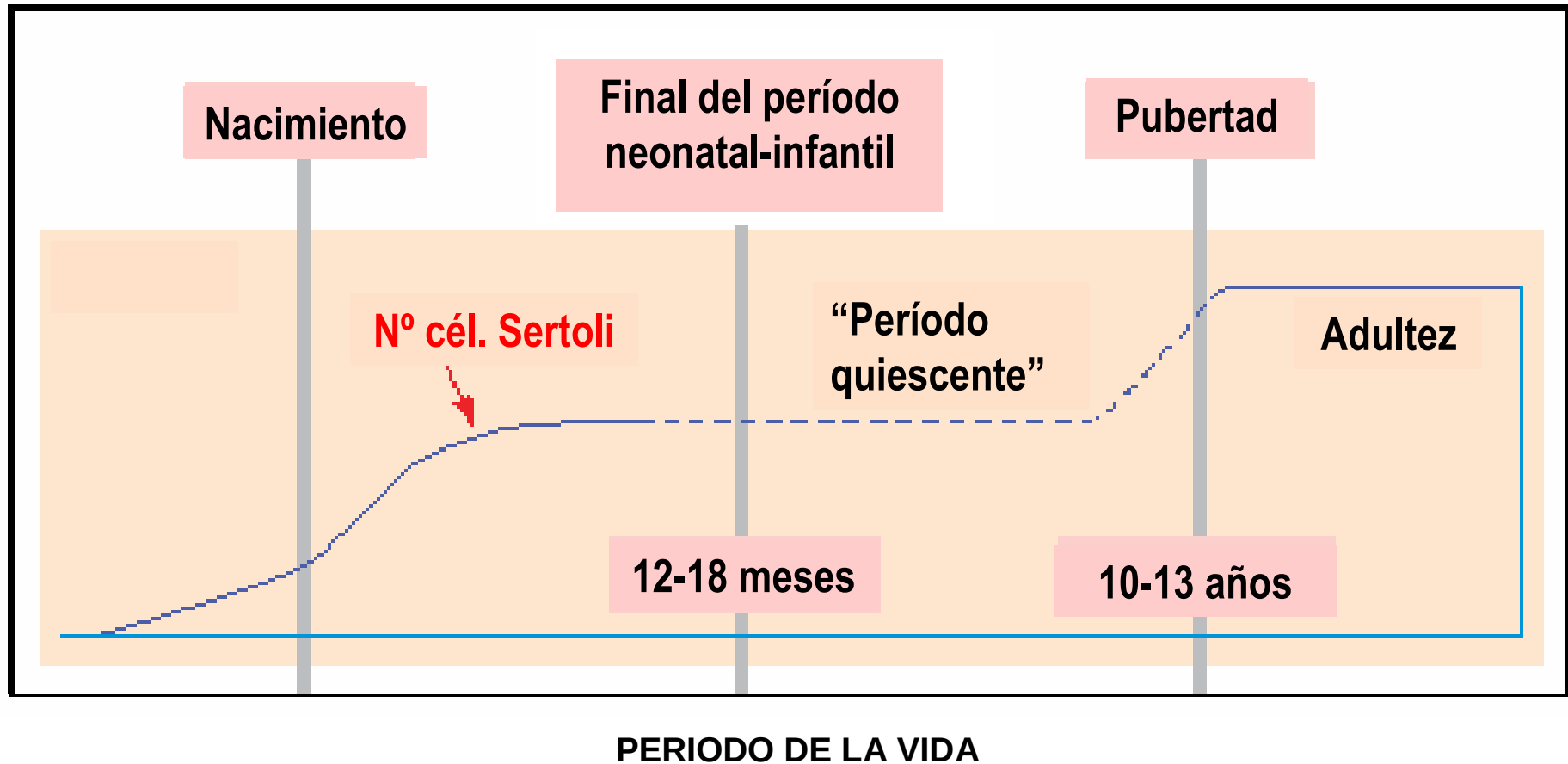


IMAGEN TRIDIMENSIONAL DE LA CELULA DE SERTOLI (1865)



**Durante la vida de un individuo,
¿Las células de Sertoli experimentan cambios?**

ETAPAS PROLIFERATIVAS DE LAS CELULAS DE SERTOLI



FUNCION DE LA PROLIFERACION DE LAS CELULAS DE SERTOLI

El número de células de Sertoli es determinante en la producción diaria de espermatozoides y en el volumen testicular.

Cada célula de Sertoli se asocia a un número limitado de células germinales (en la primera onda espermatogénica el número de células germinales se ajusta por apoptosis (muerte celular programada))

Su proliferación depende principalmente de testosterona y FSH

Maduración funcional de la célula de Sertoli:

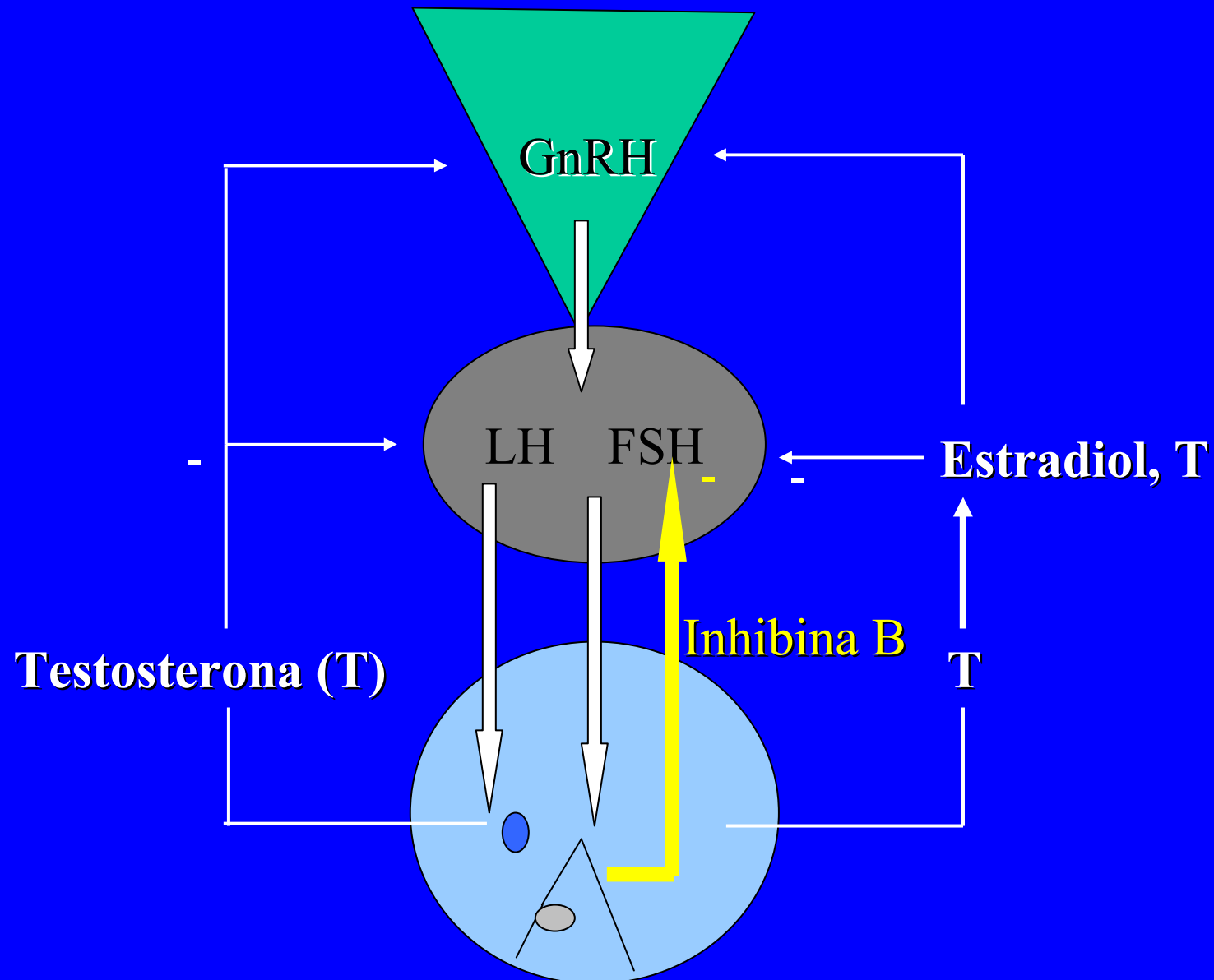
- se inicia en etapa puberal**
- implica pérdida de capacidad proliferativa**
- formación de uniones oclusivas (*tight junctions*)**
- expresión de funciones específicas**

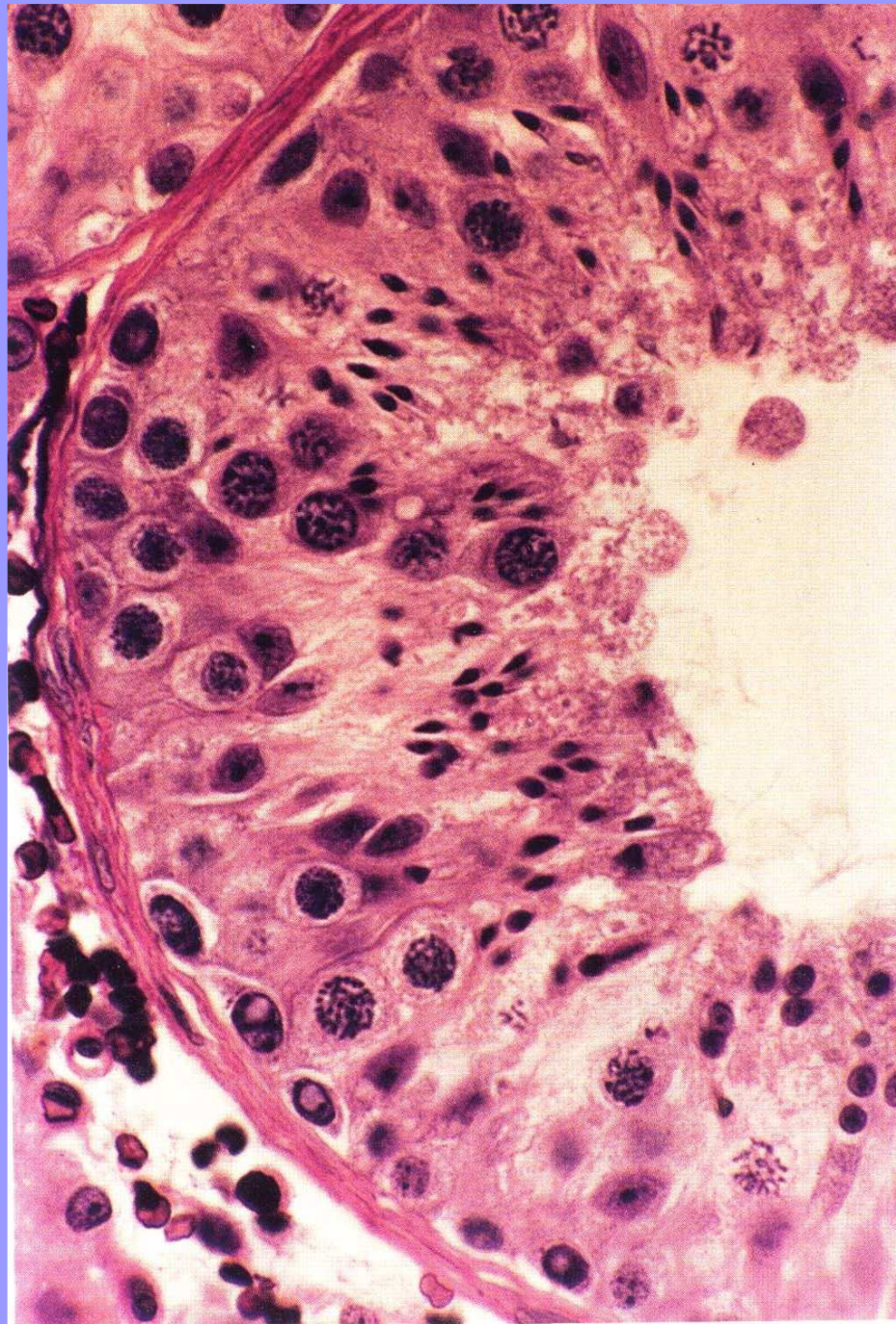
PRINCIPALES FUNCIONES DE LAS CELULAS DE SERTOLI

- **Estabilización de la estructura del túbulo**
- **Mantenimiento de la barrera hemato-testicular**
- **Secreción de fluido testicular (10-20 mL/gr tejido/hr)**
- **Secreción de inhibina B (proteína que inhibe la secreción de FSH)**
- **Secreción de una amplia variedad de otras proteínas (factores de crecimiento, transferrina)**
- **Mantenimiento y coordinación de la espermatogénesis**
- **Traslocación de células germinales en desarrollo**
- **Fagocitosis de cuerpos residuales luego de la espermiación**
- **Fagocitosis de células germinales apoptóticas**

