

# GLOBOZOOSPERMIA INDUCIDA MEDIANTE MICROINYECCIÓN INTRATESTICULAR DEL ANTICUERPO ANTI-GOPC

Bizkarguenaga Maider<sup>1</sup>, Gianzo Marta<sup>1</sup>, Gómez-Santos Laura<sup>1</sup>, Madrid Juan F<sup>2</sup>, Sáez Francisco J<sup>1</sup> y Alonso Edurne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Celular e Histología. Facultad de Medicina y Odontología.

Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU. España.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Celular e Histología. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. España.



## INTRODUCCIÓN

La globozoospermia es un tipo de esterilidad masculina que se caracteriza por la presencia de espermatozoides con cabezas redondeadas y biogénesis defectuosa del acrosoma<sup>[1]</sup>. Se puede obtener el fenotipo globozoospermico eliminando un único gen, como el *gopc*. Su delección se identifica por la forma redondeada de las cabezas de sus espermátidas, debido a un deficiente transporte y fusión de las vesículas proacrosómicas entre el complejo de Golgi y el núcleo durante la espermiogénesis<sup>[2,3]</sup>.

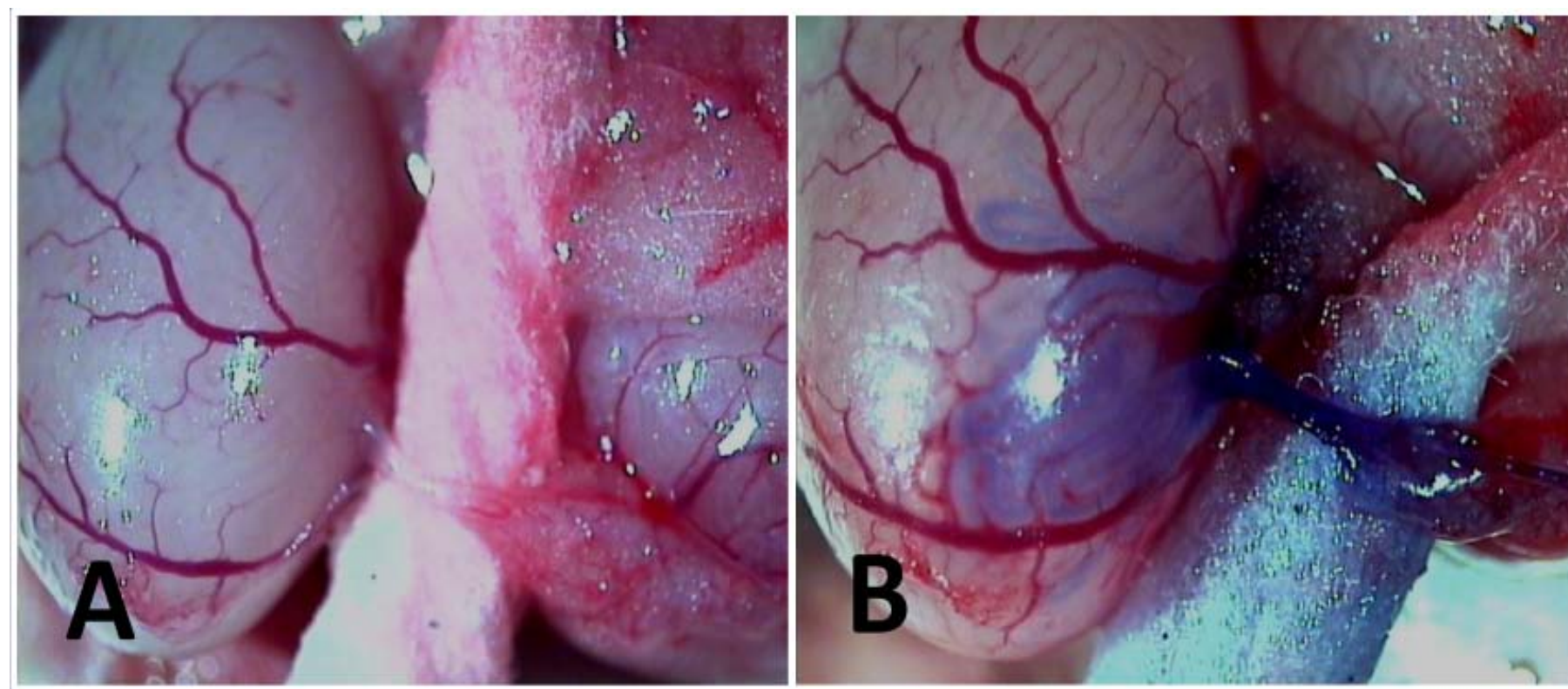
Para su estudio se utilizan ratones knockout, modelos animales donde la eliminación del gen diana se da en todas las células. Dado que estos ratones tienen una alta letalidad y serios efectos sistémicos, una alternativa es la microinyección, únicamente en los túbulos seminíferos de los ratones, de un anticuerpo específico para la interrupción de la actividad de la proteína GOPC, implicada en la biogénesis del acrosoma.

