

BASES DE LA FECUNDACIÓN

IMPORTANCIA DE PLC δ 4 PARA
LA LIBERACIÓN DE Ca $^{++}$ EN LA
REACCIÓN ACROSÓMICA



Reproducción sexual

- Dos células haploides, las que son completamente diferenciadas, se unen para formar un cigoto totipotencial, dando origen así a un individuo único.

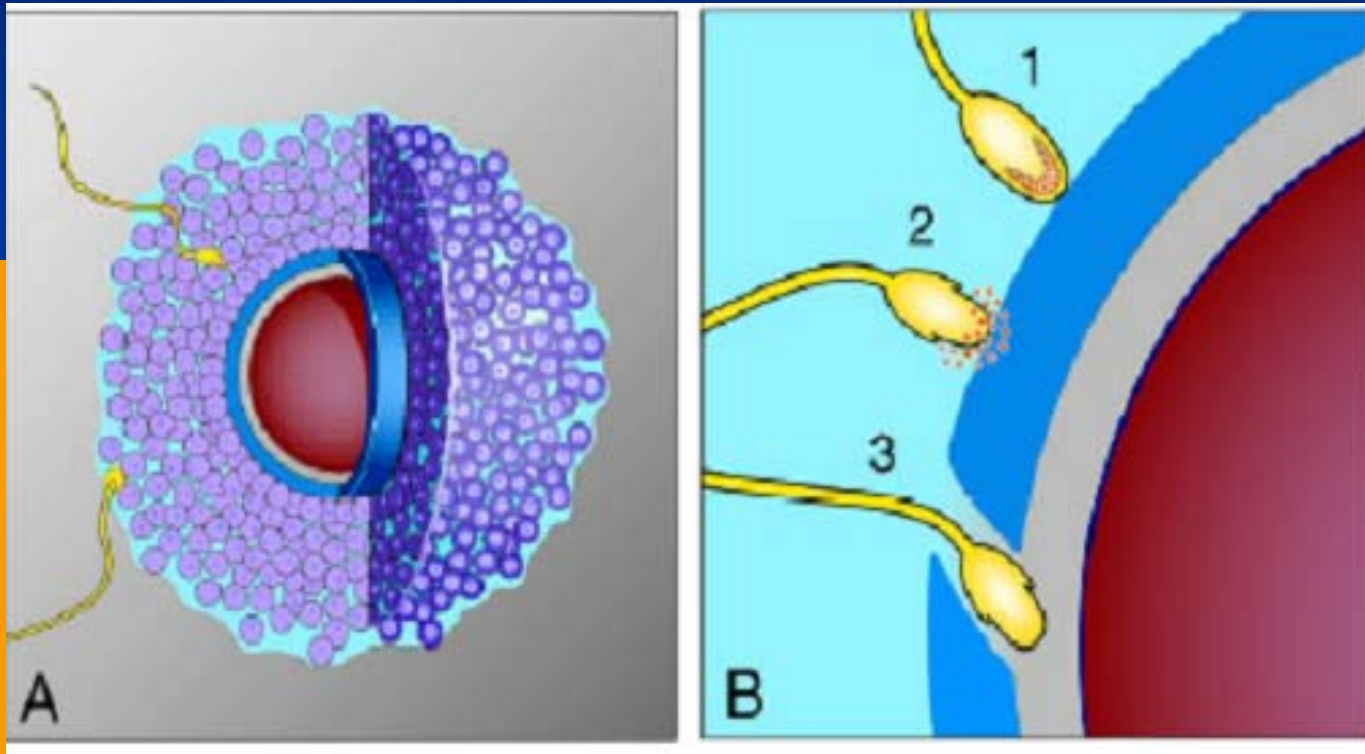


Capacitación del espermatozoide

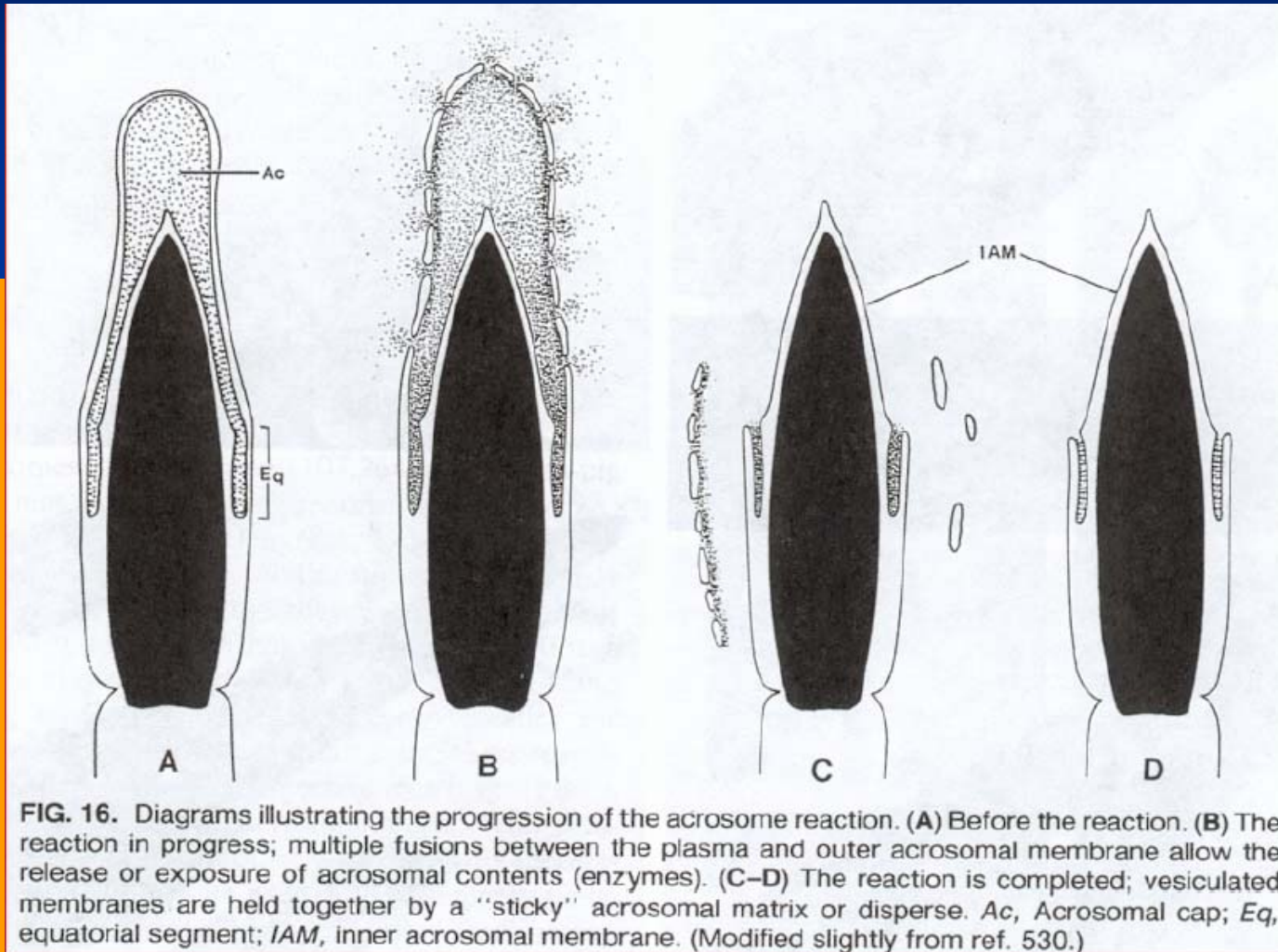
- Ocurre en el tracto femenino
- Adquiere hiperactivación de la motilidad
- Alteraciones en metabolismo y membrana (hiperpolarización)
- Hay fosforilaciones
- Elevación del pH