Regulación hormonal de la espermatogénesis

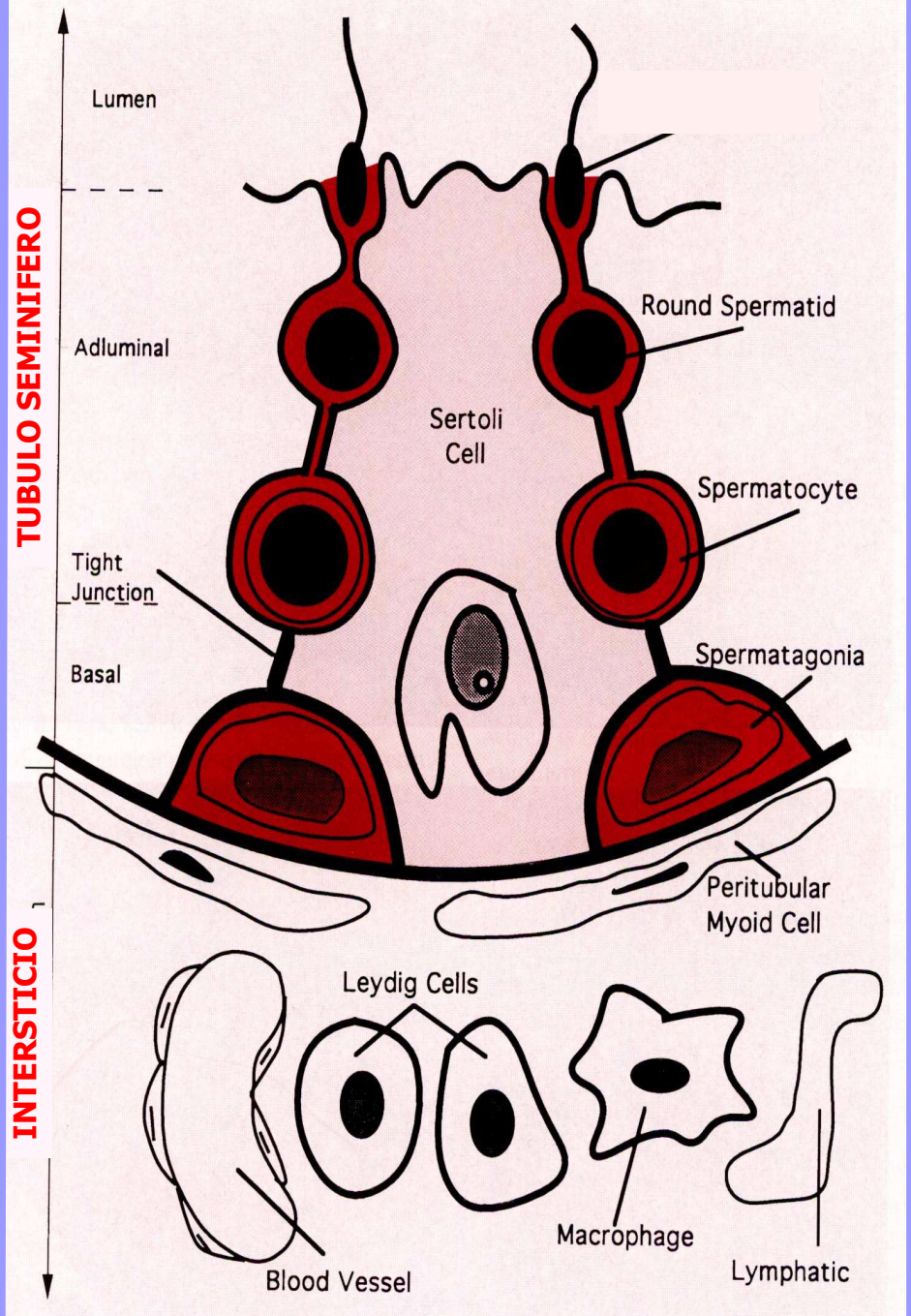
Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada

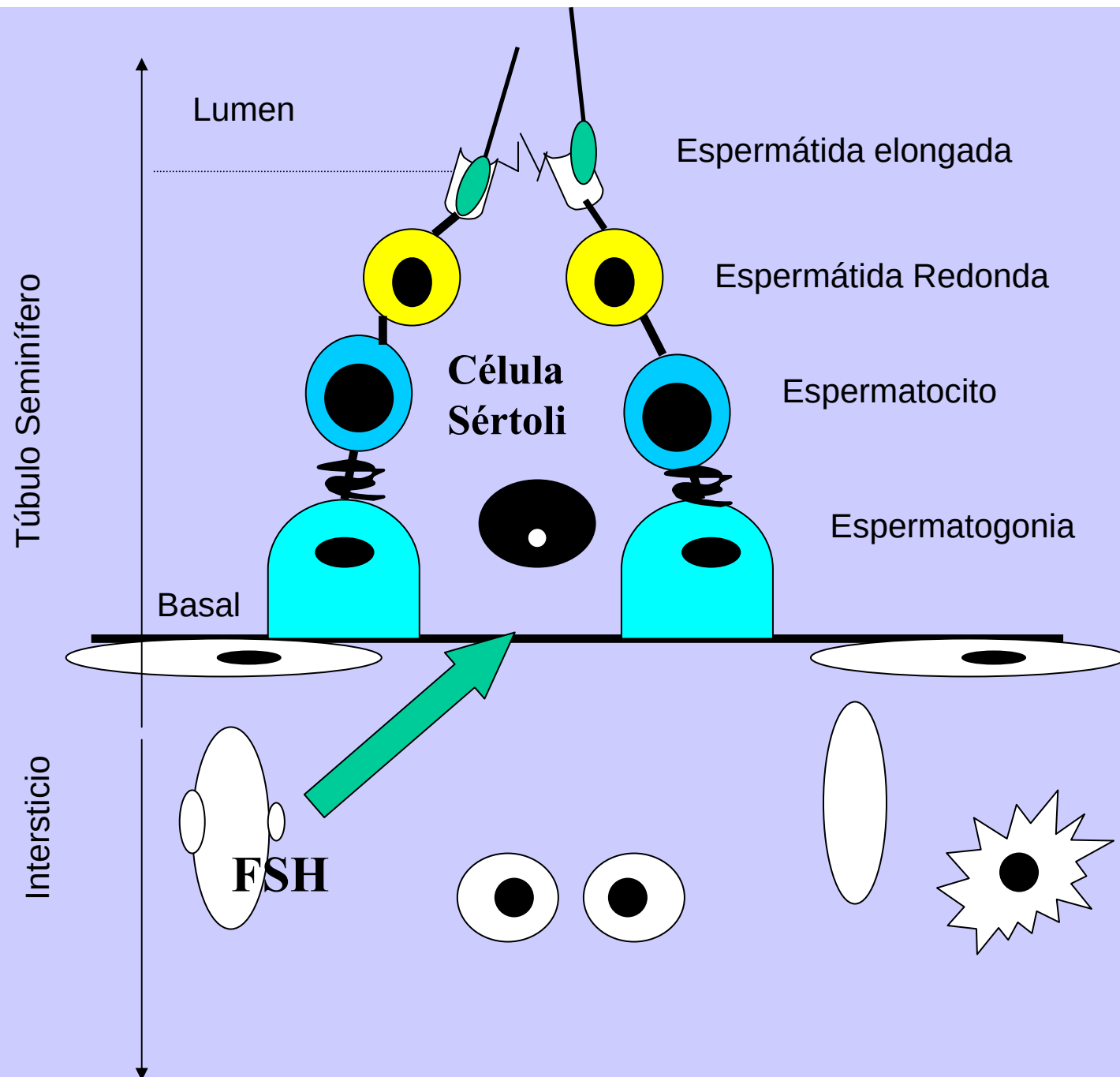


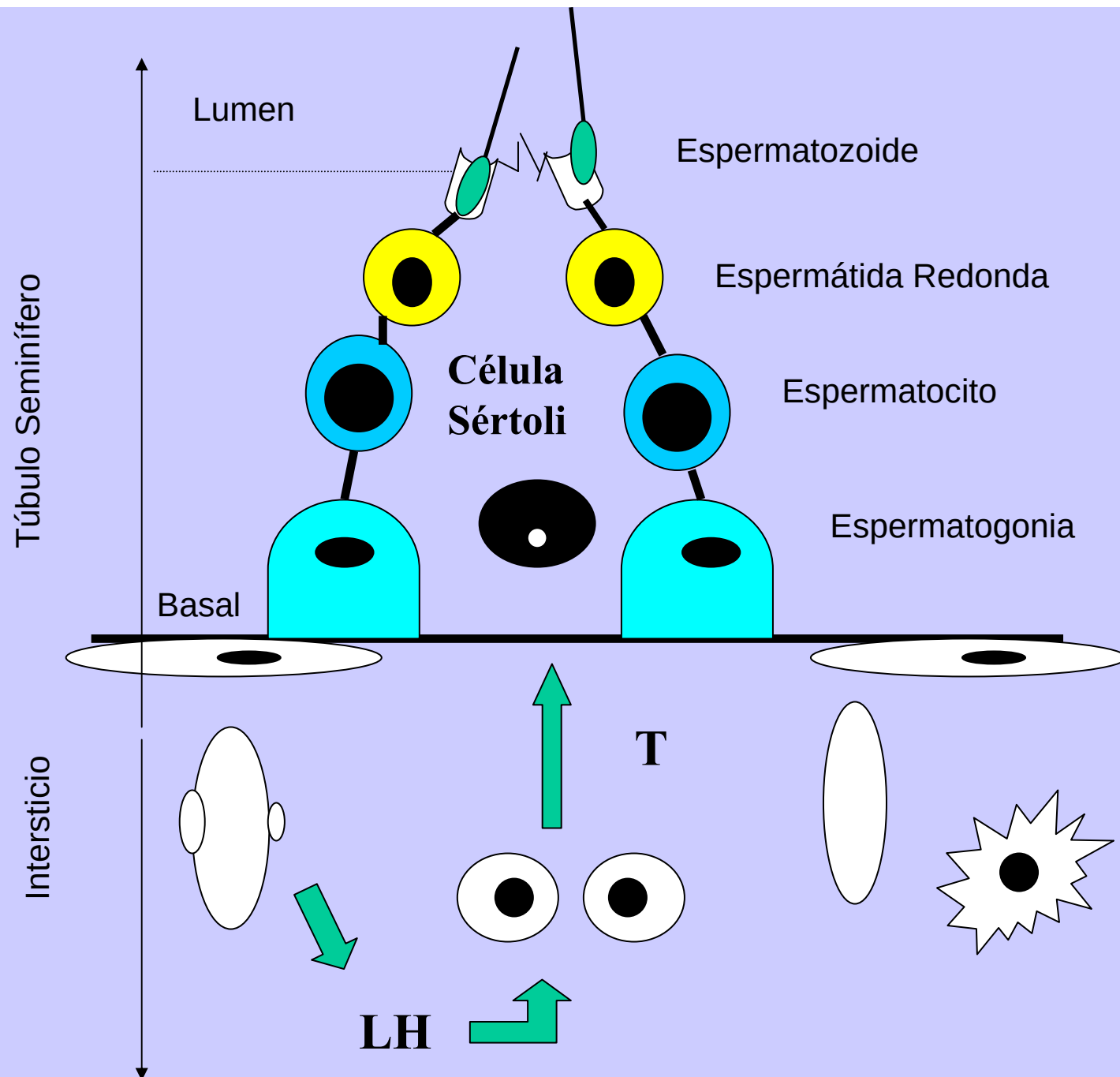


TUBULO SEMINIFERO

INTERSTICIO

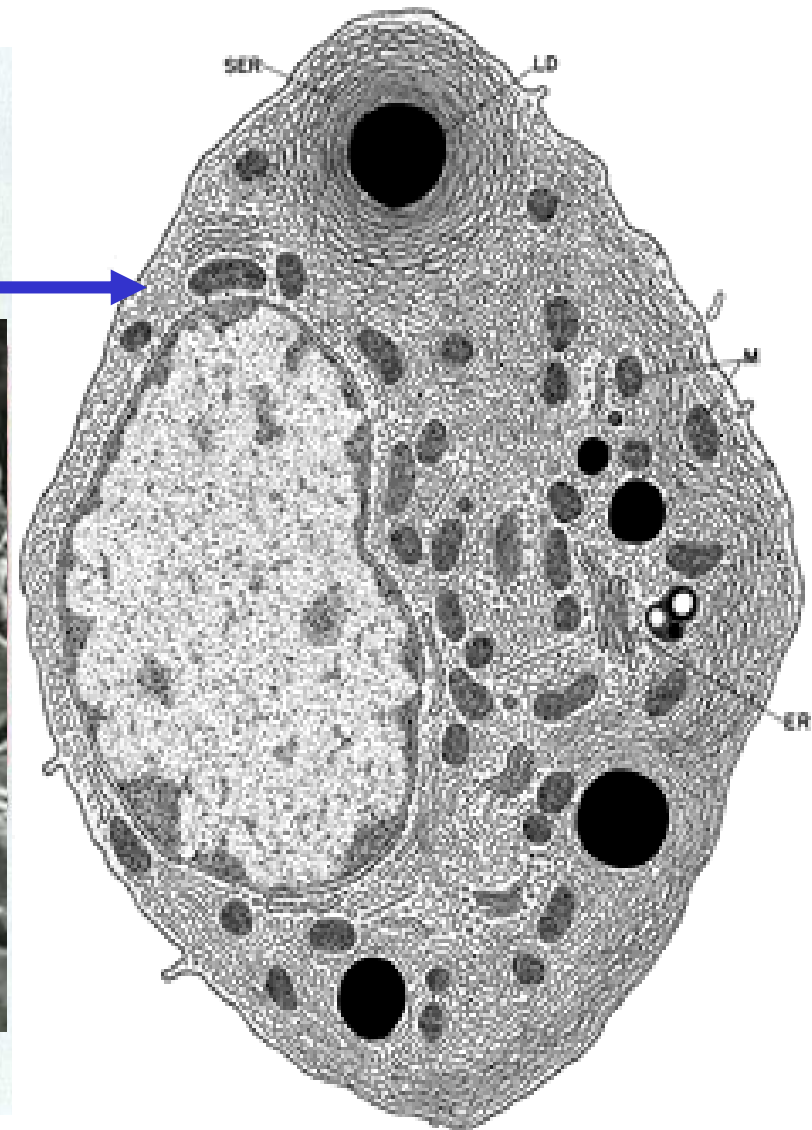
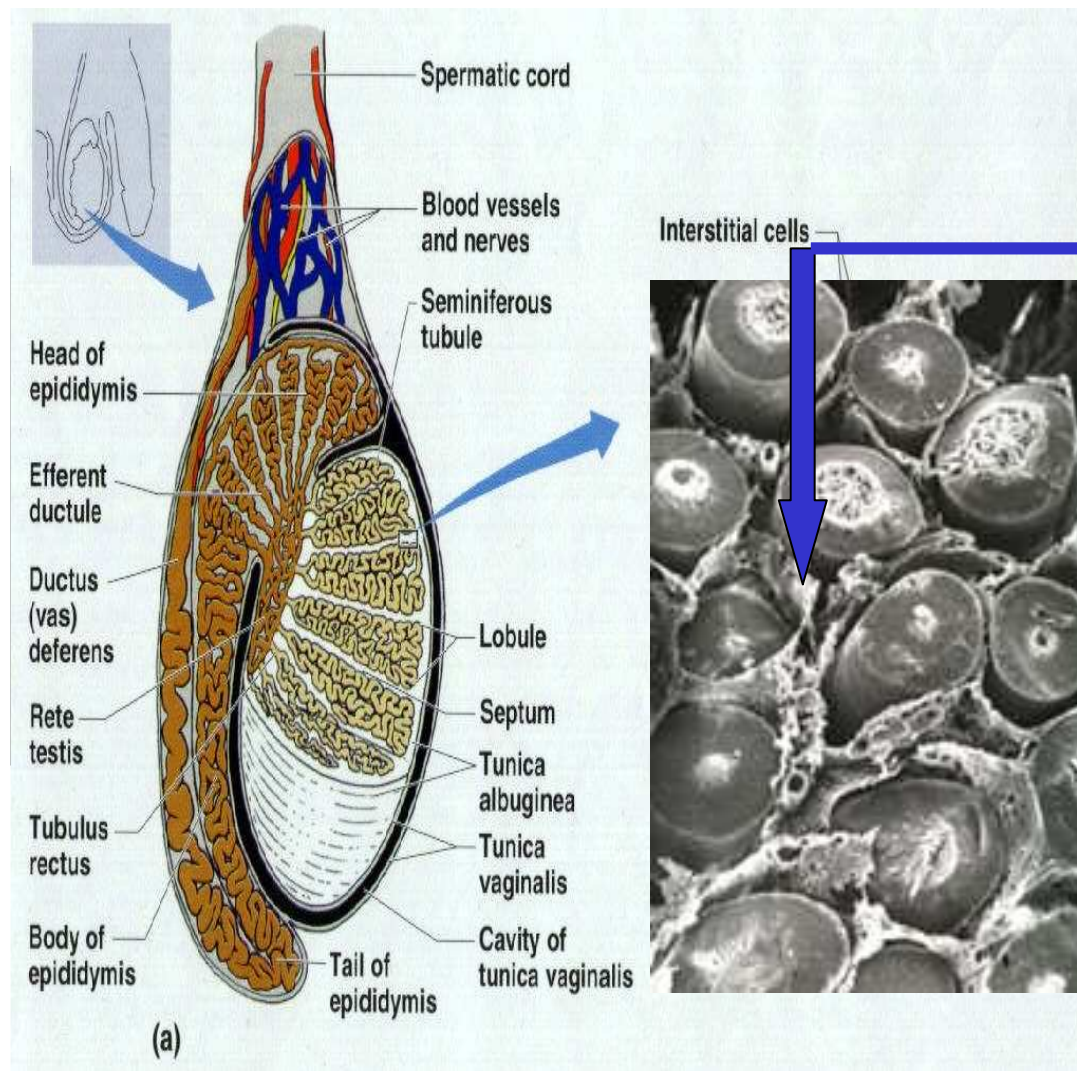






