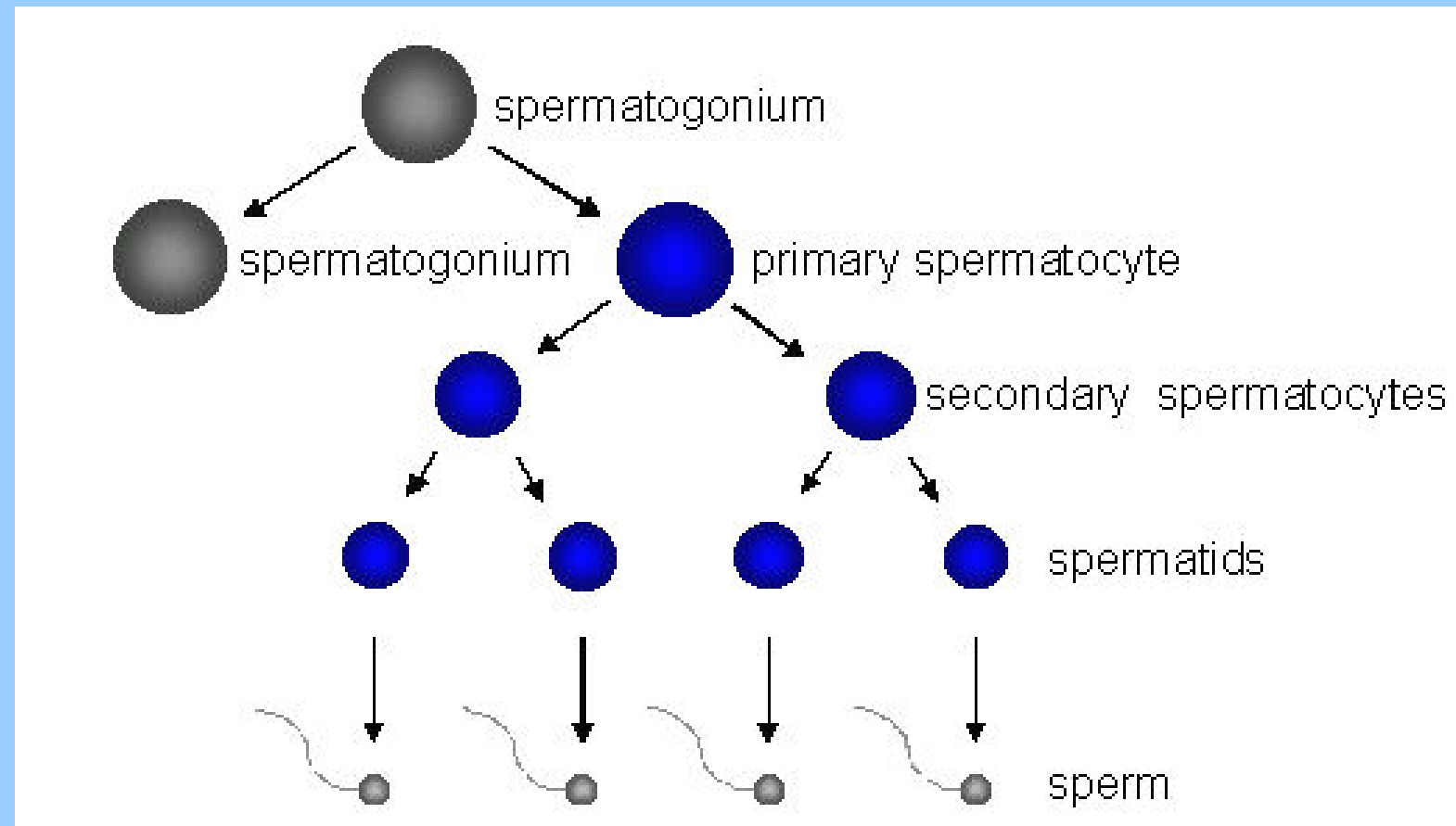


www.fisiokinesiterapia.biz

Lo sviluppo dello spermatozoo





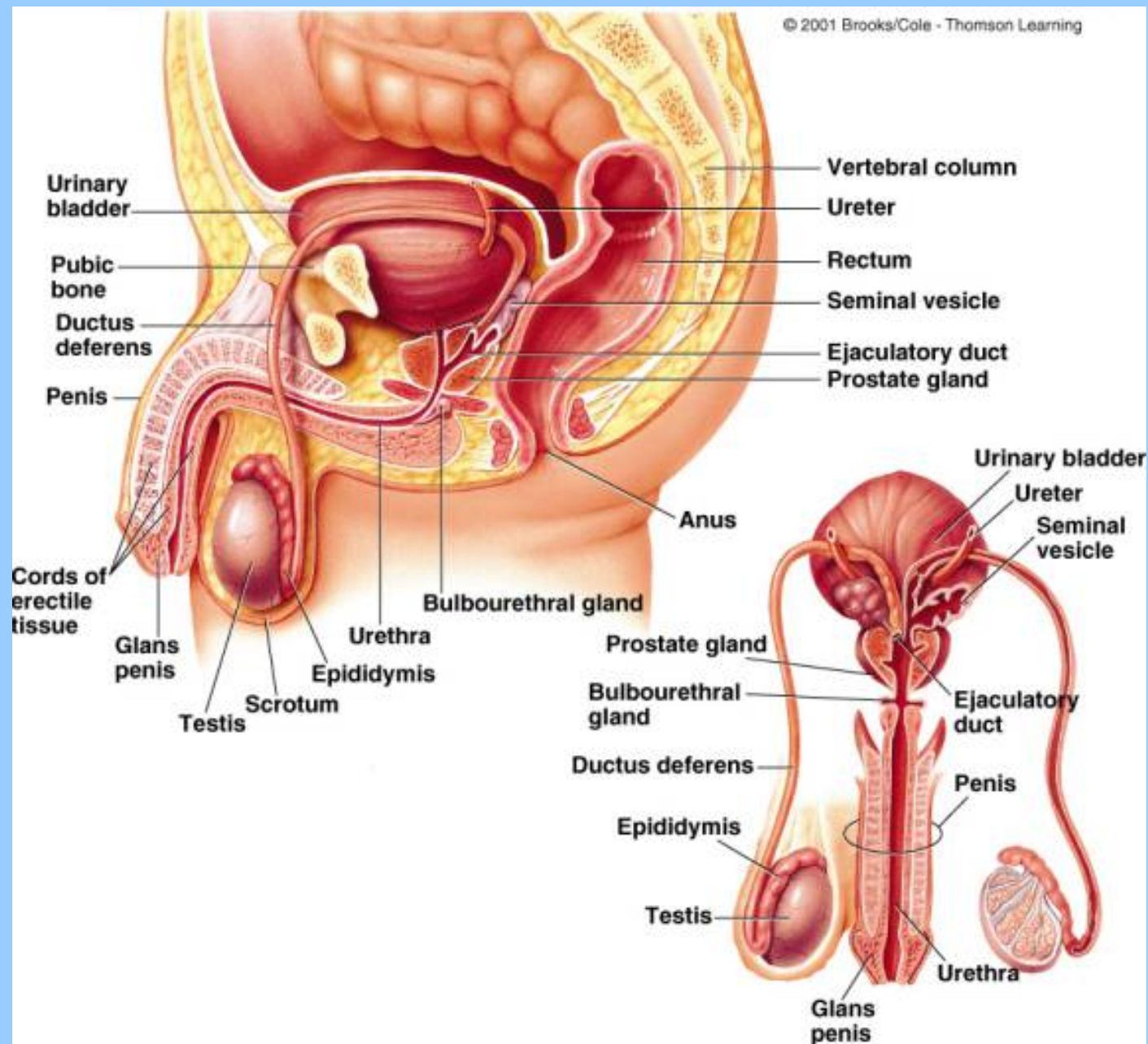
Siti utili

http://www.wiley.com/legacy/products/subject/life/anatomy/anat_mrd.html

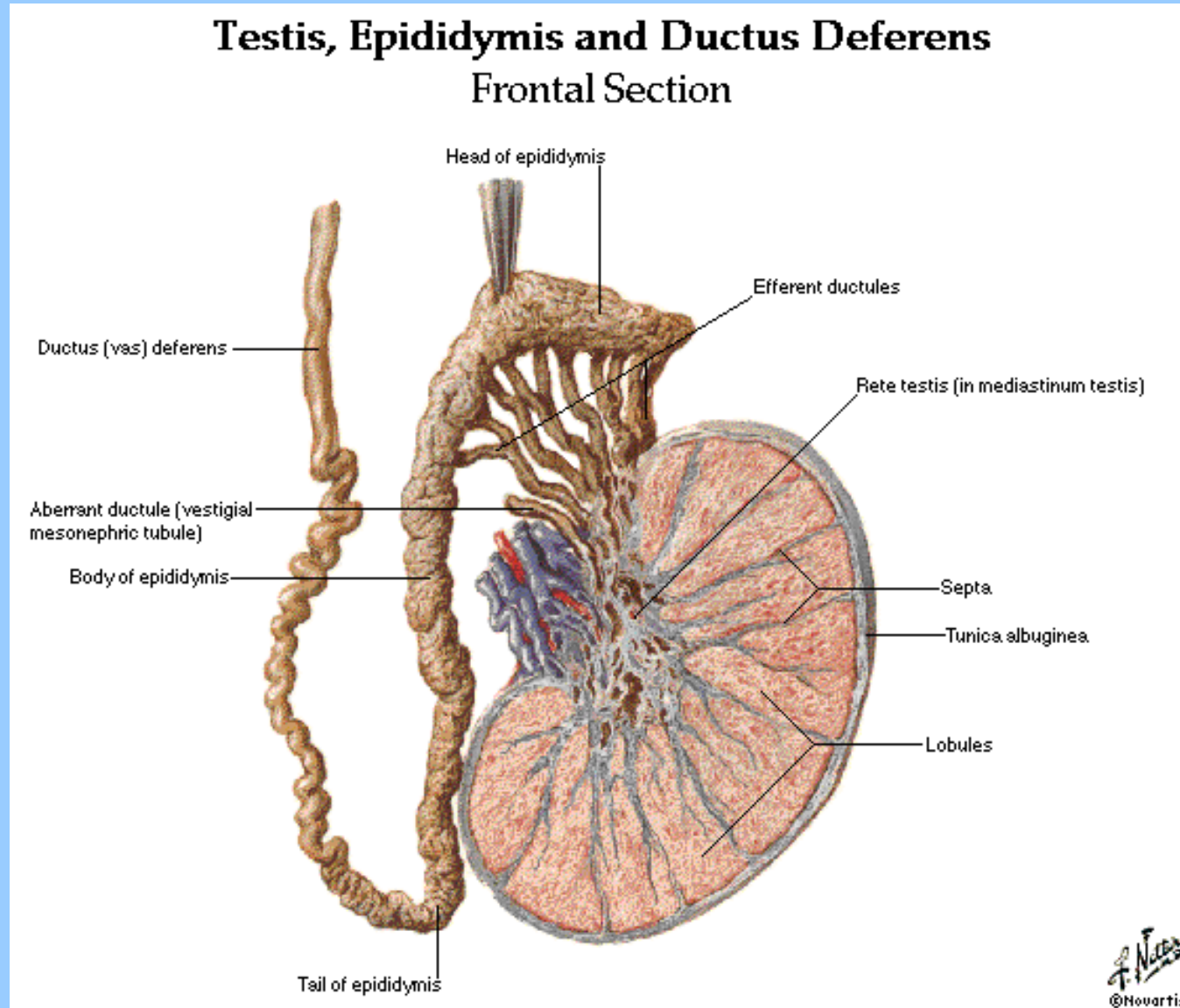
http://www.sdbonline.org/Other/VL_DB_Subject.html

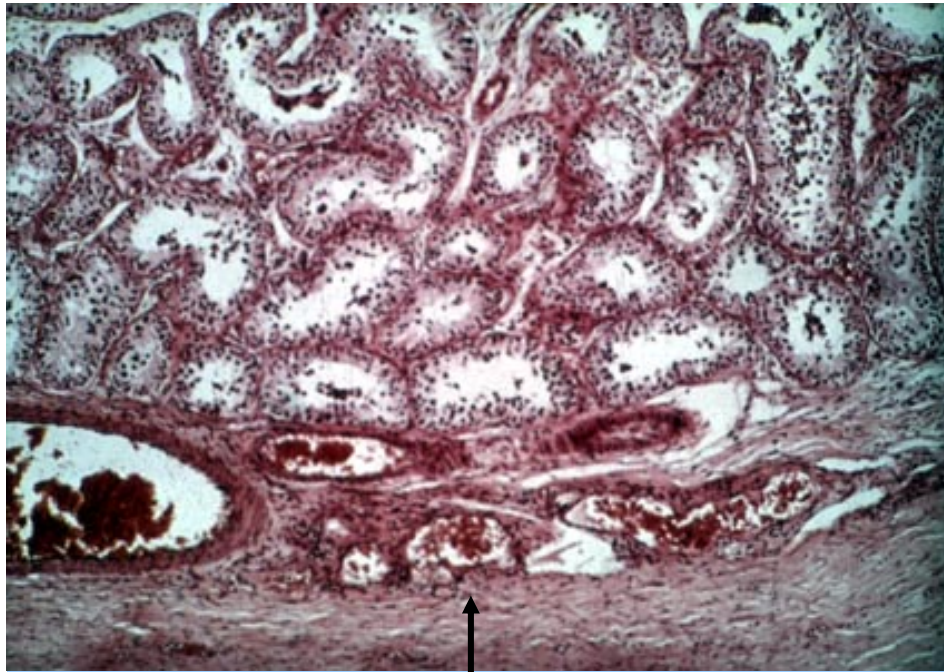
<http://distance.stcc.edu/AandP/AP/AP2pages/reprod/spermato.htm>

L'apparato genitale maschile

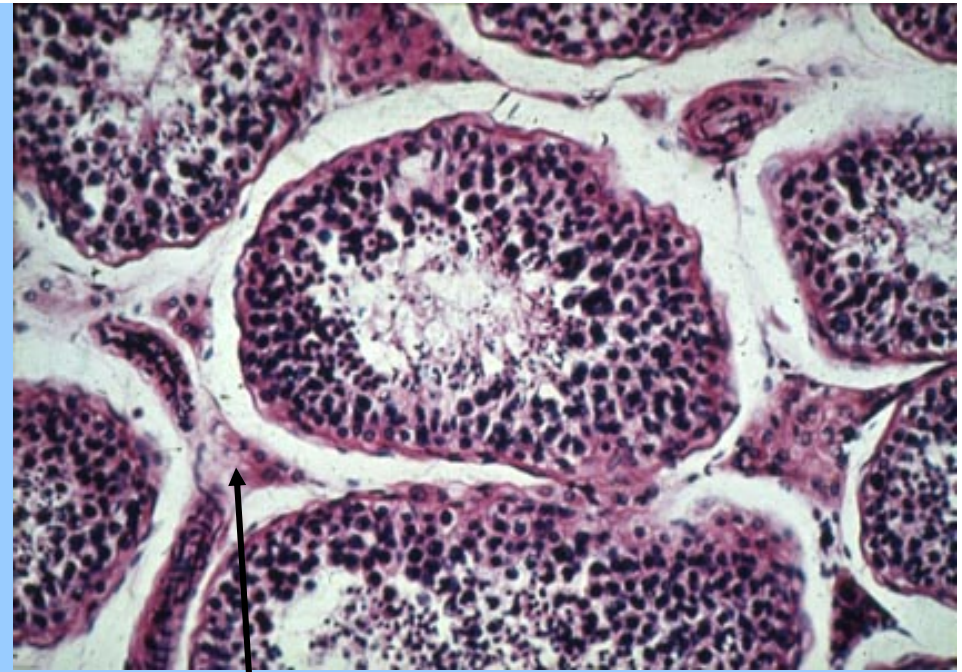


La gonade maschile



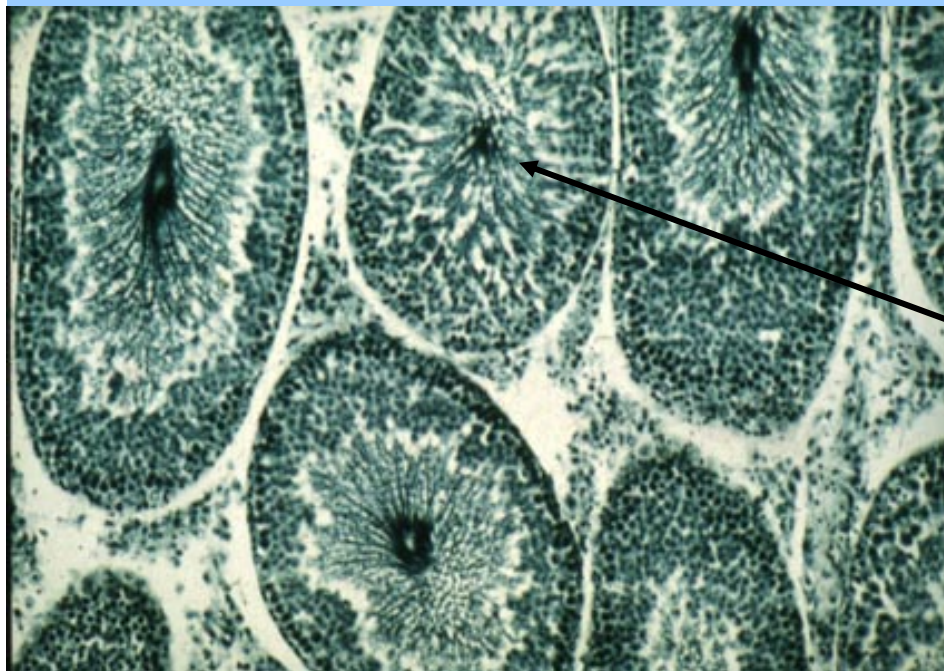


Capsula fibrosa (tunica albuginea)



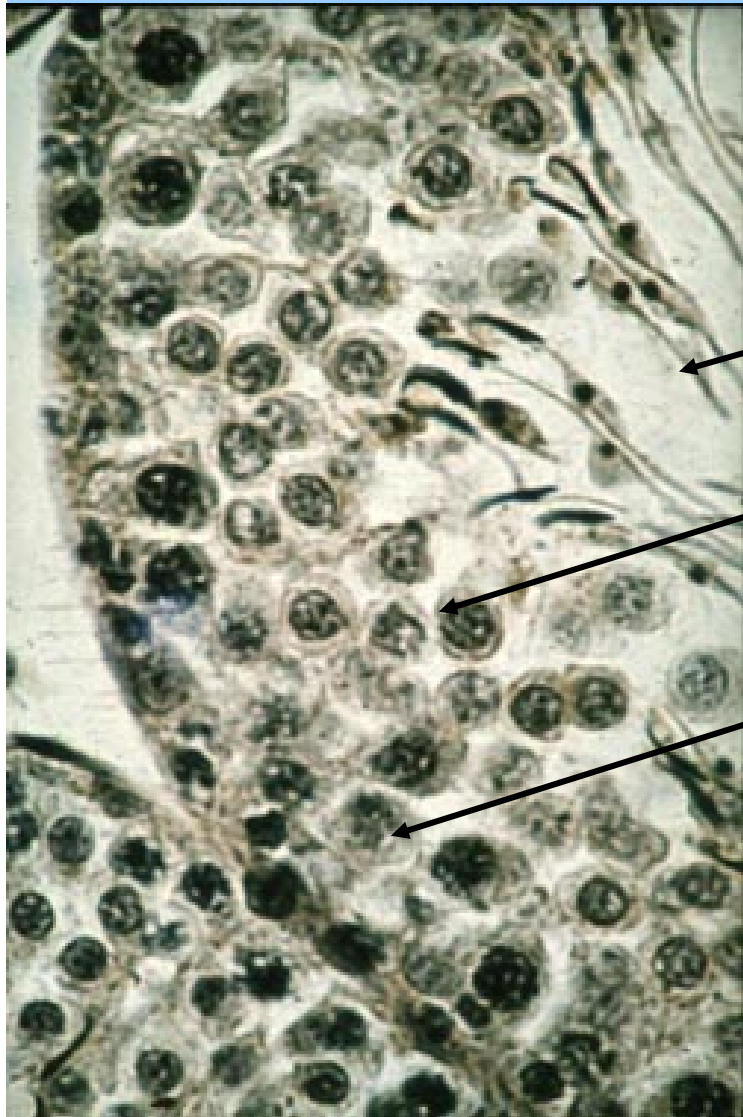
A un maggior ingrandimento, si riconoscono anche le cellule interstiziali di Leydig

e, in questo preparato, i flagelli degli spermatozoi



I tubuli seminiferi al microscopio ottico

morfologia



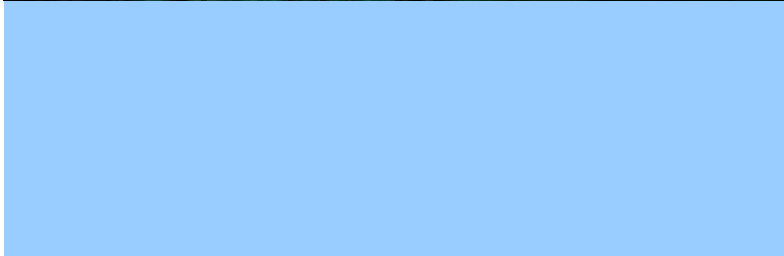
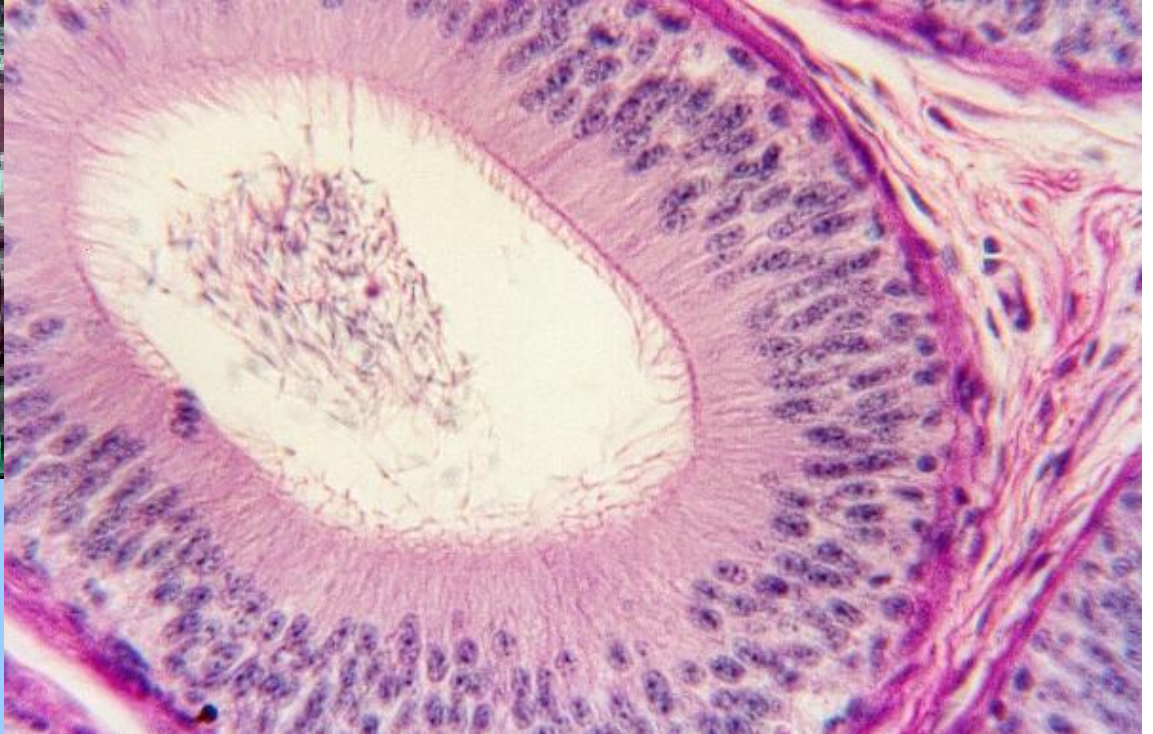
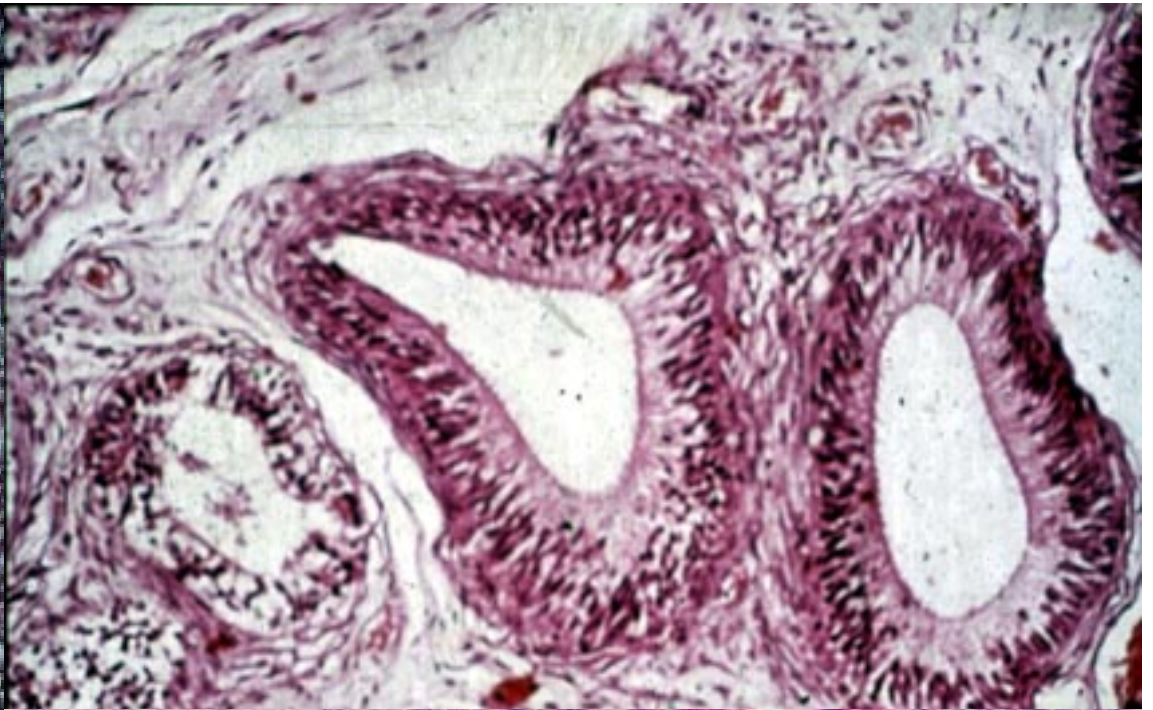
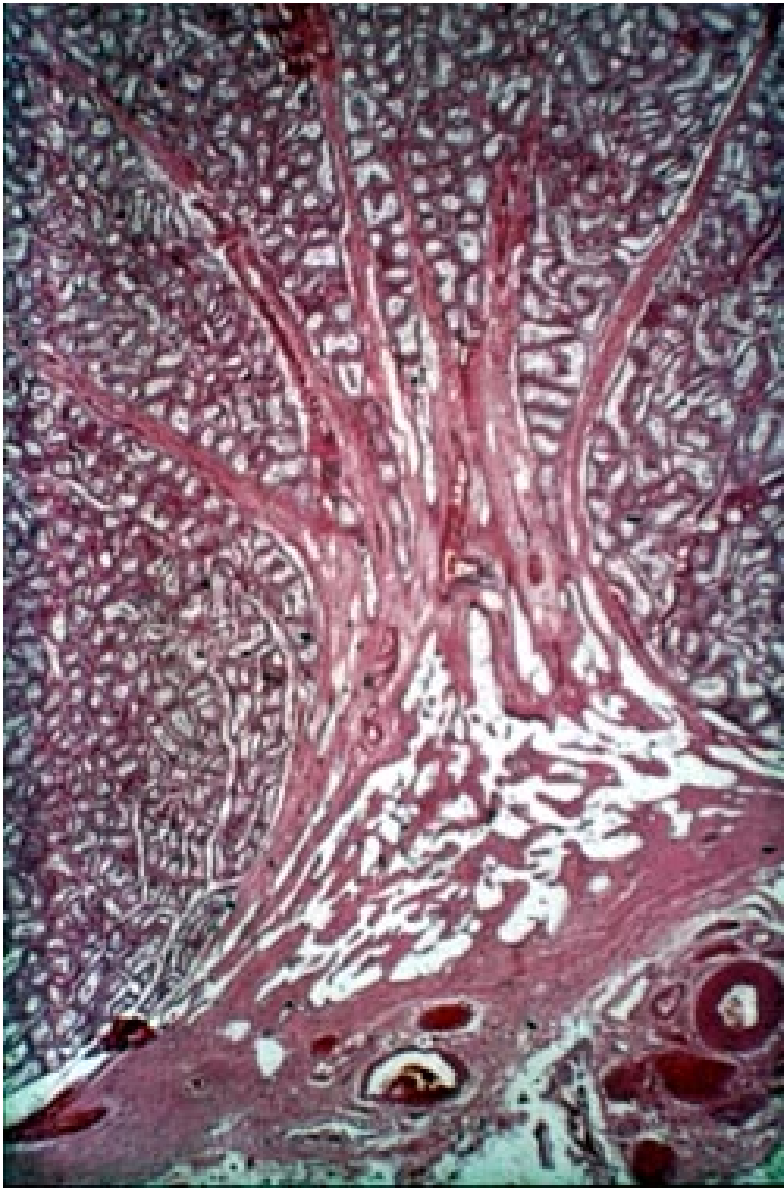
Spermatozoi dotati di flagello