Interacción Espermatozoide-Ovocito e Inducción de la RA



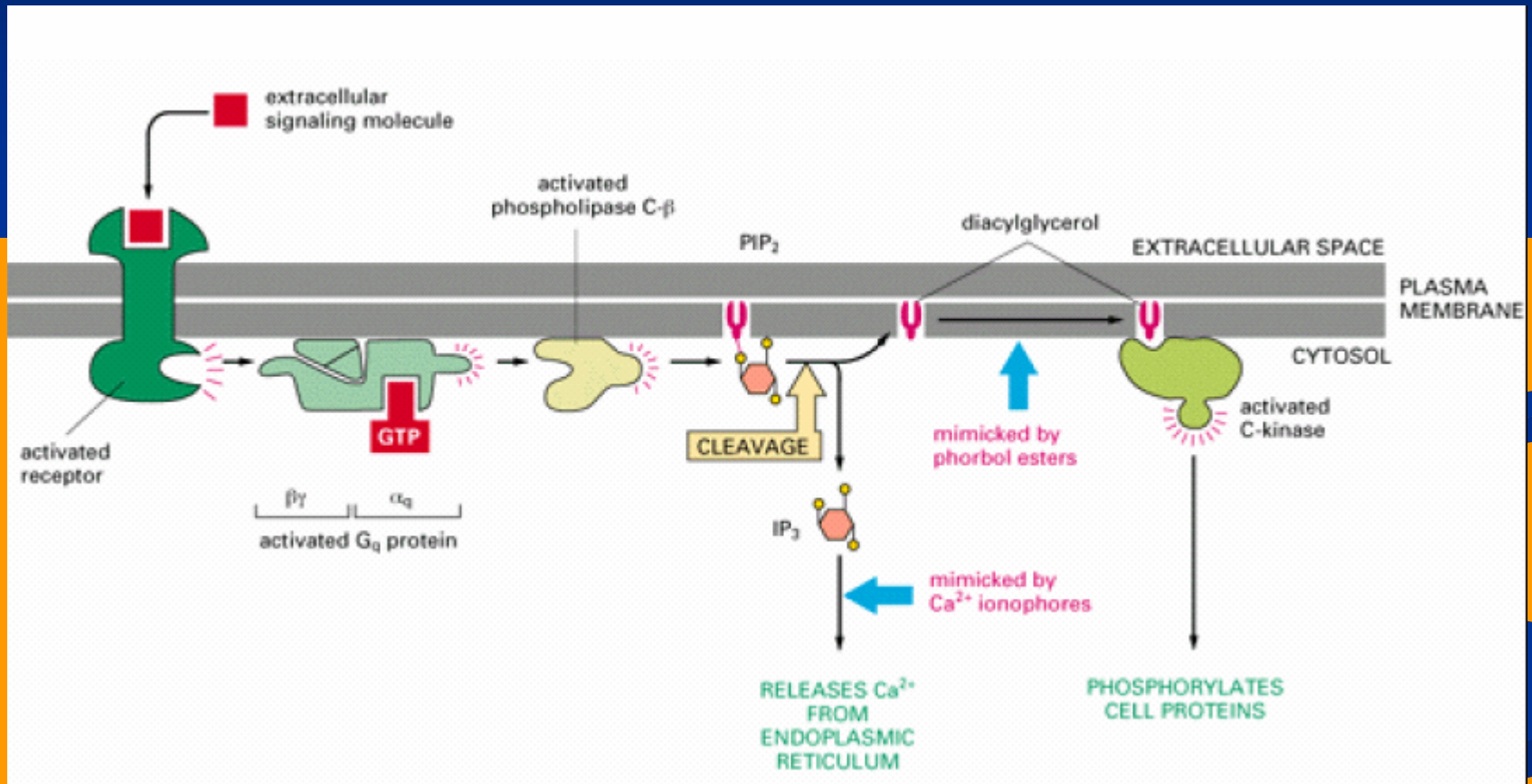
PROGRESO DE LA REACCIÓN ACROSÓMICA



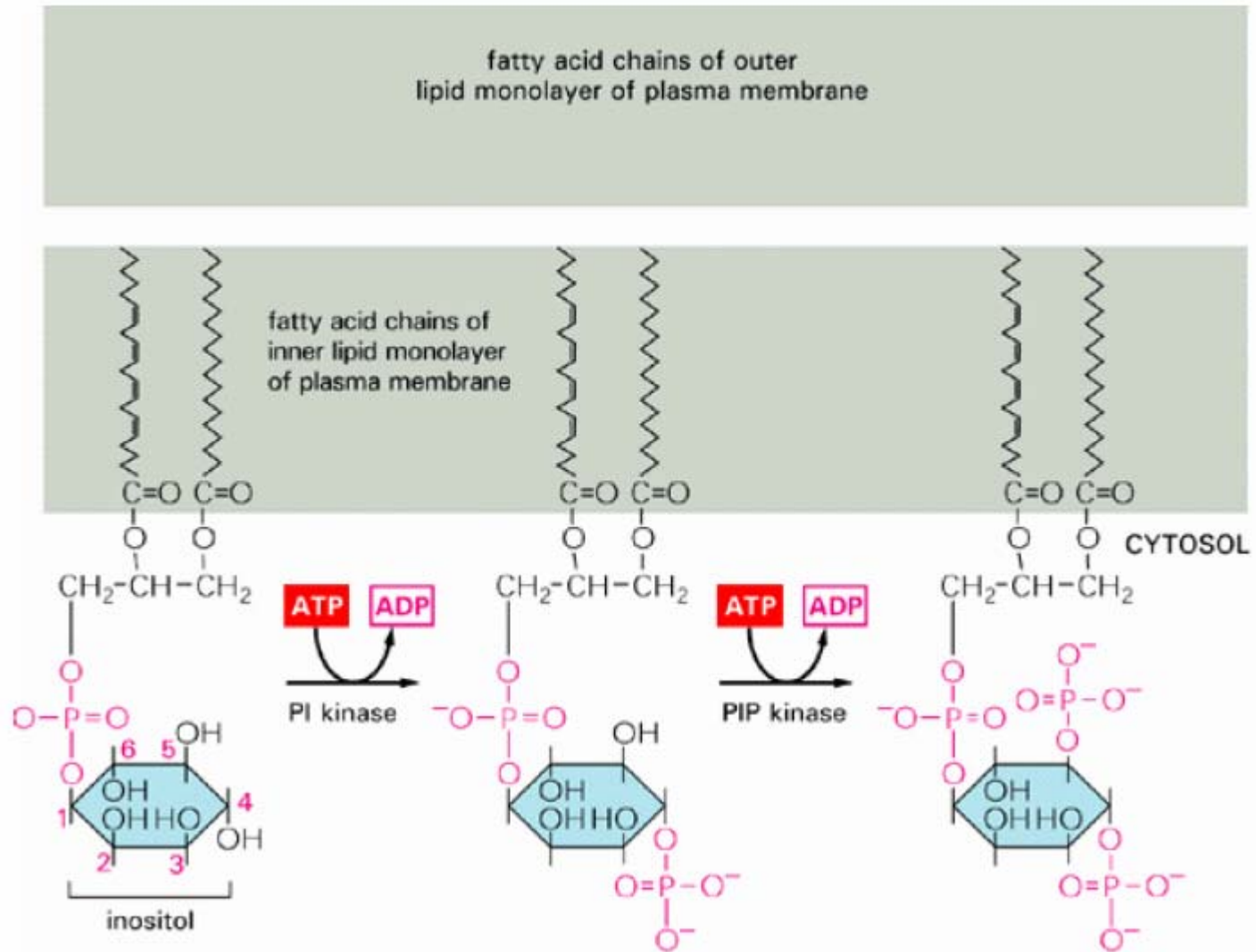
Adhesión espermatozoide-ZP

- El espermatozoide al entrar en contacto con ZP empieza la reacción acrosómica.
- Esta adhesión es mediada por la glicoproteína ZP3 (receptor)
- ZP3 es selectiva para cada especie
- Luego de atravesarla, entra en contacto con la membrana del ovocito, fusionándose

