

## Aspectes citològics de la reproducció humana

per L. Freixa, M. García, F. Vidal

Tant la gametogènesi —que com el seu nom indica és el procés pel qual s'arribaran a formar els gàmetes masculins i femenins— com la fecundació són força complexos perquè hi intervenen diversos canvis morfològics i fisiològics en l'estructura cel·lular, l'acció de diferents mecanismes i la regulació general de tot l'organisme.

Lourdes Freixa i Solé (L'Hospitalet, 1957), llicenciada en ciències, professor ajudant de la Facultat de Ciències de la U.A.B.

Montserrat García i Caldés (L'Hospitalet, 1948), doctora en ciències, professor adjunt de la Facultat de Medicina de la U.A.B.

Francesca Vidal i Domínguez (Barcelona, 1954), doctora en ciències, professor col·laborador de la Facultat de Veterinària.

### Introducció

En l'espècie humana, i també en tots els organismes amb reproducció sexual, la formació d'un nou ésser requereix un procés de fecundació en el qual s'esdevé la fusió d'un gàmeta masculí (*espermatozoide\**) i un altre de femení (*oòcit*), per donar lloc al zigot.

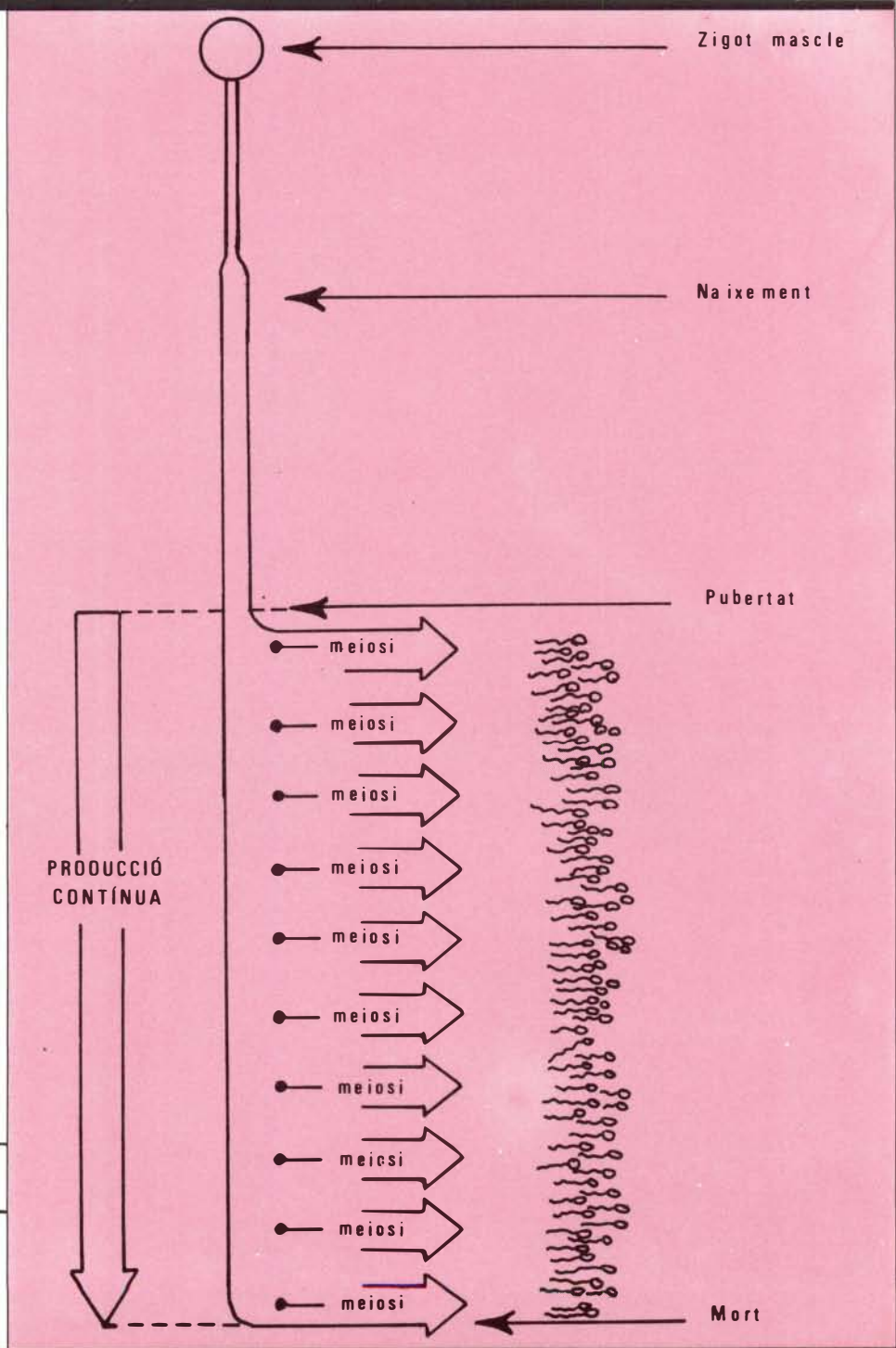
Aquesta cèl·lula, que per successives divisions mitòtiques generarà totes les cèl·lules del nou individu, té 46 cromosomes: 23 d'aportats pel pare a través de espermatozoide i 23 per la mare mitjançant l'oòcit. D'aquesta manera, cadascun de nosaltres hem rebut la informació genètica dels nostres pares a través dels cromosomes a on es troben els gens responsables de totes les nostres característiques fenotípiques.

Ambdós tipus de gàmetes, masculí i femení, es formen a partir de cèl·lules germinals menys diferenciades anomenades, respectivament, espermatogonis i oogonis, situades en testicles i ovaris, mitjançant dos processos coneguts com *espermatogènesi* i *oogènesi*.

En ambdós processos de formació dels gàmetes té lloc la *meiosi*. Per què cal aquest tipus de divisió especialitzada que, a més, sols presenten les

\* Anomenat també espermatozou.

Figura 1.  
Esquema de l'espermatogènesi, on s'observa la producció contínua de les cèl·lules germinals.