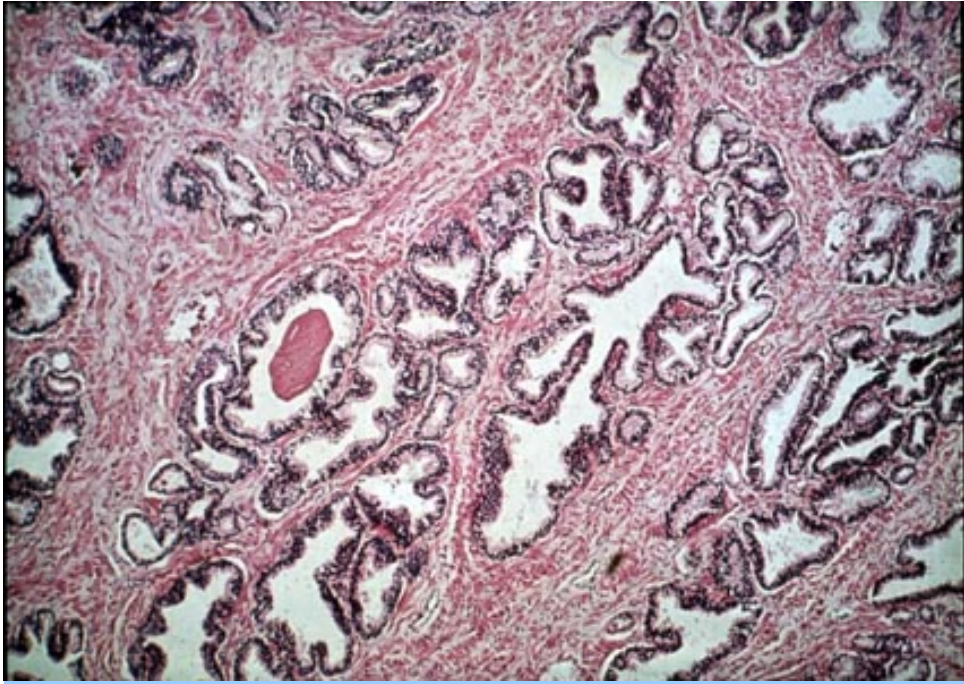
Spermatociti

Spermatogoni

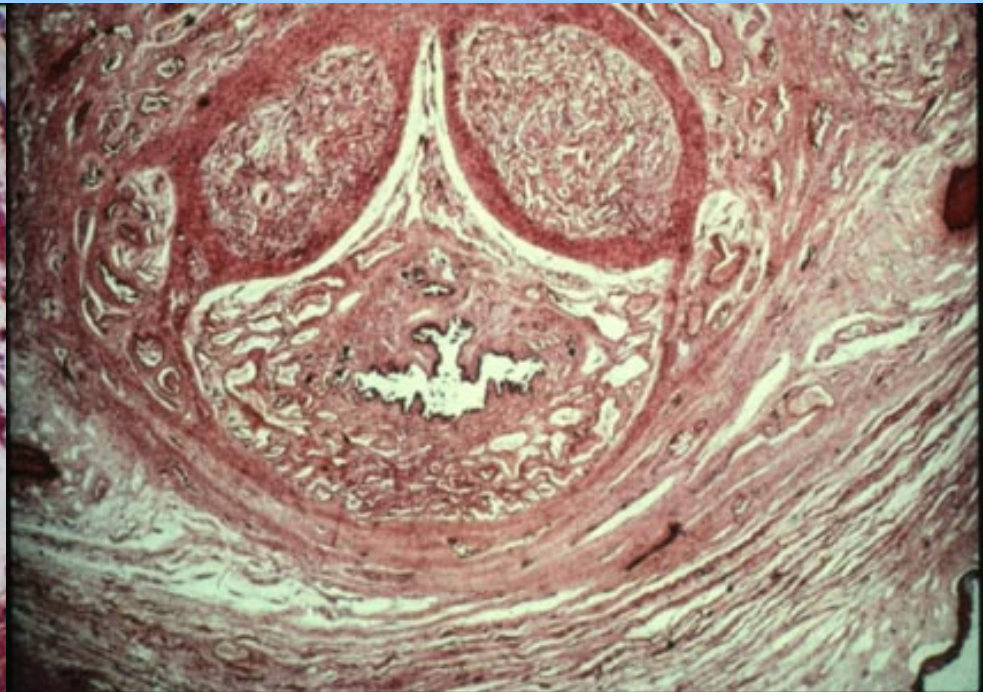
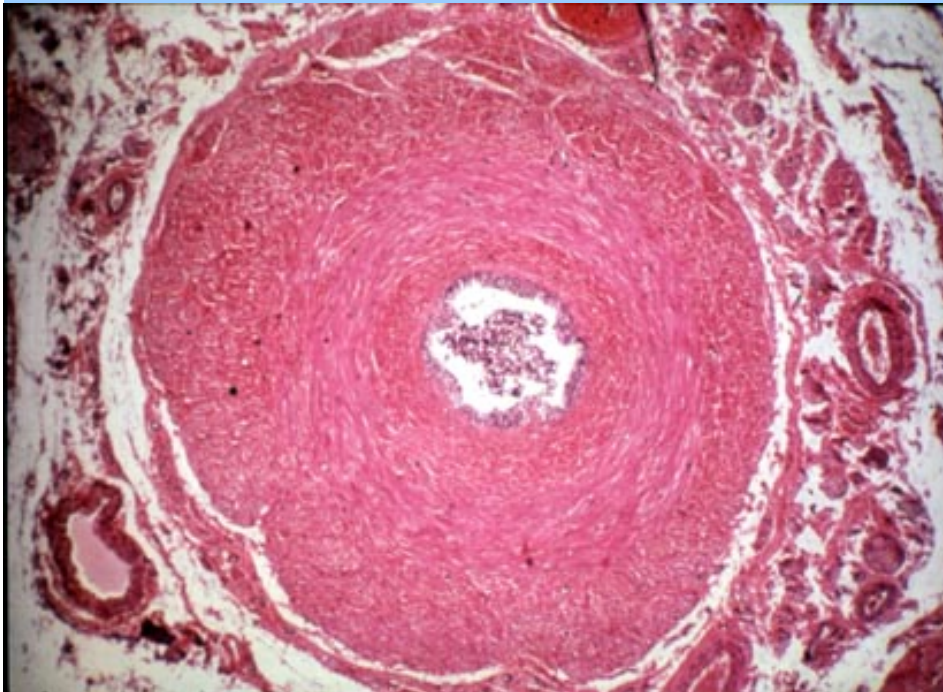


Preparato per iniezione per evidenziare
la rete vascolare del testicolo

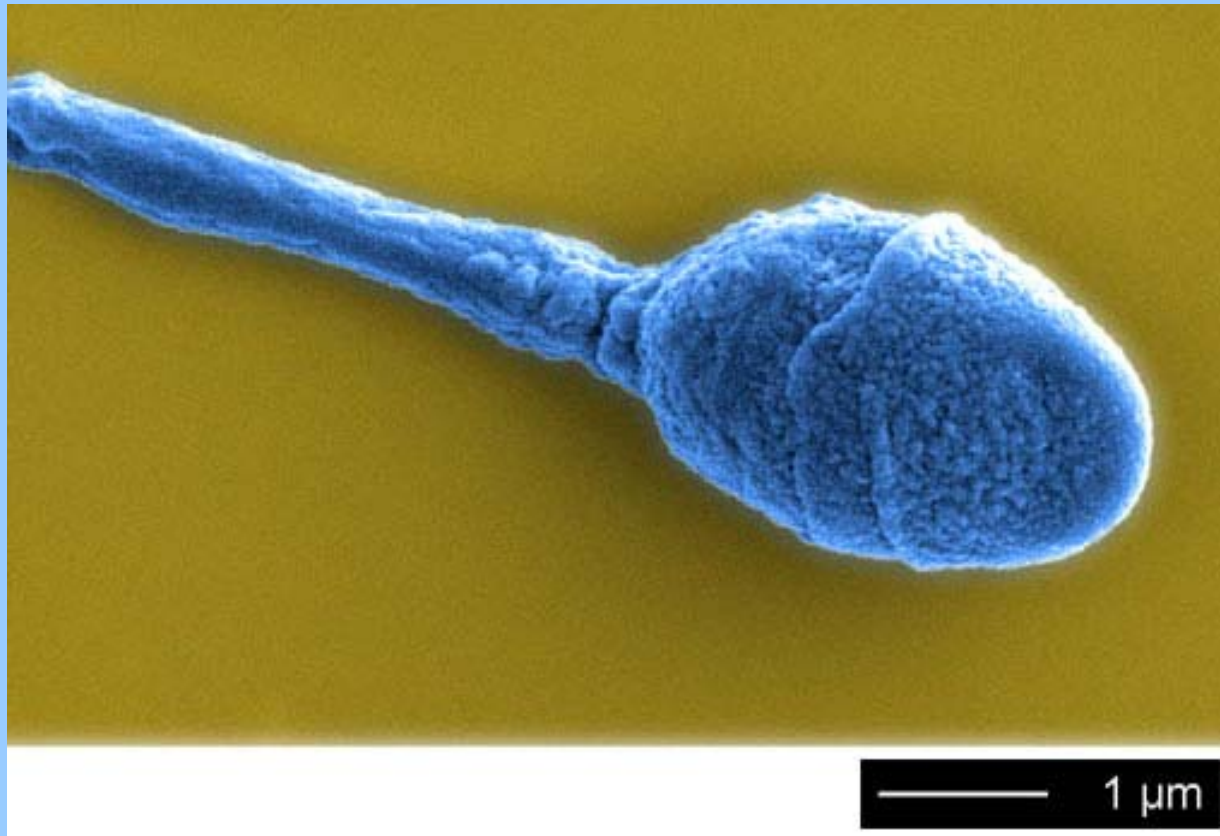




Prostata,
dotto
deferente,
pene



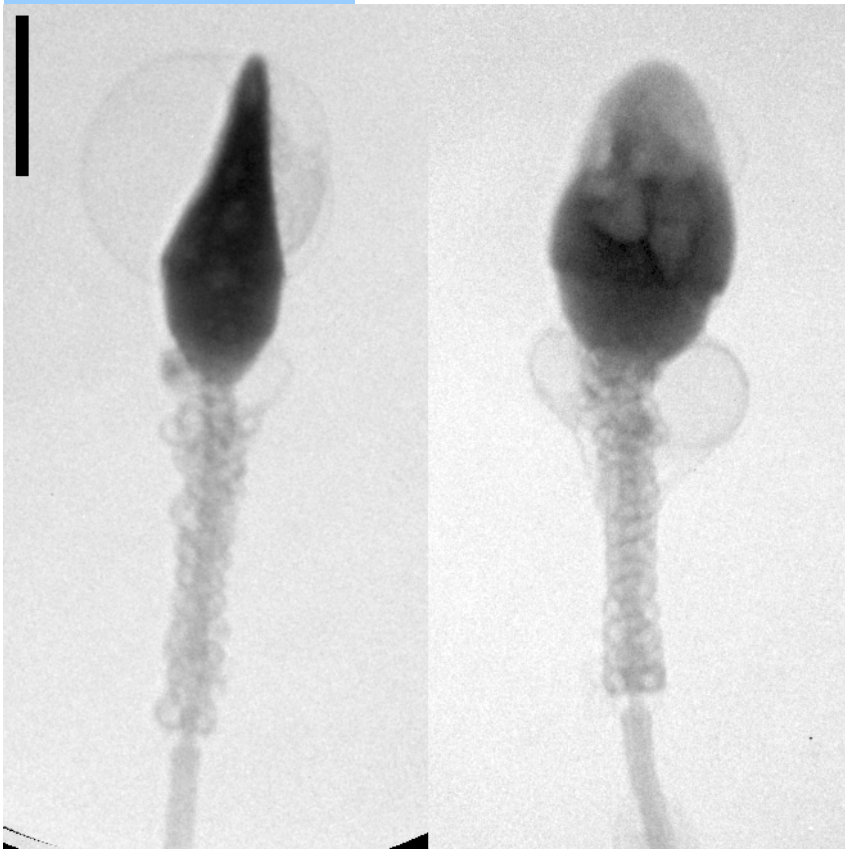
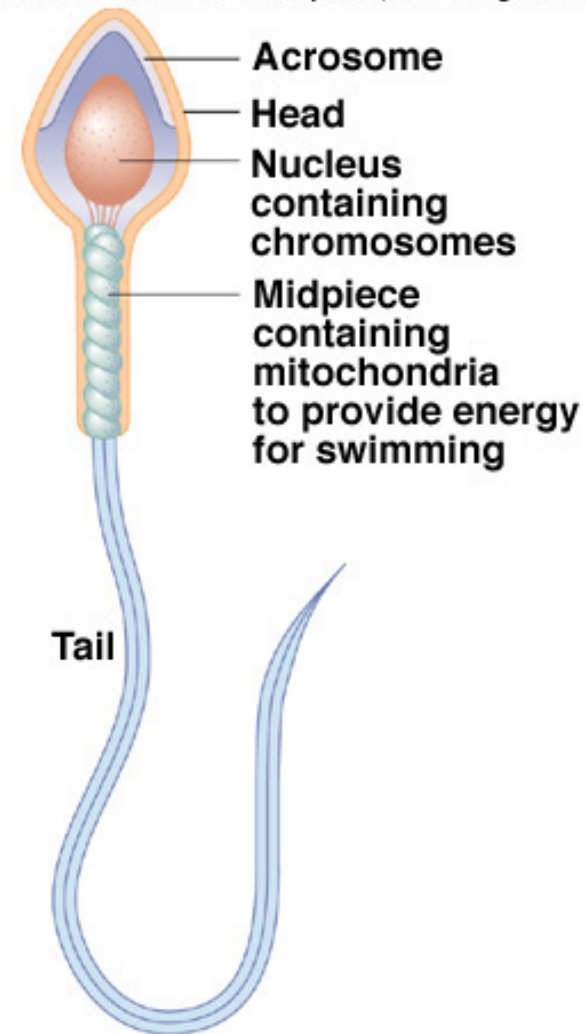
Lo spermatozoo umano



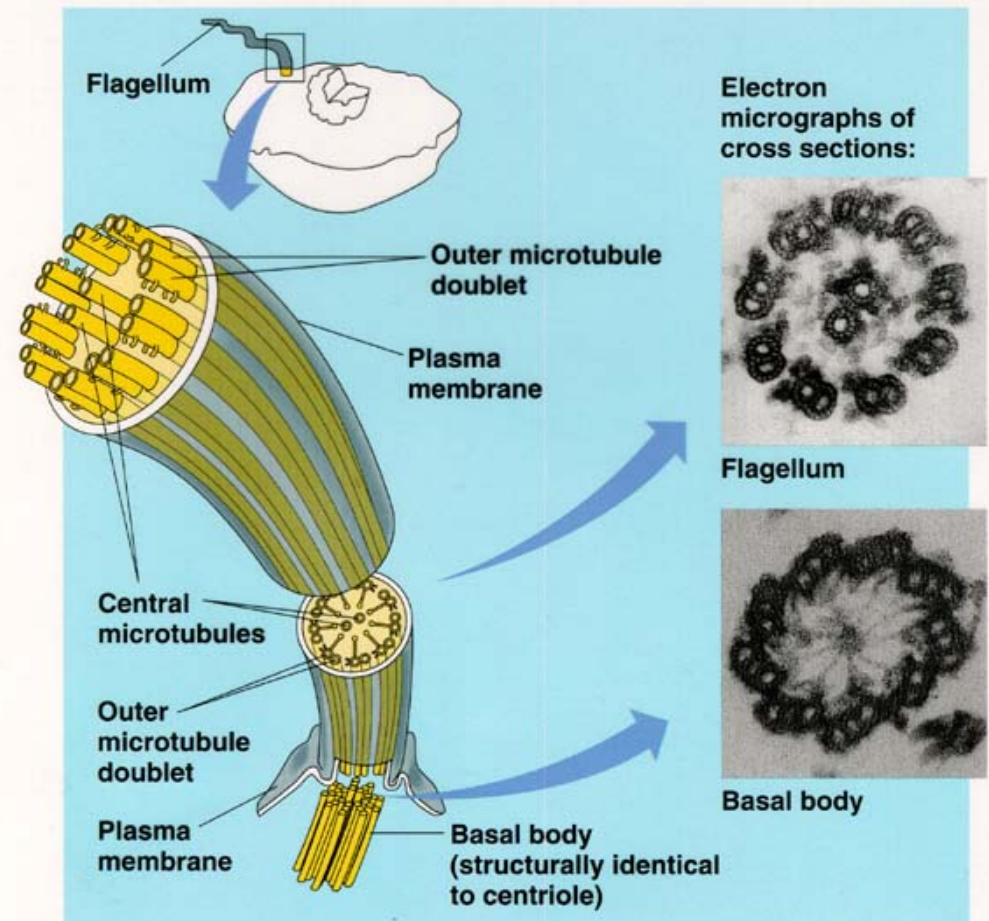
morfologia dello spermatozoo

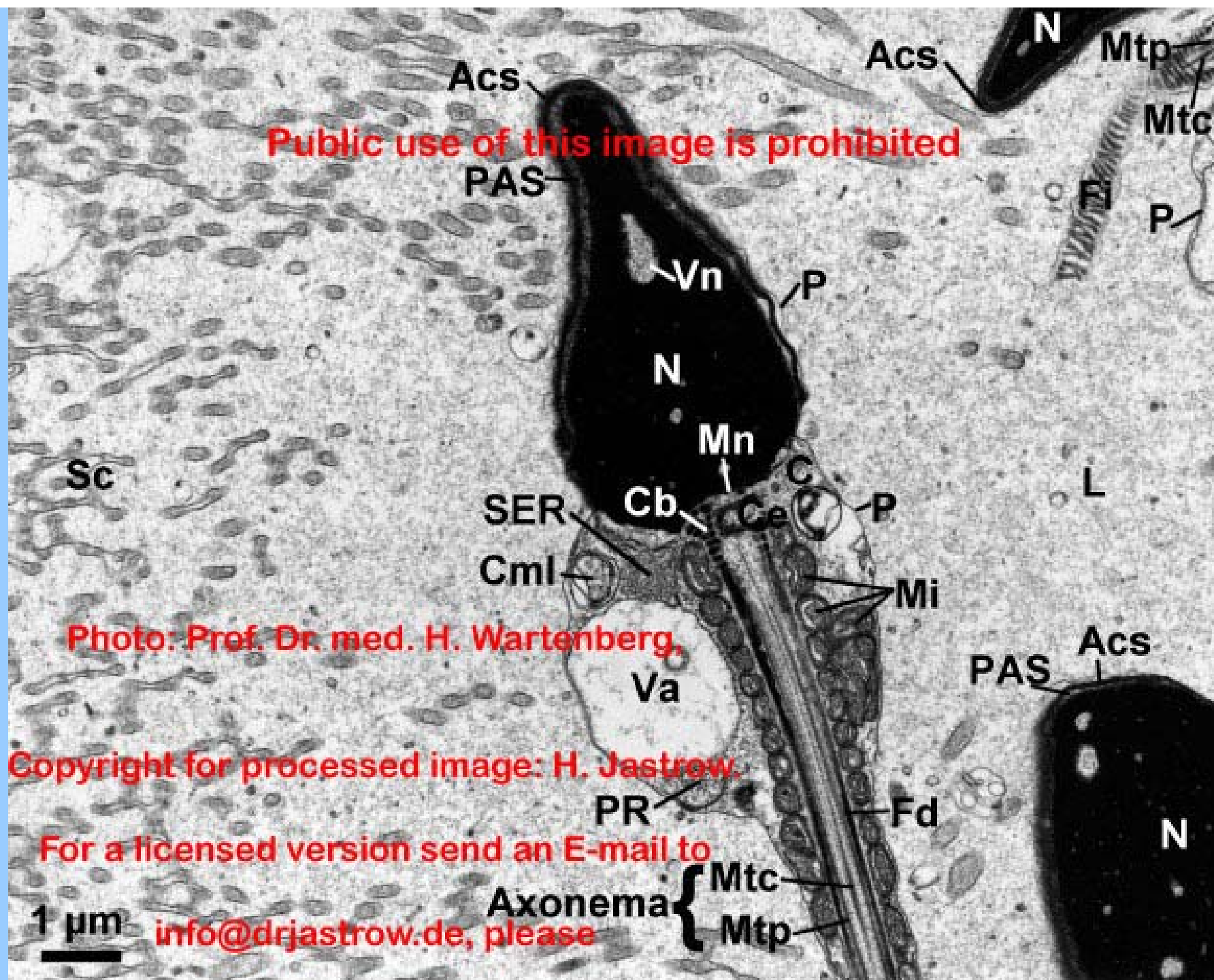
Hyde/DeLamater *Understanding Human Sexuality*, 6e. Copyright © 1997. The McGraw-Hill Companies, Inc. All Rights Reserved.