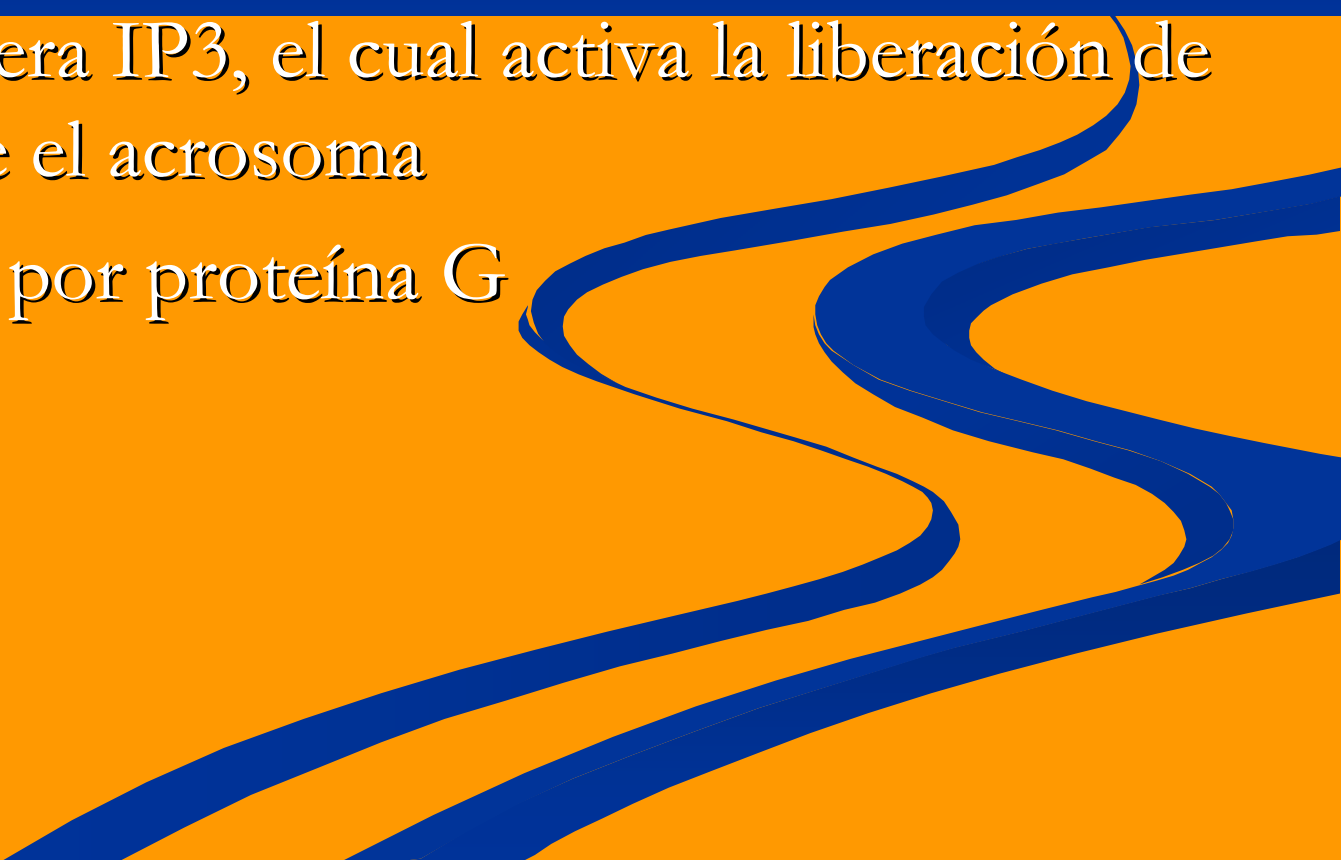
IP3 dentro del mecanismo de inducción de la RA