Zigot femella

Naixement

Pubertat

Menopausa

Mort

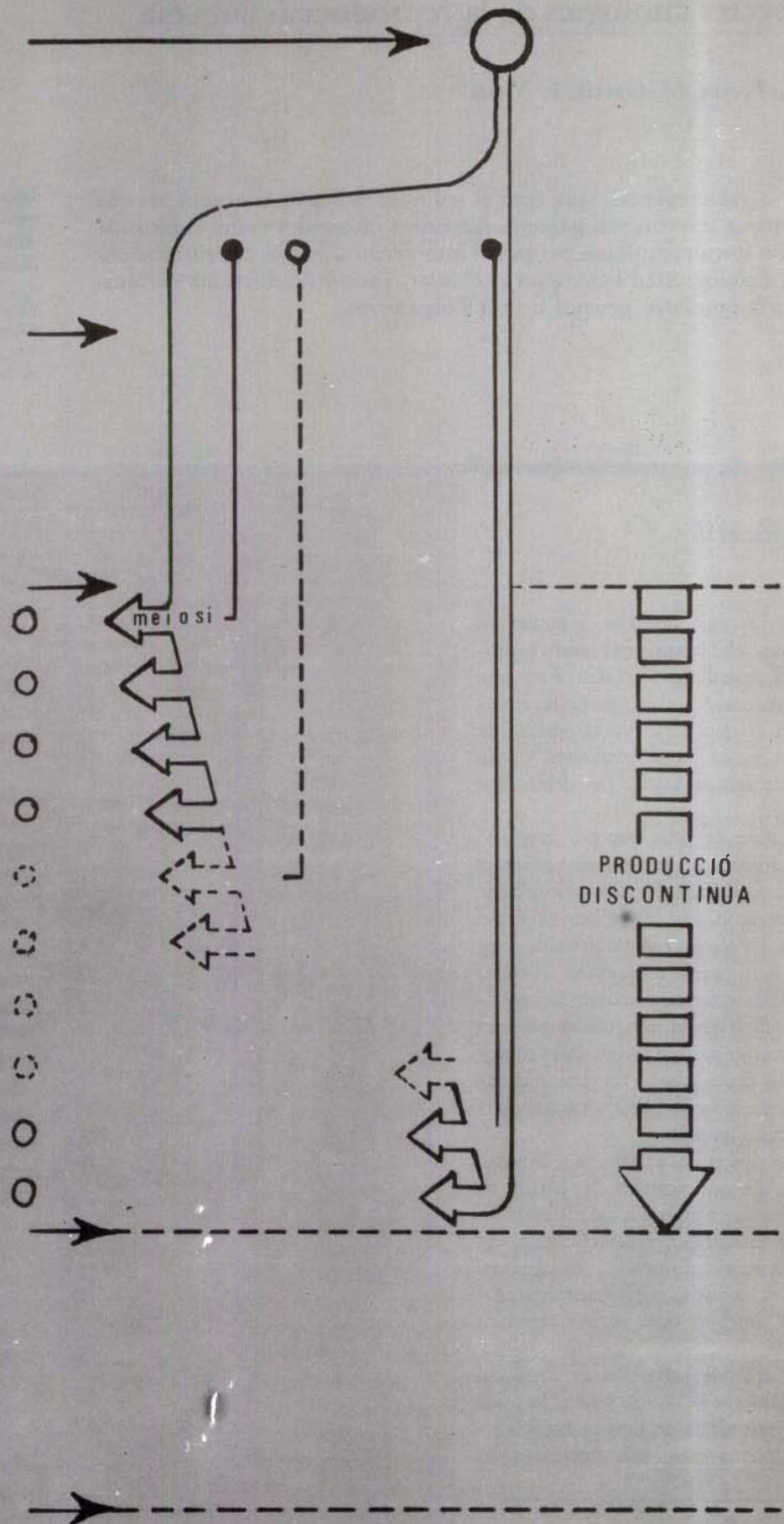


Figura 2  
Esquema de l'oogènesi, on s'observa la producció discontinua de les cèl·lules germinals.

TESTICLE

OVARI

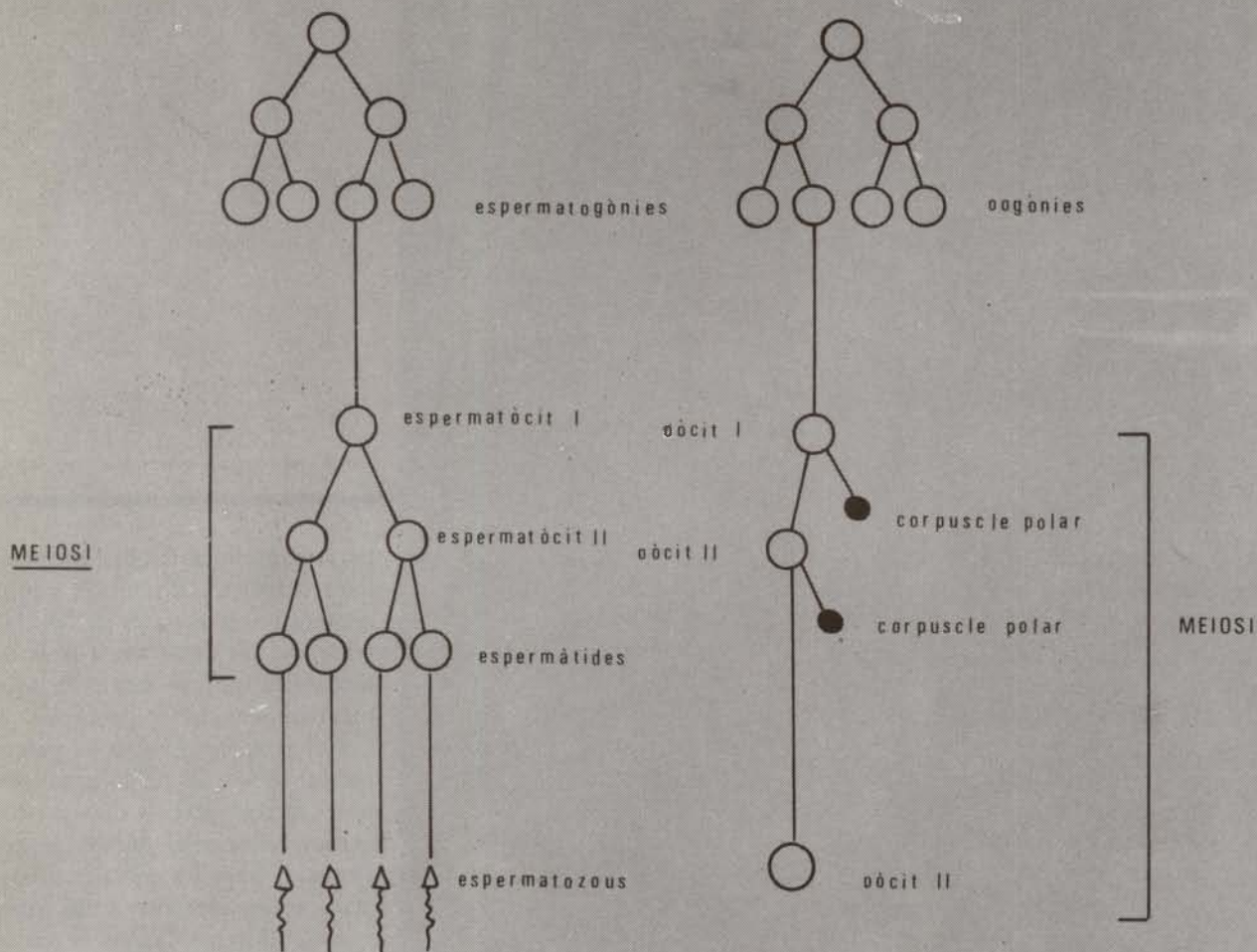


Figura 3.  
Comparació dels processos de l'espermato-genèsi (a) i l'oogè-nesi (b).