Mature Human Sperm

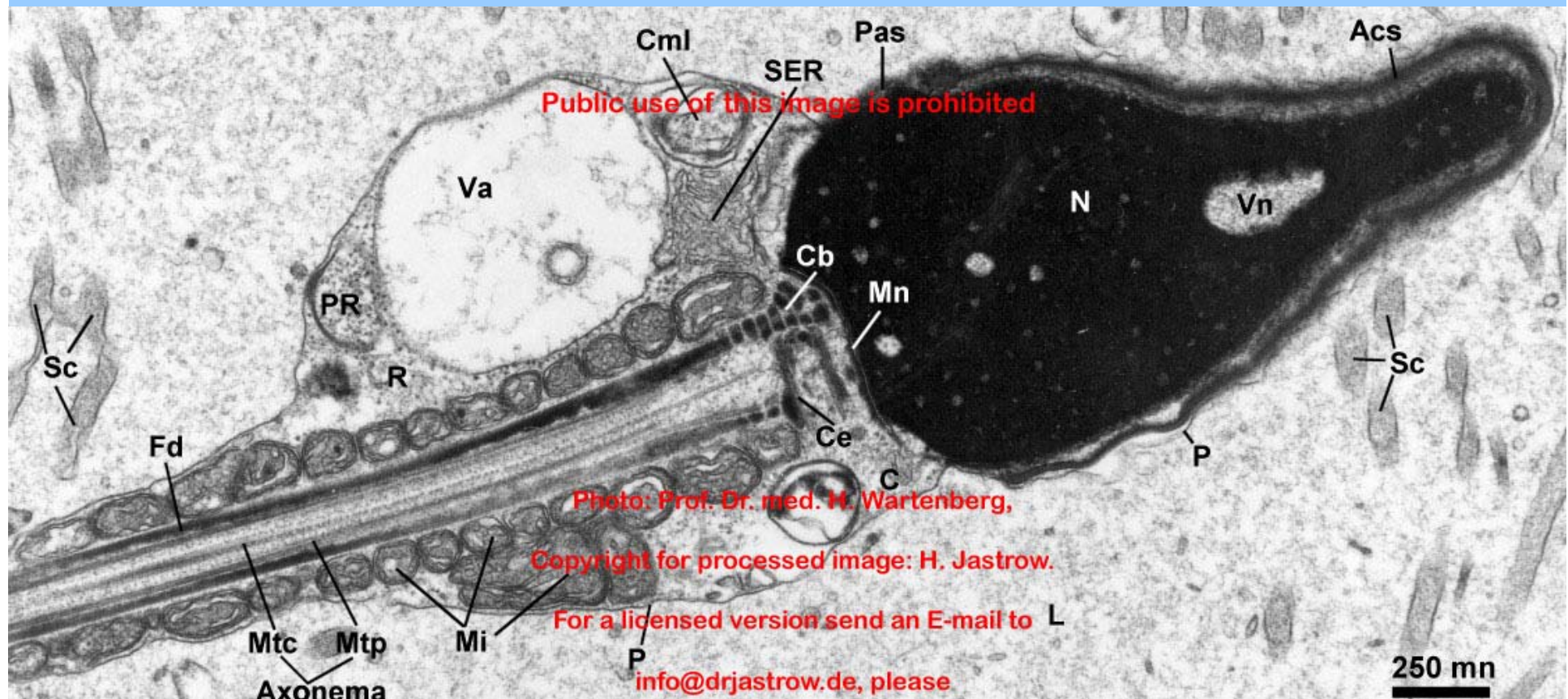


Il movimento dello spermatozoo





Microscopia elettronica



Lo spermatozoo al microscopio elettronico

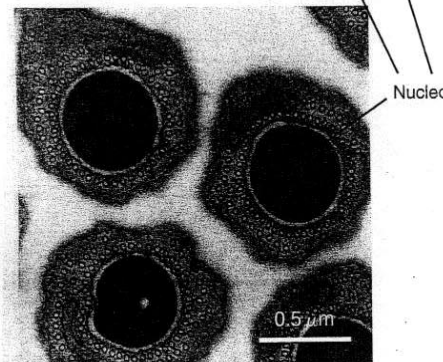
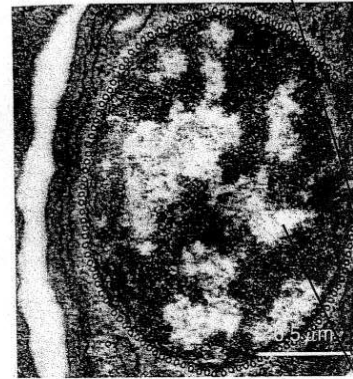
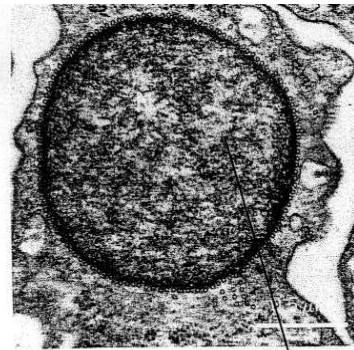


Figura 15-12 Micrografie elettroniche che dimostrano la condensazione della cromatina che ha luogo durante la formazione della testa dello spermatozoo (In alto) Nelle fasi iniziali dello sviluppo degli spermatidi, le fibre cromatiniche sono disperse in tutto il nucleo. (Al centro) Poco dopo, le fibre cromatiniche iniziano a condensarsi formando aggregati. (In basso) Negli stadi finali della maturazione degli spermatozoi, la cromatina risulta essere strettamente condensata in una massa compatta e amorfa, con notevole riduzione del volume del nucleo. Si noti che l'ingrandimento è all'incirca lo stesso in tutte le micrografie. Per concessione di W.A. Anderson.

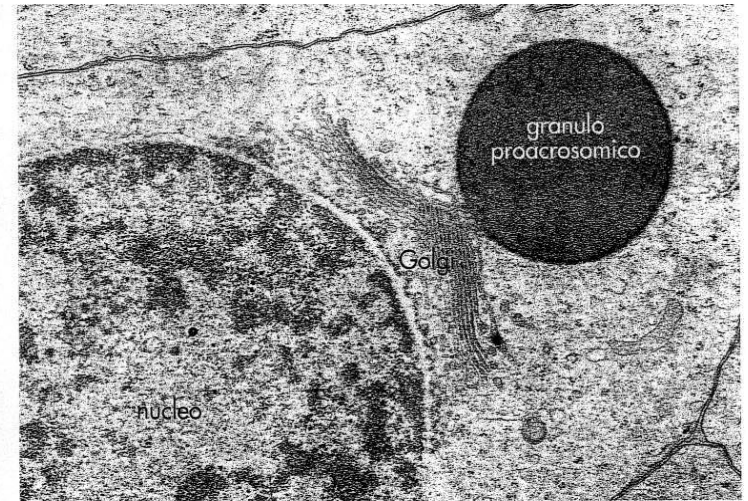


Figura 15-13 Il ruolo del complesso del Golgi nella formazione dell'acrosoma In questa micrografia elettronica di una cellula spermatica di cavalletta, le vescicole che derivano dal complesso di Golgi si fondono tra loro per costituire una struttura chiamata granulo proacrosomico. Il granulo proacrosomico fonde successivamente nell'acrosoma maturo. Per concessione di D.M. Phillips.

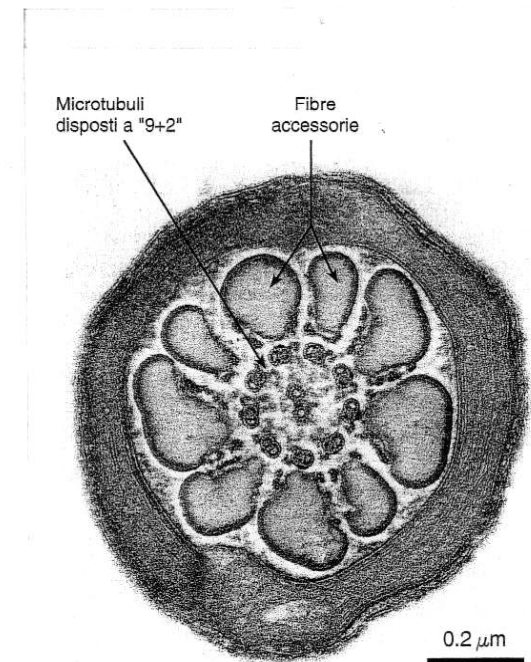
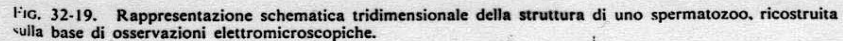
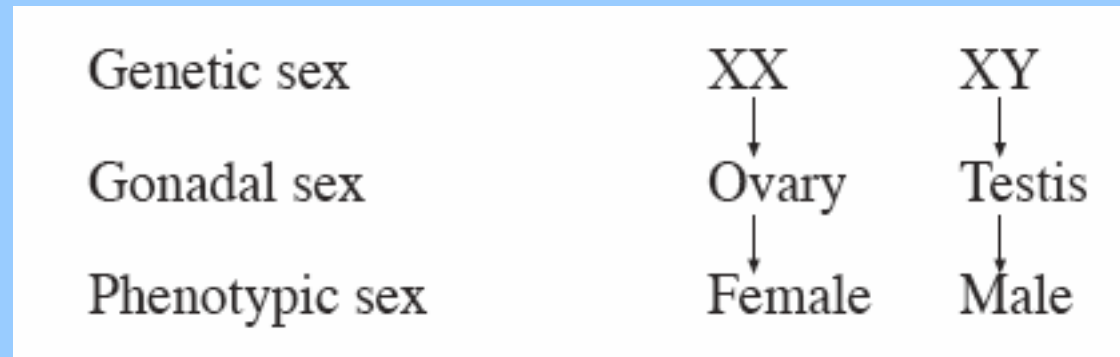


Figura 15-14 Micrografia elettronica della coda di uno spermatozoo di cavia in sezione trasversale Sono visibili nove fibre accessorie di grandi dimensioni, che circondano i microtubuli centrali in disposizione a 9 + 2. Per concessione di D.S. Friend.

La morfologia dello



Le tre fasi del differenziamento del sesso



“Sex reversal” : discrepanza tra il sesso genotipico e quello fenotipico

- Sex reversal primario: determinazione aberrante del sesso gonadico
- Sex reversal secondario : differenziamento aberrante del sesso fenotipico

Cenni sul differenziamento delle gonadi maschili

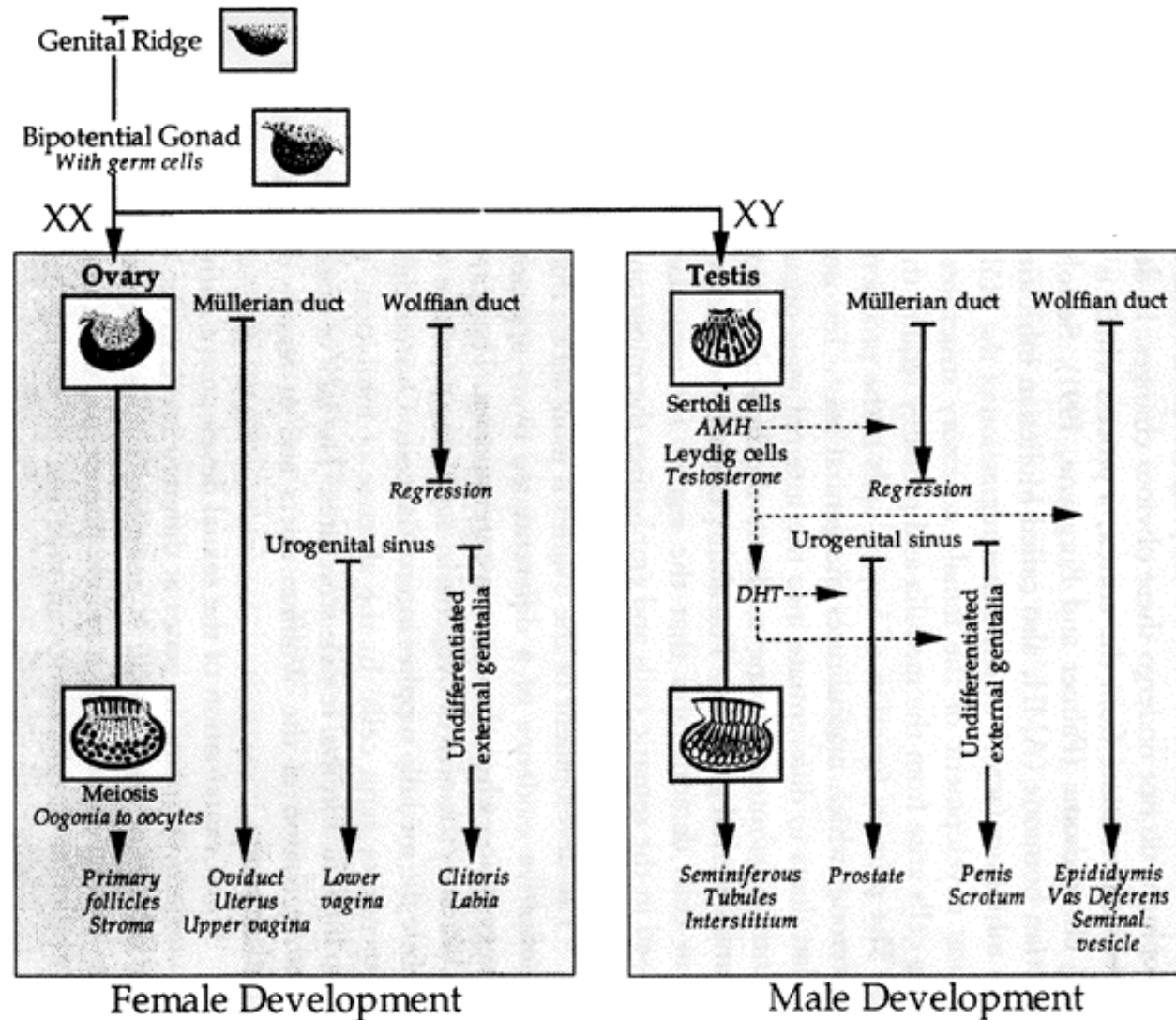
La migrazione delle cellule germinali primitive (PGC) è la stessa nei due sessi.

Ricordiamo il ruolo primario del segnale Kit-KL (Steel-SCF) per la sopravvivenza e la proliferazione delle PGC.

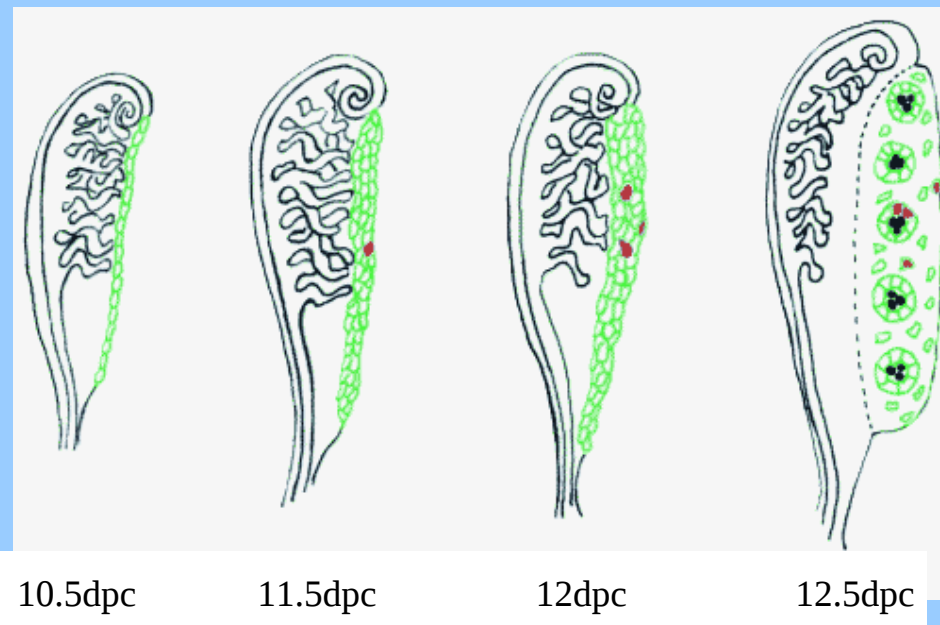
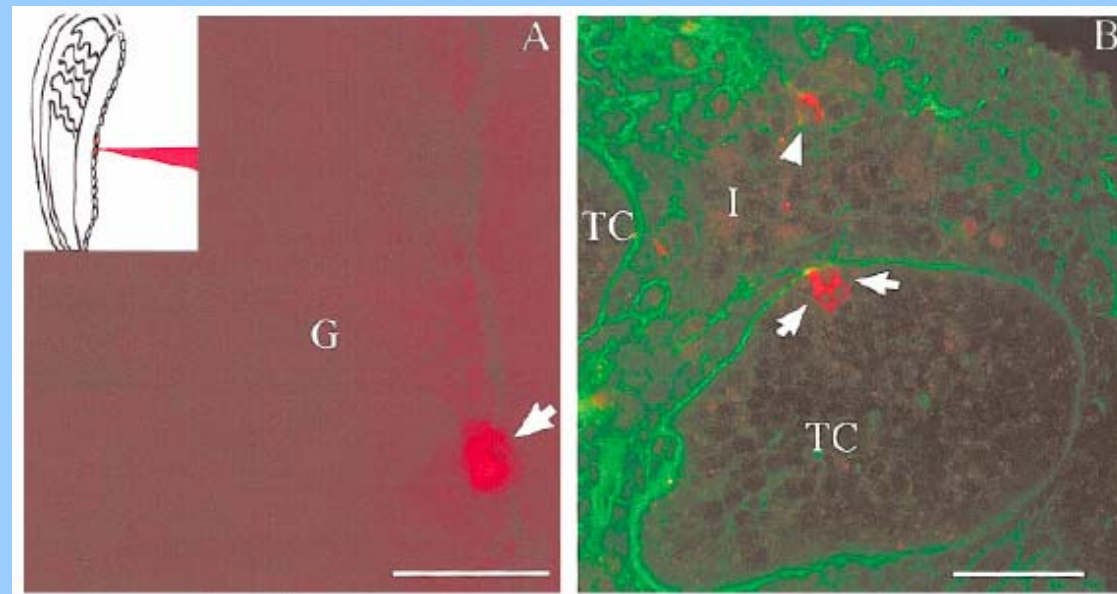
Una volta nella gonade indifferenziata, le PGC maschili si localizzeranno a livello della medulla, quelle femminili a livello della cortex.

Il rapporto con le diverse cellule somatiche della gonade è importante per lo sviluppo delle cellule germinali di entrambi i sessi.

The **Y** chromosome is the dominant trigger of testes differentiation from indifferent gonads that would otherwise develop as ovaries

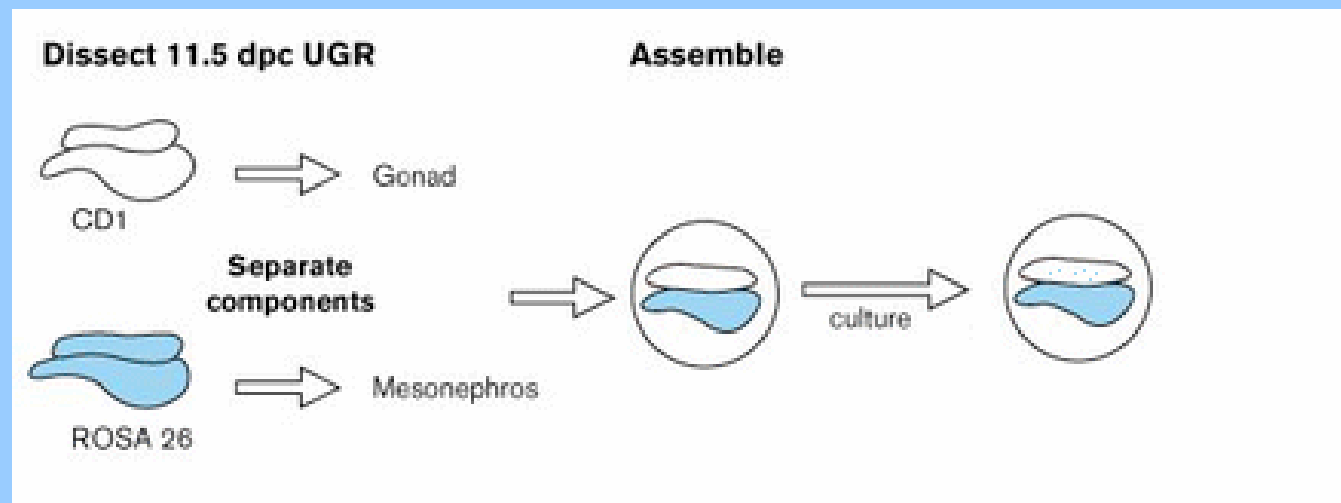


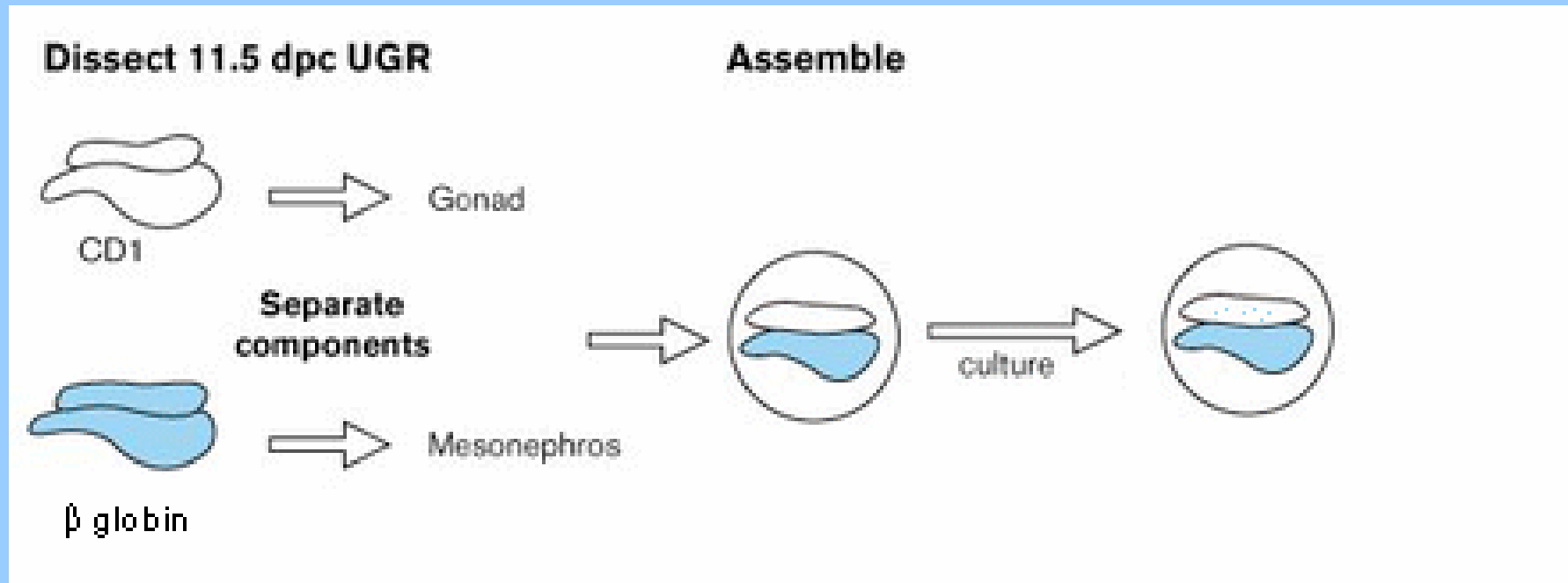
Sertoli cells originate from the coelomic epithelium



Evidences that suggest a mesonephric origin for Leydig cells

- Cells positive for a steroidogenic marker are found at the anterior end of the mesonephros and they seem to contribute to both the adrenal gland and to the gonad
- Cells of mesonephric origin have been identified in gonads cultured in vitro for several days after grafting them onto labelled mesonephroi at 11.5dpc.