FOSFOINOSITIDOS: PI, PIP, PIP2



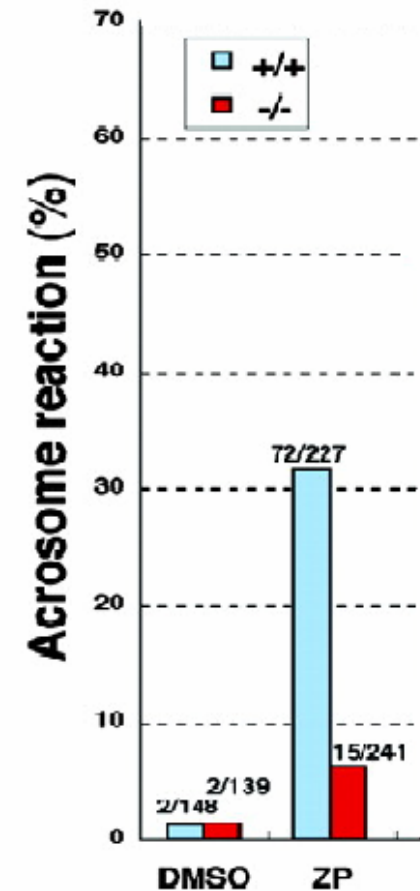
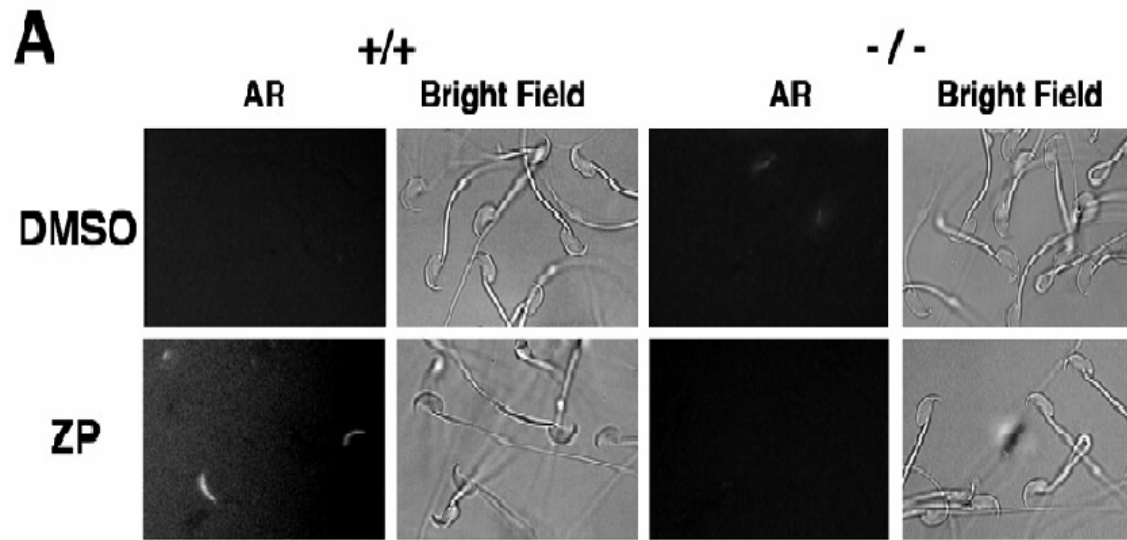
Isoenzima PLC δ 4

- De la familia de las PLC es la más importante en la reacción acrosómica
 - PLC δ 4 genera IP₃, el cual activa la liberación de calcio desde el acrosoma
 - Es activada por proteína G
- 

Experimento 1