cèl·lules germinals? Mentre que la mitosi (procés de divisió de les cèl·lules somàtiques) dona lloc a noves cèl·lules idèntiques a si mateixes, a través de la meiosi seran assolits dos objectius essencials per a l'espècie. D'una banda, una reducció del nombre cromosòmic present en cèl·lules somàtiques (diploides), cosa que produirà cèl·lules haploides (gàmetes), tot evitant que la fusió dels nuclis dels gàmetes durant la fecundació produeixi una duplicació de cromosomes en cada generació de l'espècie. D'altra banda, serà assegurada una variabilitat gènica (que provocarà una variabilitat fenotípica) essencial perquè es produeixin canvis evolutius relativament ràpids.

Quins mecanismes permeten d'obtenir aquests dos objectius? La reducció del nombre de cromosomes és

possible gràcies al fet que en la meiosi es donen dues divisions consecutives del nucli: primera i segona divisió meiotiques, entre les quals no s'esdevé síntesi d'ADN.

La variabilitat gènica s'aconsegueix mitjançant l'intercanvi de fragments cromosòmics d'origen matern i patern durant la meiosi. Aquest procés es coneix amb el nom de "recombinació" i és el principal generador de variabilitat, palesat en el fet que els descendents no són idèntics als seus progenitors ni idèntics entre si, encara que sí que poden presentar caràcters comuns.

### Espermato-genèsi

**L'**espermatogènesi és un procés en el qual cèl·lules germinals poc diferenciades, els *espermatogonis*, donen lloc a cèl·lules altament especia-

litzades, mòbils i haploides, els *espermatozoides*. Aquest procés és complex, continu i dinàmic i inclou processos de diferenciació i divisió cel·lular (fig. 1, 3a). Comença a la pubertat sota influències hormonals i es realitza en els túbuls seminífers localitzats en el testicle. L'espermato-genèsi se sol dividir en tres fases: una primera etapa en la qual els espermatogonis proliferen i donen lloc, mitjançant mitosi, a un nou tipus de cèl·lules més diferenciades anomenades espermatòcits; una segona fase en la qual aquests espermatòcits es divideixen mitjançant meiosi i generen cèl·lules haploides o *espermatides* i una tercera fase, anomenada *espermio-genèsi* on les espermatides experimenten una sèrie de transformacions citològiques complexes fins a convertir-se en *espermatozoides*, canvis dirigits principalment a la pèrdua de pes i volum cel·lular per tal d'adquirir una forma hidrodinàmica que faciliti el seu desplaçament. Totes aquestes transformacions impliquen, entre d'altres, la pèrdua de material i òrgans citoplasmàtics (ribosomes, aparell

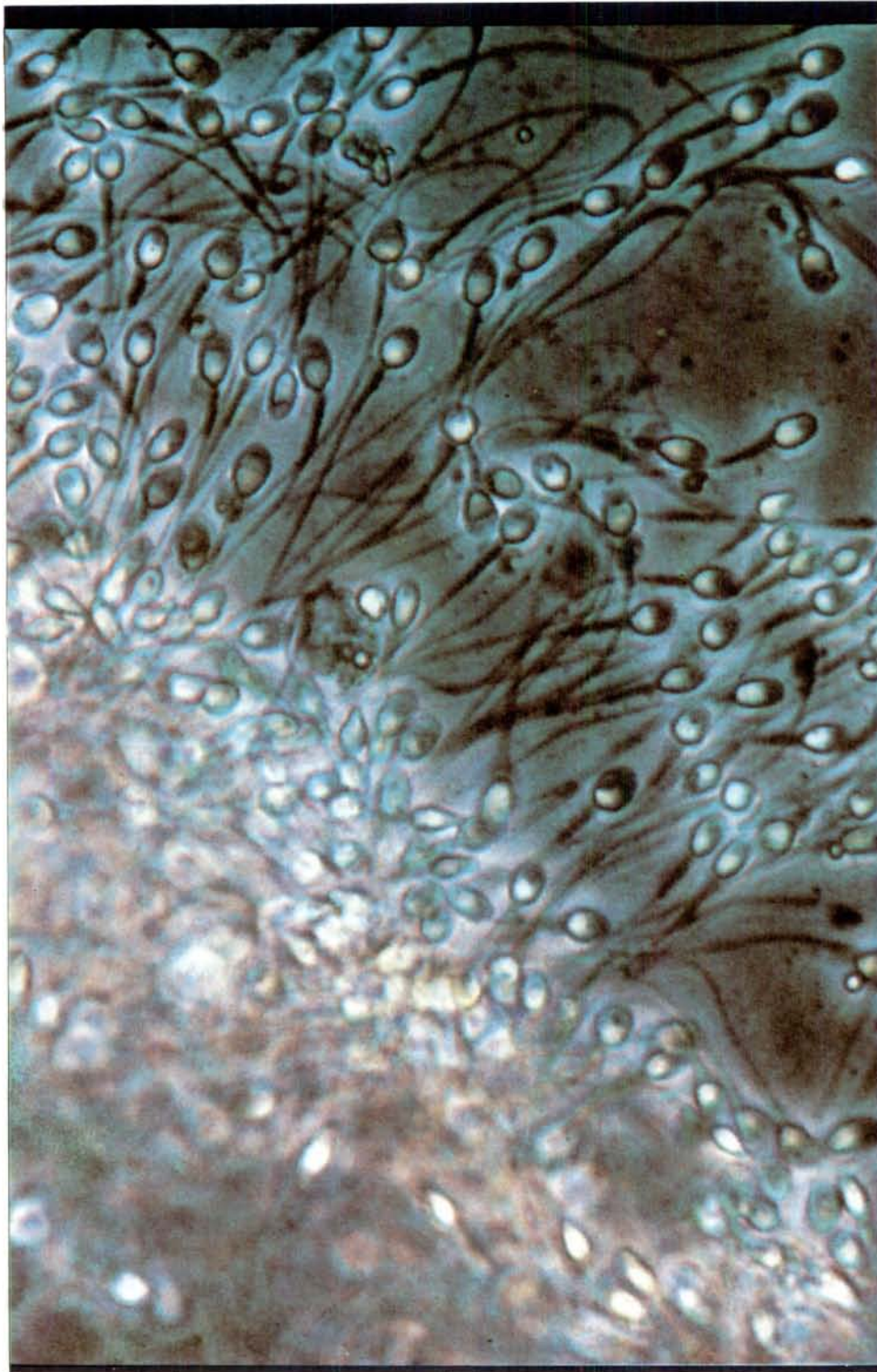


Fig. 4

Grup d'espermatozoides movent-se al moc cervical.