Myoid cells and other unidentified interstitial cells move into the XY gonad from the mesonephros from 11.5dpc

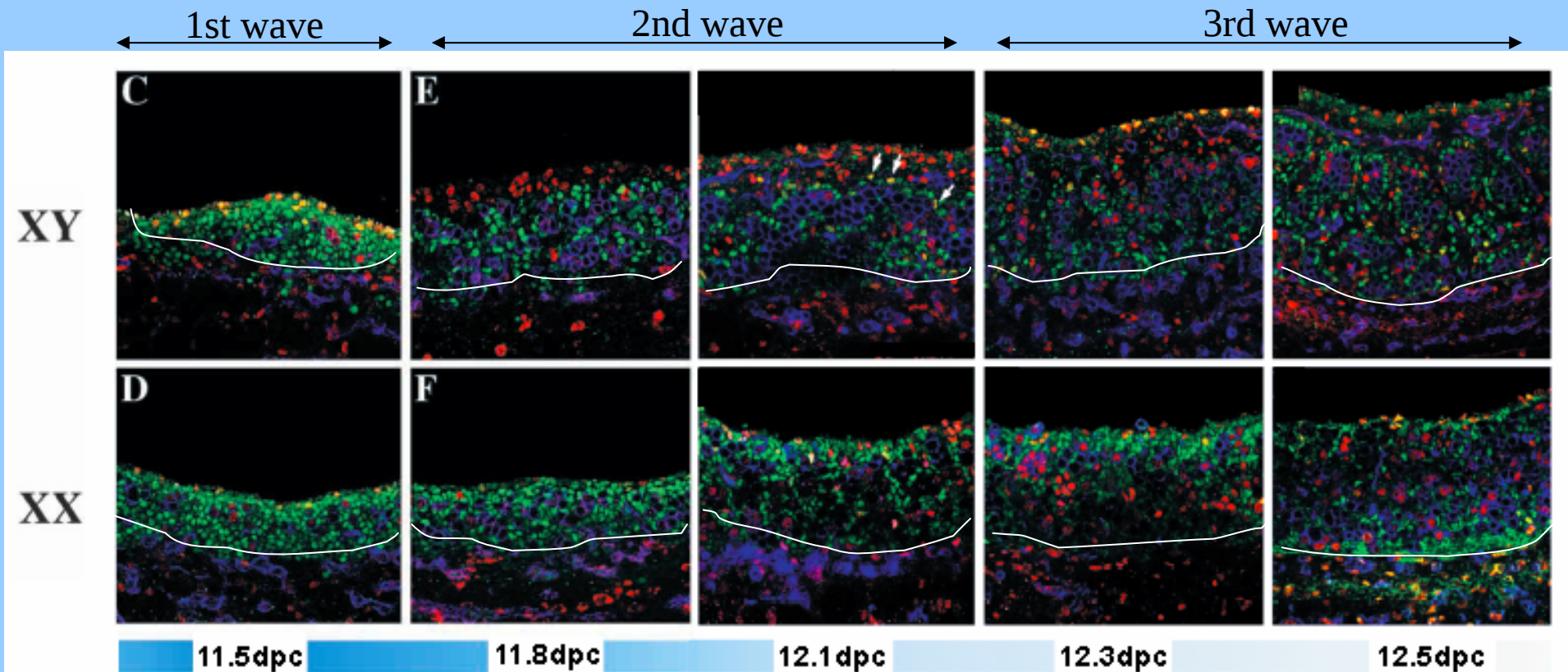
Buehr et al., 1993

➤ **Three migrating cell types are distinguishable:**

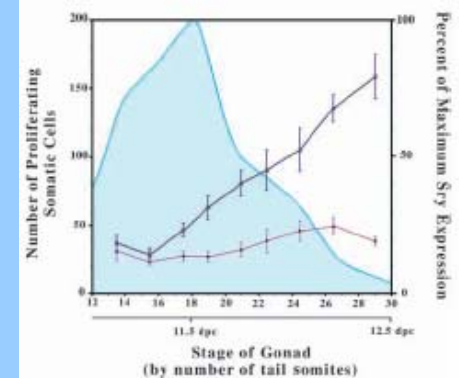
- peritubular myoid cells
- endothelial cells
- myoepithelial cells

➤ **Migrating cells are proliferating**

male specific somatic cell proliferation

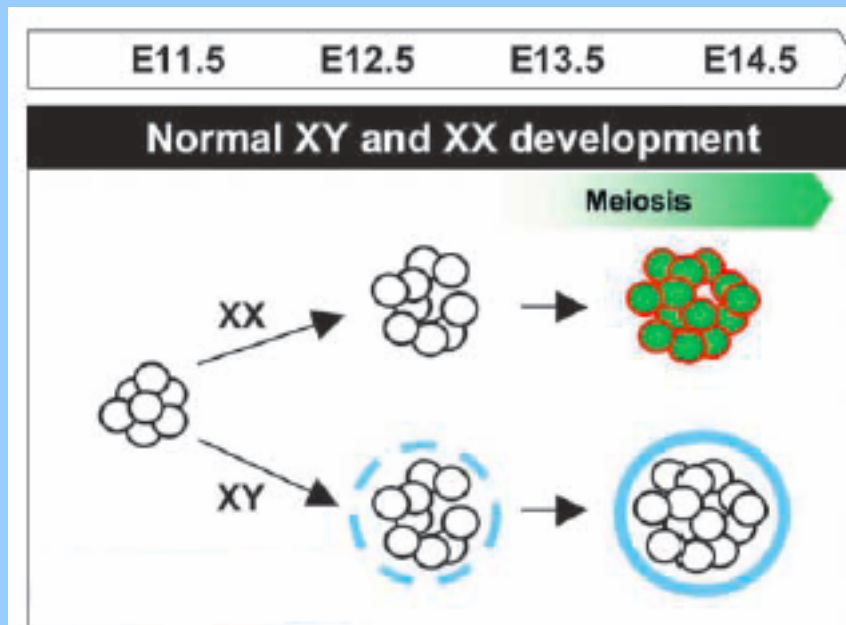
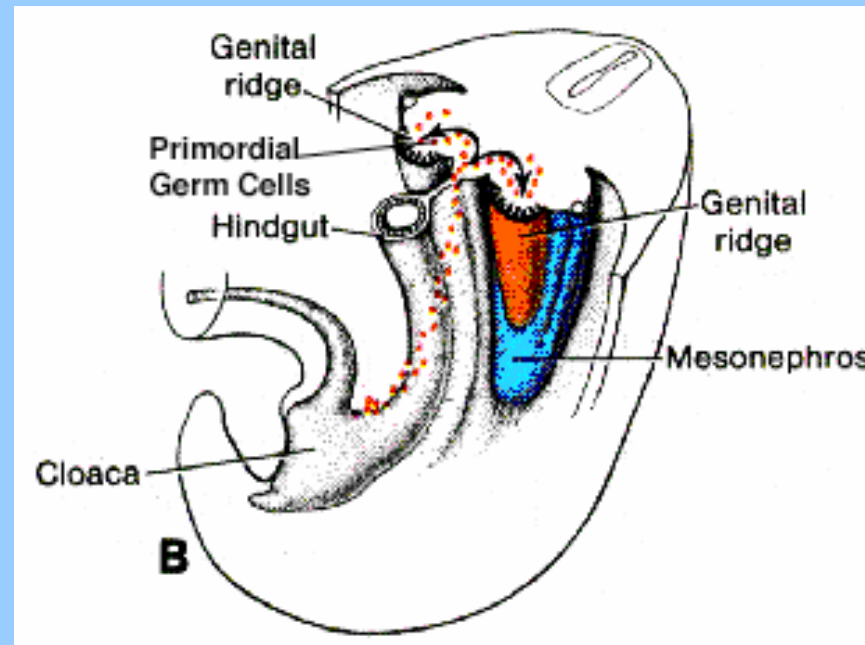


The increase in proliferation at the XY coelomic epithelium is the earliest marker of testis determination



10.5dpc

The somatic component of the testis is required to inhibit the enter into meiosis



Differenziamento delle gonadi

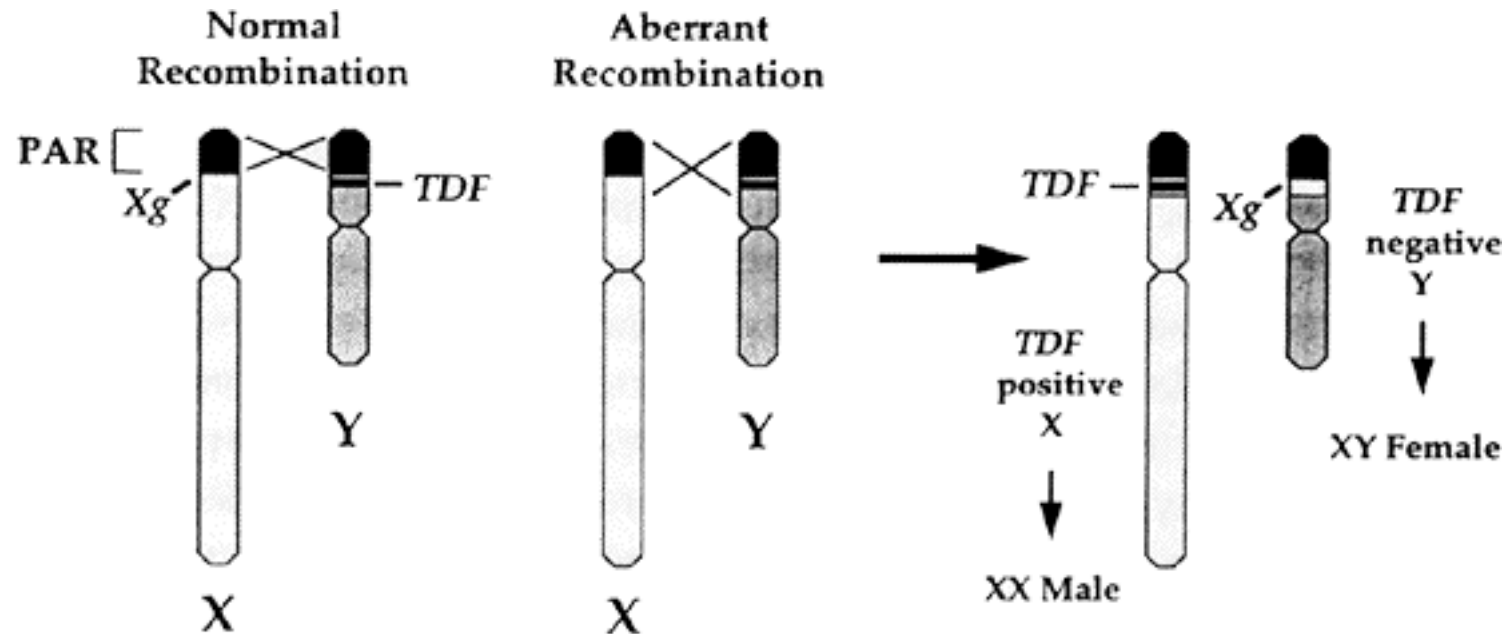
L'espressione dei geni per la determinazione del sesso maschile, codificati sul cromosoma Y, è determinante per lo sviluppo della gonade maschile. In loro assenza, la gonade si sviluppa in senso femminile.

IL SESSO FEMMINILE È QUINDI IL SESSO *DI DEFAULT*

- In mancanza di cellule germinali la gonade XY si sviluppa in senso femminile
- Le PGC maschili rispondono a una gonade maschile esprimendo la prostaglandina D-sintasi, che catalizza il passaggio finale per la sintesi della prostaglandina D2
- La prostaglandina D2 agisce da fattore paracrino per indurre il differenziamento delle cellule del Sertoli

Cenni sulla determinazione del sesso

Dopo aver determinato che nel cromosoma Y era codificato un fattore *TDF* (Testis Determining Factor), si è giunti alla comprensione che l'unico gene necessario alla determinazione del sesso maschile è il gene SRY, localizzato in prossimità della regione pseudoautosomica.

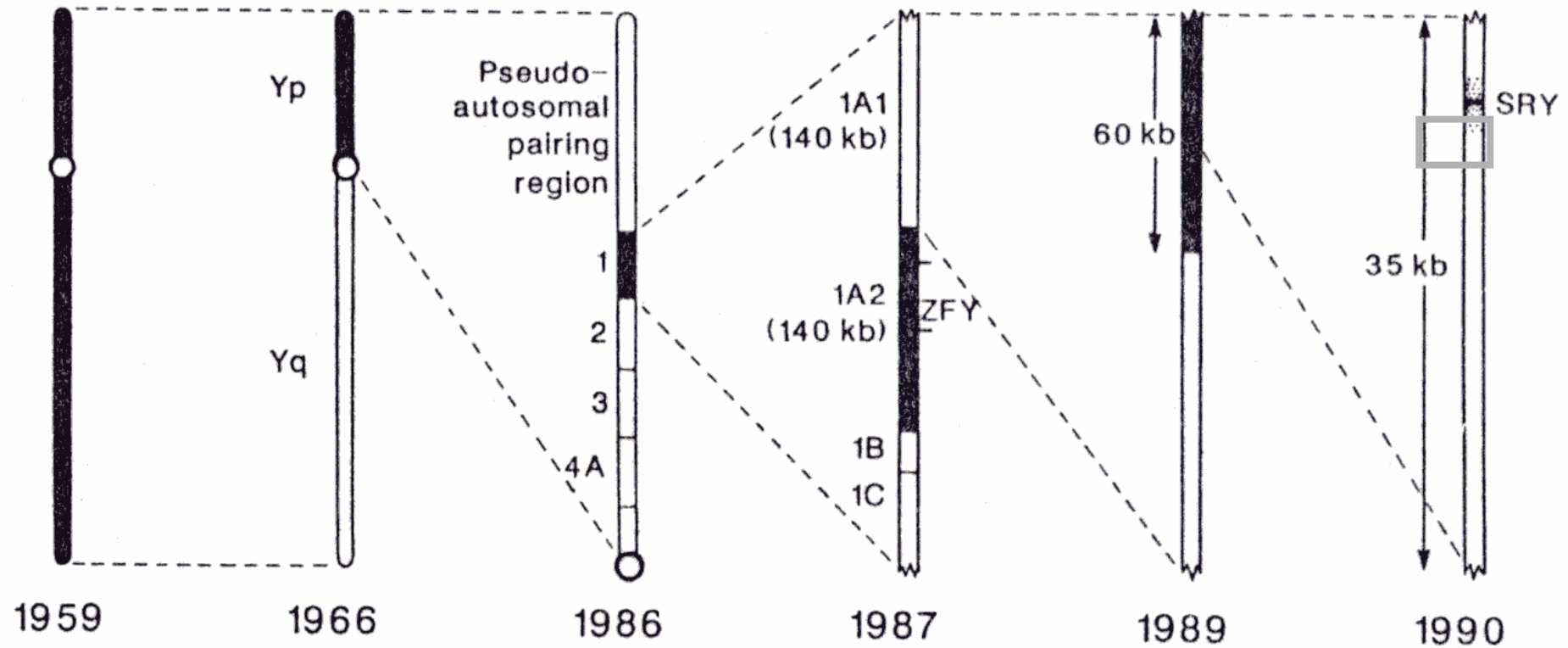


- Most 46,XX sex reversed males carry Y sequences, due to an aberrant meiotic exchange
- TDF must be located just proximal to the pseudoautosomal region

Nature. 1990 Jul 19;346(6281):240-4.

A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif.

Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischauf AM, Lovell-Badge R, Goodfellow PN.

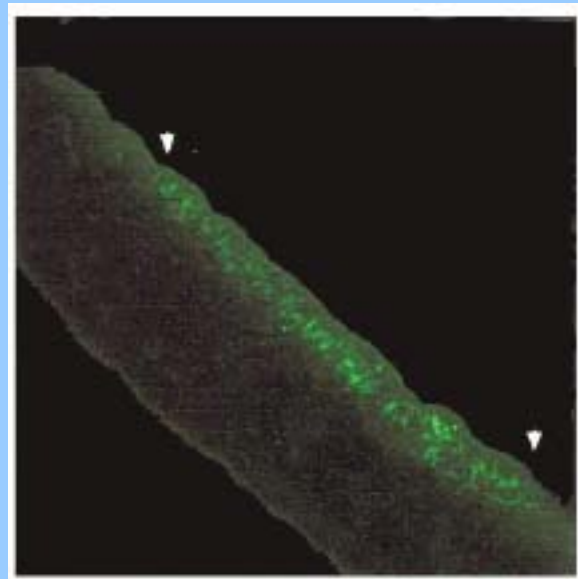


La proteina SRY contiene un omeodominio HMG che lega il DNA in sequenze specifiche, deformando l'elica. È un fattore di trascrizione.

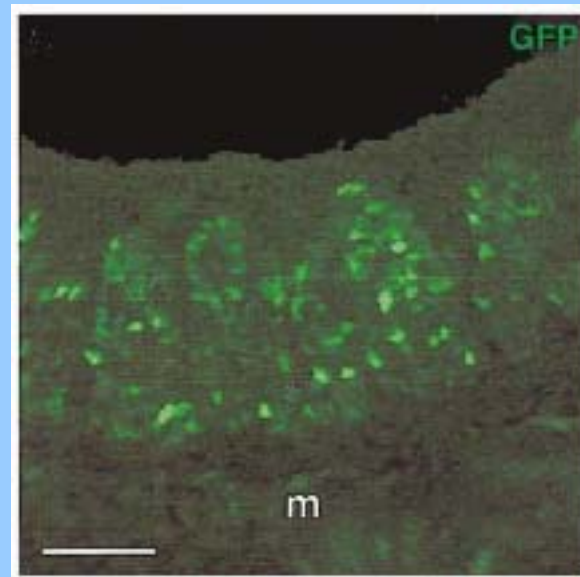


SRY è espresso precocemente dalle cellule del Sertoli ed è fondamentale per la mascolinizzazione della gonade

***Sry* is expressed in the Sertoli cell precursors**



11.5dpc

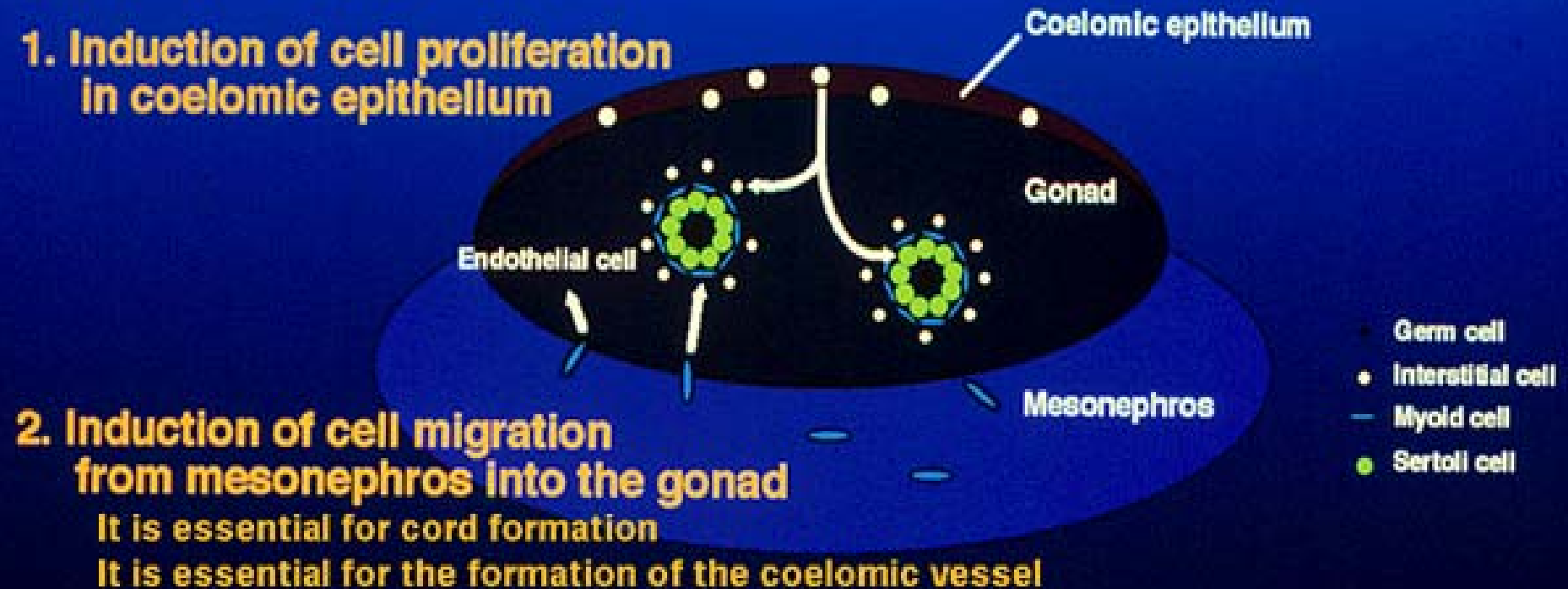


12.5dpc

The specification of Sertoli precursors by SRY triggers multiple cellular processes in the gonad

Multiple functions of Sry

1. Induction of cell proliferation in coelomic epithelium



2. Induction of cell migration from mesonephros into the gonad

It is essential for cord formation

It is essential for the formation of the coelomic vessel

Vi sono tuttavia altri geni “a monte” e “a valle” di SRY

Geni necessari per stabilire gli abbozzi della gonade

- ***Wt1 (Wilm's tumour 1)***
- ***Sf1 (Steroidogenic factor 1)***
- ***Lhx9 (Lim homeobox 9)***

Geni attivati da SRY

- ***SOX-9 (homeobox HMG)***
- ***SOX-8 (homeobox)***
- ***AMH (ormone anti-mulleriano)***
- ***Dhh (molecola segnale espressa precocemente dalle cell. del Sertoli, che influenza anche le cell. di Leydig e l'organizzaz. della gonade)***
- ***Scc (necessario per la produzione di androgeni nelle cell. di Leydig)***

Vi sono geni per la femminilizzazione?

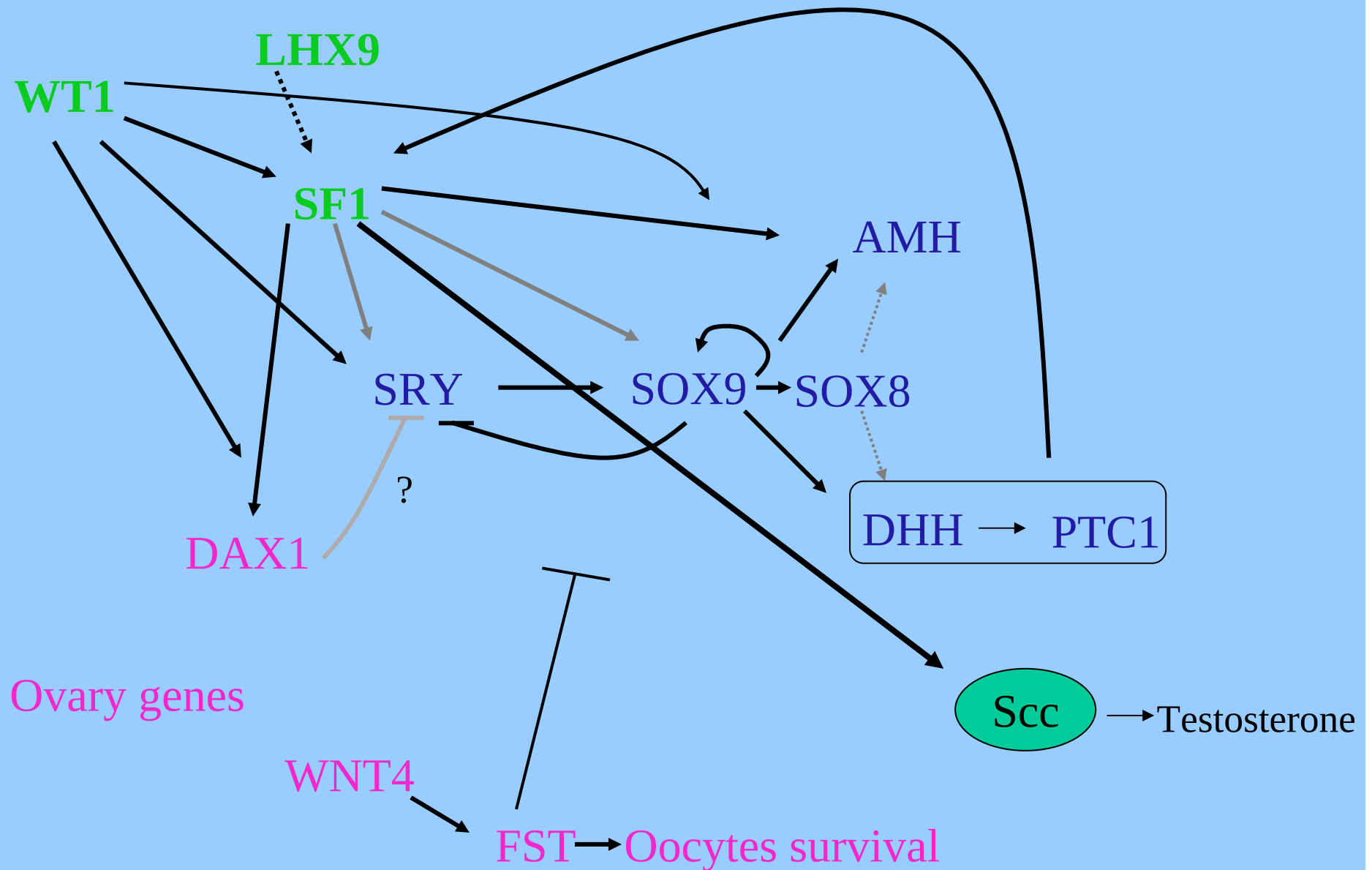
Dati relativamente recenti hanno tuttavia determinato che anche il cromosoma X porta dei geni importanti per la determinazione del sesso gonadico.

Tra questi hanno particolare rilievo i geni DAX-1 e WNT-4.

Infatti sono espressi nell'abbozzo della gonade in entrambi i sessi, poi col differenziamento rimangono solo espressi nella gonade XX.