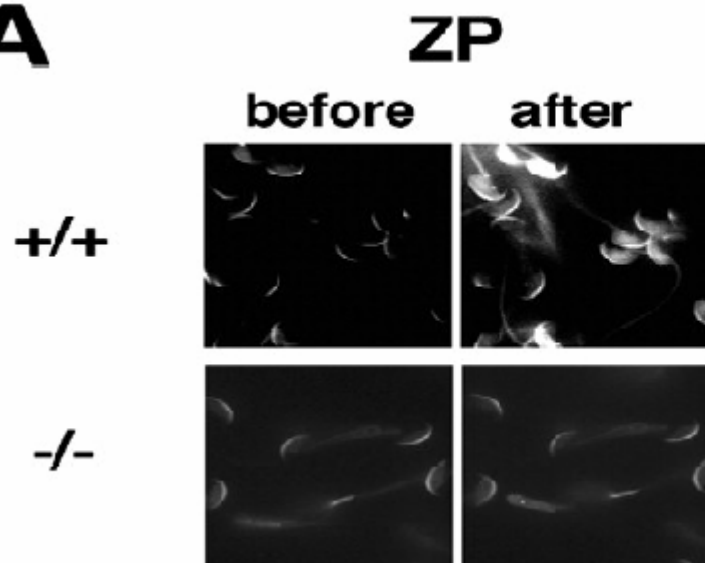
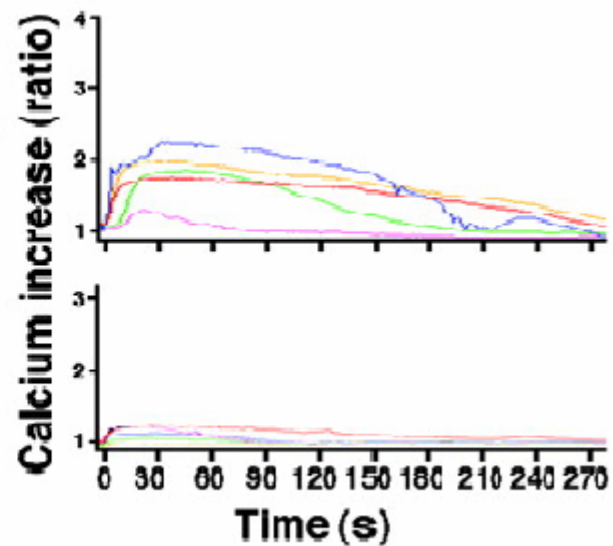
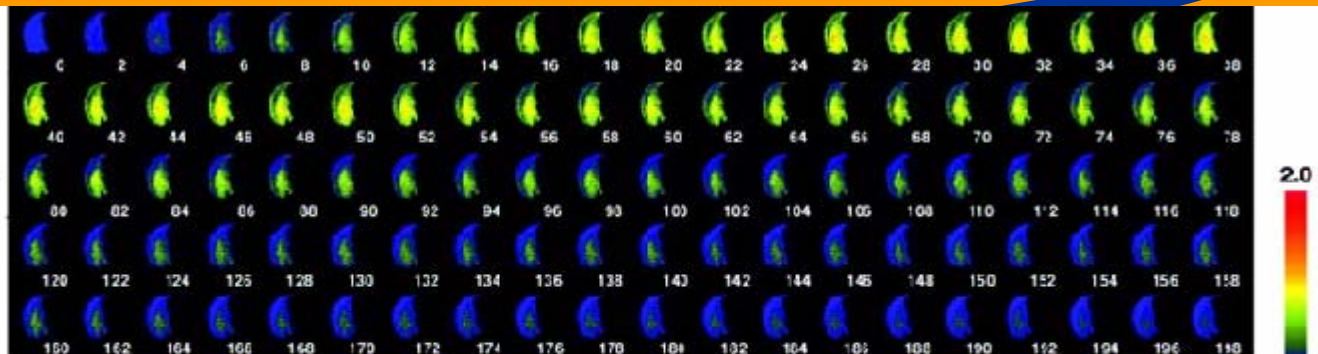
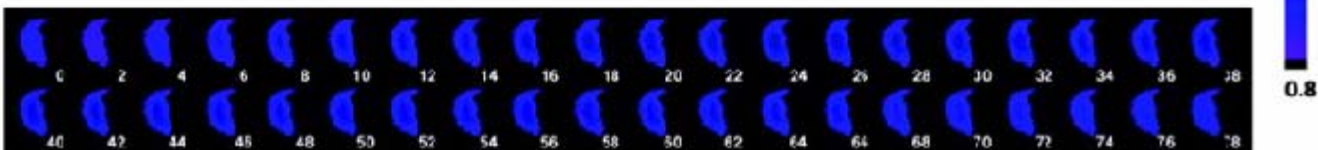
- Verificar si ocurre reacción acrosómica en presencia ($PLC\delta 4^{+/+}$) y ausencia ($PLC\delta 4^{-/-}$) de PLC.
- Se marcan con SBTI, el cual se une a la acrosina remanente una vez acontecida la RA.