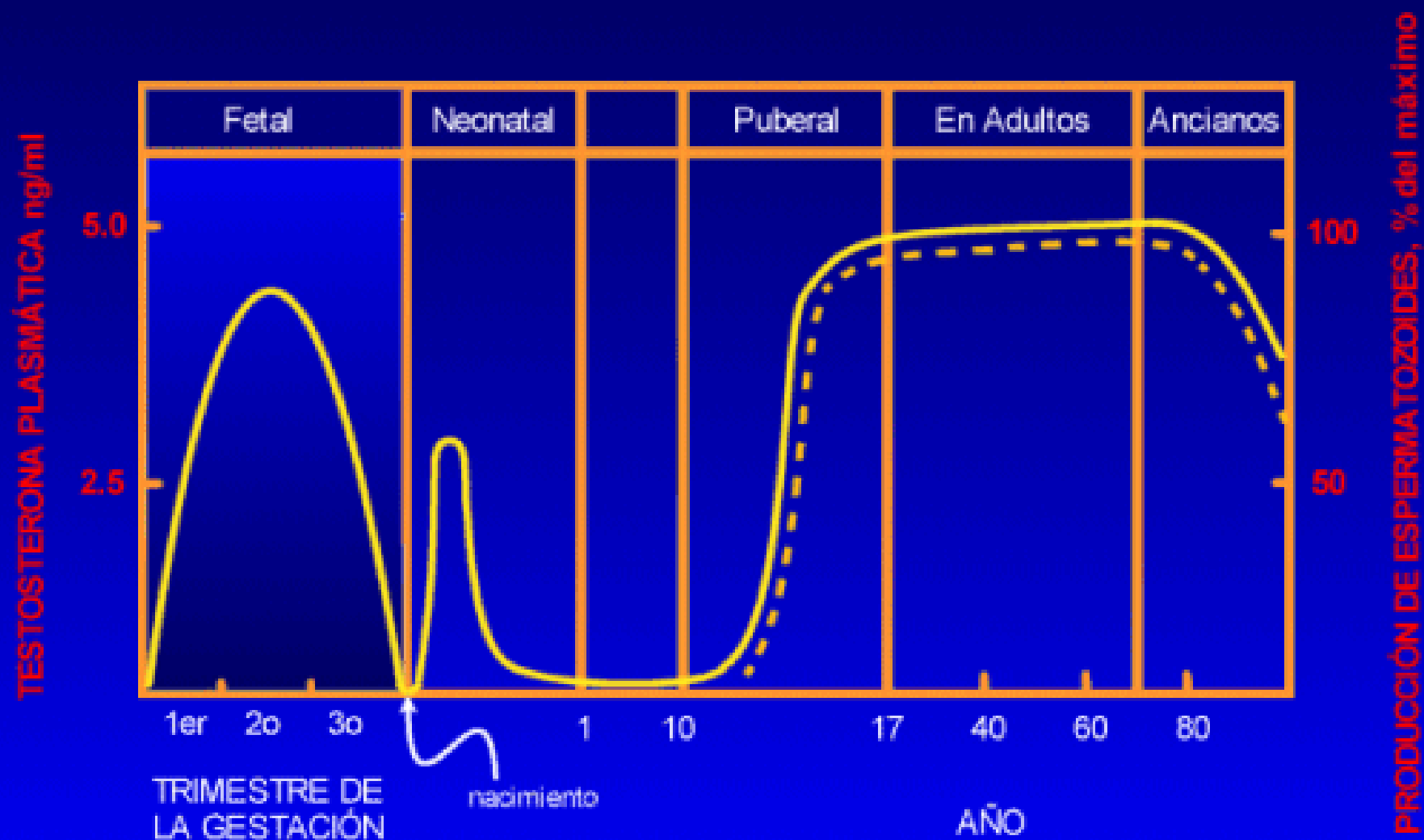
LOS ANDROGENOS

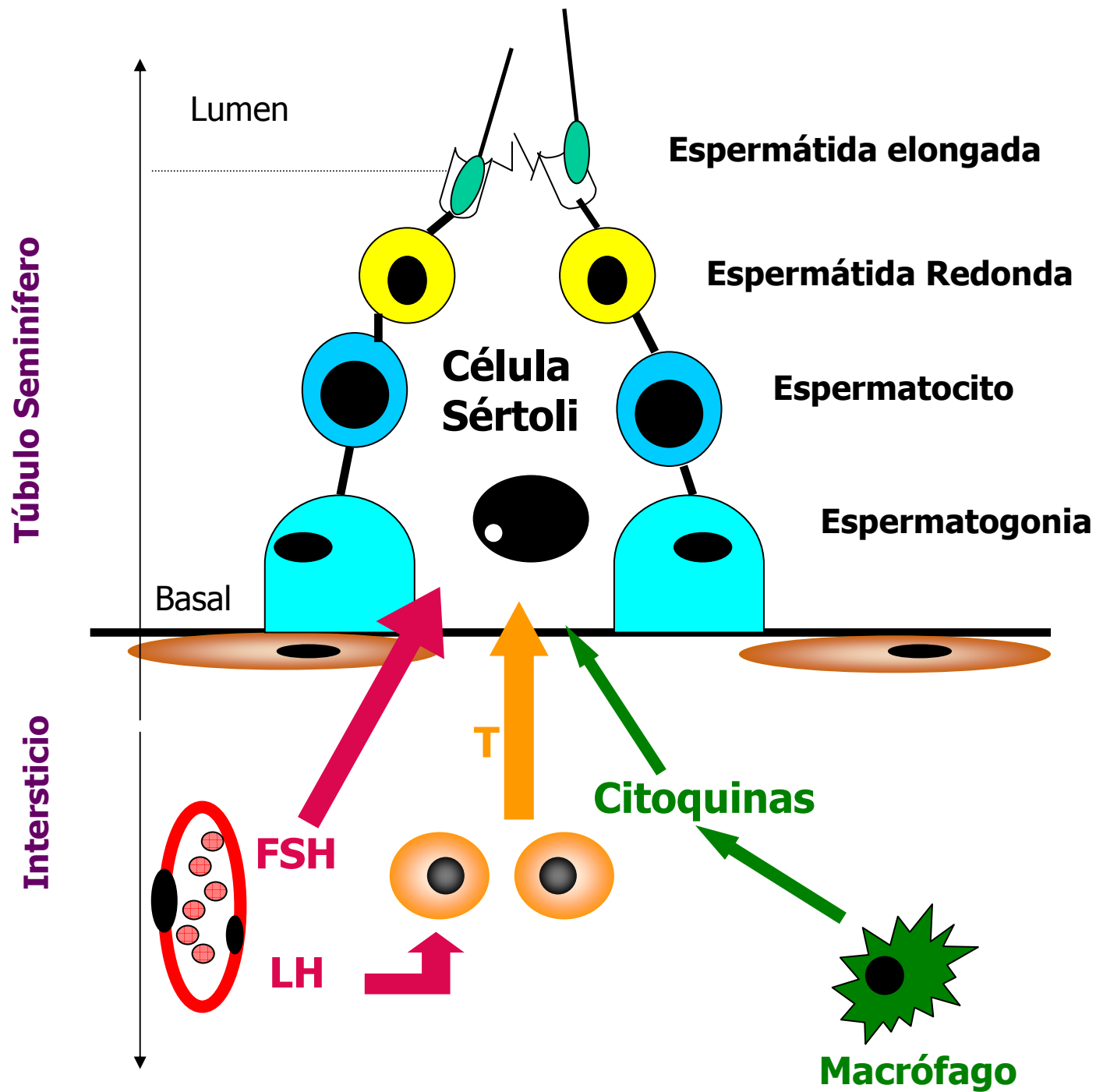
Celulas de Leydig



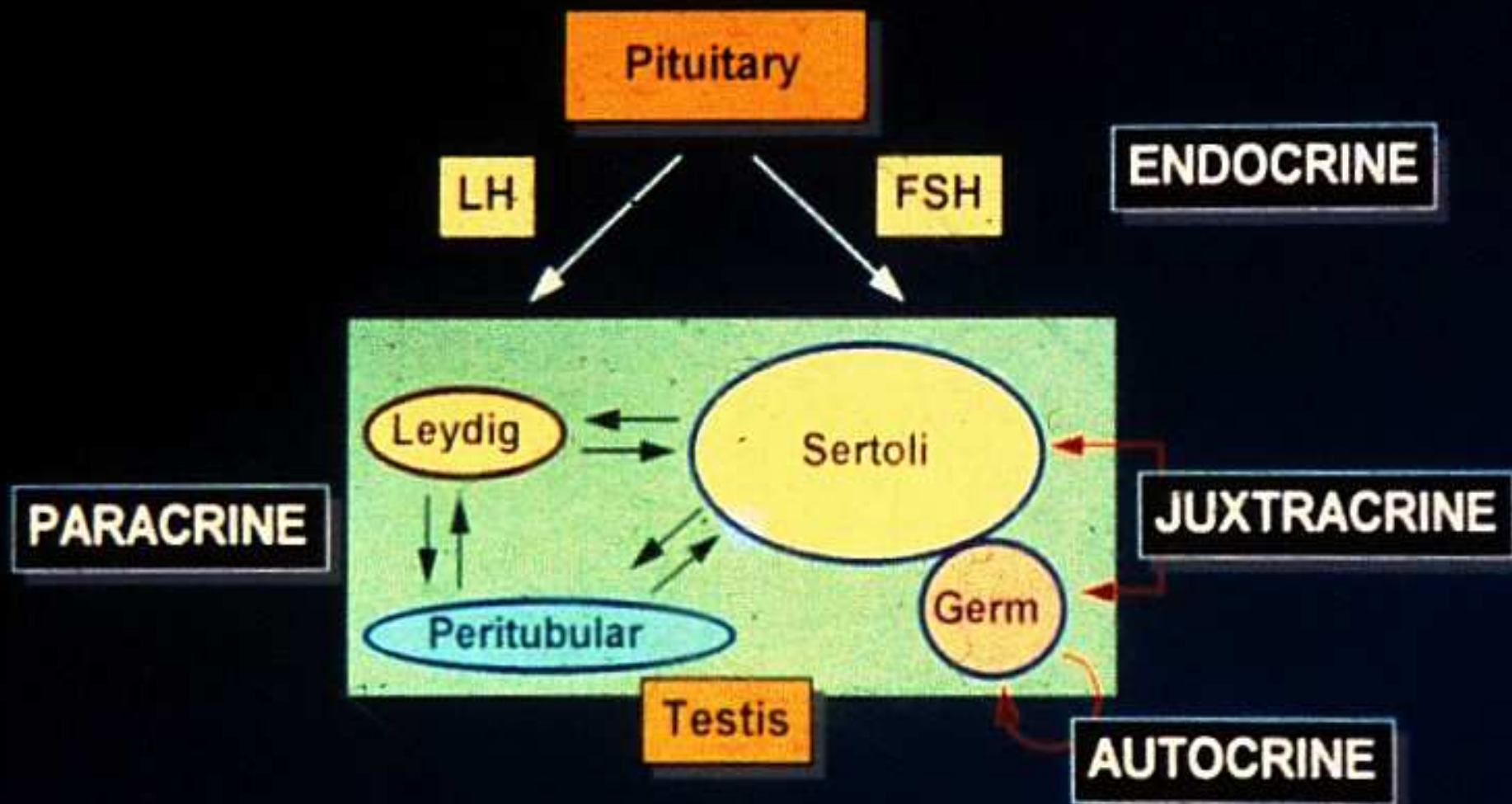
Célula de Leydig , madura

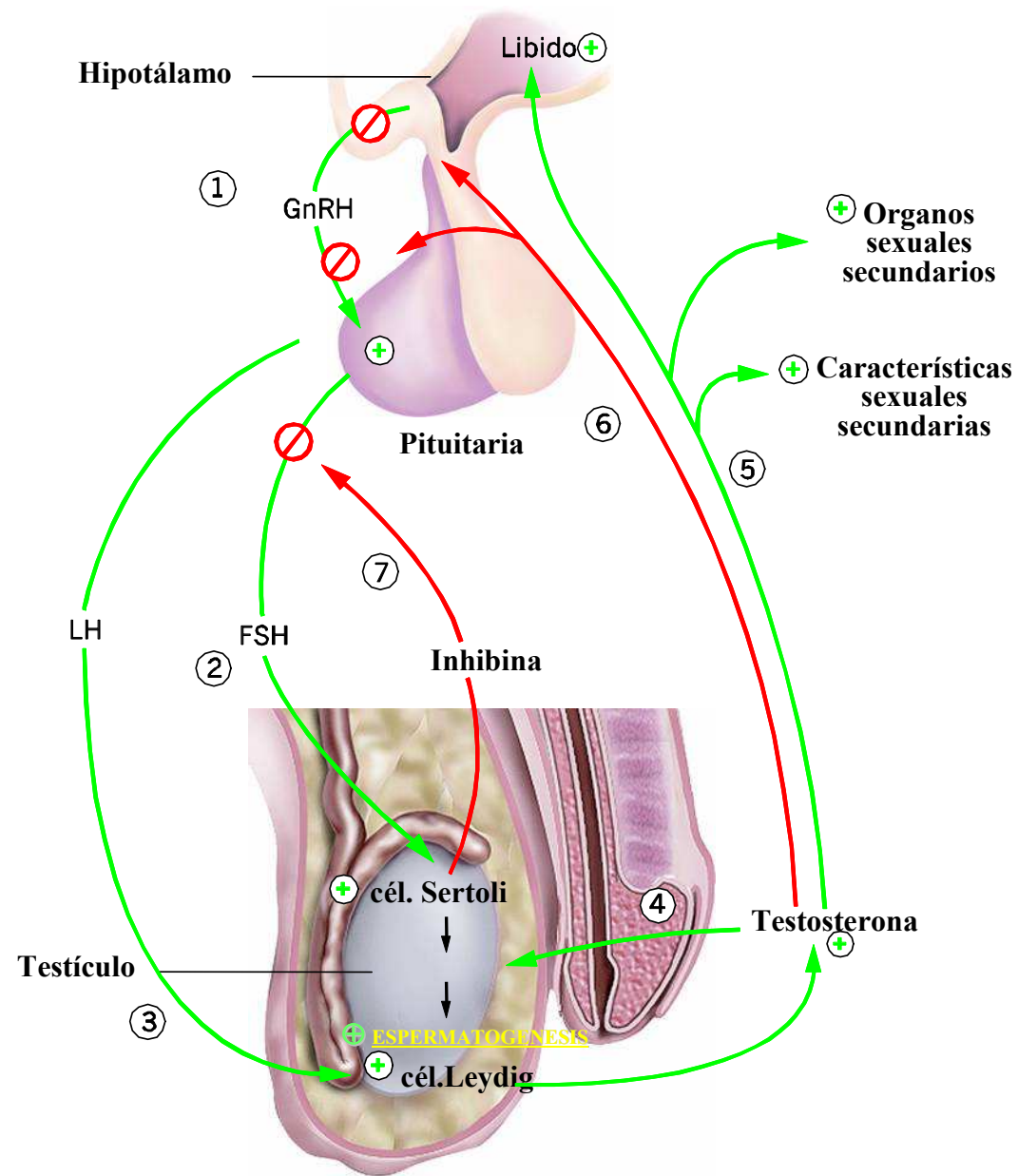
PRODUCCION DE TESTOSTERONA DURANTE LA VIDA DEL VARON





Schematic Representation of Testicular Regulation.



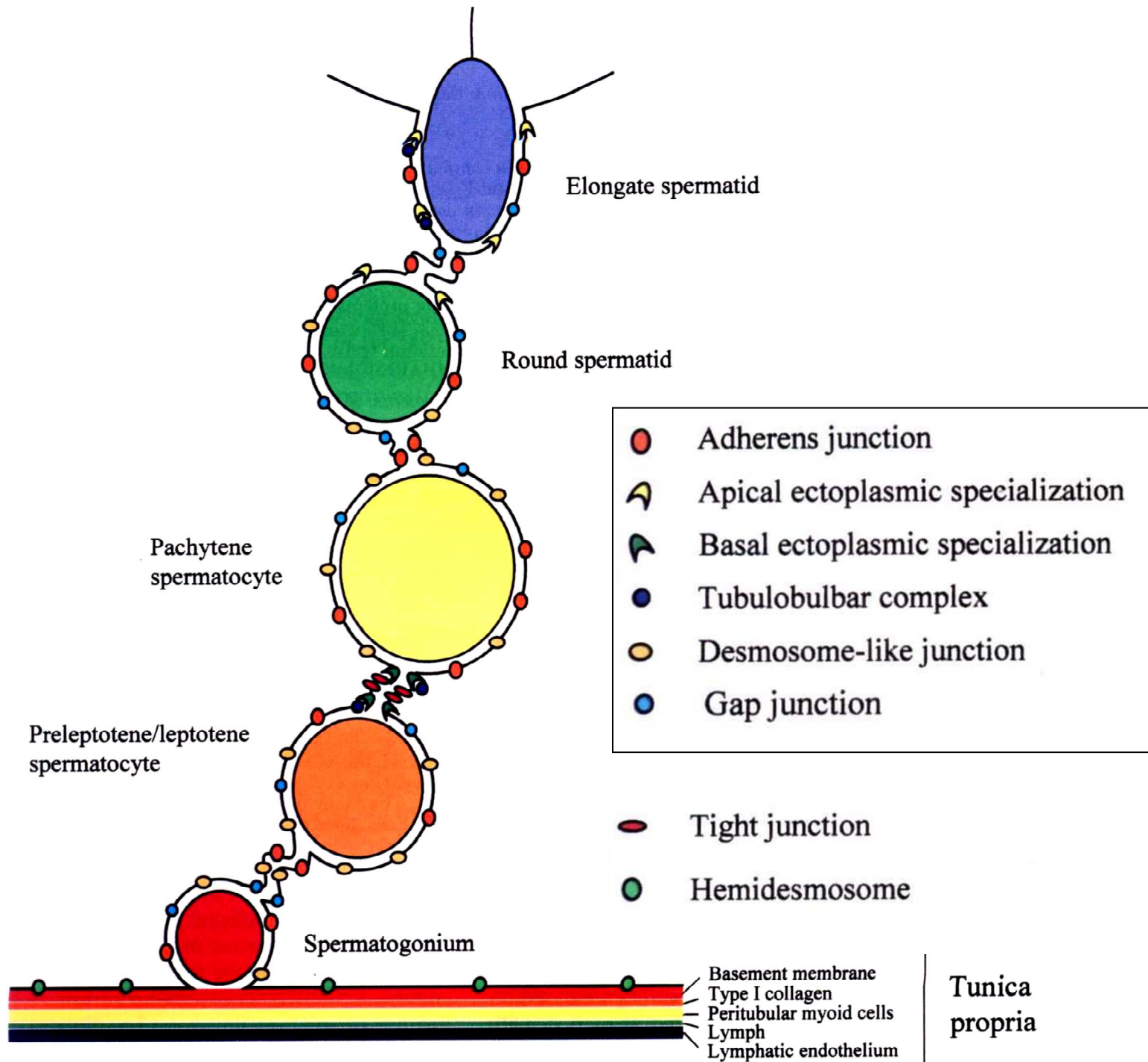


INTERACCIONES FUNCIONALES DE LAS CELULAS SOMÁTICAS EN EL TESTICULO

- Las células de **Sertoli** tienen receptores de FSH y de Testosterona, y por lo tanto, median los efectos endocrinos de FSH y paracrinos de testosterona sobre la espermatogénesis
- Las células de **Leydig** producen hormonas sexuales, principalmente testosterona