de Golgi,...), que ja no seran necessaris per a la missió de l'espermatoide, l'adquisició d'un flagel que servirà per a la seva propulsió, la formació d'una vesícula secretora anomenada acrosoma, plena d'enzims hidrolítics, que ajudarà a la penetració de l'oòcit, i una forta condensació del material genètic (ADN) del nucli de l'espermatoide.

Quan els espermatozoides arriben a tenir la seva forma definitiva, hom hi pot distingir dues regions diferents, funcionalment i morfològica, envoltades per una mateixa membrana plasmàtica (fig. 5,6): el *cap*, amb el nucli i l'acrosoma que l'embolcalla com un

caputxó i una llarga *cua*, formada principalment pel flagel i nombroses mitocondries estratègicament situades que aportaran el requeriment energètic necessari per al desplaçament de l'espermatozoide. En aquest punt, els espermatozoides, completament formats però encara immòbils, són lliurats a la llum dels túbuls seminífers.

Els diferents tipus cel·lulars descrits, espermatogonis, espermatoïcits, espermàtides i espermatozoides, es troben situats en el mateix ordre entre la perifèria i la llum dels túbuls seminífers, de manera que els espermatogonis són les cèl·lules més properes a la membrana basal, mentre que els es-

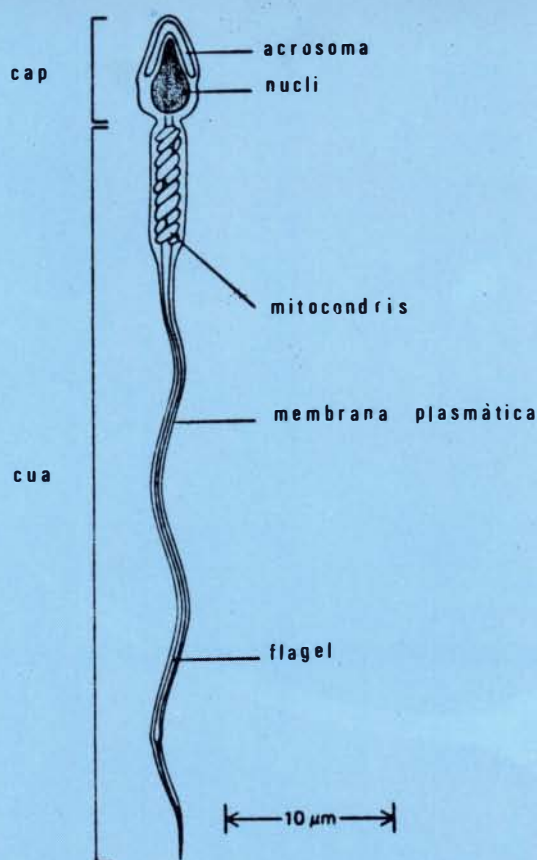
permatozoides es troben propers a la llum del túbul. Els túbuls seminífers contenen a més a més de les cèl·lules *germinals*, les de *Sertoli*, i és la missió d'aquestes últimes servir de suport i manteniment de les germinals.

Cal remarcar que en el procés espermatogènic, les cèl·lules no són capaces de completar la divisió citoplasmàtica (citocinesi) durant la meiosi. Per tant, totes les cèl·lules filles queden connectades per ponts citoplasmàtics. Aquests ponts persisteixen fins al final de la diferenciació espermatòica i fins que els espermatozoides són lliurats als túbuls seminífers. Això significa que la progènie d'un mateix espermatogoni manté una continuïtat citoplasmàtica tot al llarg de la seva diferenciació (fig. 7).

La durada de l'espermatogènesi es considera com l'interval entre l'aparició d'uns espermatogonis determinats i l'alliberació dels espermatozoides que es produeixen a partir d'ells. Els espermatogonis inicien l'espermatogènesi a intervals fixos cada 16 dies. Quan un grup d'espermatogonis, simultàniament, ha passat a l'estat d'espermatoïcit, les cèl·lules es mouen cap a la llum del túbuls i formen una nova generació de cèl·lules en el mateix estadi. Quan la primera generació d'espermatozoides s'allibera, una nova generació pren el seu lloc a la perifèria. Abans que es completi una sèrie d'espermatogènesi, una altra s'inicia en el mateix lloc del túbul.

Després d'ésser lliurats a la llum dels túbuls seminífers, els espermatozoides són traslladats a l'epidídim, un tub extremadament llarg i contornejat situat sobre els testicles, a on, a més a més d'ésser emmagatzemats fins al

Fig. 5  
Esquema d'un espermatozoide humà.



moment de l'ejaculació, van adquirir una progressiva mobilitat degut a canvis bioquímics provocats per secrecions cel·lulars de l'epidídim, procés anomenat *maduració*.

La durada exacta de tot el procés és difícil de calcular degut a la dificultat de determinar el moment exacte en què els espermatogonis comencen a dividir-se i el moment en què els espermatozoides són alliberats de l'epiteli germinal. Totes les dades fan pensar, però, que la durada aproximada de l'espermatogènesi en l'home és de 75 dies. Posteriorment té lloc el transport dels espermatozoides a l'epidídim, estimat en 8-17 dies i queden acumulats fins al moment de l'ejaculació, a on, en condicions normals, el nombre d'espermatozoides alliberats és superior als 40 milions per mil·límetre d'ejaculat.

## Oogènesi

Contràriament a l'espermatogènesi, que es produeix ininterrompudament a partir de la pubertat, l'oogènesi és un procés discontinu que comença durant les primeres etapes del desenvolupament embrionari, es bloqueja abans del naixement i recomença periòdicament un cop assolida la pubertat, fins arribar a la menopausa, en la qual aquest procés s'atura (fig. 2, 3b).