Resultados

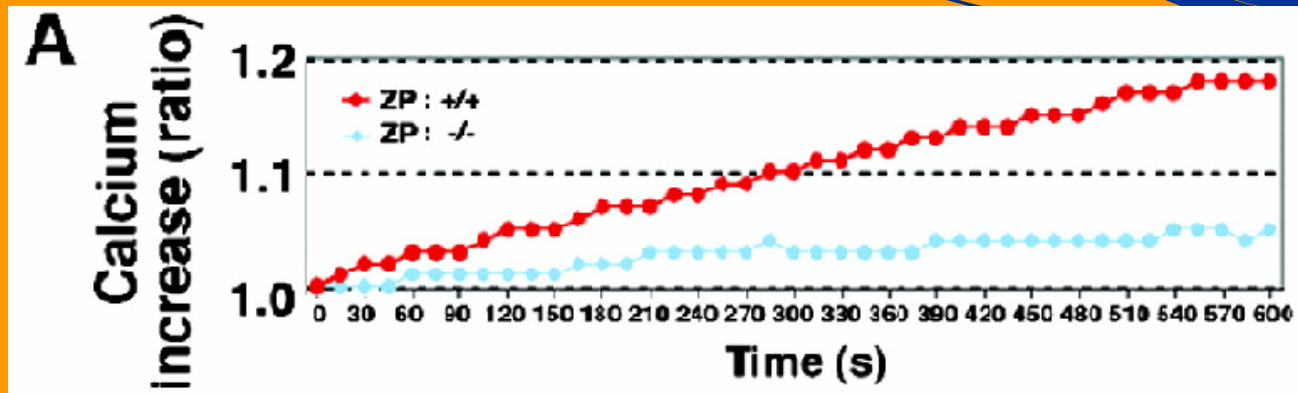
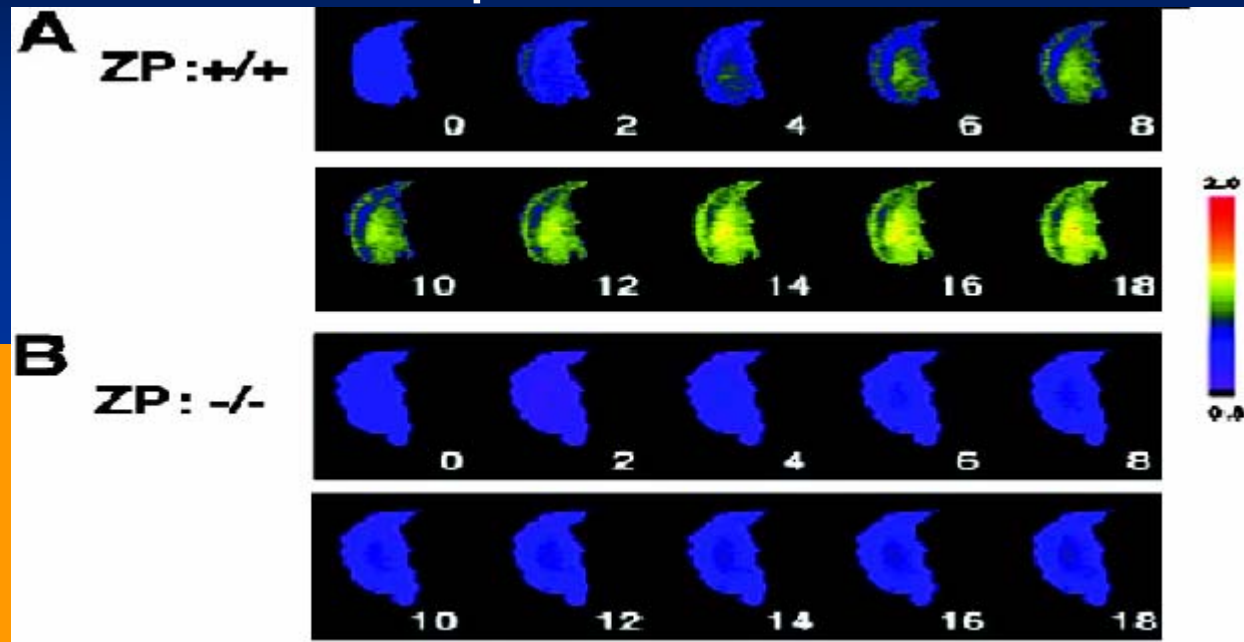