Loro mutazioni portano a diverse anomalie nello sviluppo loco-regionale. La persistenza dell'espressione di tali geni al di là di una fase precoce inibisce la mascolinizzazione della gonade (sex reversal gonadico).

Interazioni geniche e vie di differenziamento del sesso

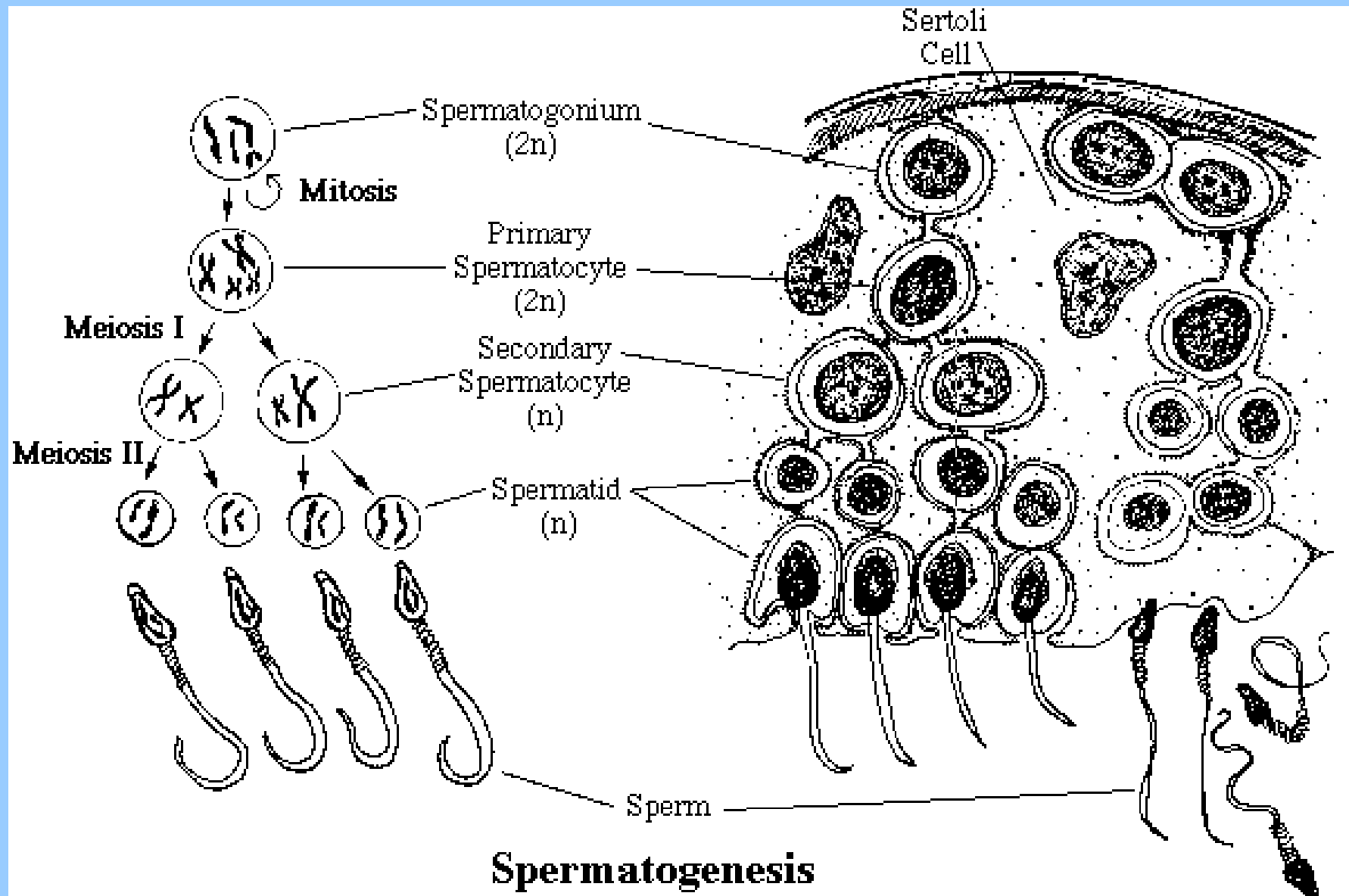


Geni per la staminalità

Vi sono indubbiamente dei geni la cui espressione consente il mantenimento delle caratteristiche staminali

Per quanto riguarda la spermatogenesi, gli spermatogoni esprimono il gene DAZ, codificato dal cromosoma Y, che potrebbe essere il responsabile della capacità di autorinnovo della popolazione staminale

La spermatogenesi



Rapporti tra cellule germinali e cellule del Sertoli

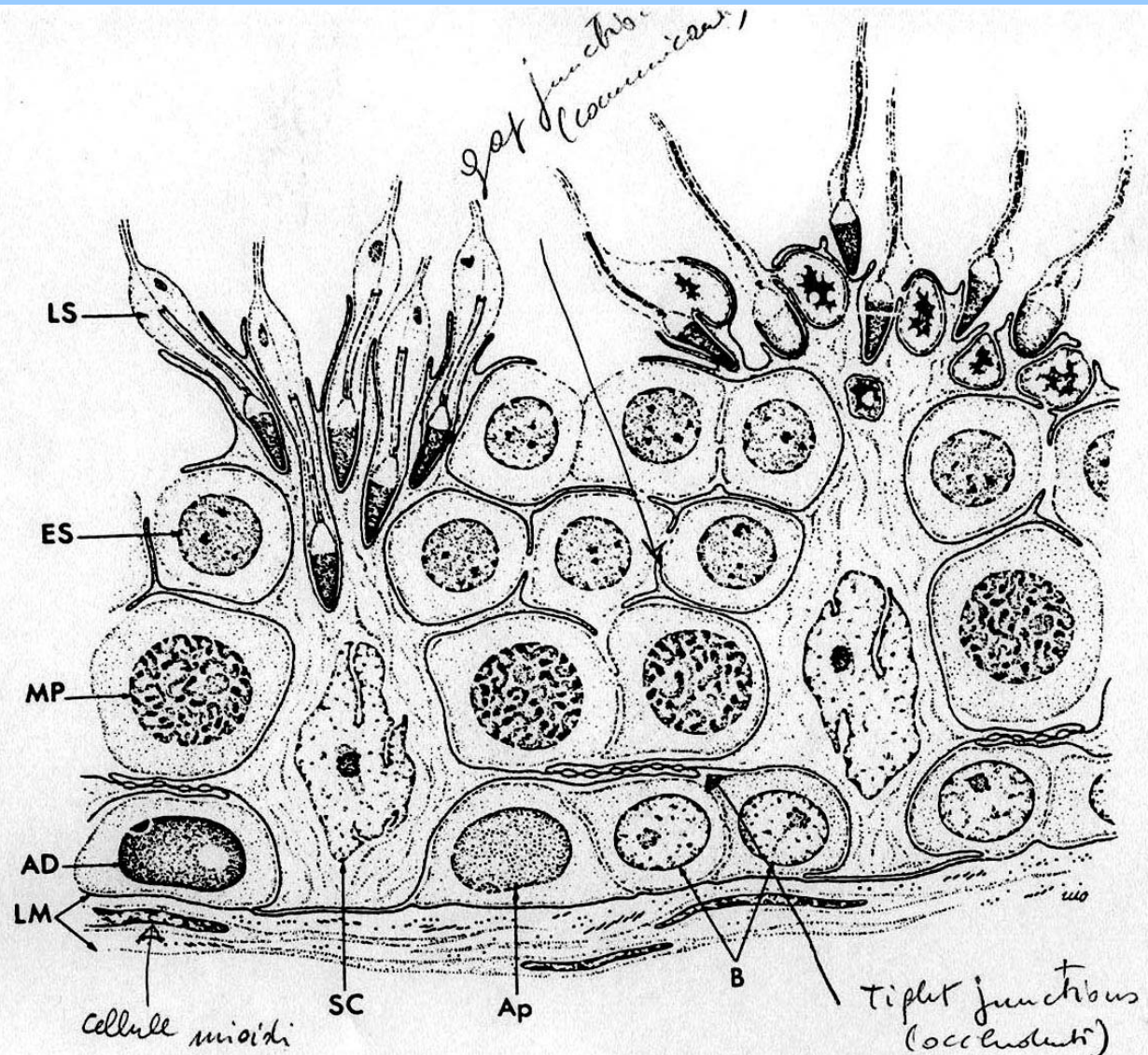
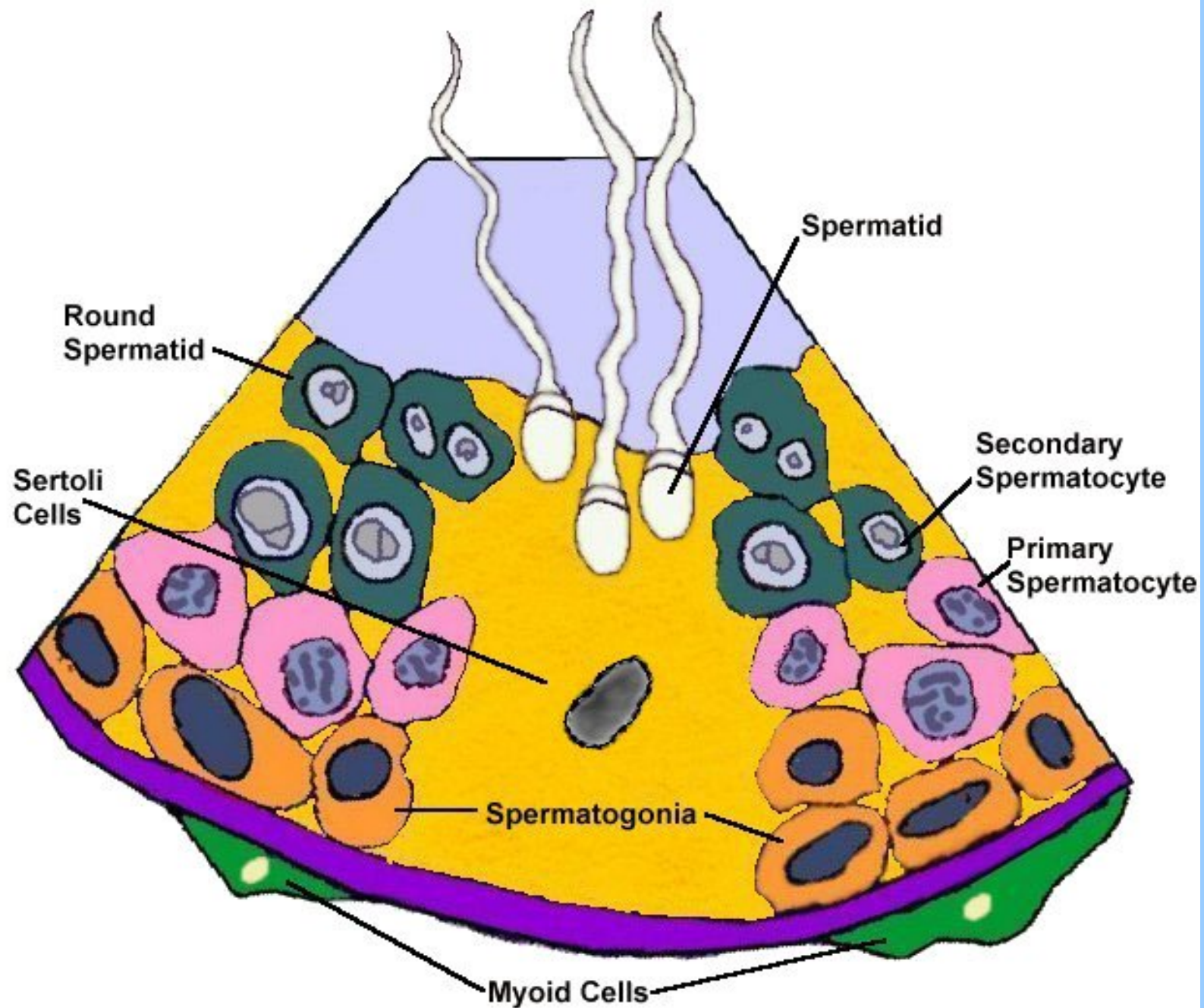
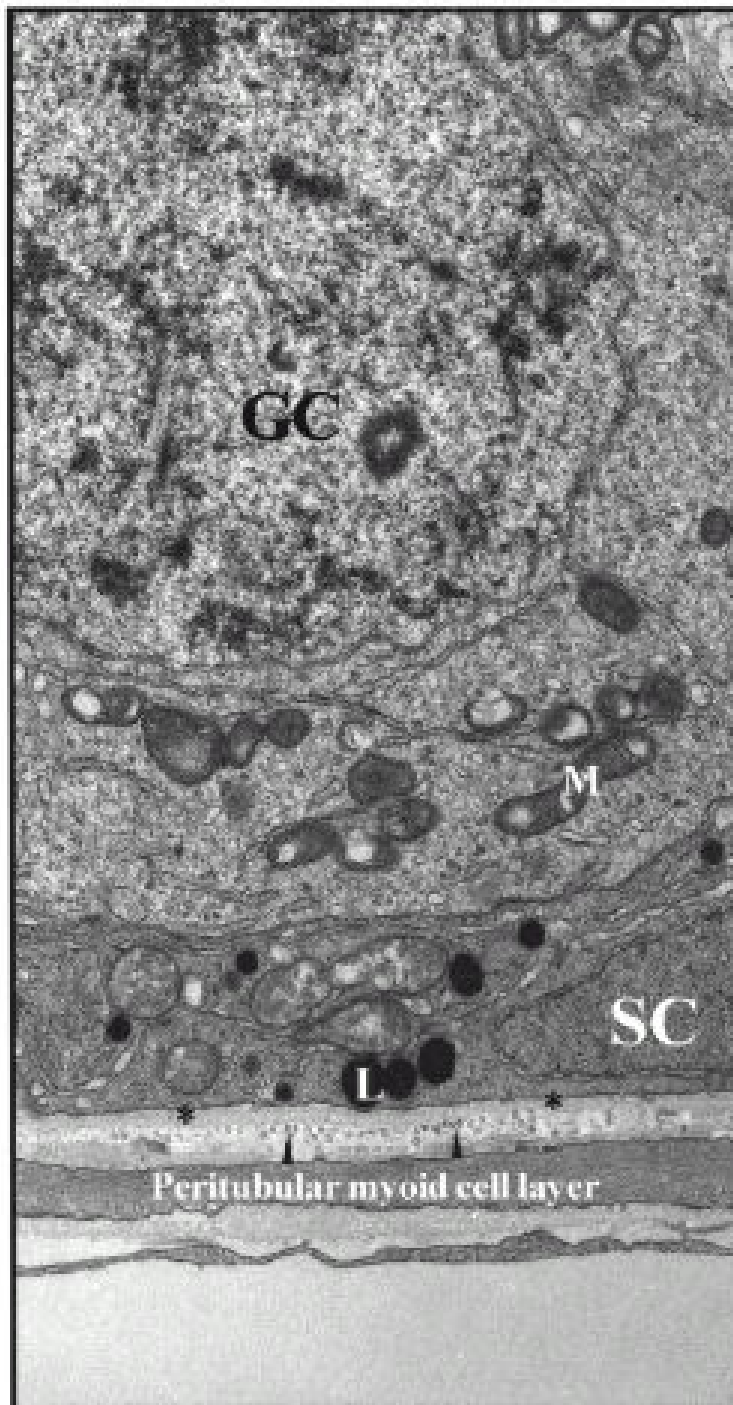


Figura 26.6. Disegno schematico dell'epitelio seminifero, che illustra i rapporti fra cellule di Sertoli e cellule germinali. MP, spermatociti a metà dello stadio di pachitene; ES, spermatidi appena formati; LS, spermatidi maturi; AD, spermatogonio A

scuro; AP, spermatogonio A pallido; LM, membrana limitante; SC, cellula di Sertoli; B, spermatogoni B. [Per gentile concessione di Y. Clermont.]





GC

M

SC

L

**Seminiferous
epithelium**

Basement membrane
Type I collagen

Peritubular myoid cell layer

Lymph
Lymphatic endothelium

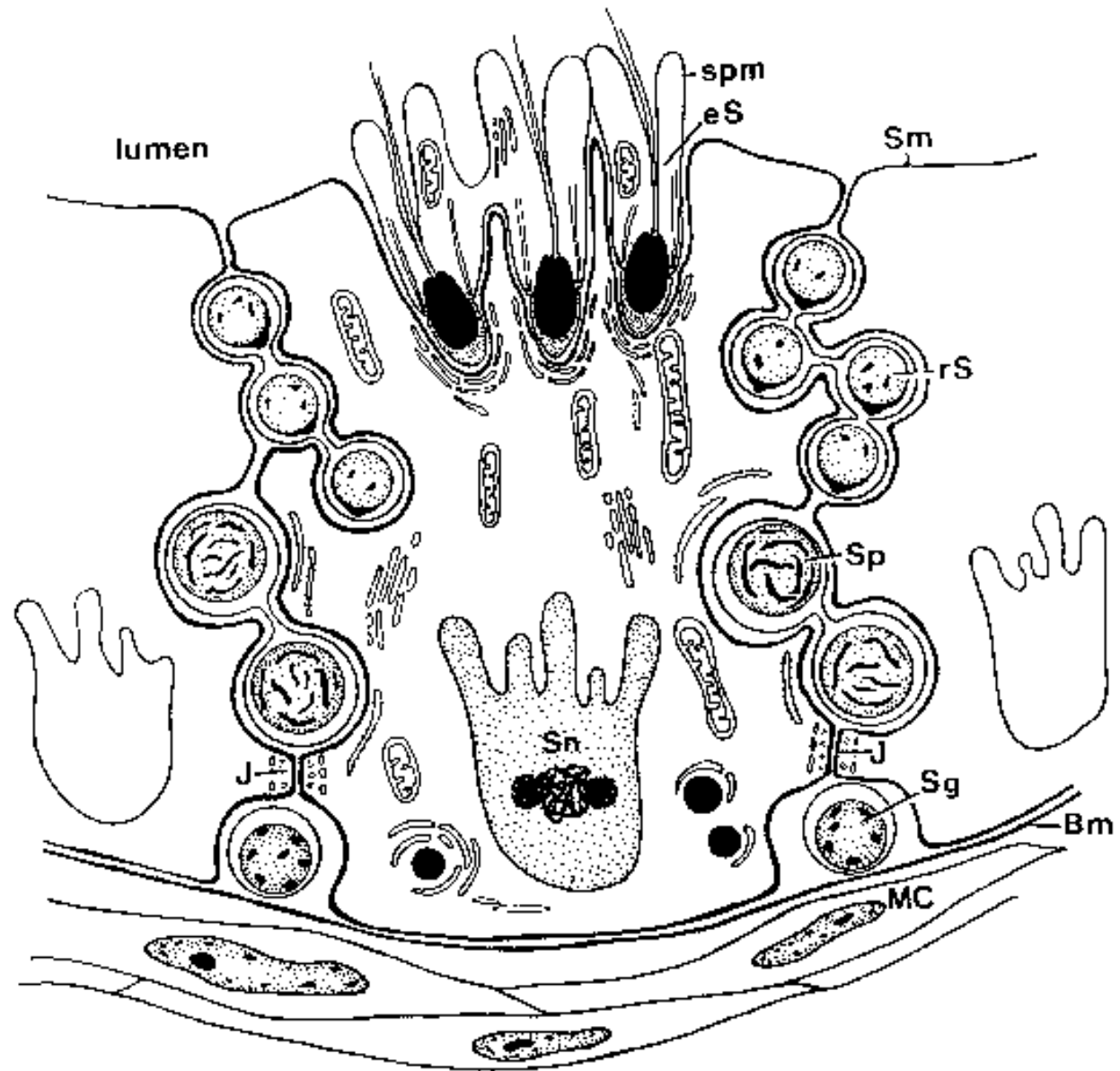
Tunica propria

Spermioistogenesi

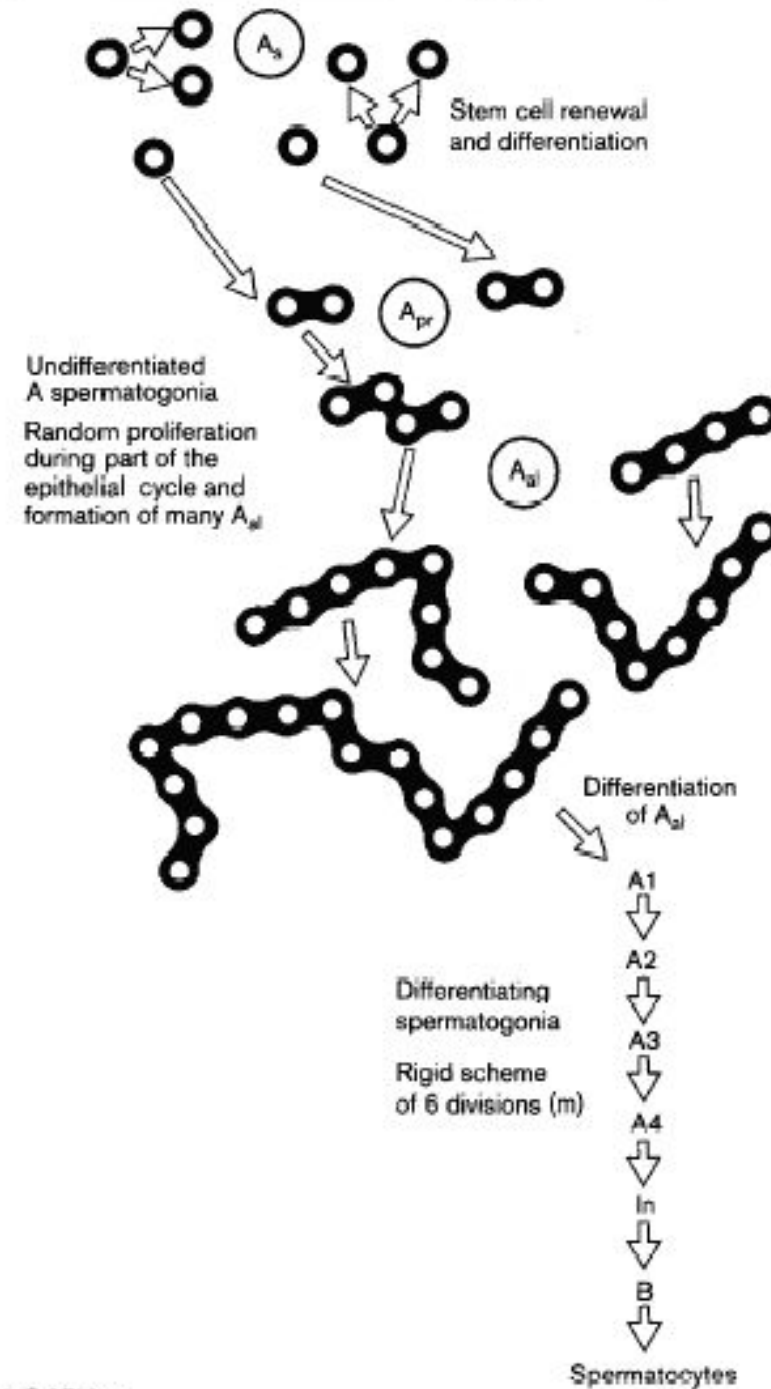
Meiosi II

Meiosi I

Proliferazione



Le divisioni mitotiche degli spermatogoni consentono sia l'automantenimento della popolazione staminale, sia l'avvio verso un programma di differenziamento



16 giorni
(fase di proliferazione)

24giorni
(fase meiotica)

24 giorni
(spermioistogenesi)

$16 + 24 + 24 = 64$ giorni
(durata totale del ciclo
dell'epitelio seminifero)