- Las células **mioides peritubulares** median algunos de los efectos de testosterona, de otras hormonas o factores de crecimiento sobre las células de Sertoli y células germinales
- Los **macrófagos** pueden regular la función de Sertoli y la espermatogénesis a través de la secreción de citoquinas

Adluminal compartment

Basal compartment

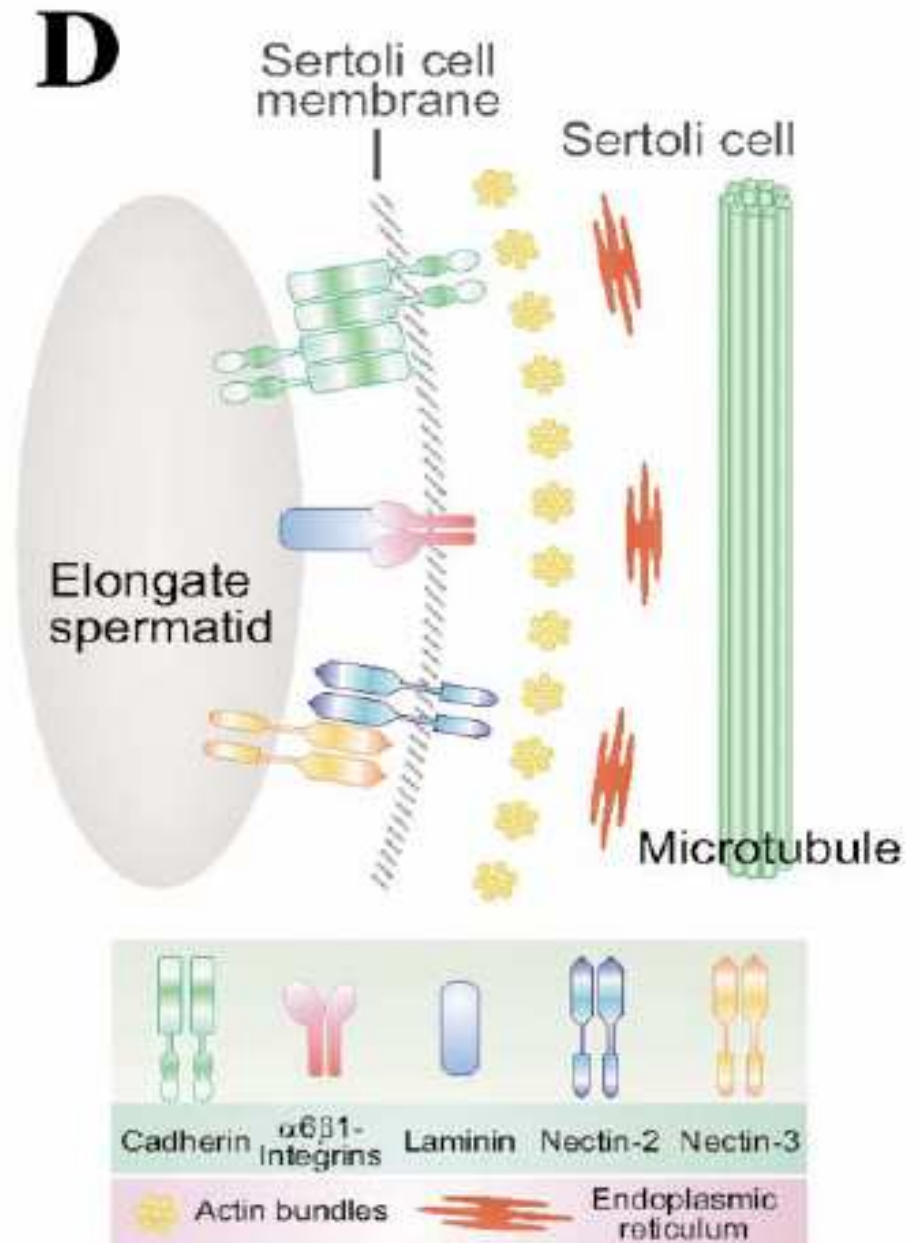
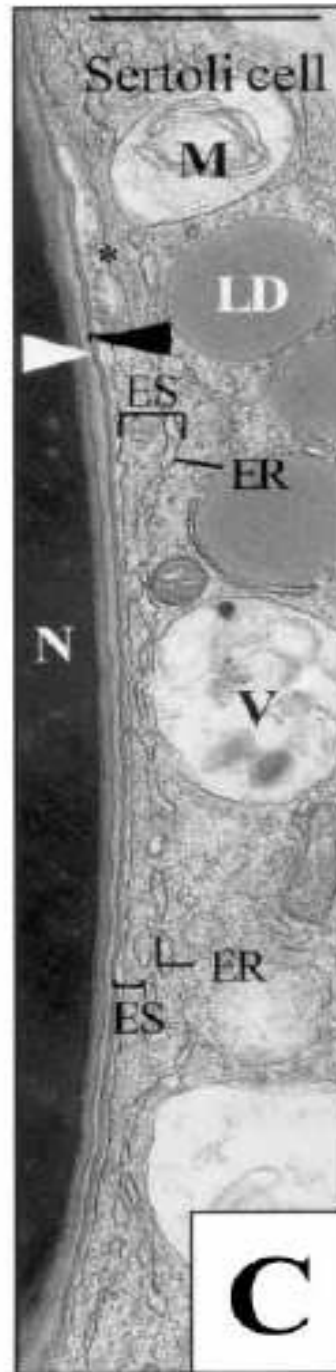


ALGUNOS TIPOS DE UNIONES ENTRE LAS CELULAS DE SERTOLI Y LAS CELULAS GERMINALES EN EL TUBULO SEMINIFERO

- **Unión comunicante (Gap)** **todas las células germinales**
- **Semejantes a desmosomas** **esp. gonio B hasta esp.redonda**
- **Especialización ectoplásmica apical** **espermátidas elongadas**

ESPECIALIZACION ECTOPLASMICA

- 1) Adherencia a la célula de Sertoli.
- 2) Movimiento y orientación de las espermátidas.