En la novena setmana del desenvolupament embrionari, les cèl·lules ger-

minals de l'ovari proliferen i produeixen, vers la 12a-13a setmana, les *oogònies*, les quals, després de diverses divisions mitòtiques, es diferencien en *oòcits I*. Al voltant de la 13a-20a setmana, els oòcits I comencen la primera divisió meiótica, presenten un bloqueig (inexistent en la línia germinal masculina), que consisteix en una fase de repòs de llarga durada (10 a 50 anys). Els oòcits I es rodegen d'una sola capa de cèl·lules somàtiques, les cèl·lules fol·liculars, i constitueixen en conjunt el *fol·licle primordial* (fig. 8). L'oòcit I creix ràpidament en relació amb el fol·licle per síntesi i emmagatzemament de proteïnes pròpies i de les procedents de les cèl·lules fol·liculars, que seran emprades pel zigot en les primeres divisions abans que tingui lloc la seva implantació. Degut a aquesta acumulació en el citoplasma, el nucli se situa en una posició excèntrica. Un cop l'oòcit I ha assolit el diàmetre màxim, les cèl·lules fol·liculars proliferen en diverses capes i formen un *fol·licle jove* (fig. 8). El nombre d'oòcits ja està determinat en el moment del naixement. Els factors que determinen la proliferació de les cèl·lules antecessores dels oòcits i l'inici de la meiosi en aquests darrers

encara romanen desconeguts. Sembla ser que les cèl·lules fol·liculars són les responsables de la síntesi d'un factor inhibidor de la meiosi que determina el seu bloqueig.

A partir de la pubertat, i sota l'estímul hormonal, s'activa el recomençament de la meiosi. A partir d'aquest moment, la dona és fèrtil. Durant la fase fol·licular del cicle menstrual, maduren un grup de fol·licles i es produeix un fol·licle madur o *fol·licle de Graaf* cada 28 dies (fig. 8). Les cèl·lules que formen el fol·licle proliferen i segreguen el líquid fol·licular que s'acumula en l'antre del fol·licle, i desplaça l'oòcit del centre. Dins el fol·licle de Graaf, l'oòcit I acaba la primera divisió meiótica. Degut a la posició excèntrica del nucli, el resultat d'aquesta divisió són dues cèl·lules de grandària diferent: una cèl·lula voluminosa que conté la major part del citoplasma, l'*oòcit II* i una cèl·lula petita, el *primer corpuscle polar* (fig. 3b). L'oòcit II comença la segona divisió meiótica i presenta un nou bloqueig en la metafase de la segona divisió meiótica. En aquest moment té lloc l'*oocitació*, anomenada incorrectament ovulació, que es produeix aproximadament el dia 14 del cicle. El primer

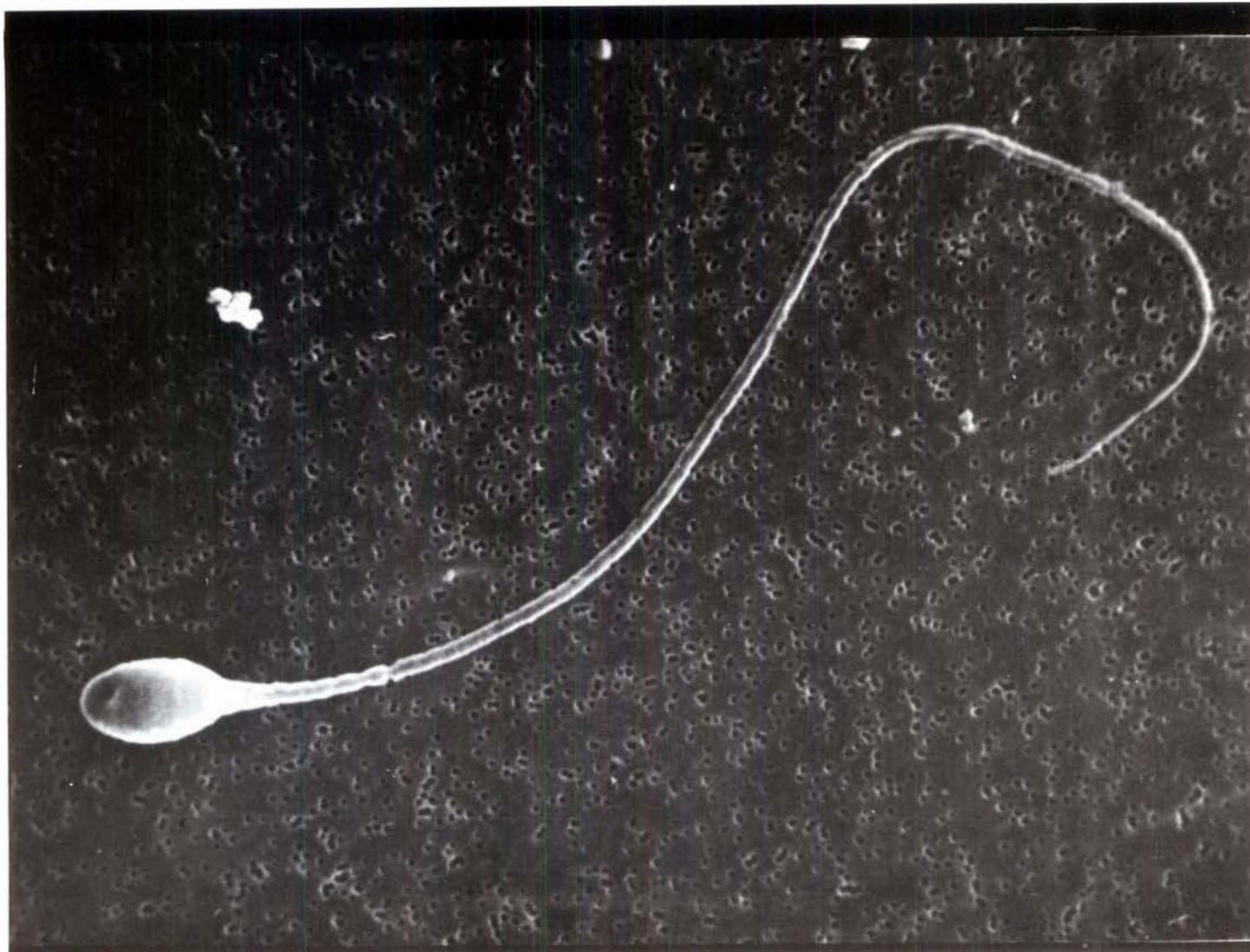


Fig. 6

Fotografia al microscopi electrònic de rastreig d'un espermatozoide humana (4.367x), cedida pel Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

corpuscle polar pot o no dividir-se. Amb l'oocitació, l'oòcit II surt del fol·licle, va a parar a la *trompa de Fal·lopi* i es desplaça vers l'úter (fig. 8).