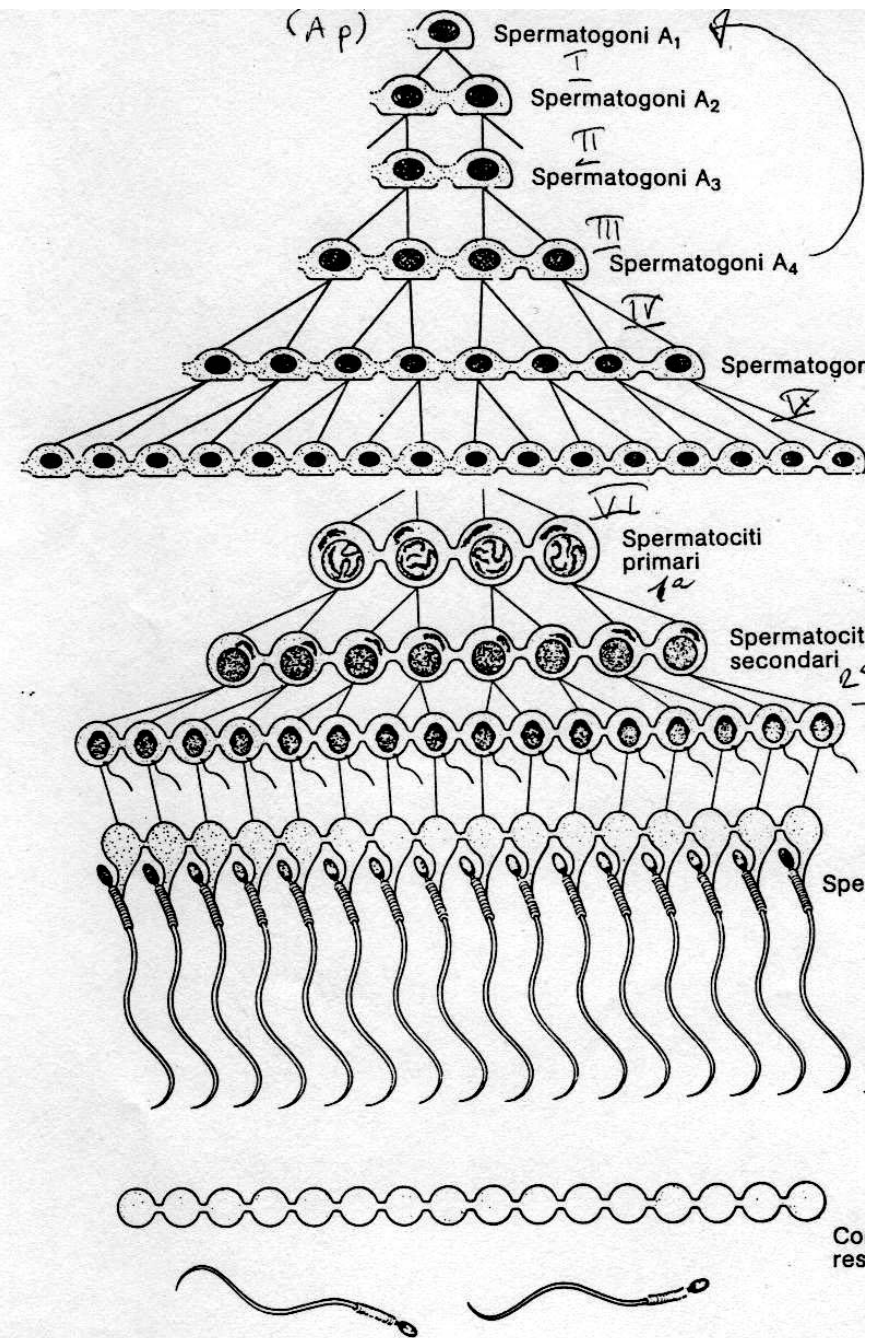


Figura 26.20. Schema che illustra i ponti cellulari che uniscono le cellule germinali. I singoli spermatozoi si separano immediatamente prima di essere liberati nel lume del tubulo. Per sempli-

ficare, le cellule sono rappresentate i
Dym e D. W. Fawcett, Biol. Repro

Ruolo delle cellule del Leydig

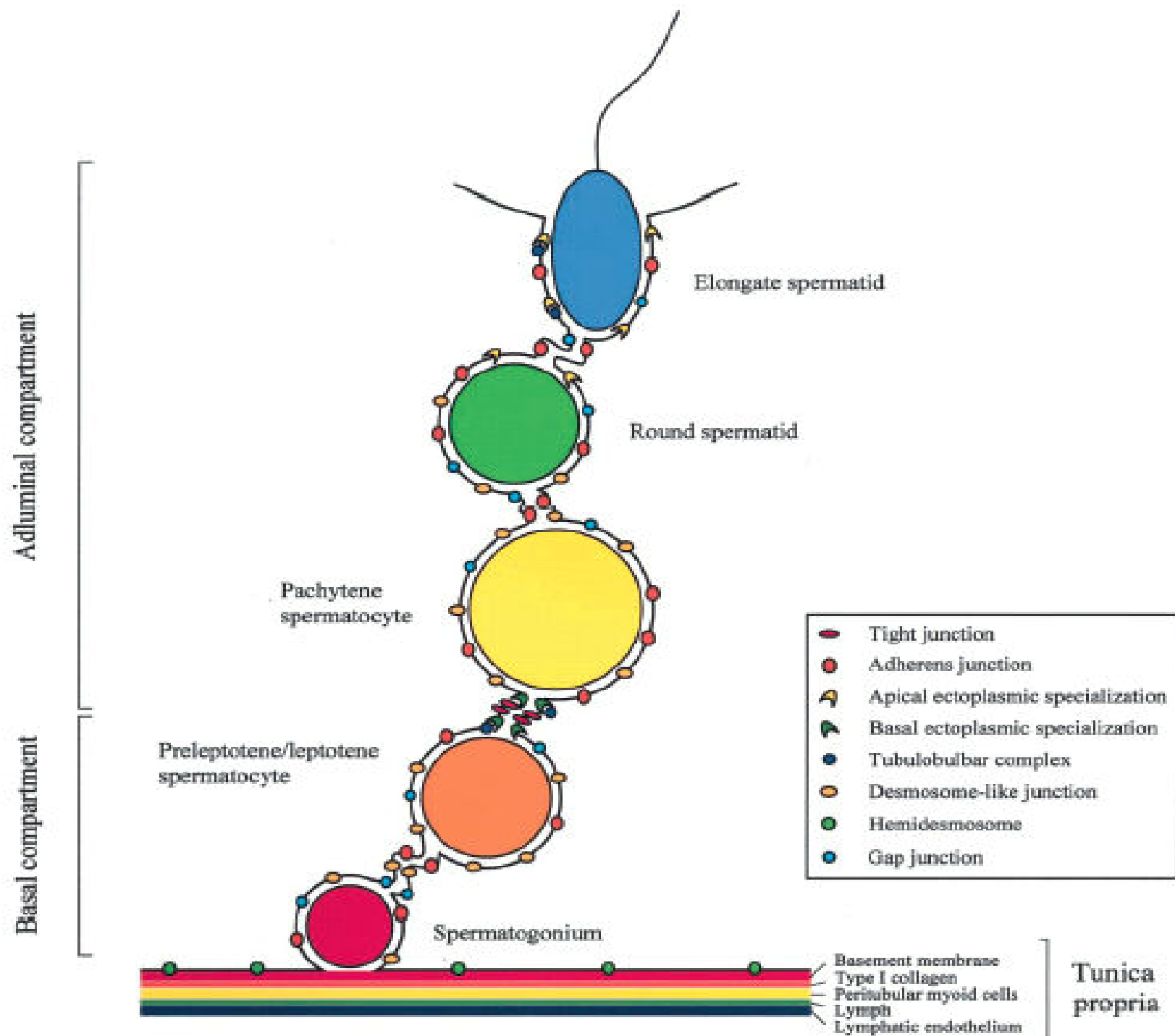
N.B. hanno recettori per LH

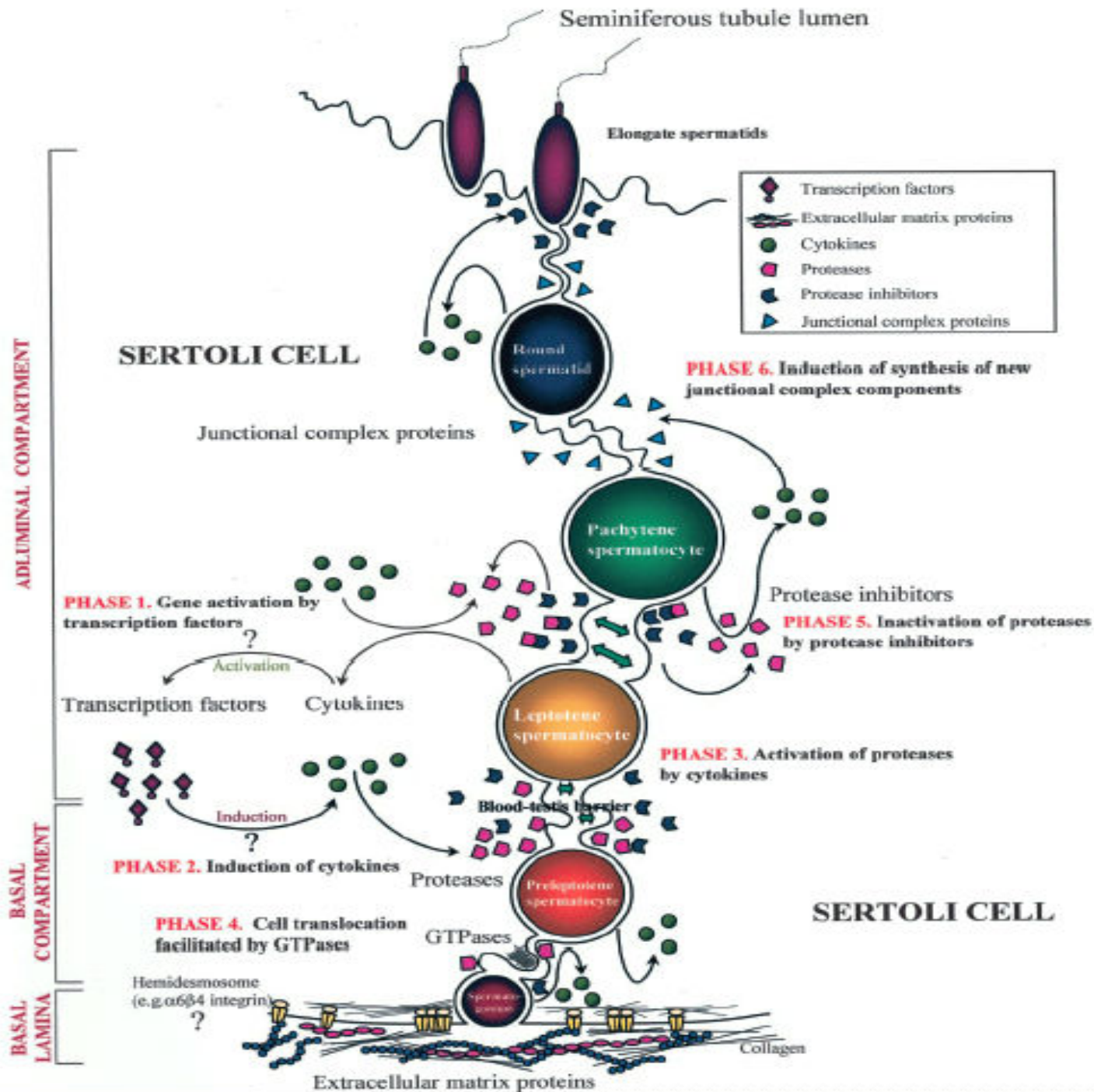
Sintesi di testosterone e di altri ormoni androgeni
sotto il controllo dell'ipofisi

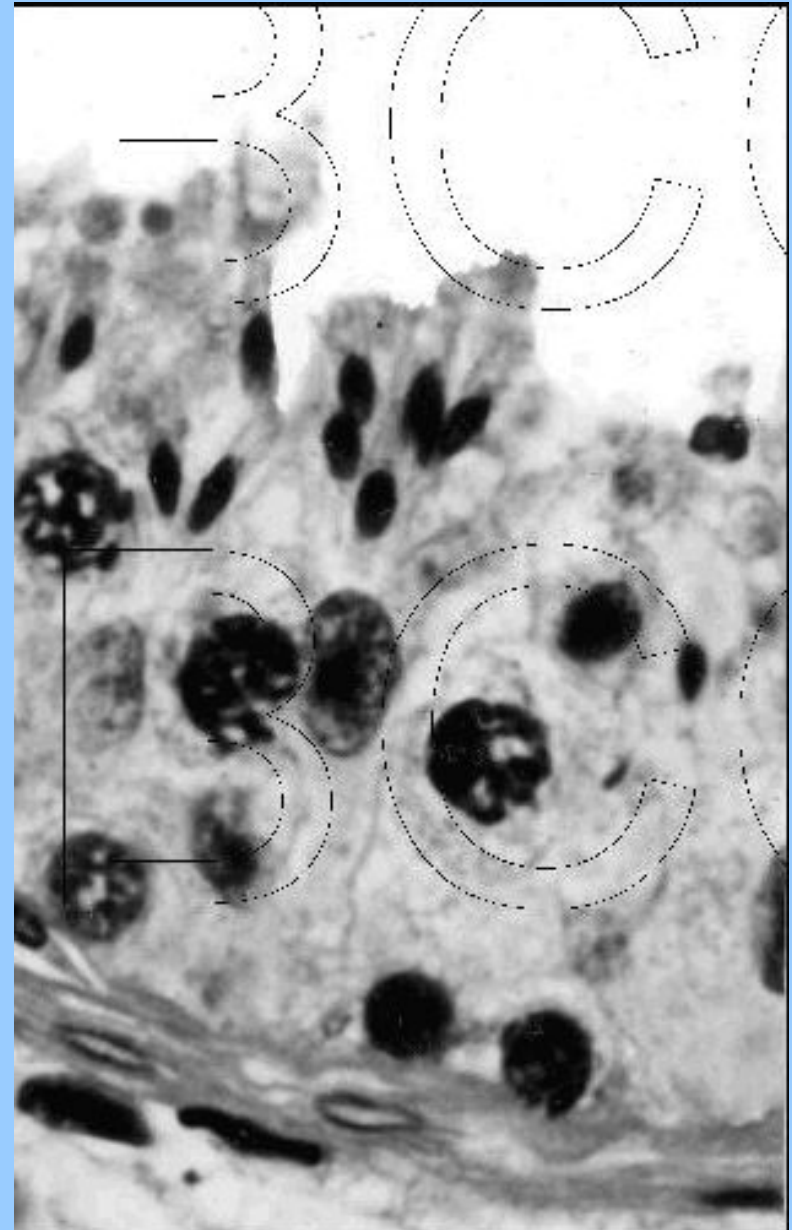
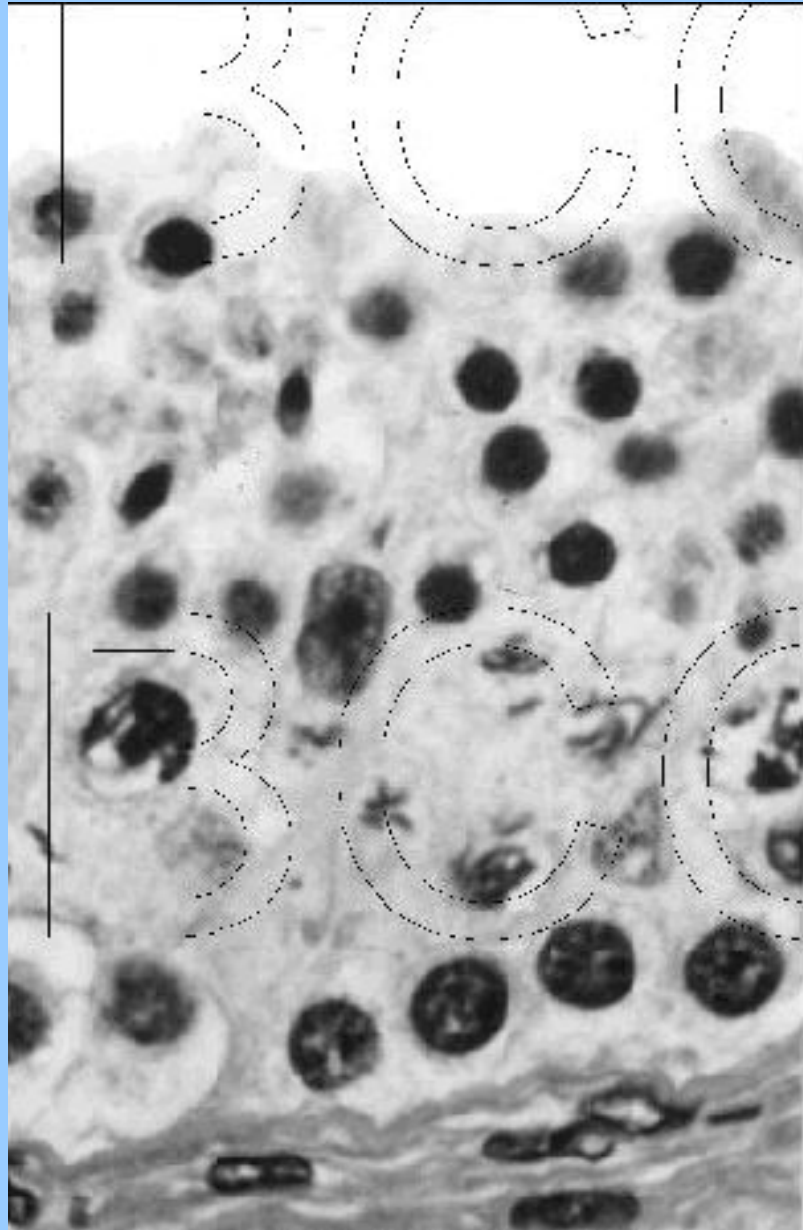
I molteplici ruoli delle cellule del Sertoli

N.B. esprimono recettori per FSH

- contributo determinante al differenziamento della gonade
- repressione pre-puberale della meiosi
- mantenimento/nutrizione/protezione delle cellule germinali (gap junctions)
- regolazione della proliferazione e del differenziamento delle cellule germinali (azione paracrina, giunzioni aderenti e comunicanti)
- Regolazione dell'apoptosi degli spermatogoni
- produzione di transferrina, ferritina e inibina
- concentrazione degli androgeni (Androgen Binding Protein e Steroid Hormone Binding Globulin) nel compartimento basale
- trasformazione del testosterone in diidro-testosterone
- separazione del compartimento basale da quello luminale e spostamento delle cellule germinali differenzianti verso il lume
- fagocitosi di corpi estranei/batteri
- fagocitosi della goccia citoplasmatica
- secrezione del liquido seminale







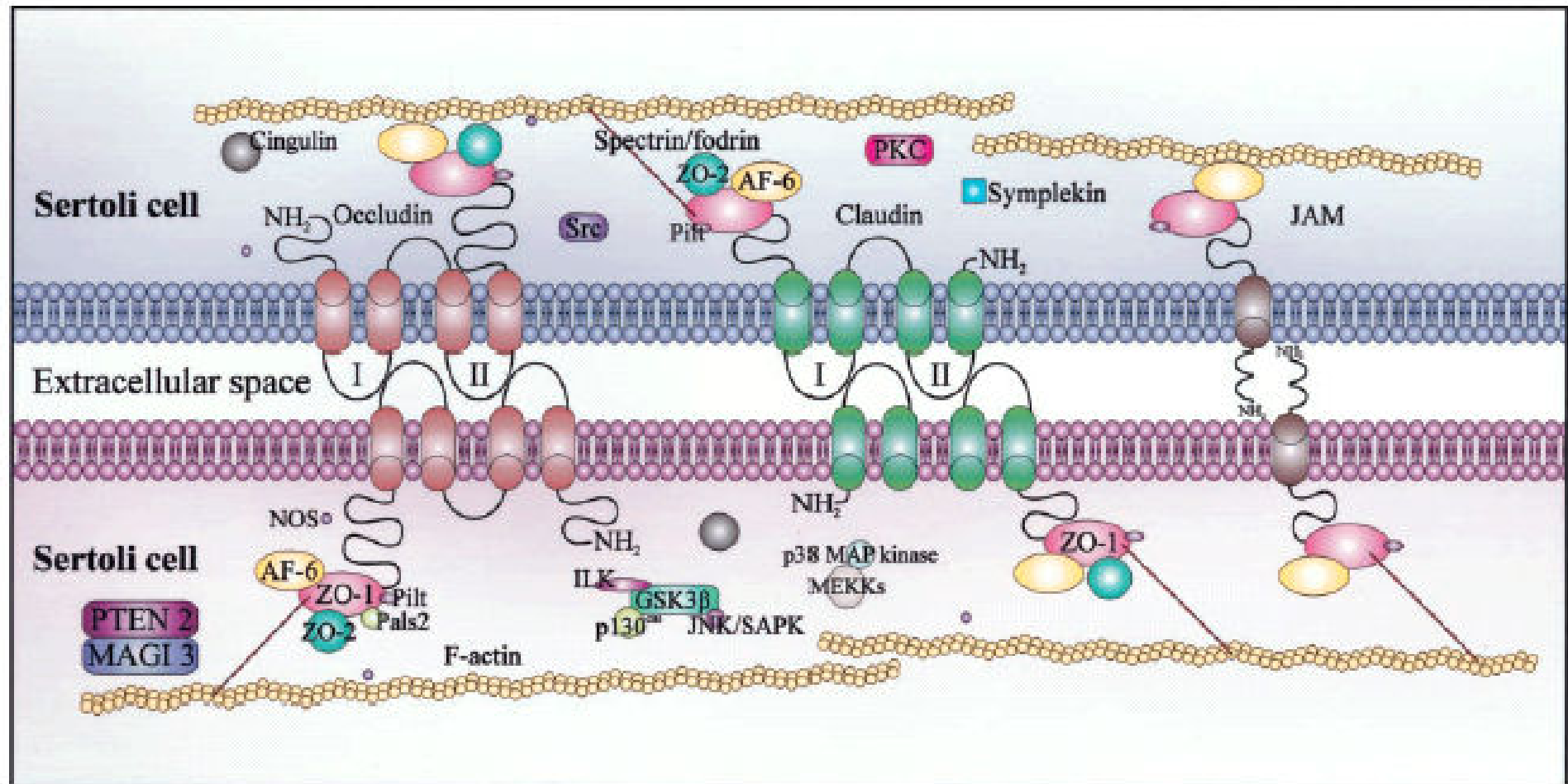


FIG. 6. Schematic drawing illustrating the molecular architecture of the three multiprotein complexes found at the Sertoli cell tight junction that constitute the blood-testis barrier. Shown are the three multiprotein complexes found at the Sertoli cell tight junction: 1) occludin-ZO-1/ZO-2; 2) claudin-ZO-1/ZO-2; and 3) JAM-ZO-1. Also shown are peripheral membrane proteins known to regulate Sertoli cell tight junction dynamics. This figure was prepared based on the following original research articles and reviews: (Refs. 4, 28, 114, 149, 150, 254–256, and 341).