Experimento 2

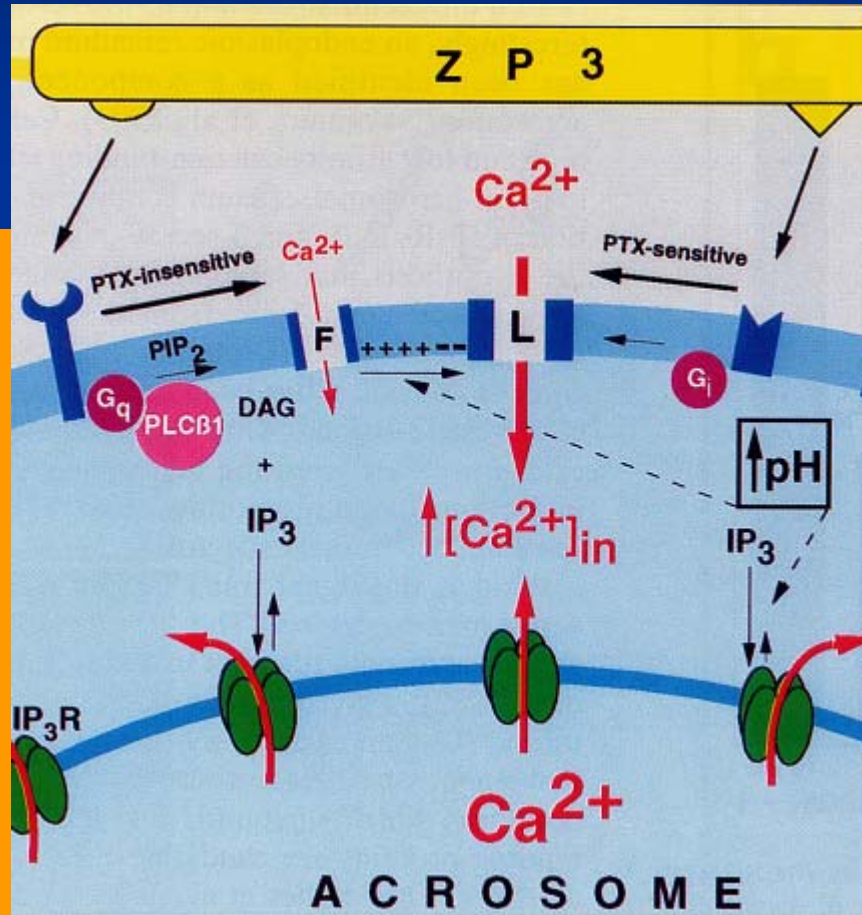
- Analizar la influencia de PLC en la movilización del calcio intracelular.
- Se carga con una sonda (Fluo 4) para Ca^{++} la cual fluoresce al entrar en contacto con el ión.

A**B****+/+****-/-****A****ZP:+/+****B****ZP:-/-**

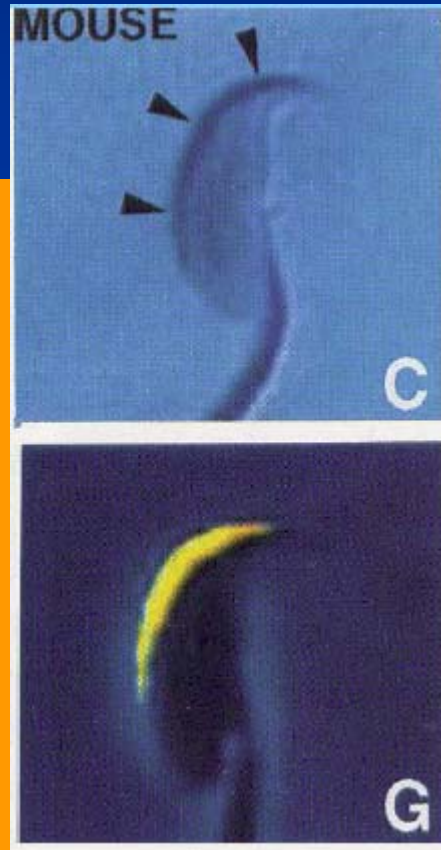
Como se mueve el calcio en el espermatozoide