Proteínas de adhesión involucradas en otras uniones entre células de Sertoli y Sertoli-Germinal

Uniones estrechas: Ocludina

Uniones comunicantes: Connexina43

Desmosomas: Caderinas

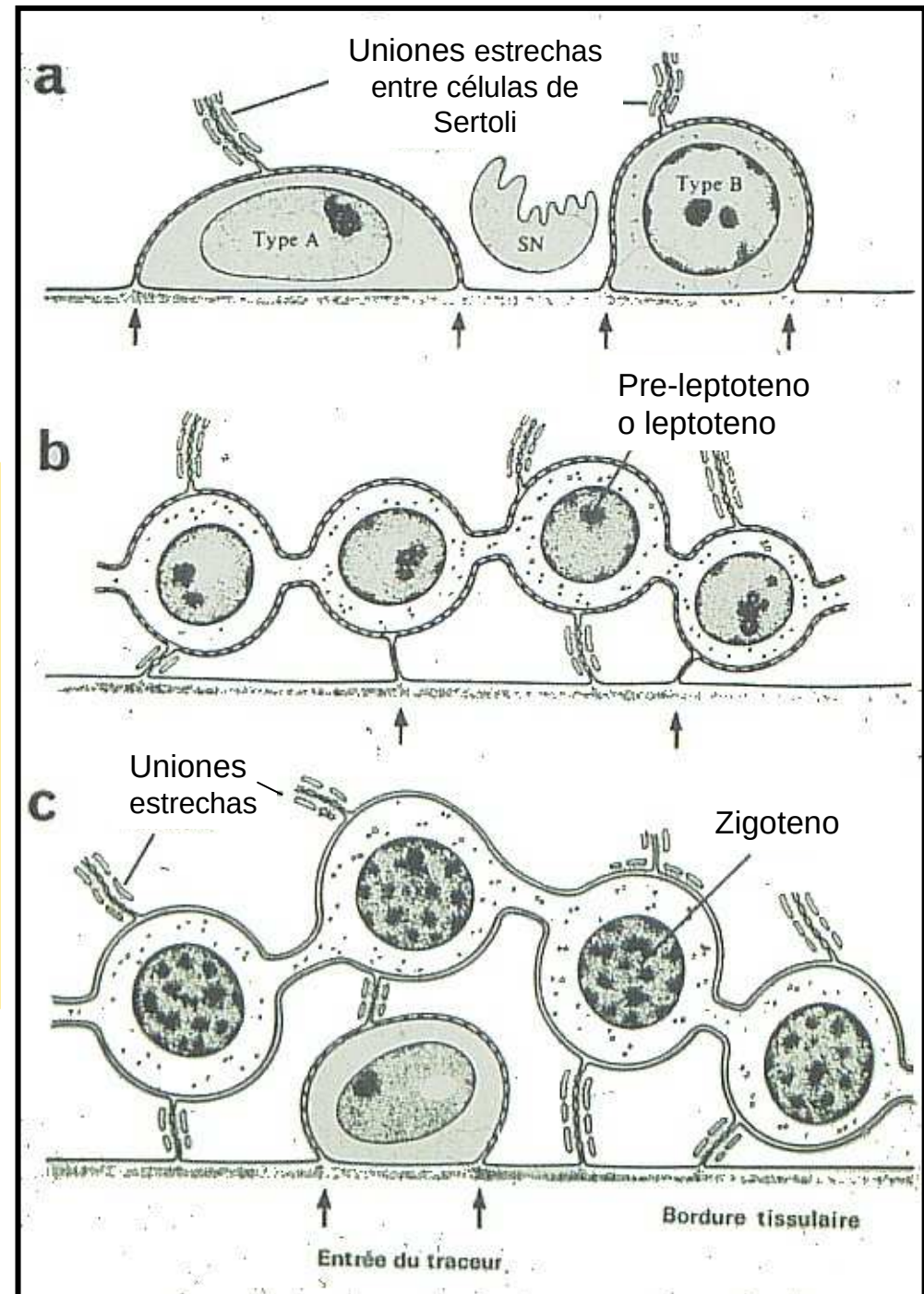
Algunas interacciones celulares que establecen las células de Sertoli a lo largo de su eje baso-apical

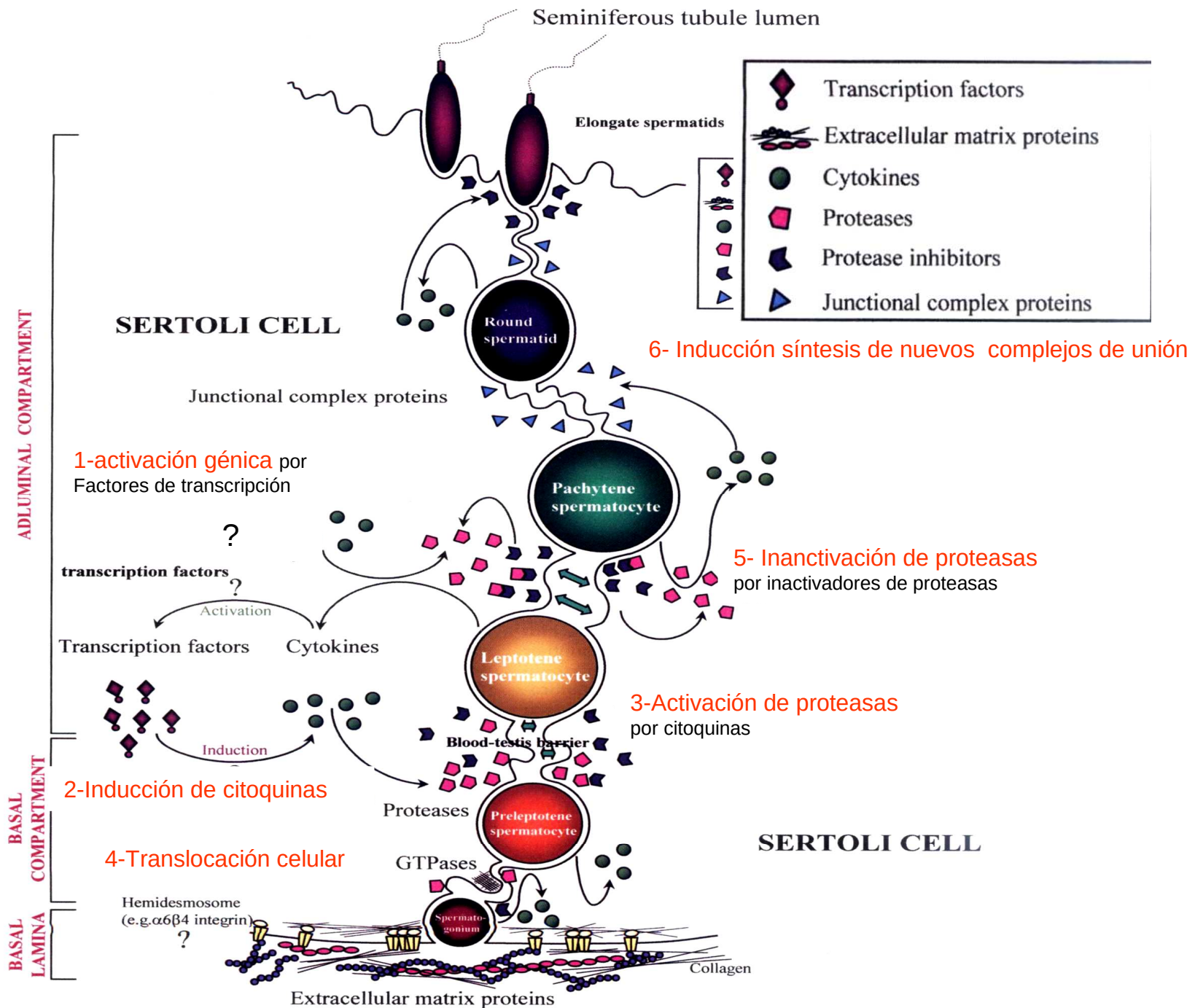
- **Sertoli- lámina basal:** **Hemidesmosoma**
- **Sertoli- Sertoli:** **Uniones oclusivas (tight junction)**
- **Sertoli- célula germinal:** **Especializaciones ectoplásmicas**
Unión mixta desmosoma - “gap”
(semejante a desmosoma)
Túbulo bulbares
Uniones comunicantes (gap)

TRANSLOCACION DE ESPERMATOCITOS PRELEPTOTENO / LEPTOTENO

ENSAMBLAJE Y DESENSAMBLAJE DE UNIONES OCLUSIVAS:

- Citoquinas
- Factores de transcripción
- proteasas
- anti-proteasas

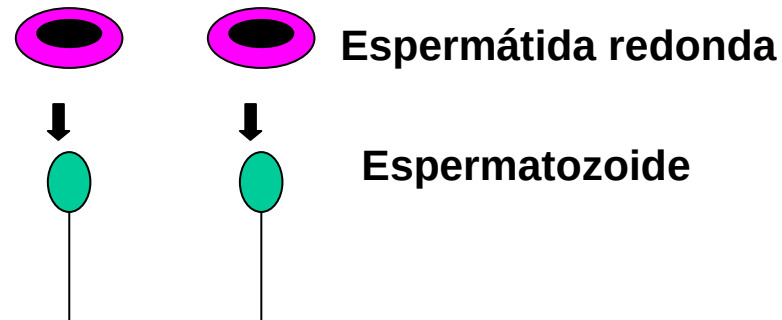




ESPERMIOGENESIS

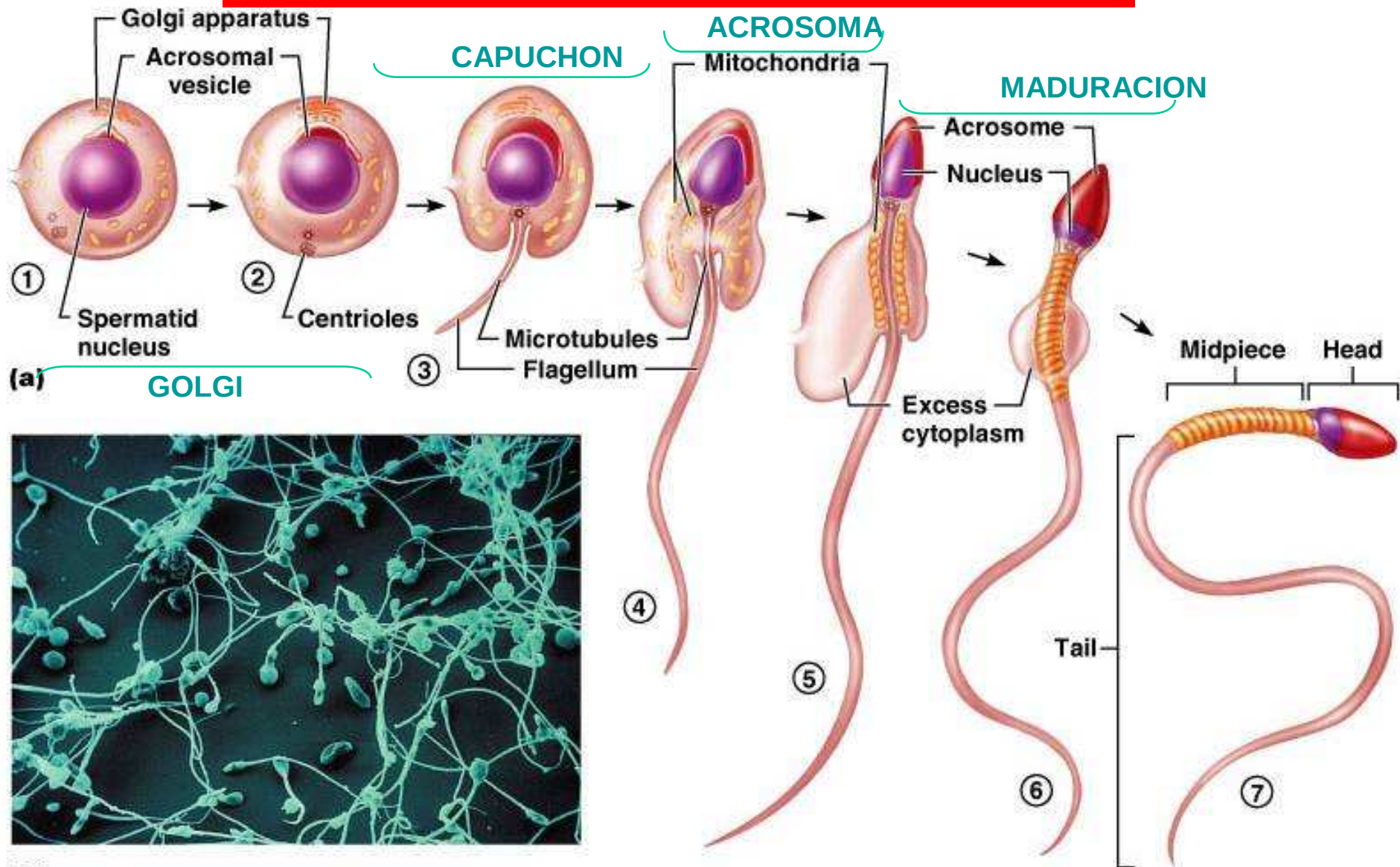
Proceso de cambios morfológicos y de diferenciación funcional en el cual las espermatidas redondas son transformadas en espermatozoides maduros con motilidad y potencial de fertilización.

ESPERMIOGENESIS



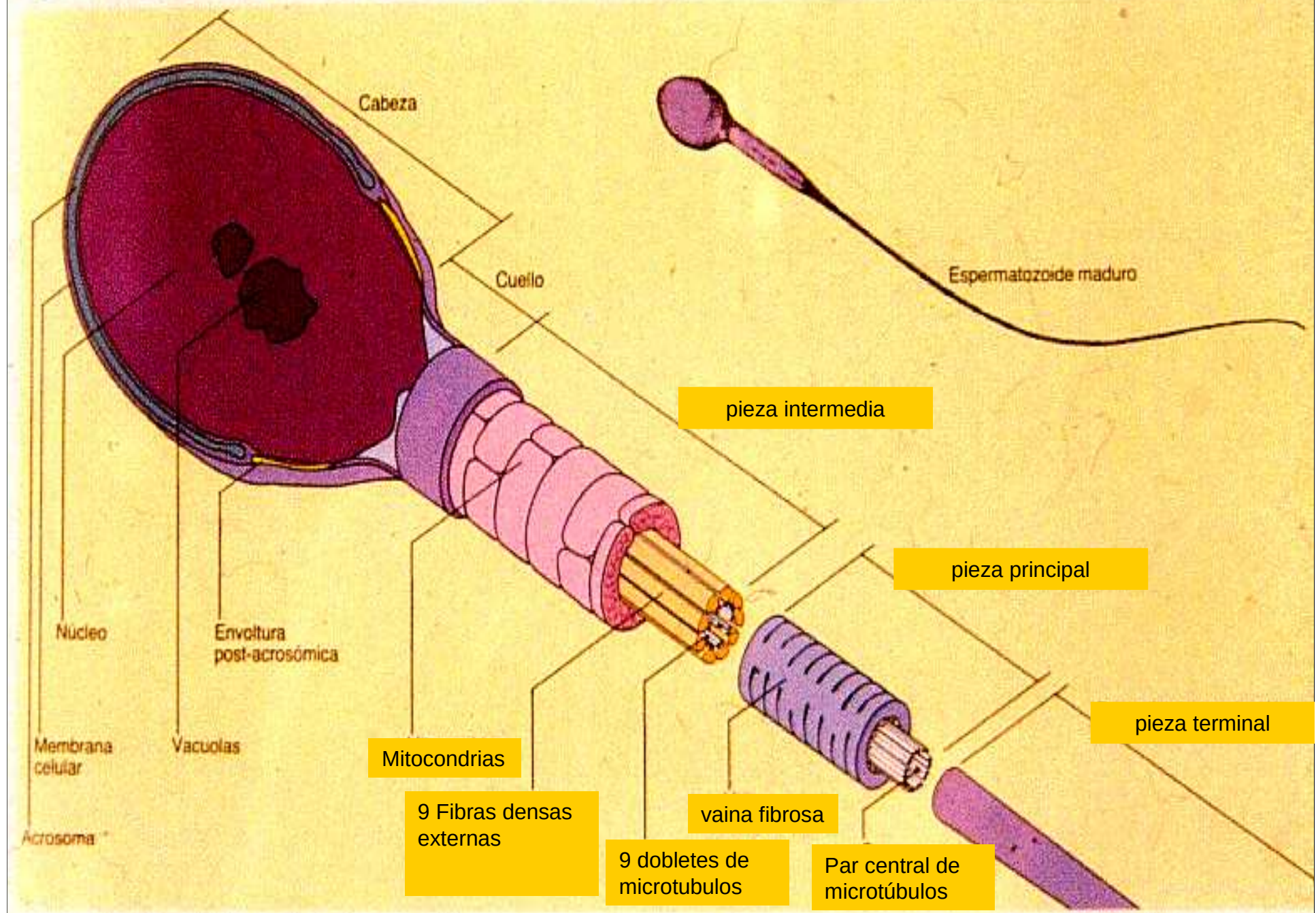
- ▶ **Formación del Flagelo o cola**
- ▶ **Desarrollo del acrosoma**
- ▶ **Formación de una cabeza con condensación del DNA nuclear**
- ▶ **Remoción del exceso de citoplasma de la espermátida**
- ▶ **Liberación del espermatozoide al lumen tubular (Espermiación)**