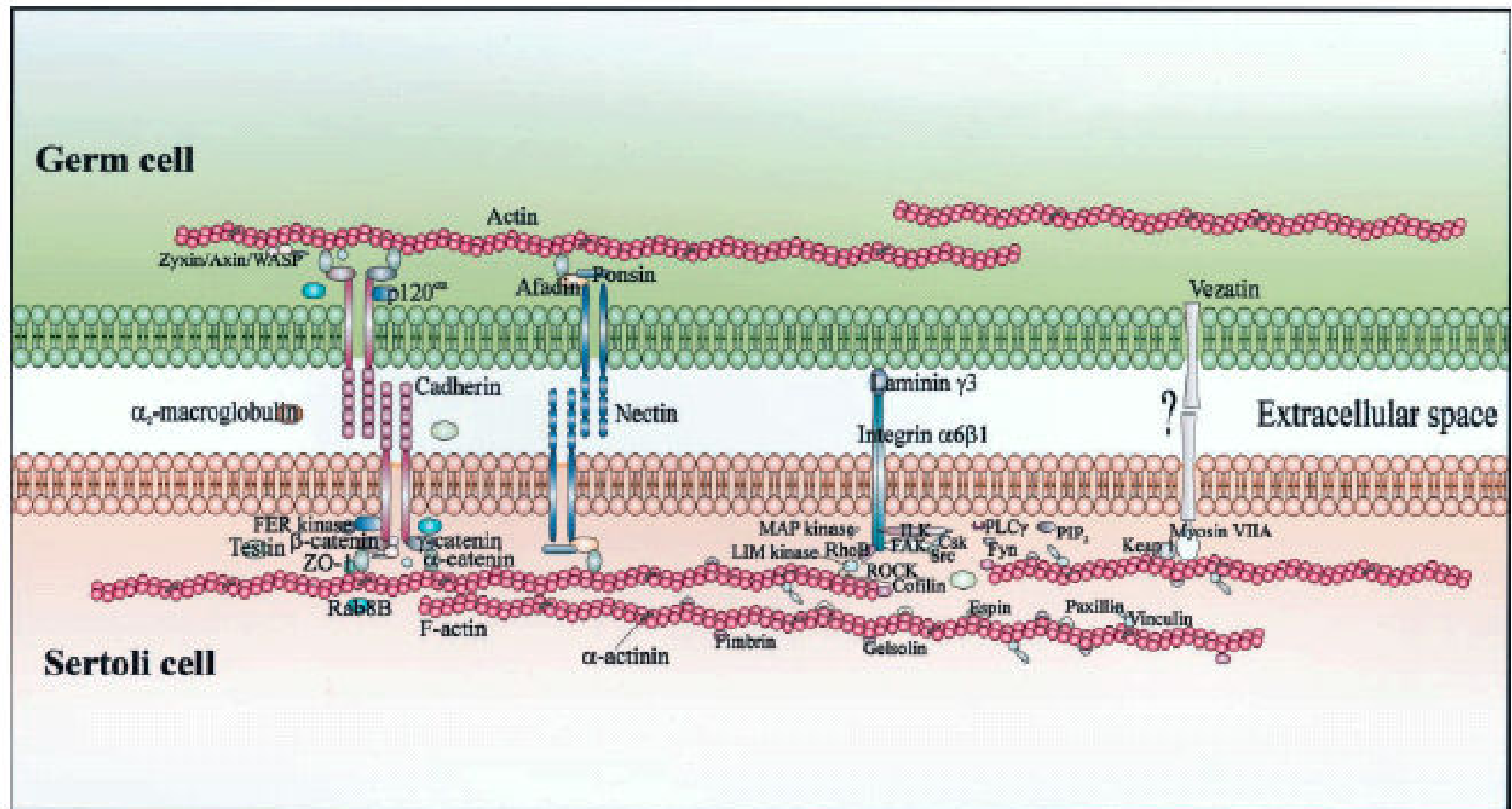
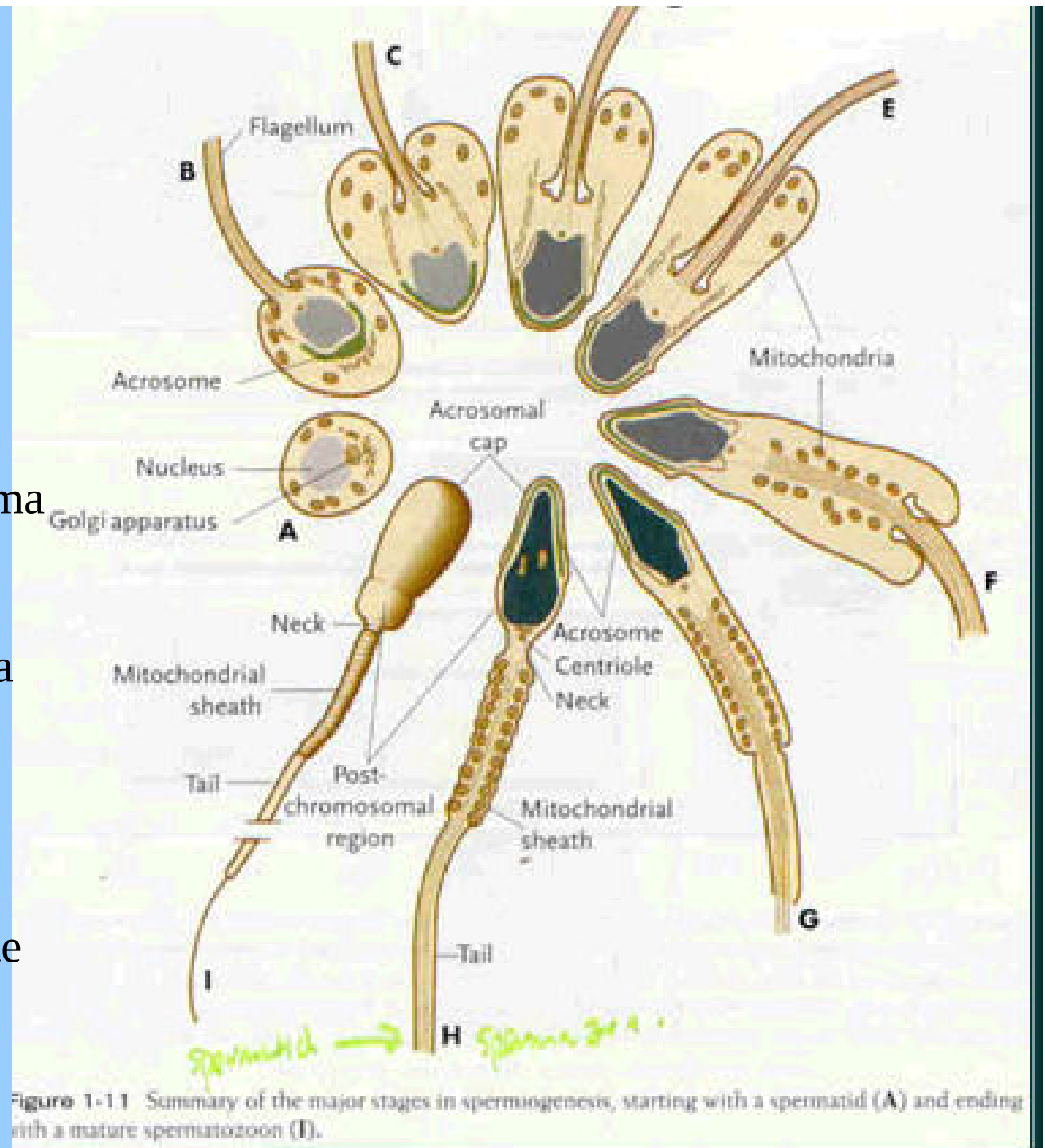


FIG. 9. Schematic drawing illustrating the molecular architecture of the four multiprotein complexes found at the Sertoli-germ cell adherens junction. Shown are the four multiprotein complexes found at the Sertoli-germ cell adherens junction: 1) cadherin–catenin, 2) nectin–afadin–ponsin, 3) integrin–laminin, and 4) vezatin–myosin (?). It is not yet known whether vezatin, the binding partner of myosin, is present in the testis. Also shown are signaling proteins known to regulate Sertoli-germ cell adherens junction dynamics. This figure was prepared based on the following original research articles and reviews: Refs. 4, 49, 53, 60, and 459).

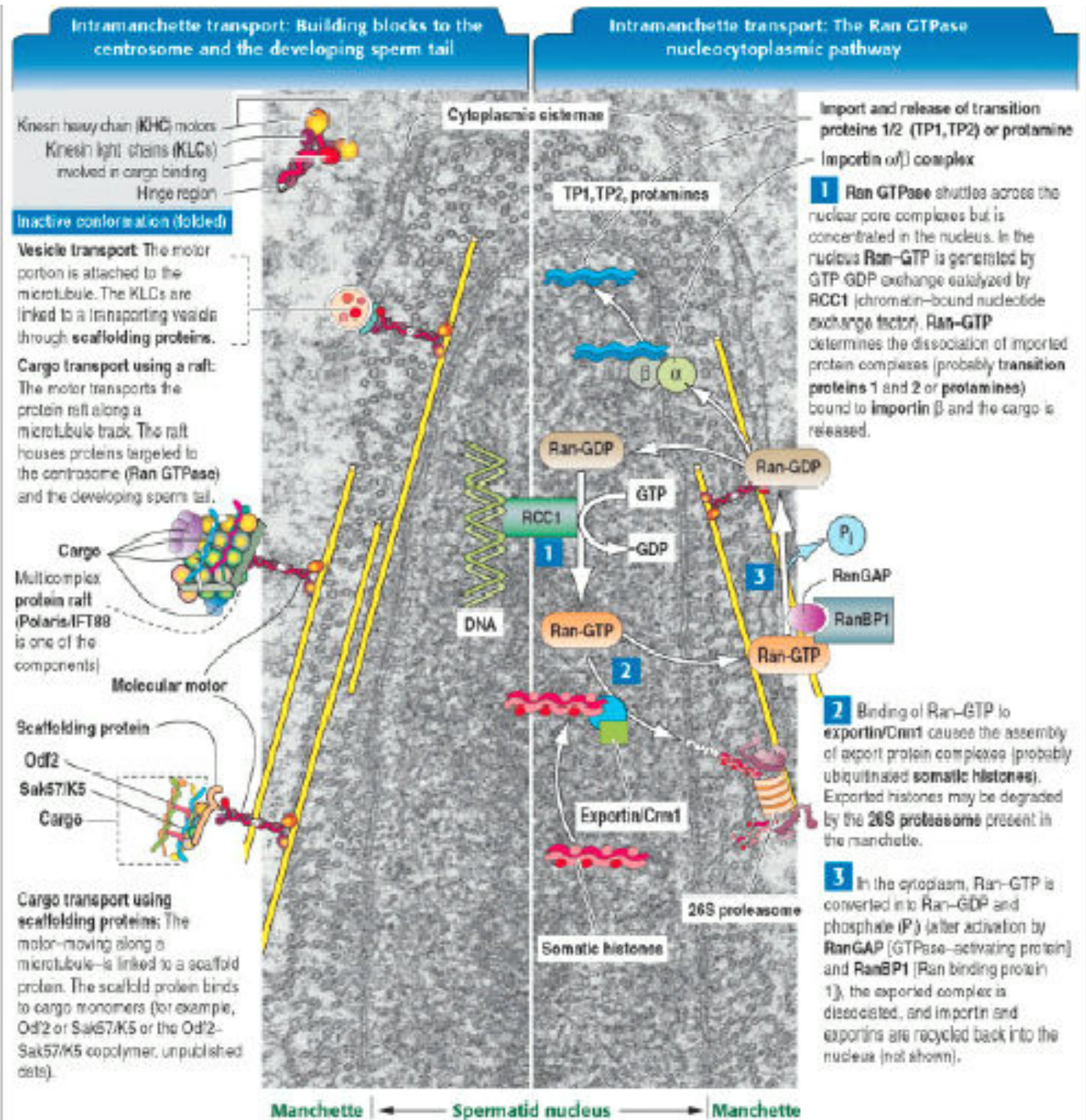
Spermioistogenesi: *come trasformare una berlina in una F1*

Finalità principali:

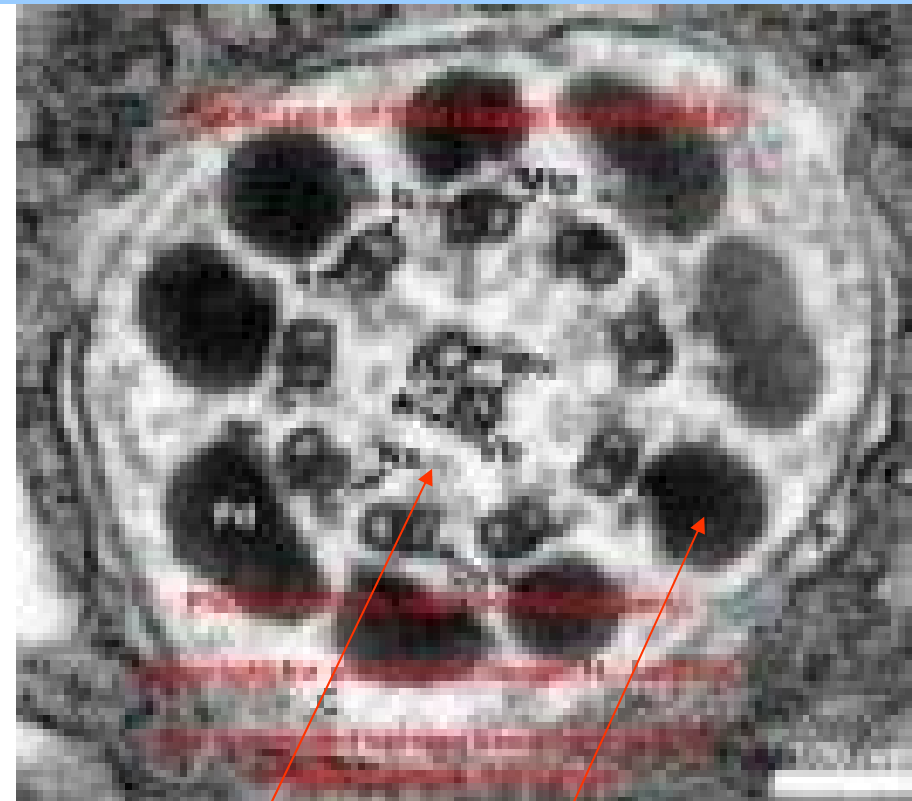
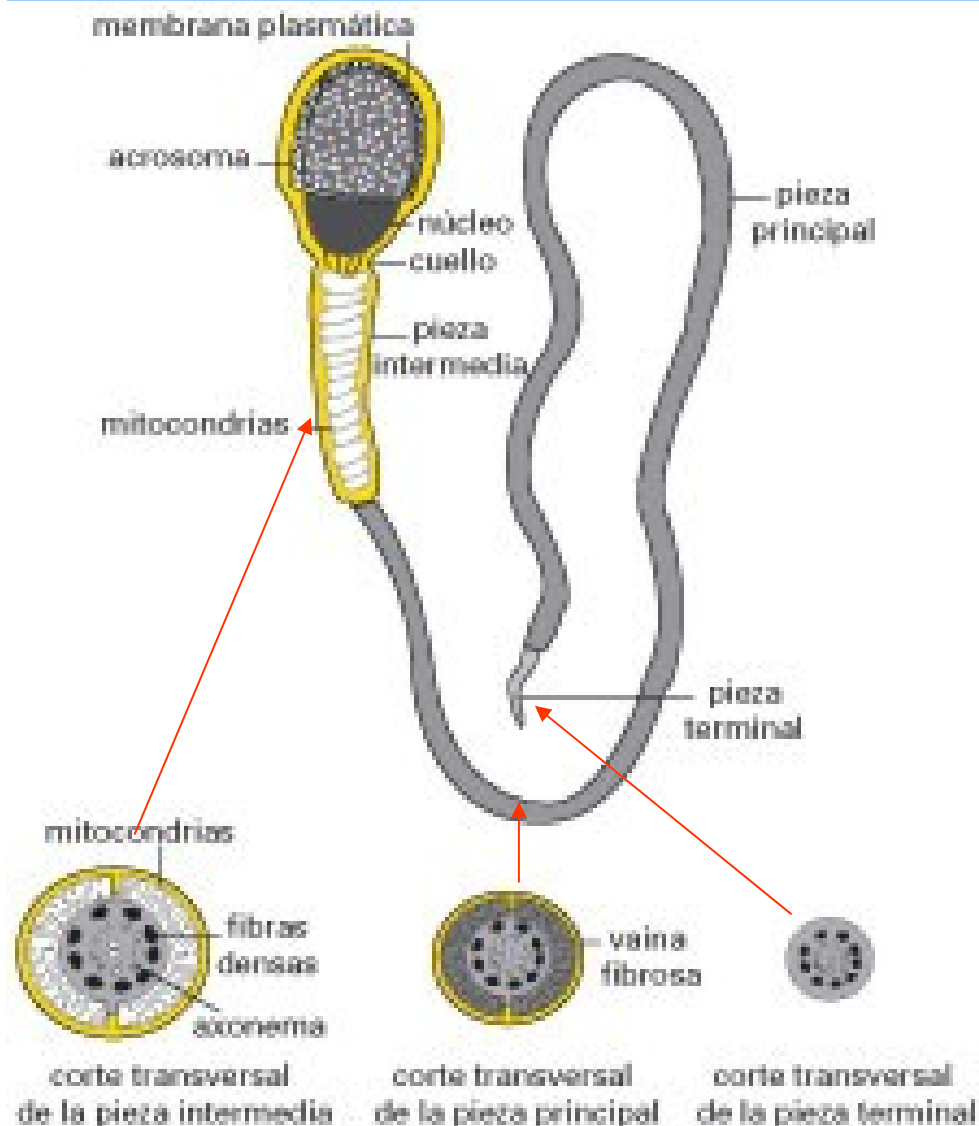
- Formazione del flagello
- Formazione dell'acrosoma
- Localizzazione dei mitocondri
- Assunzione di una forma aerodinamica
- “alleggerimento”, con eliminazione dell'acqua, del citoplasma e delle molecole non strettamente indispensabili



Il traffico di molecole volto a costituire il flagello e la struttura del nucleo si sviluppa a livello della “manchette”, una struttura costituita da microtubuli dove sono localizzate importine, esportine e proteine Ran-GTP



Spermioistogenesi – l'assonema



Microtubuli (9 coppie + 2),
braccia di dineina
Guaina fibrosa

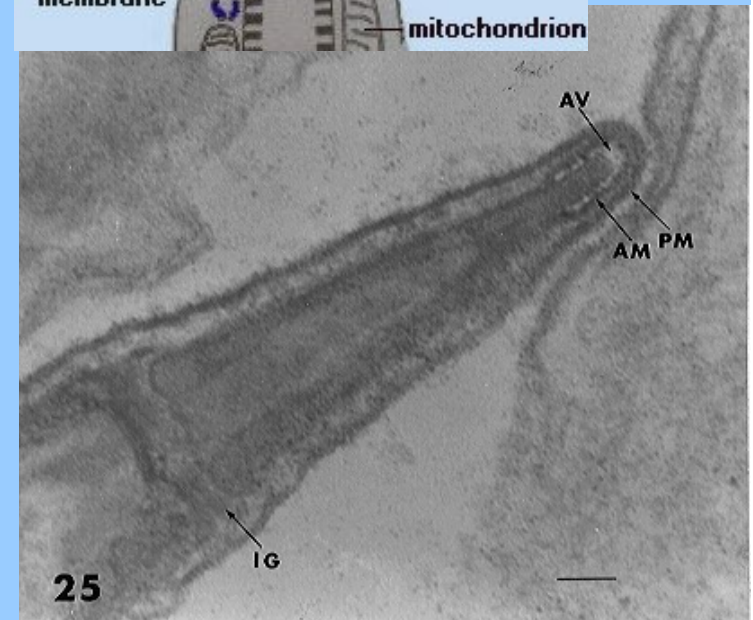
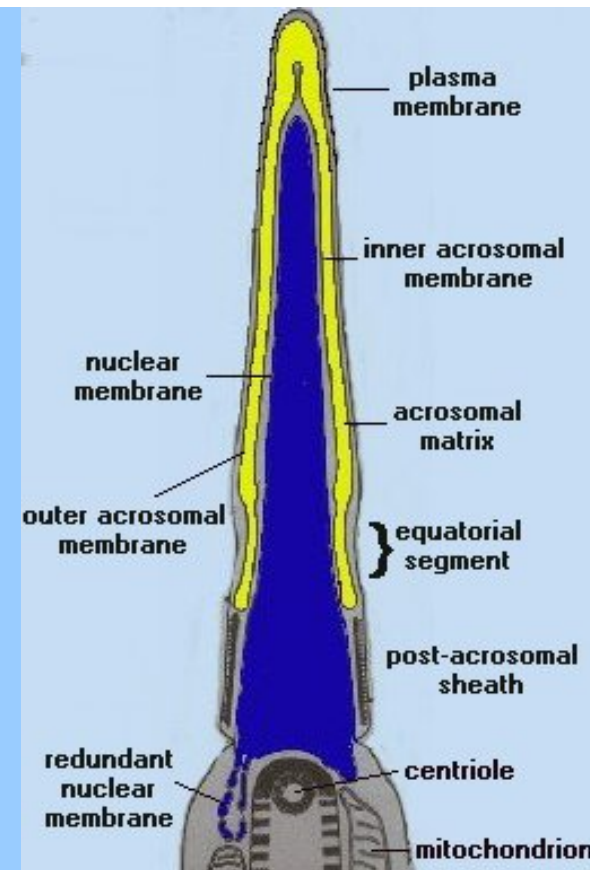
Spermioistogenesi – l'acrosoma

L'acrosoma si forma dall'apparato del Golgi

Assume una forma a “berretto da sci”, calato sul nucleo; resta circondato dalla sua membrana

Contiene enzimi di tipo lisosomiale (è di fatto un mega-lisosoma): tra di essi, esterasi, neuraminidasi, acrosina (una proteasi simile alla tripsina).

Serve per la penetrazione nella zona pellucida che circonda l'ovocita

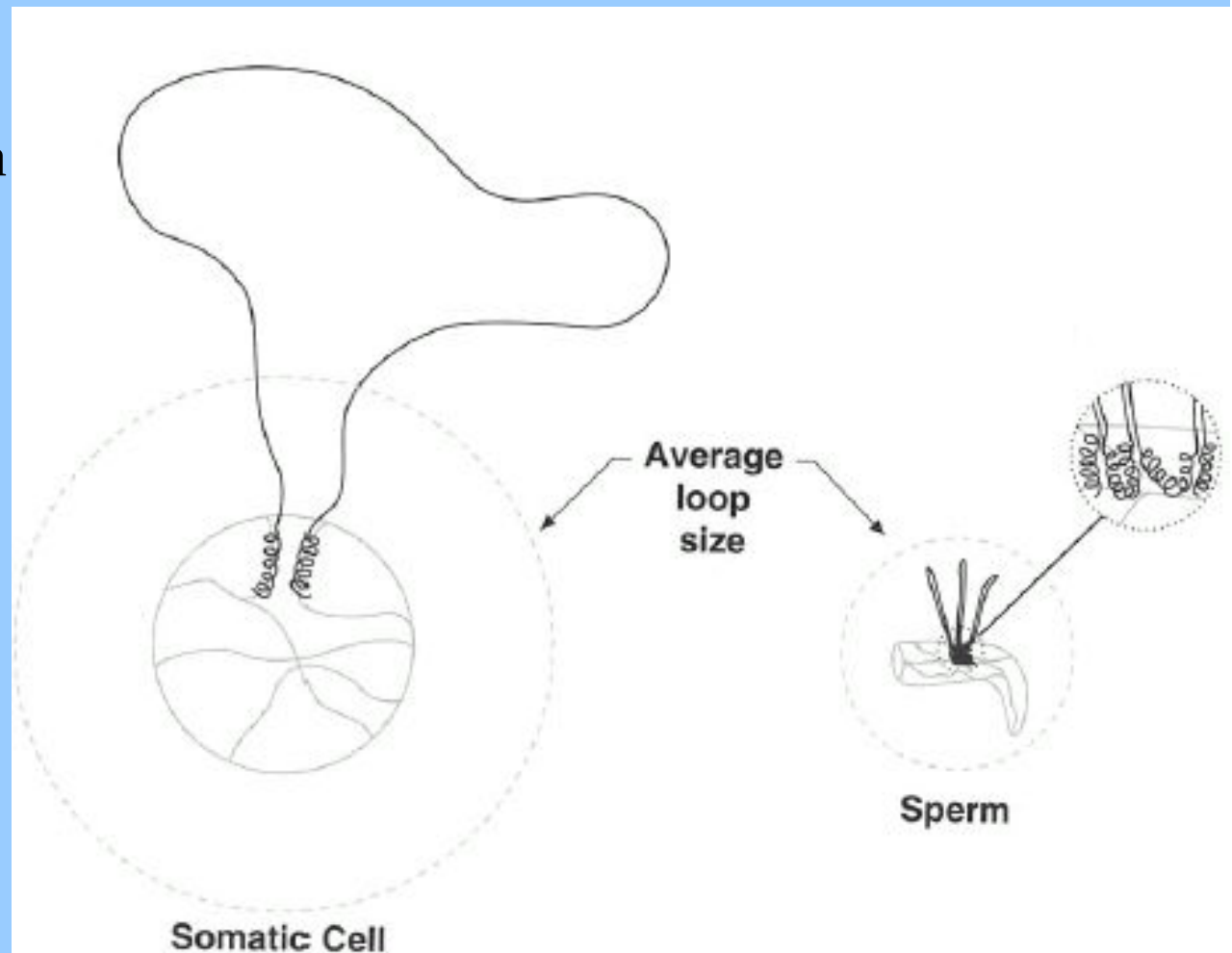


Spermioistogenesi – la cromatina

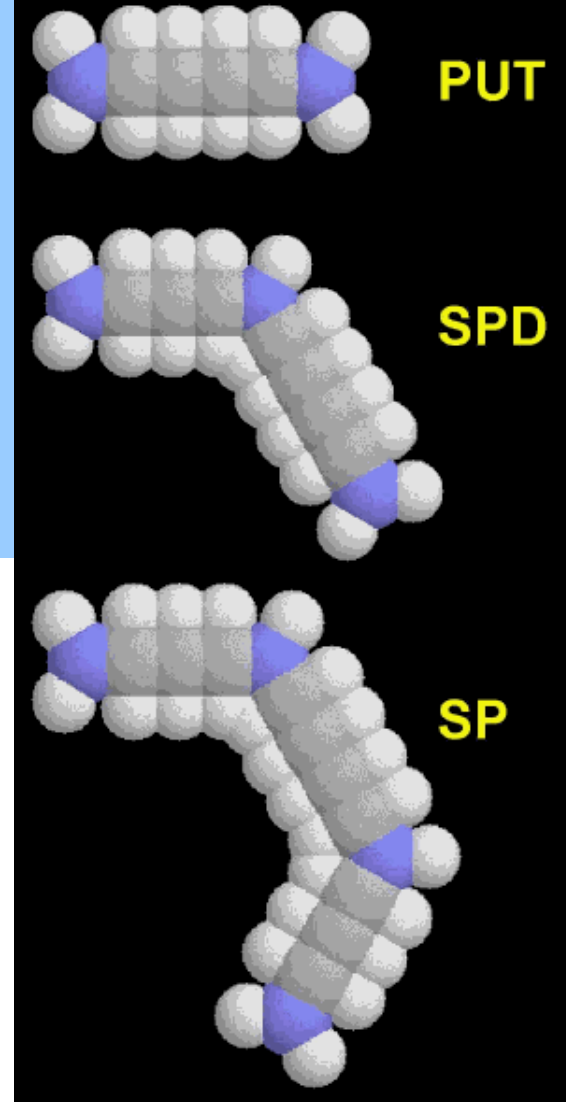
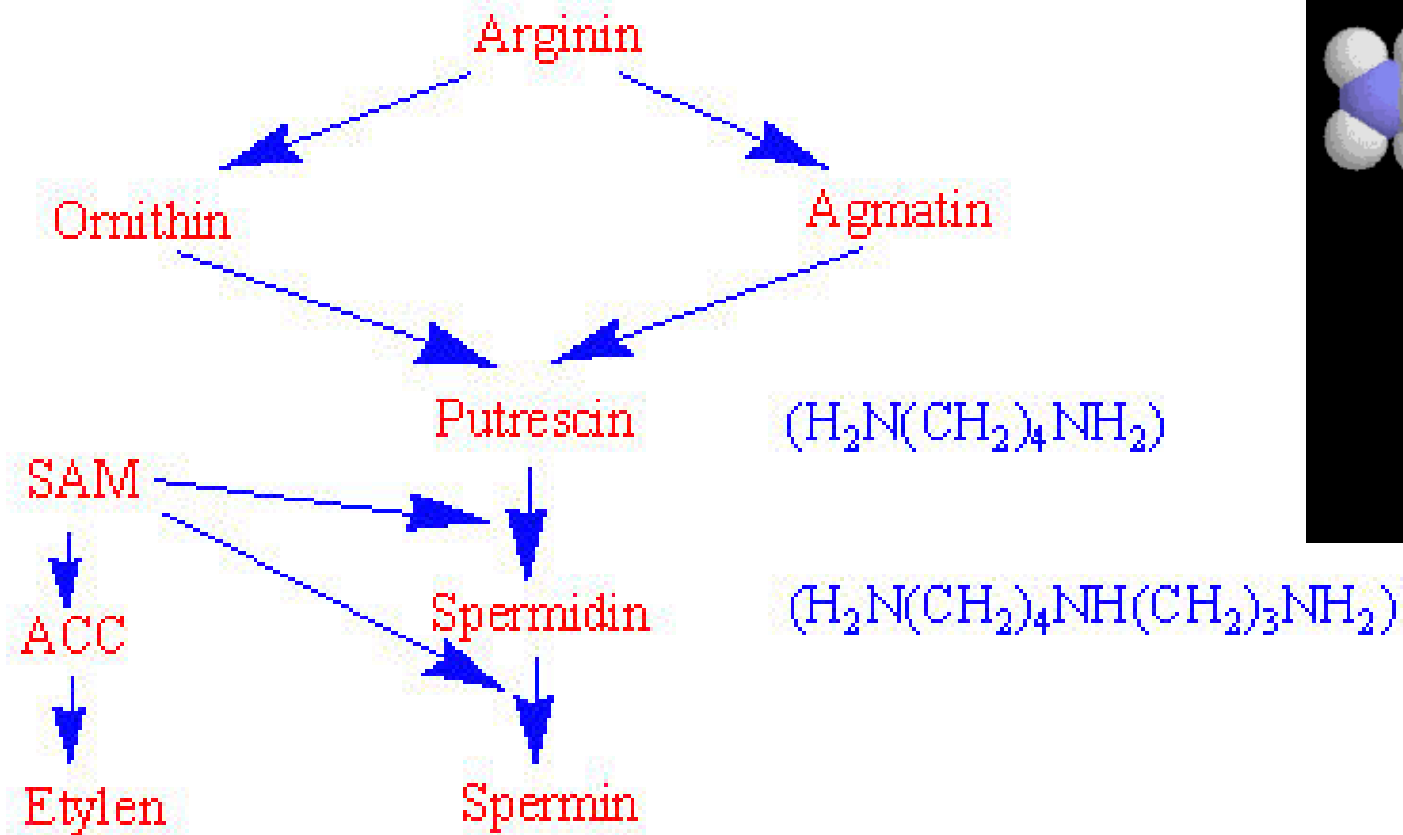
La cromatina subisce una profonda trasformazione, in quanto “scambia” gli istoni con protammine (spermina e spermidina), molecole più piccole e più basiche. Il DNA, molto impacchettato, si condensa in toroidi del diametro esterno di circa 50 nm che circondano un “nucleo” di protammine. Una piccola parte resta associata agli istoni.