### OBJETIVO GENERAL

Validar el método de microinyección de un anticuerpo anti-GOPC en los testículos de ratones con genotipo silvestre para obtener el fenotipo globozoospermico.

## METODOLOGÍA

La microinyección de la solución de anti-GOPC se realizó a través de los conductos eferentes.



**Fig 1.** Proceso de microinyección a través de los conductos eferentes. **A:** Se observa el testículo, el epidídimo y los conductos eferentes, zona elegida para llevar a cabo la microinyección. **B:** Durante la microinyección, se observa como se van llenando los túbulos seminíferos (en azul).

A los 35 días, se extrajeron los testículos, se fijaron en Bouin y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes de 4µm de grosor.

La Tinción del Ácido Periódico-Schiff sirvió para localizar los glicoconjugados acrosómicos en la línea germinal.

Se localizaron por inmunohistoquímica las proteínas acrosómicas Sp56, GCNF y FNDC3A.

### LITERATURA CITADA

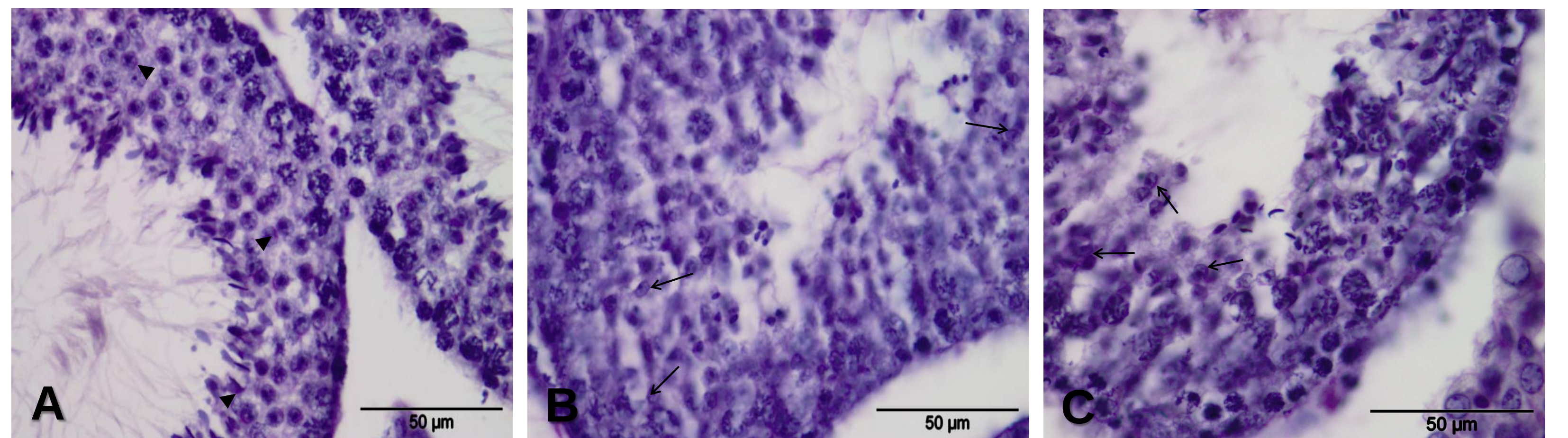
- <sup>[1]</sup> Dam AH, Feenstra I, Westphal JR, Ramos L, Van Golde RJ, Kremer JA. Human Reproduction Update, 13: 63-75. 2007.  
<sup>[2]</sup> Yao R, Ito C, Natsume Y, Sugitani Y, Yamanaka H, Kuretake S, Yanagida K, Sato A, Toshimori K, Noda T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 11211-11216. 2002.  
<sup>[3]</sup> Ito C, Suzuki-Toyota F, Maekawa M, Toyama Y, Yao R, Noda T, Toshimori K. Archives of Histology and Cytology, 67: 349-360. 2004.