ESPERMIOGENESIS

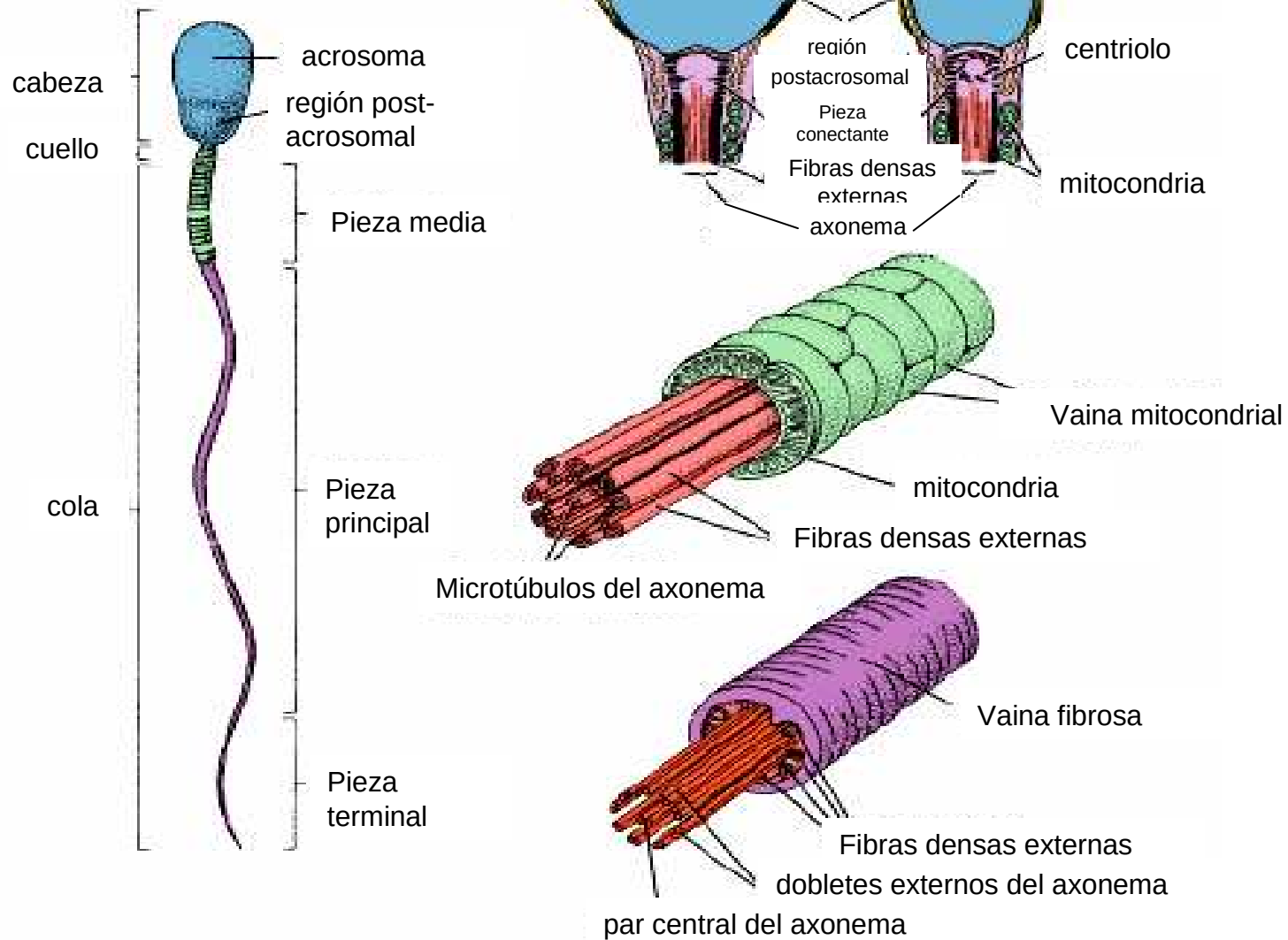


(b)

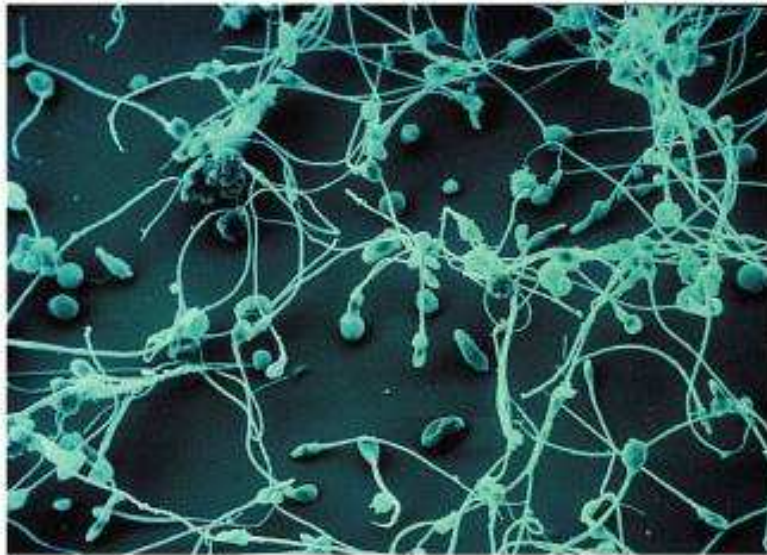
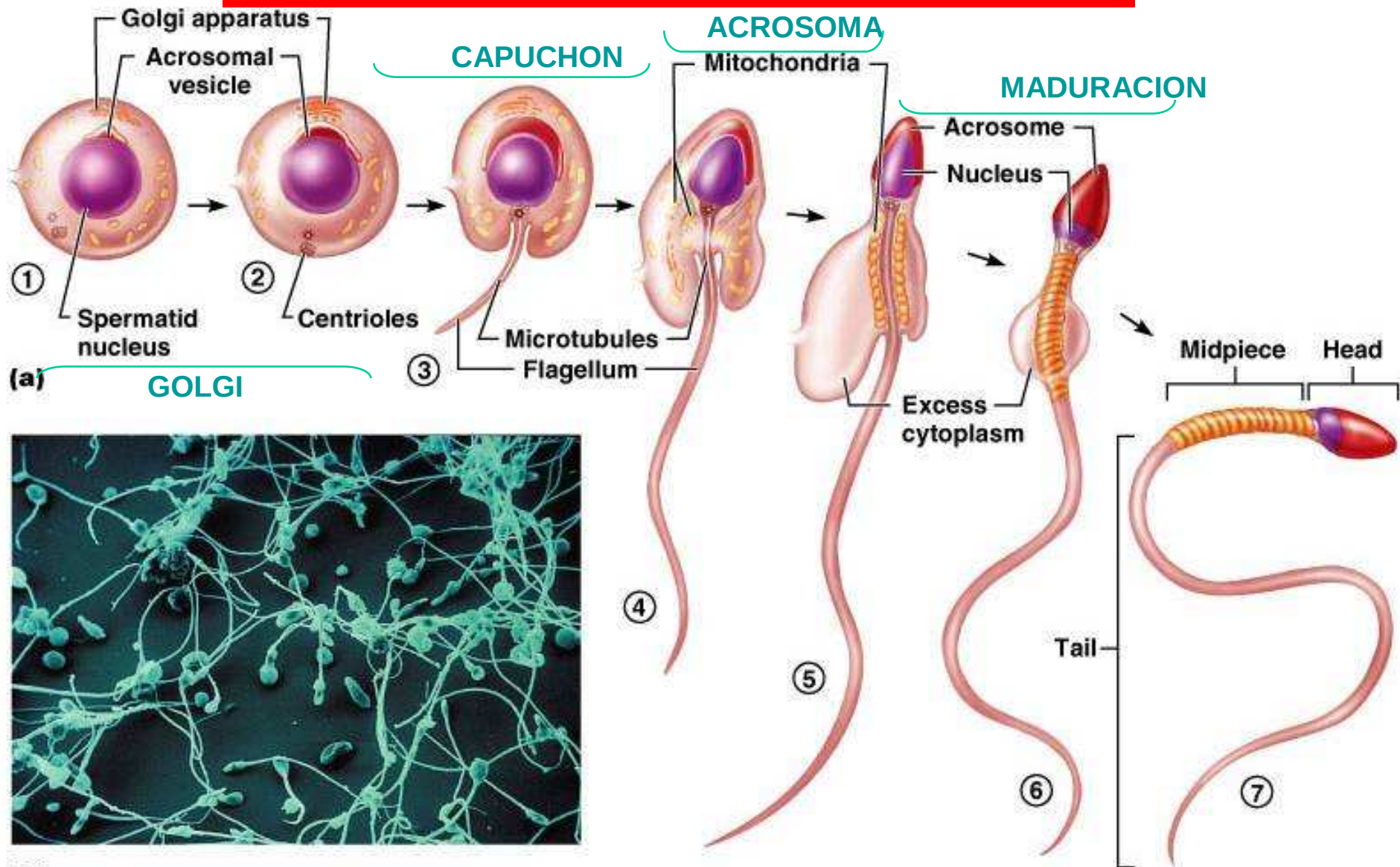
Fig. 1: Visión esquemática de un espermatozoide humano.



Espermatozoide humano



ESPERMIOGENESIS

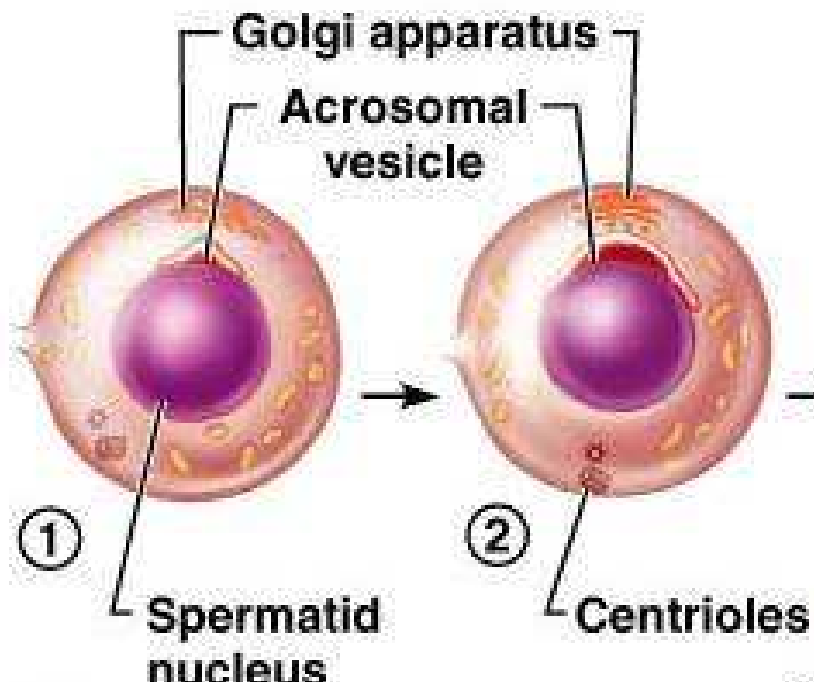


(b)

ESPERMIOGENESIS

Fase de Golgi:

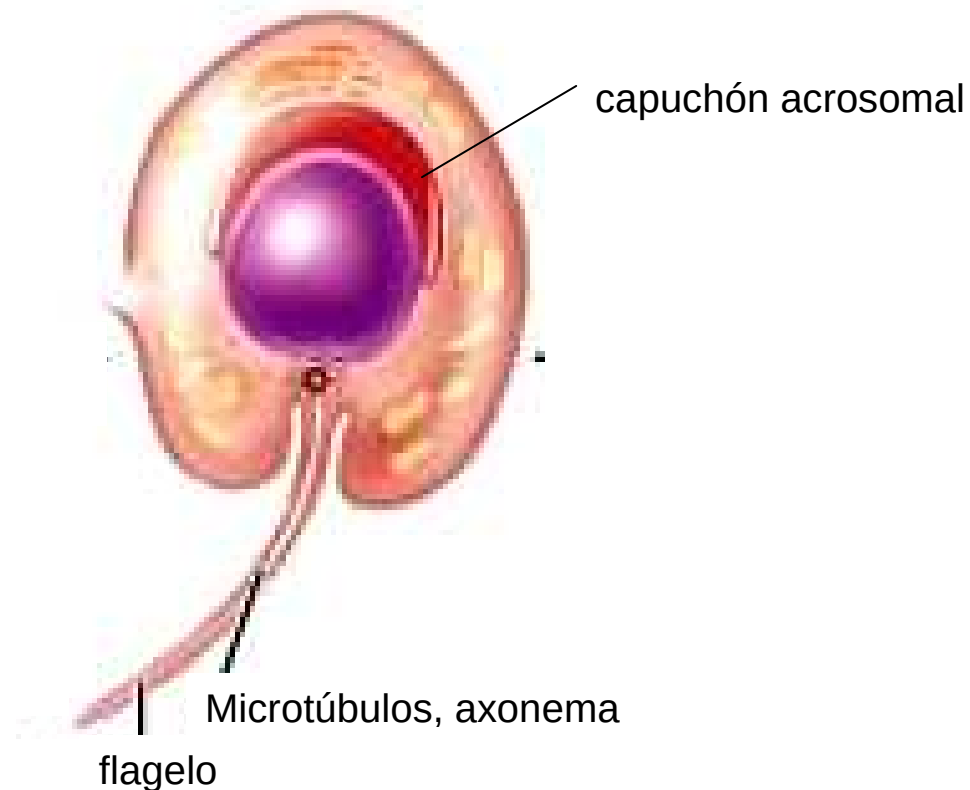
El aparato de Golgi forma la vesícula acrosomal que se indenta y se extiende lateralmente sobre el núcleo definiendo el polo craneal de la espermátida Sa (núcleo central y esférico). Los centriolos se mueven a la región caudal (el proximal se une al núcleo y el distal formará el axonema).