L'oòcit II està rodejat per una capa externa de naturalesa glucoproteica, la *zona pel·lúcida*, separada de la membrana de l'oòcit II per un espai, l'*espai perivitel·lí*, on es localitza el corpuscle polar. La membrana cel·lular de l'oòcit II presenta un sistema de microvel·lositats que s'estén per l'espai perivitel·lí. Immediatament per sota la membrana cel·lular es troben els *grànuls corticals*, de cabdal importància en la fecundació (fig. 9 a,b). Si no hi ha inseminació, l'oòcit II és eliminat o reabsorbit. Si hi ha inseminació, l'oòcit pot ésser fecundat. En el darrer cas, el fol·licle es transforma en el *cos luti* (fig. 8).

Cal assenyalar que, al contrari que en l'espermatoogènesi, en la qual els

quatre productes haploides de la meiosi són gàmetes funcionals, en l'oogènesi tan sols ho és un d'ells (fig. 3), l'oòcit II, el qual acabarà la segona divisió meiòtica únicament en cas que es produeixi la fecundació, i és la penetració de l'espermatozoide l'estímul que activa l'acabament d'aquesta divisió; amb la qual cosa l'oòcit fecundat expulsa el segon corpuscle polar. Les altres cèl·lules resultants de la meiosi, els corpuscles polars, no donen lloc a gàmetes funcionals. El terme òvul, emprat en fer referència al gàmet femení, és incorrecte, ja que aquesta cèl·lula no existeix com a tal.

## Fecundació

**E**n el procés de la fecundació cal tenir present l'existència d'uns primers passos considerats com inseminació: reconeixement de l'oòcit per part de l'espermatozoide, regulació de l'entrada dels espermatozoides en

l'oòcit i activació d'aquest. Serà després que podrem parlar de la fecundació pròpiament dita amb la unió dels dos nuclis cel·lulars per tal de formar un nucli diploide.

L'oòcit II, que encara no havia acabat la meiosi, un cop fora de l'ovari, és desplaçat per les trompes de Fal·lopi mitjançant els cilis del teixit que les revesteix, però sobretot gràcies a la intensa activitat muscular de la zona, que provocarà corrents.

És, aproximadament, quan ha recorregut un 50% del camí que la separava de la matriu (fig. 8), que pot succeir la fecundació.

Dels espermatozoides madurs que es troben en un nombre proper als  $150-200 \times 10^6$  en un ejaculat, n'arribarà un 1% al coll de la matriu i només una tercera part a la matriu ( $50-75 \times 10^4$ ). D'aquests, solament uns 200-500 aconseguiran de passar a la trompa, donat que la seva entrada constitueix una mena de filtre. Finalment, en condicions normals, només un interaccionarà amb la capsula gelatinosa (*zona pel·lúcida*) que embolcalla l'oòcit, tot iniciant el procés de la fecundació.

Fig. 7

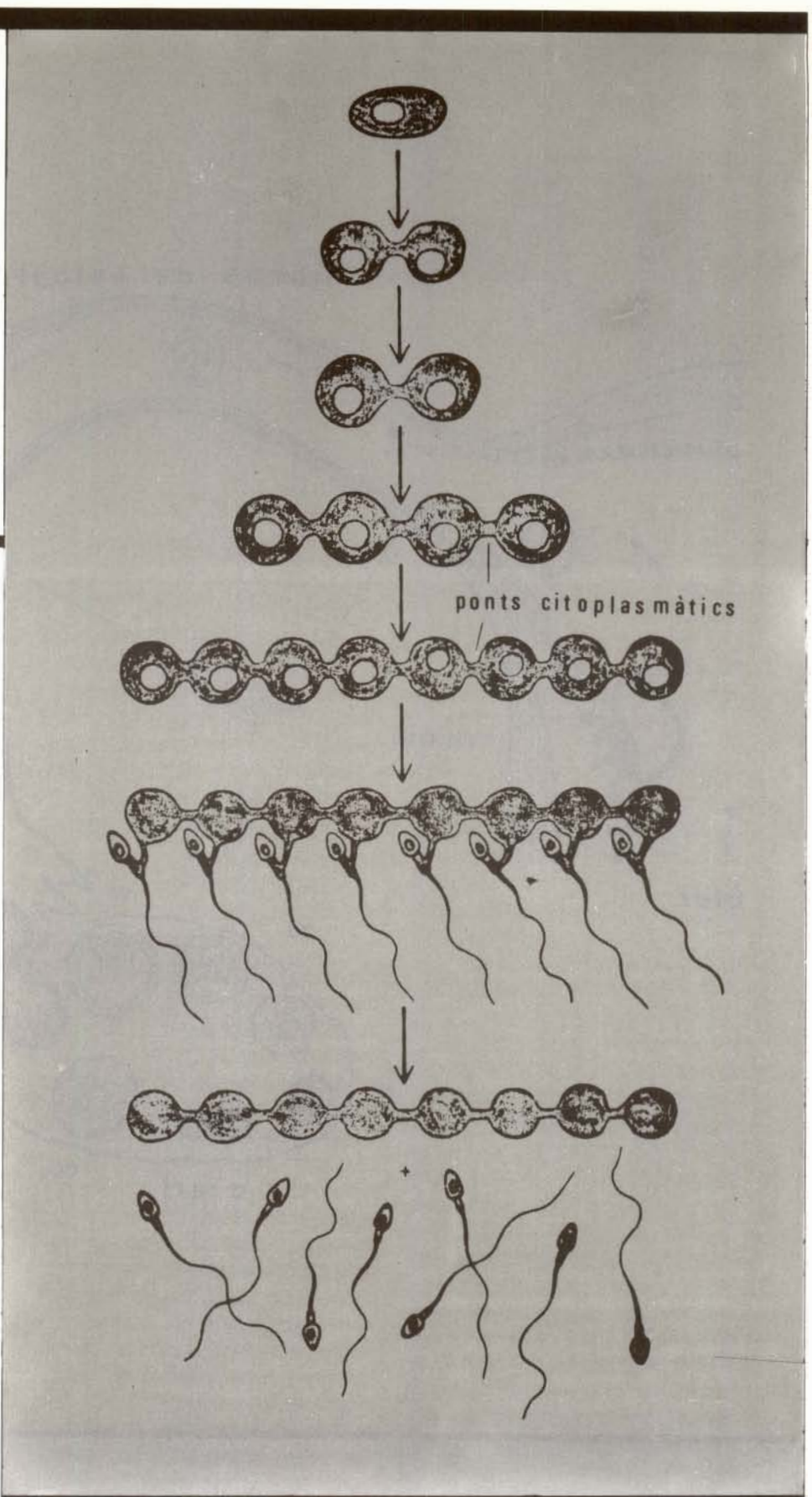
Esquema que il·lustra com la progenie d'un espermatogoni resta connectada per ponts citoplasmàtics al llarg de la seva diferenciació en espermatozoides.