### AGRADECIMIENTOS

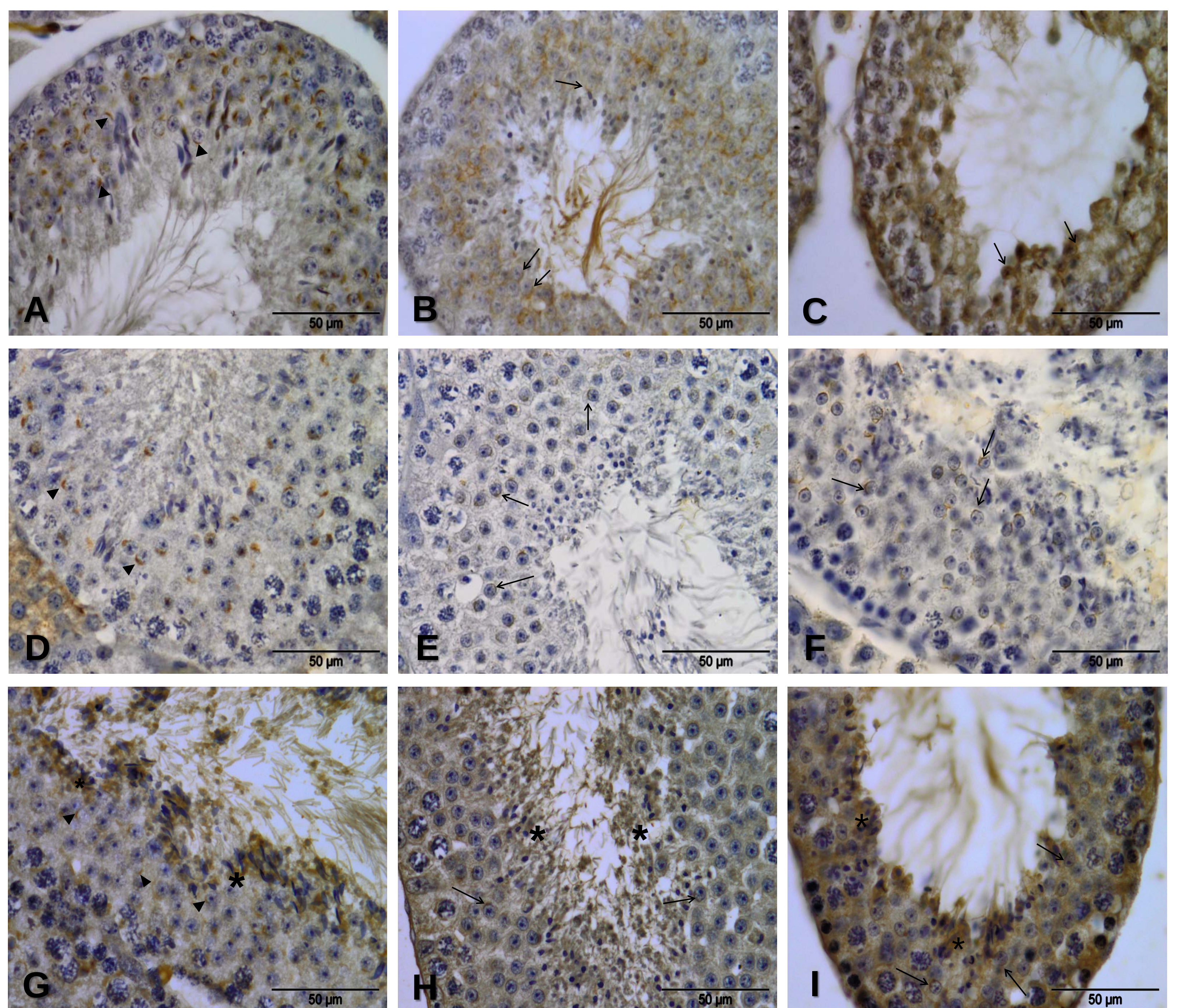
- Trabajo financiado por el Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad del Gobierno Vasco (SAIOTEK S-PE12UN010).  
► Los ratones Knockout GOPC (No. RBRC01253) fueron suministrados por RIKEN BRC mediante el National Bio-Resource Project del MEXT, Japón, con la autorización del prof. T. Noda.  
► Agradecemos el trabajo técnico realizado por MJ Fernandez y MJ Aldasoro.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La localización y distribución de glicoconjugados y proteínas acrosómicas entre los ratones knockout GOPC<sup>-/-</sup> y ratones con globozoospermia inducida por microinyección fue similar.



**Fig. 2.** Examen histológico y Tinción PAS. En las tres muestras la estructura de los túbulos seminíferos, así como la morfología de la región basal (células de Sertoli, espermatogonias y espermatocitos) se mantiene intacta, las variaciones tanto morfológicas como numéricas corresponden a las espermátidas. La distribución de glicoconjugados observada mediante la tinción de PAS apareció compacta, mediante un intenso marcaje (cabezas de flecha), en las espermátidas de ratones de genotipo silvestre (A). Tanto en los knockout GOPC<sup>-/-</sup> (B), como en los ratones microinyectados (C) la tinción en la región acrosómica se reveló muy tenue y dispersa en la región perinuclear de las espermátidas (cabezas de flecha).



**Fig. 3.** Localización inmunohistoquímica de proteínas acrosómicas sobre secciones. **A, B y C** localización de Sp56; **D, E y F** localización de GCNF; **G, H e I** localización de FNDC3A. La distribución de proteínas acrosómicas en ratones de genotipo silvestre (**A, D y G**) fue localizada compacta en los acrosomas en formación de las espermátidas redondas (cabezas de flecha). En ratones knockout GOPC<sup>-/-</sup> (**B, E y H**) y en ratones microinyectados con anti-GOPC (**C, F e I**) las proteínas presentaron una amplia distribución extendida y dispersa a lo largo de la región perinuclear (flechas). La proteína FNDC3A en las tres muestras estudiadas (**G, H e I**) también apareció localizada en los restos citoplasmáticos de las espermátidas alargadas (asteriscos).

## CONCLUSIONES

La microinyección a través de los conductos eferentes de un anticuerpo anti-GOPC altera la formación del acrosoma, como sucede en el fenotipo globozoospermico.

La microinyección intratesticular de anticuerpos en ratones puede ser una alternativa frente a los ratones knockout.