El Acrosoma como depósito de Calcio Intraespermático



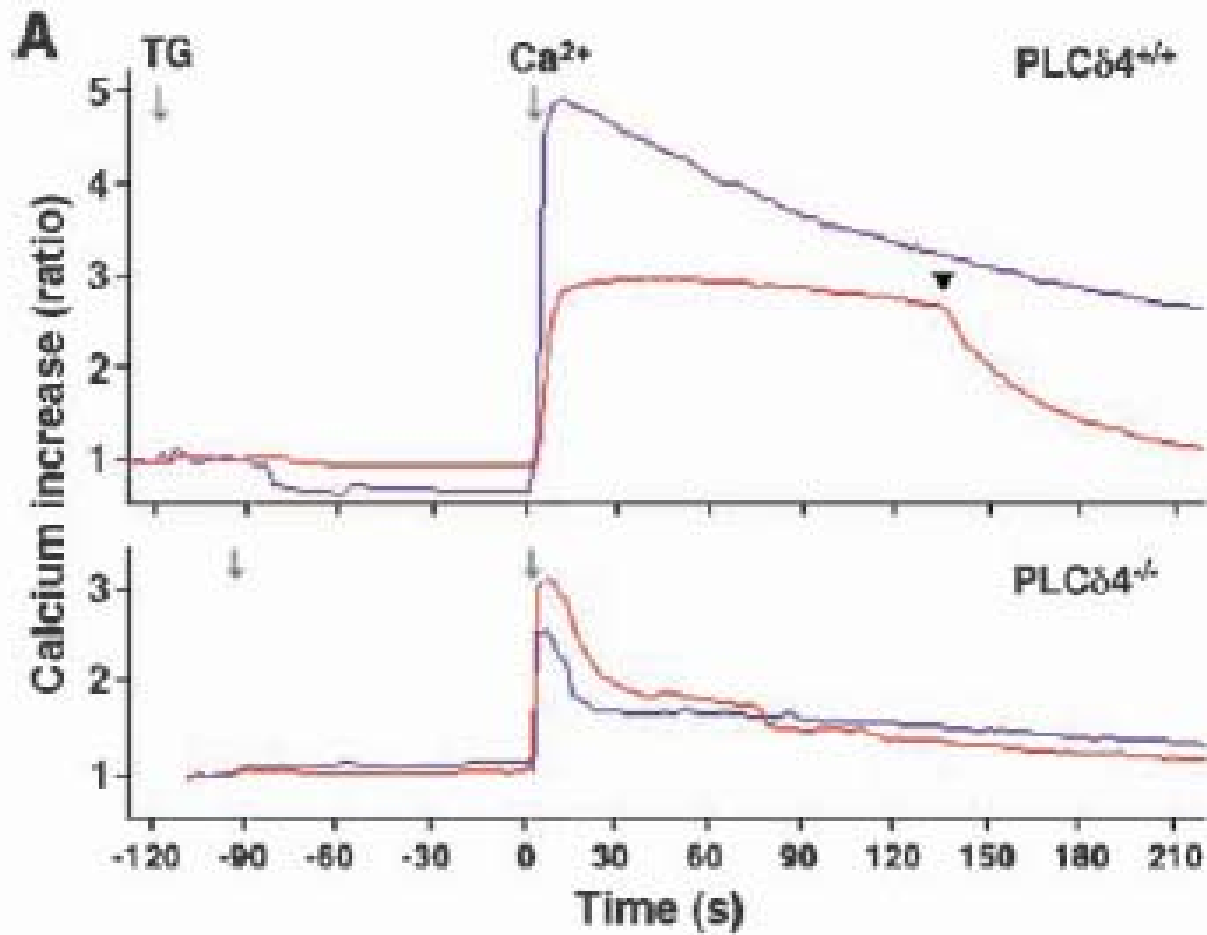
Localización de Receptores de IP_3 en Espermatozoides



Experimento 3

- Ver como el PLC δ 4 induce la actividad del SOC
- Se expone a TG, lo que provoca un vaciamiento de la reserva calcica intracelular, luego se adiciona calcio extracelular
- Se observan marcadas diferencias entre PLC δ 4^{+/+} y PLC δ 4^{-/-}

SOC



Conclusiones

- El flujo de Ca^{+2} tiene un rol importante en RA
- Ausencia de PLC δ 4 provoca un impedimento en la liberación de Ca^{+2} en presencia de ZP
- Se puede concluir que ZP tiene importancia en la liberación de calcio desde los depósitos y en el consecuente ingreso del ión desde el medio extracelular a través de SOC
- En los +/- y ZP se induce la RA por inducción de liberación de calcio, induce un aumento de Ca^{+2} intracelular desde la región del acrosoma y se extiende al resto del espermatozoide
- PLC δ 4 es responsable de la generación de Ip3 y de la movilización desde el acrosoma de Ca^{+2} , (la evidencia de eso está en que en -/- ZP casi no indujo movimiento de Ca^{+2})