ESPERMIOGENESIS

Fase Cap o capuchón:

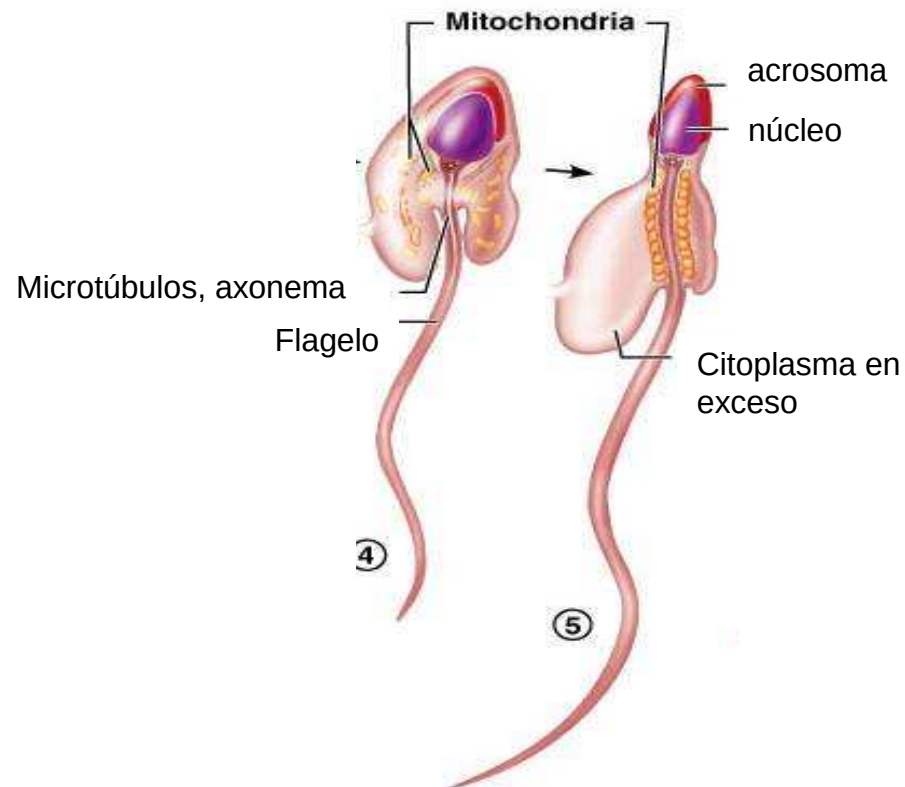
La vesícula acrosomal se aplana contra el núcleo y se extiende lateralmente formando el capuchón acrosomal. La cromatina nuclear comienza a condensarse y el Golgi migra hacia caudal. La espermatida Sb1 (núcleo irregular y central) rota de tal forma que el acrosoma se localiza hacia la lámina basal y la cola hacia el lumen.



ESPERMIOGENESIS

Fase de Acrosoma:

El núcleo se elonga, condensa y se mueve hacia el polo craneal al mismo tiempo que el citoplasma es desplazado hacia el polo caudal. También aumenta el desarrollo de la cola. Se forma la pieza conectante o cuello y se fusiona con las nueve fibras densas que rodean al axonema de la pieza media, otorgando rigidez al flagelo. La pieza principal también es estabilizada por la vaina fibrosa. Mitocondrias se organizan en una espiral rodeando las fibras densas de la pieza media.

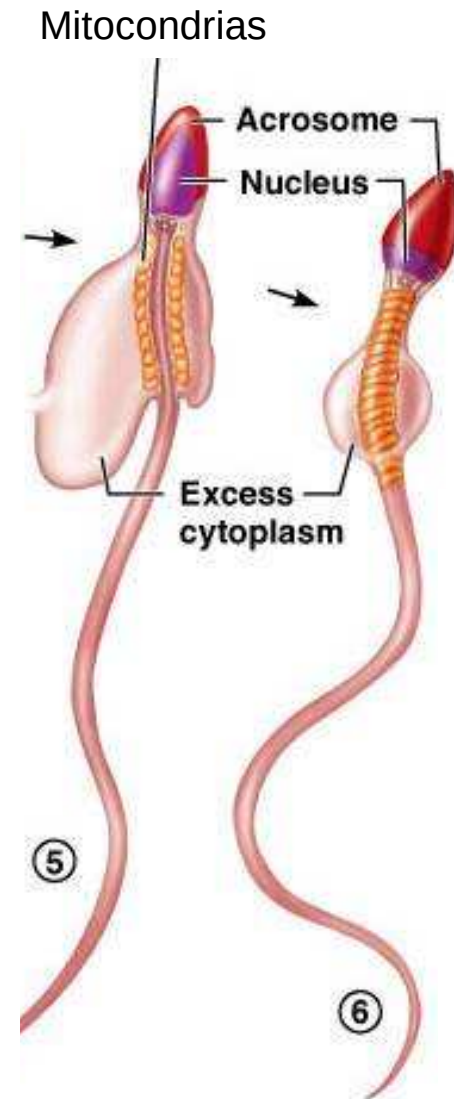


ESPERMIOGENESIS

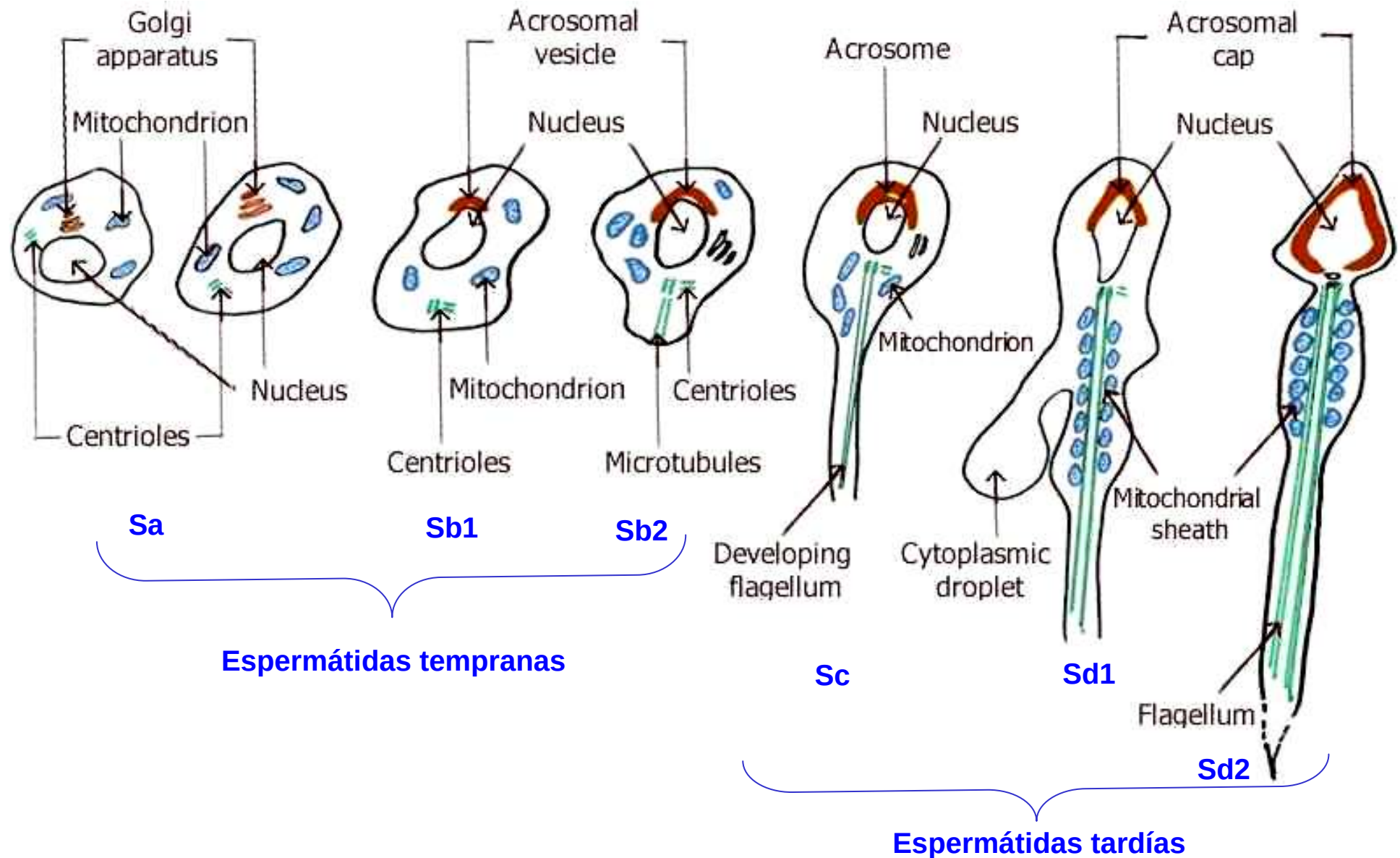
Fase de maduración:

El citoplasma de la espermátida es eliminado y fagocitado por las células de Sertoli y se libera el espermatozoide al lumen tubular (espermiación).

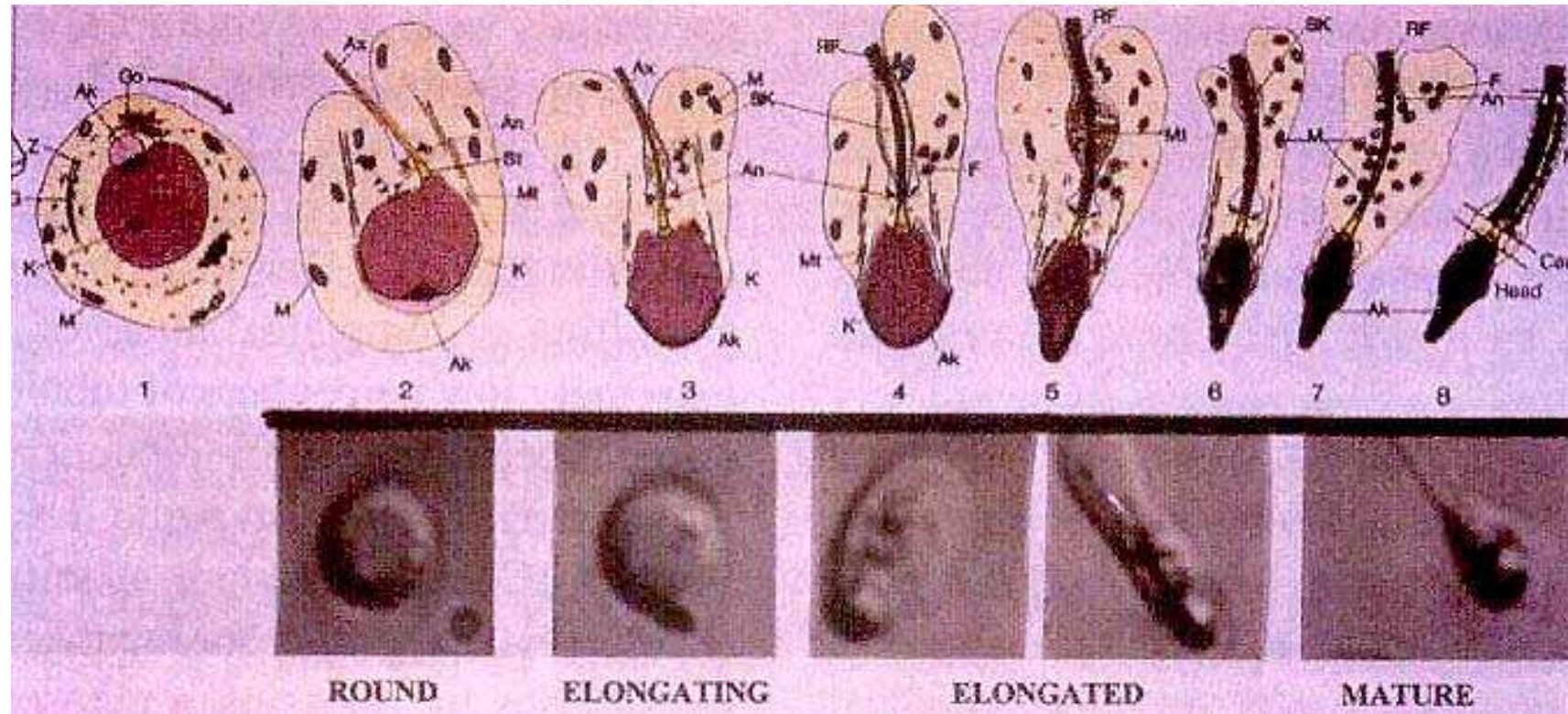
El proceso de espermiación requiere de testosterona.