En aquest recorregut dels espermatozoides per les vies genitals de la dona, no solament s'observa la reducció dràstica del seu nombre inicial sinó també un procés anomenat de *capacitació*: procés no específic, molt ràpid, que es pot inhibir amb hormones tipus progesterona i que sembla ser que va encaminat a provocar un canvi en les propietats físico-químiques de la membrana de l'espermatozoide (eliminació d'alguns antígens, pèrdua de càrregues elèctriques negatives, etc.) que li permetin de portar a terme correctament les seves funcions.

Un cop, doncs, l'òocit II arriba a l'entrada de l'Istme (fig. 8) i es troba amb un espermatozoide madur i capacitat podem parlar de *Reconeixement*: l'espermatozoide entra en contacte amb l'embolcall gelatinós de l'òocit i certes substàncies d'aquesta capa interaccionen amb la part del davant de la membrana de l'espermatozoide. Es tracta d'un procés específic (fig. 9a).

Tot seguit, es passa a la *Penetració*: s'obre l'acrosoma, sembla que no hi ha un alliberament total del seu contingut, però sí que es dona, en canvi, l'activitat d'un enzim de la mateixa membrana de l'acrosoma que permetrà l'avanç de l'espermatozoide per la zona pel·lúcida (fig. 9b).

Un segon després de l'ancoratge, hi ha un bloqueig a l'entrada d'altres espermatozoides gràcies a canvis en les concentracions d'ions íntimament relacionades amb canvis de potencials de membrana. Uns 20-25 segons després de la penetració hi haurà un segon bloqueig (reacció cortical), aquest cop provocat per l'alliberament en massa del contingut de les 15.000 petites vesícules (grànuls corticals) i que



provocarà, entre d'altres coses, la formació d'una membrana de fecundació com a barrera a més espermatozoides (fig. 9c). D'aquesta manera, doncs, i si tot funciona correctament, s'aconsegueix evitar la polispèrmia, és a dir, l'entrada de més d'un espermatozoide dins l'espai cel·lular de l'òocit.

Les membranes de l'espermatozoide i de l'òocit es van fusionant progressivament (fig. 9d), fins al punt que totes les estructures del primer són integrades en el citoplasma del segon al mateix temps que aquest, abaltit fins llavors, s'activa intensament. La reacció és tan immediata

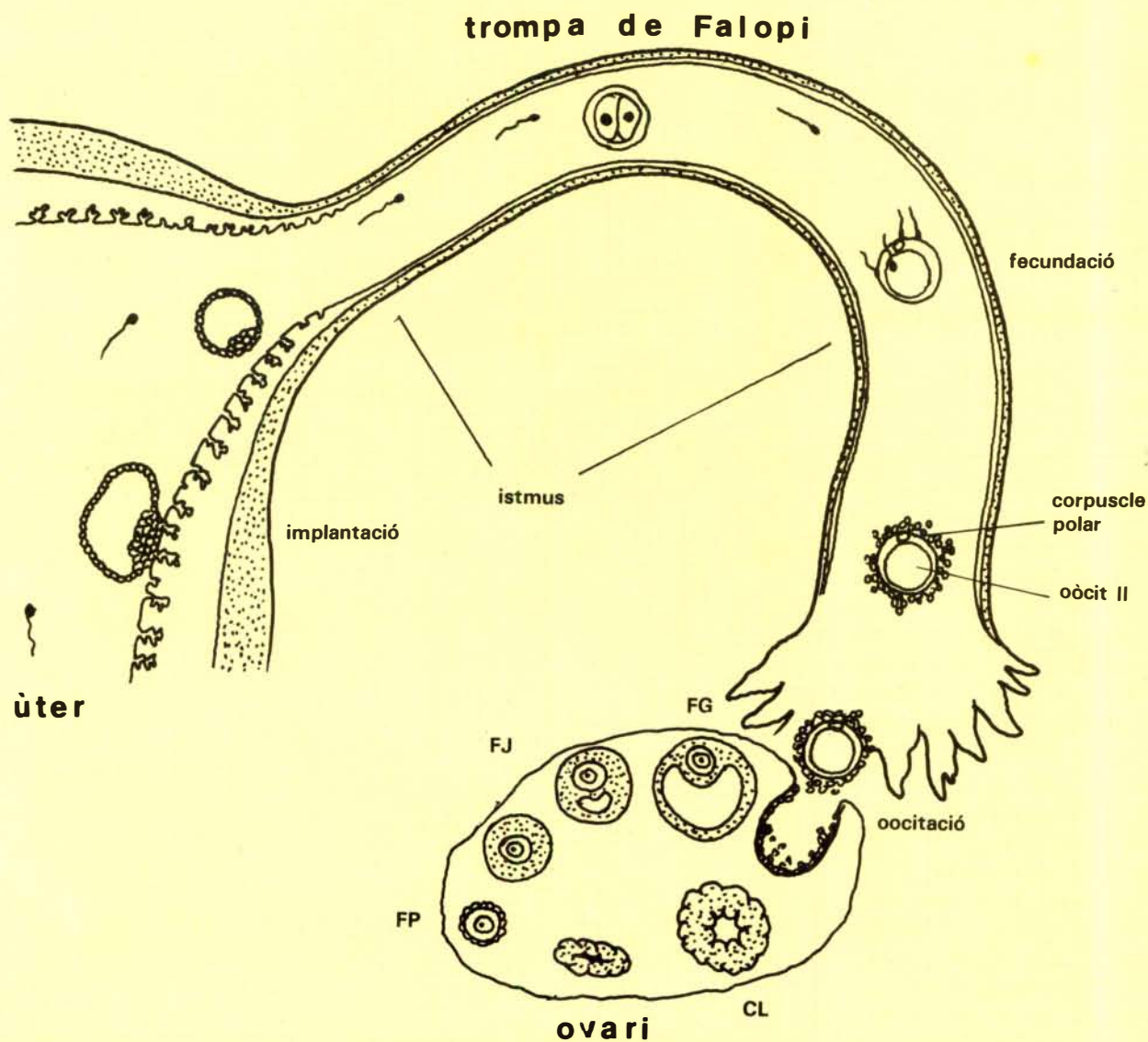


Fig. 8

Esquema de l'ovari, trompa de Fal·lopi i úter, on s'observen les relacions entre aquestes estructures i els diferents estadis de desenvolupament de l'oòcit i del zigot.