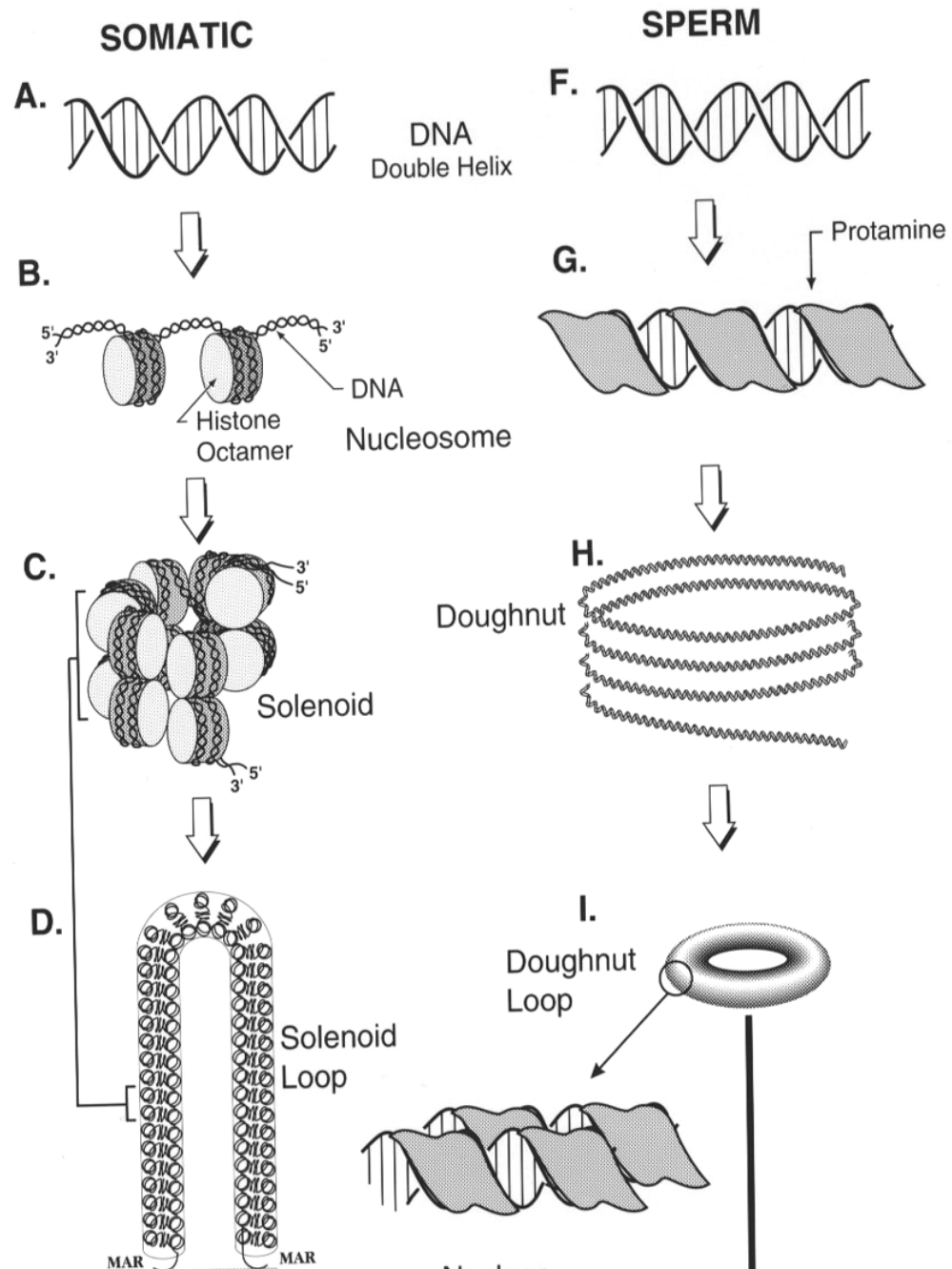
Etapas de la Espermioogénesis/Espermiohistogénesis



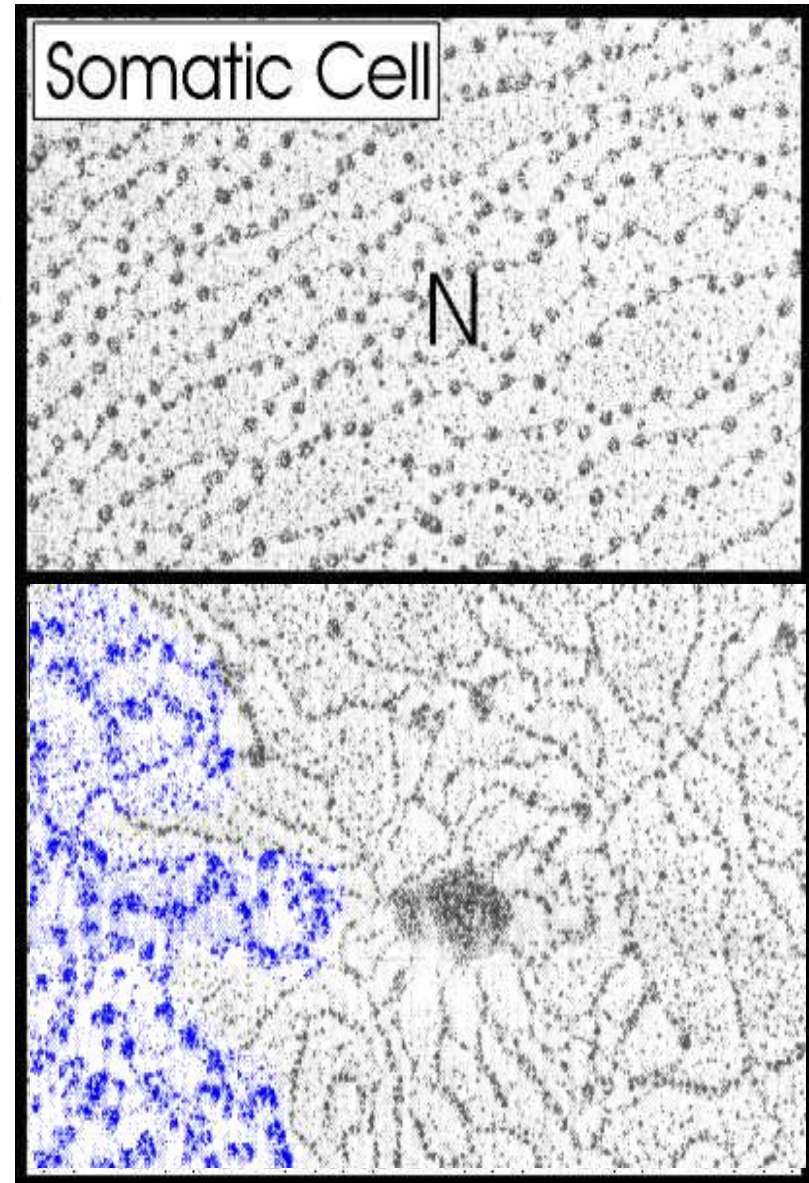
COMPACTACIÓN DE LA CROMATINA



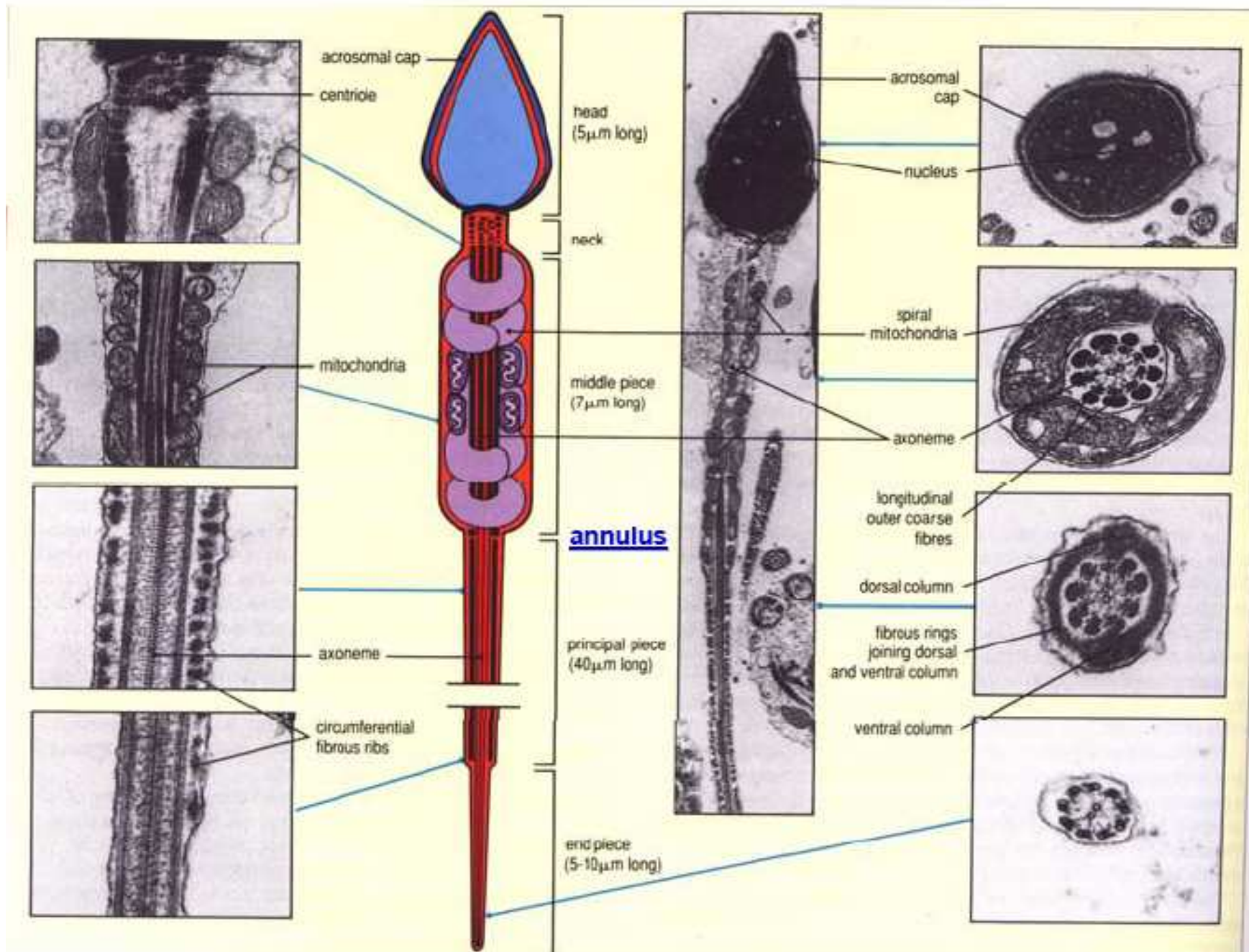
- Sustitución de histonas por protaminas
- Por oxidación de -SH de las protaminas y formación de S-S



COMPACTACION DE LA CROMATINA



Espermatozoide humano



TRANSPORTE DEL ESPERMATOZOIDE POR EL TRACTO GENITAL MASCULINO

Mínimos cambios morfológicos

Importantes cambios funcionales

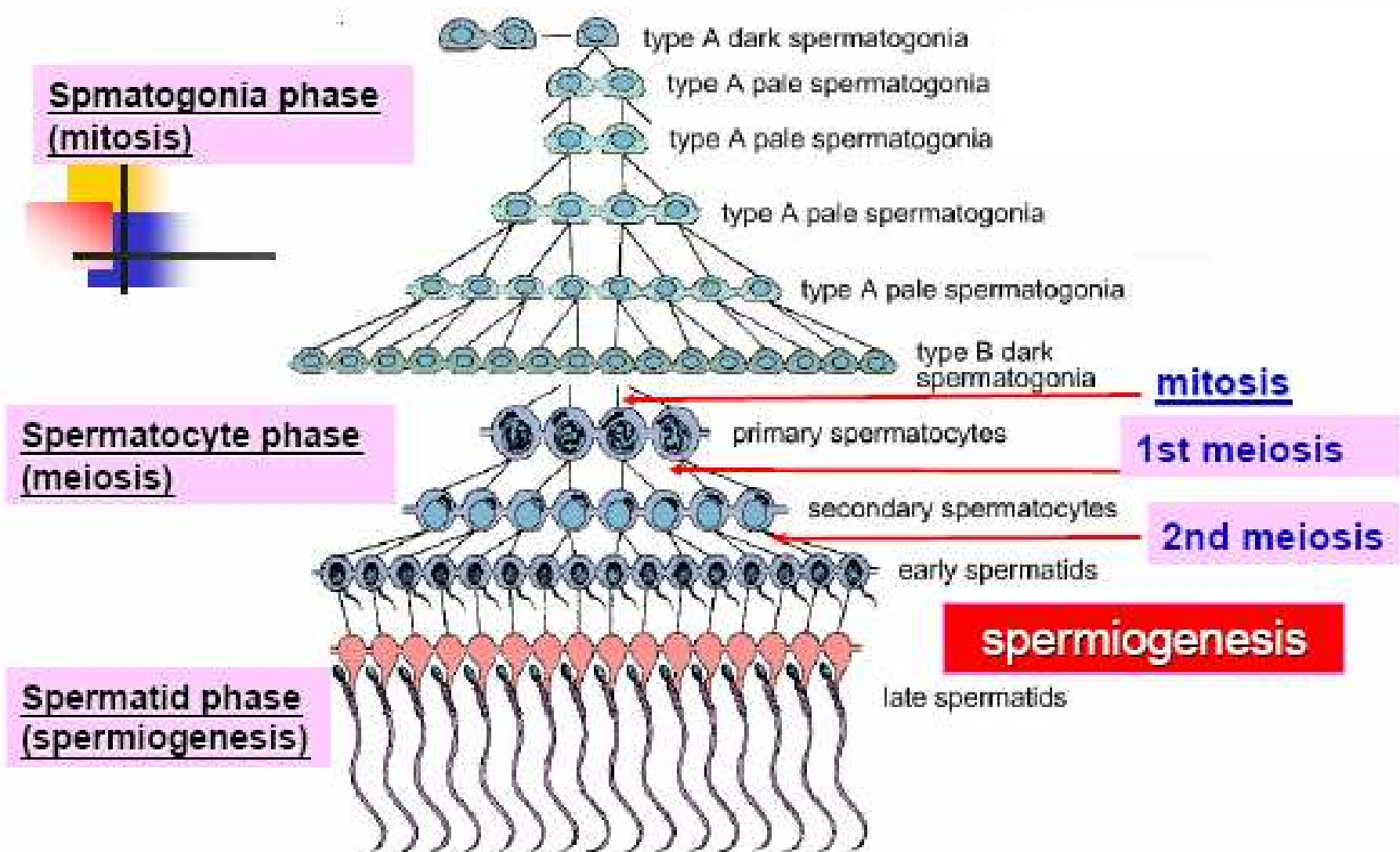
MADURACION EPIDIDIMARIA:

Cambios que experimenta el espermatozoide durante su transito por el epidídimo

- **Adquisición de motilidad progresiva direccional**
- **Estabilización de la cromatina nuclear por puentes disulfuros**
- **Incorporación de una serie de macromoléculas a la superficie del espermatozoide**

Espermatogénesis

¿1 espermatogonia podría producir 256 espermatozoides?



MUERTE DE CELULAS GERMINALES EN EL EPITELIO SEMINIFERO HUMANO

- Responsable en gran parte de la pobre eficiencia en humanos (aproximadamente un 30%)
- Ocurre en todas las etapas de la vida del individuo: fetal, neonatal, prepuberal, puberal y postpuberal.
- Ocurre en todas las etapas de la espermatogénesis: mitótica, meiótica (40% de la reducción de espermatidas) y espermiogénesis
- Limita el número de células germinales que se desarrollan y realizan espermatogénesis



Regula la producción total de espermatozoides

Gracias por su atención