F.P. fol·licle primordial  
 F.J. fol·licle jove  
 F.G. fol·licle de Graaf  
 C.L. cos luti

que sembla probable que l'espermatozoide es limiti a engegar un programa que ja estava establert en l'oòcit.

L'oòcit acaba llavors la seva meiosi i, el nucli, tot fent-se més gros, s'arrodoneix (*pronucli femení*) i es desplaça vers el masculí, que també havia crescut una mica (*pronucli masculí*). Aquests dos pronuclis no es fusionen fins que han començat a dividir-se. Tenim, doncs, una cèl·lula ou que, en dividir-se, donarà lloc a les dues primeres cèl·lules de l'embrió. Aquestes

ja no pararan de dividir-se. Mentre tot això està passant, el desplaçament de què parlàvem abans, per les trompes de Fal·lopi, continua fins que es dona la implantació a les parets de la cavitat uterina (fig. 8).



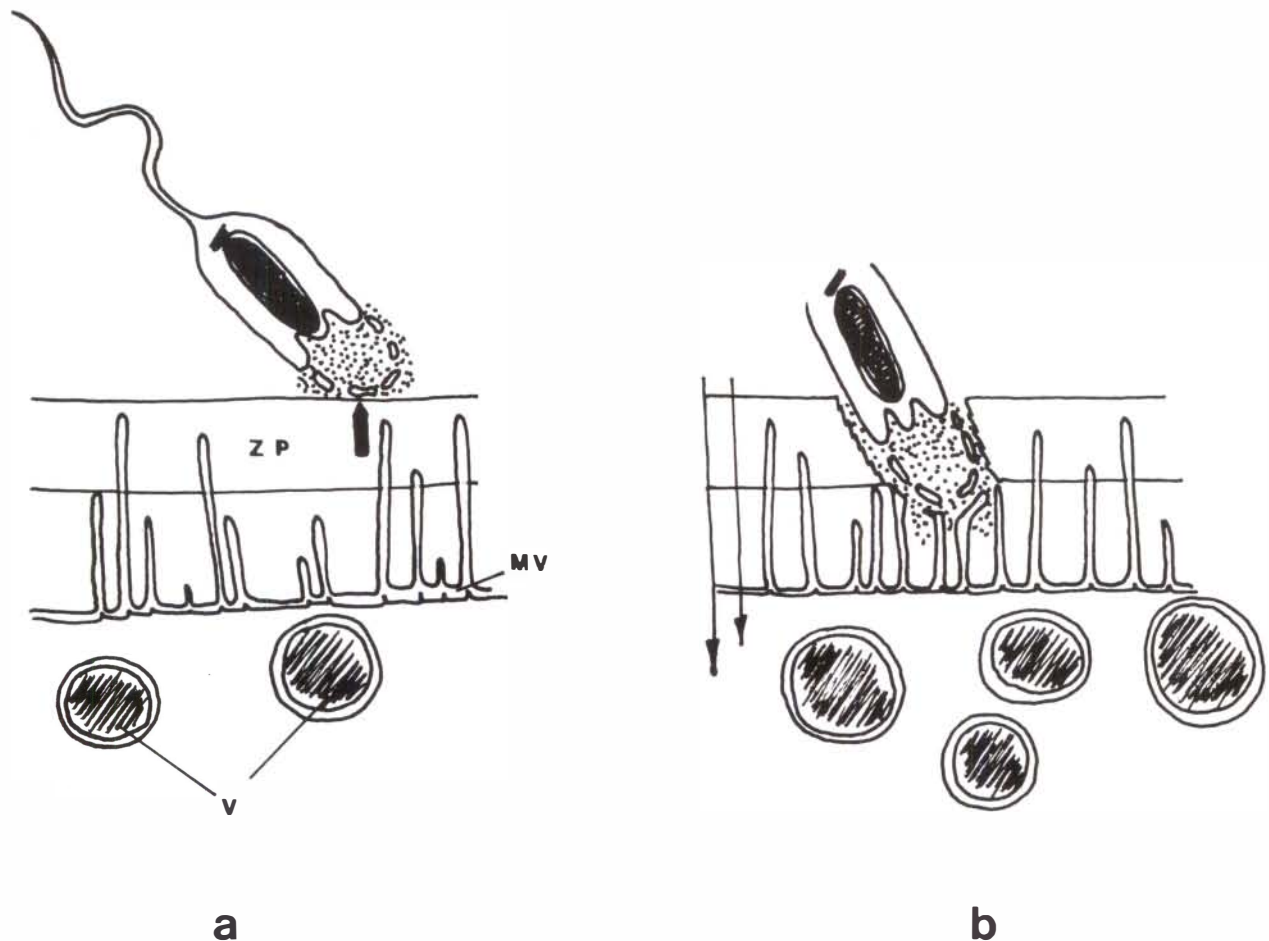


Figura 9

Representació dels processos d'inseminació (figures a, b i c) i de fecundació (figures d i e)

Z.P. Zona pel·lúcida

M.V. Membrana plasmàtica de l'òcit que forma microvellositats

V. Vesícules del citoplasma de l'òcit

La inseminació comprèn el reconeixement que fa l'espermatozoide de l'òcit, la regulació que fa aquest òcit de l'entrada un sol espermatozoide i l'activació de la cèl·lula femenina. Per fecundació entenem la unió entre els dos nuclis.

El reconeixement s'efectua a nivell del contacte que s'estableix entre la capa gelatinosa que envolta l'òcit (zona pel·lúcida) i la membrana de l'espermatozoide. Ha d'existir un eficaç mecanisme de bloqueig per permetre que només un entre 200 a 500 espermatozous insemini la cèl·lula. Això s'aconsegueix per variacions en la concentració d'ions i per l'alliberament de les vesícules que formen una barrera uns 20 segons després de l'inseminació anomenada membrana de fecundació. Les fletxes, en un i altre sentit, que podeu observar a les figures ens volen indicar les direccions de l'intercanvi de substàncies entre l'exterior de l'òcit i el seu interior durant el procés d'entrada de l'espermatozoide; aquest intercanvi, juntament amb l'acció de les vesícules del citoplasma, ajuden a bloquejar l'entrada de nous espermatozoides i, al mateix temps, activen l'òcit.

Posteriorment, les membranes dels dos gàmetes es fusionen i el contingut citoplasmàtic de l'espermatozoide passa a formar part del citoplasma de l'òcit.