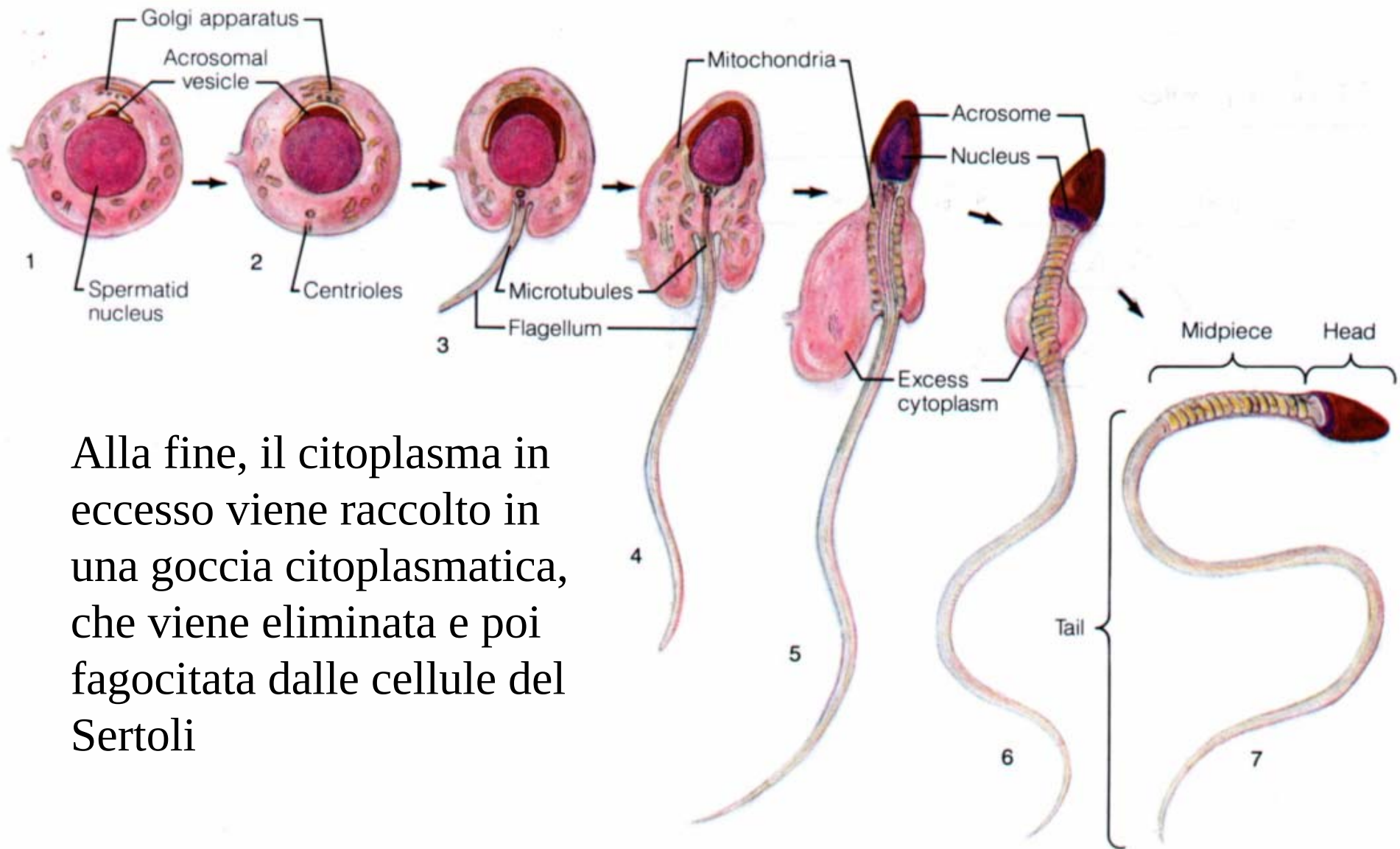
Il filamento di 50 nm si ripiega quindi in anse di circa 46 kb legate a molecole della matrice nucleare.

La cromatina così condensata NON è più trascrivibile



Le protammine

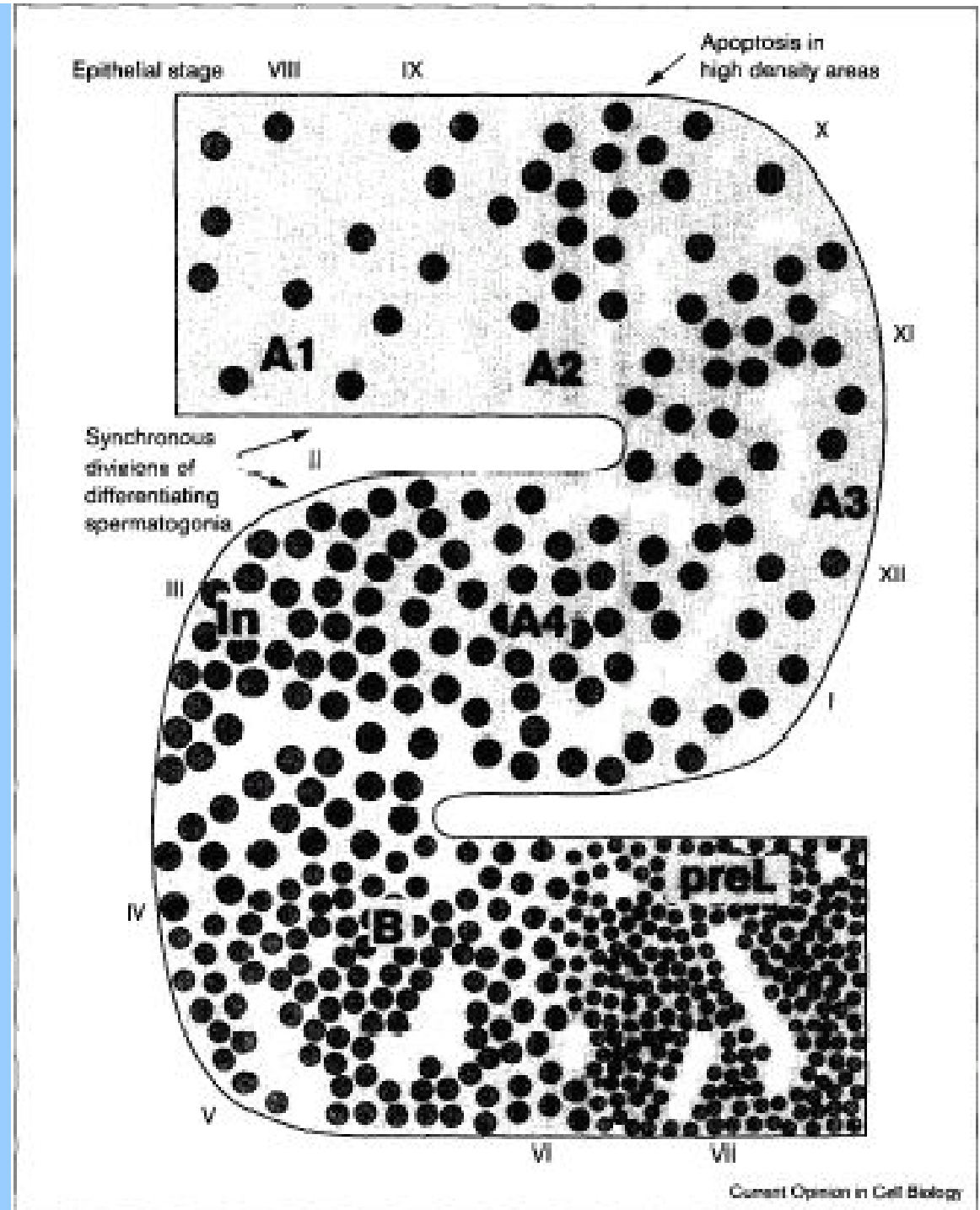




Alla fine, il citoplasma in eccesso viene raccolto in una goccia citoplasmatica, che viene eliminata e poi fagocitata dalle cellule del Sertoli

Il ciclo dell'epitelio
seminifero si svolge
come un'onda temporo-
spaziale che comporta la
contemporanea presenza
di cellule a stadi diversi
di differenziamento.

Qui una sola “onda” è rappresentata nella sua distribuzione lungo il tubulo.



Il ciclo dell'epitelio seminifero

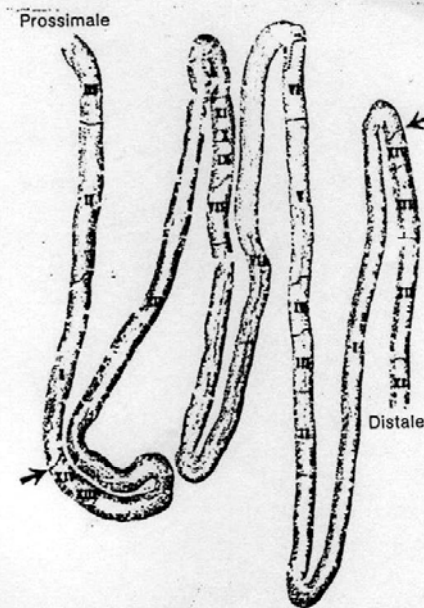


Figura 26.27. Tubulo seminifero isolato del testicolo di ratto, che dimostra un'onda dell'epitelio seminifero. Quattordici segmenti che rappresentano i 14 stadi del ciclo dell'epitelio seminifero sono disposti in ordine numerico continuo, che procede in senso distale, formando una così detta onda. Gli estremi dell'onda sono indicati da frecce. Notare la diversa lunghezza dei vari segmenti di uno stesso tipo (confrontare i segmenti I, II e III). [Dalla fig. 7, B. Perey, Y. Clermont e C. P. Leblond, *Am. J. Anat.*, 108, 55, 1961.]

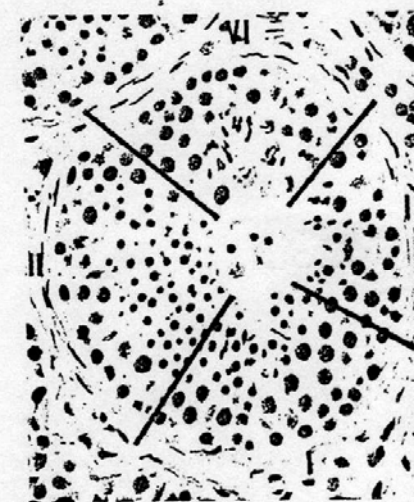


Figura 26.29. Microfotografia che dimostra in un'unica sezione trasversale di tubulo seminifero umano quattro differenti stadi ben delimitati del ciclo dell'epitelio seminifero. 40 $\times$. [Da Y. Clermont, *Am. J. Anat.*, 112, 50, 1963.]

Apparato genitale maschile 871

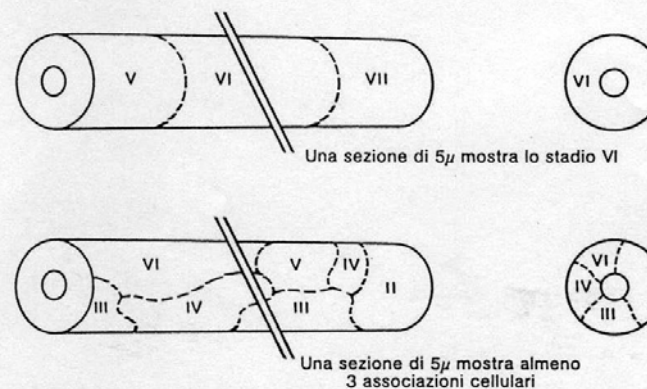


Figura 26.28. Rappresentazione schematica delle principali differenze nell'organizzazione dell'epitelio seminifero fra l'uomo (in basso) e molte specie ad esso inferiori (in alto). Nell'uomo

le associazioni cellulari occupano piccole regioni irregolari nella lunghezza del tubulo; nelle altre specie ogni associazione cellulare occupa lungo il tubulo un'area più ampia.

le 6 “associazioni” nel ciclo dell’epitelio seminifero

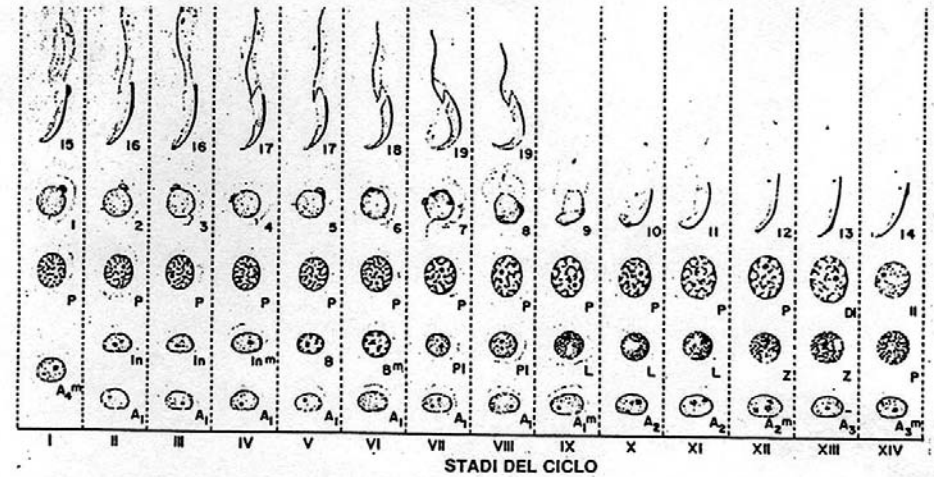


Figura 26.25. Composizione cellulare dei 14 stadi del ciclo dell'epitelio seminifero del ratto. Ogni colonna indicata da un numero romano mostra i tipi di cellule presenti in una delle associazioni cellulari osservabili nelle sezioni trasversali dei tubuli seminiferi. Le associazioni cellulari o stadi del ciclo si succedono l'una dopo l'altra in una determinata area dell'epitelio del tubulo seminifero di ratto. Dopo l'associazione XIV ricompare l'associazione I e così la sequenza ricomincia di nuovo. Gli stadi del ciclo sono stati identificati per mezzo di 14 dei 19 stadi della spermiogenesi (numerati da 1 a 19), i quali sono stati definiti dalle modificazioni osservate nel nucleo e nella struttura

acrosomica (acrosoma e cappuccio cefalico applicato alla superficie del nucleo) nelle sezioni colorate con acido periodico-Schiff-ematossilina. A₁, A₂, A₃ e A₄ indicano quattro generazioni di spermatogoni di tipo A; In, spermatogoni intermedi; B, spermatogoni di tipo B; la lettera m scritta ad esponente della sigla di uno spermatogonio indica la mitosi; Pl, spermatocito in preleptotene; L, spermatocito in leptotene; Z, spermatocito in zigotene; P, spermatocito in pachitene; II, spermatocito di II ordine. [Da M. Dym e Y. Clermont. *Am. J. Anat.*, 128, 265, 1970.]

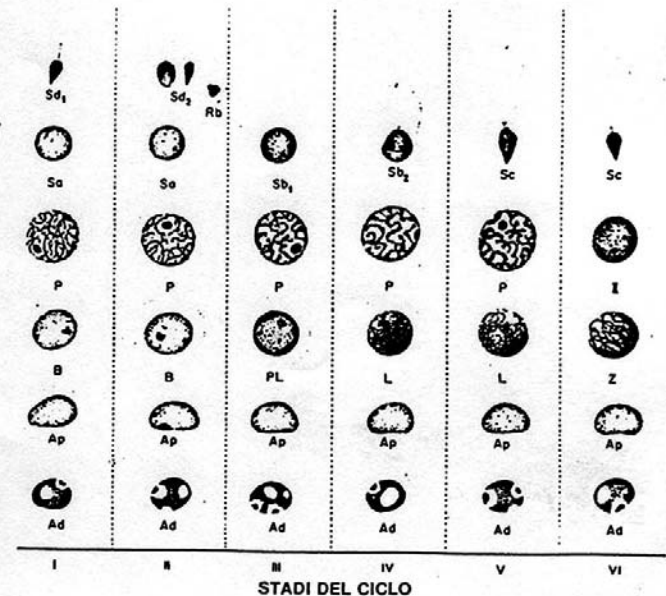


Figura 26.26. I sei stadi o associazioni cellulari del ciclo dell'epitelio seminifero dell'uomo. Per l'illustrazione dei simboli c. figura 26.7. [Per gentile concessione di Y. Clermont.]

E dopo?

Lo spermatozoo libero che lascia il tubulo seminifero (spinto dalla pressione del liquido seminale) deve trascorrere una fase di ulteriore “maturazione” nell’epididimo.

In tale sede

- Acquisisce motilità
- Cambia metabolismo
- Viene decapacitato, ossia perde la capacità fecondante, che verrà riacquistata con la permanenza nelle vie genitali femminili

motilità

La motilità degli spermatozoi viene acquisita nel passaggio nell'ultimo tratto (cauda) dell'epididimo.

Si ritiene che la motilità sia dipendente da reazioni che coinvolgono segnali di membrana e che comportano l'attivazione di adenilato ciclasasi e la mobilitazione di calcio intracitoplasmatico.

metabolismo

Nell'epididimo gli spermatozoi acquisiscono la capacità di sfruttare come fonte di energia fruttosio, sorbitolo e glicerilfosfato.

Il fruttosio può essere utilizzato sia in condizioni aerobiche sia anaerobiche; il sorbitolo e la glicerofosfocolina solo in condizioni aerobiche. La glicerofosfocolina viene scissa in colina e glicerilfosfato da un enzima presente nelle vie genitali femminili.

Gli spermatozoi contengono anche plasmalogeno, un lipide di riserva, fonte addizionale di energia.

decapacitazione

Vengono associate alla membrana plasmatica delle proteine che, legandosi ai fosfolipidi di membrana, hanno una funzione di stabilizzazione della membrana stessa.

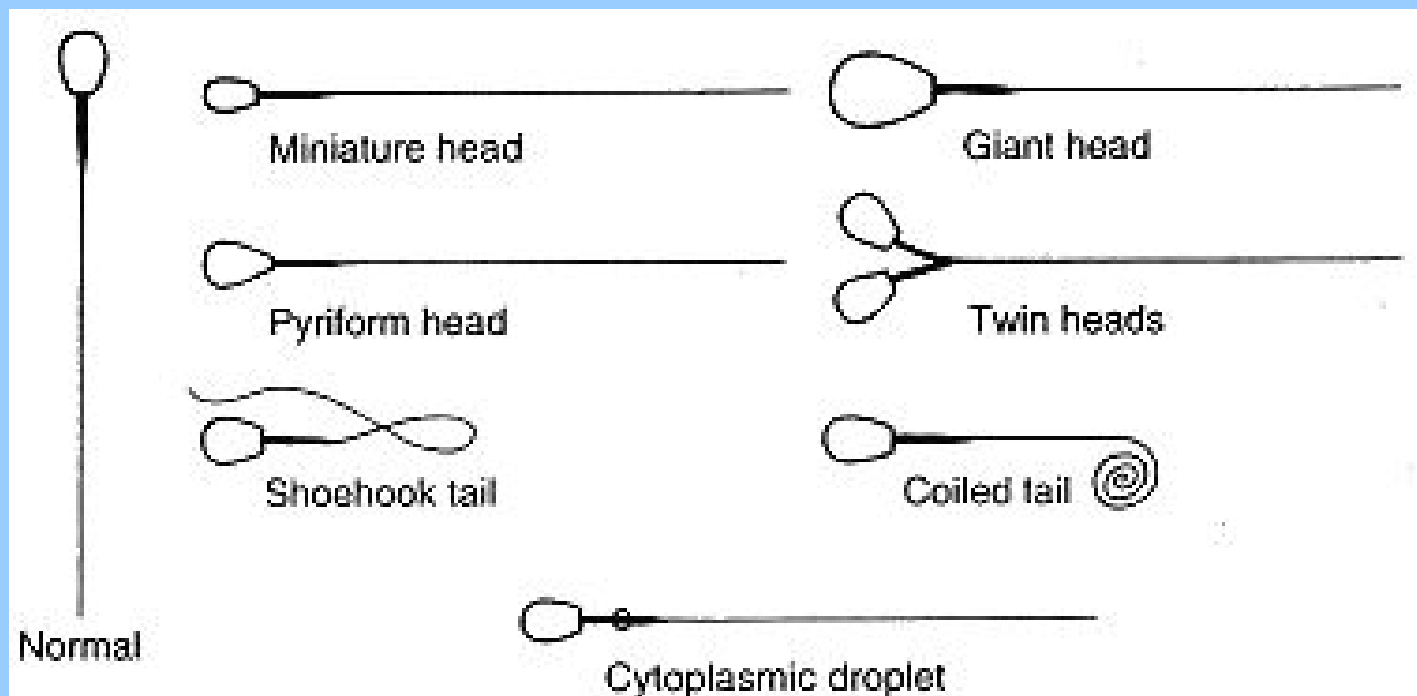
La maggior parte delle proteine acquisite nell'epididimo sono glicoproteine e la porzione glucidica svolge probabilmente un ruolo nel riconoscimento specie-specifico dello spermatozoo.

il liquido seminale - 1

Volume per eiaculato: da 3 a 5 ml

Spermatozoi per eiaculato: da 300 a 500 milioni

% di spermatozoi anomali o immobili: non inferiore al 10%;
se $> 35\%$, la fertilità può essere compromessa



il liquido seminale - 2

Il liquido proviene da: 1) Cellule del Sertoli (scarso); 2) Vescichette seminali; 3) Prostata; Ghiandola bulbouretrale (nell'uomo ha solo funzione lubrificante (smegma))

- Funzioni: tampone (pH leggermente alcalino); mantenimento osmolarità (è isosmotico); nutrimento (contiene fruttosio, sorbitolo, glicerofosfocolina).

- Composizione: ioni bicarbonato (funzione tampone), forniti dalla vescichetta seminale; fruttosio, sorbitolo (ghiandole seminali); glicerofosfocolina (epididimo); inositolo, acido citrico; enzimi (come proteasi); **androgeni** (gonade), **prostaglandine** (prostata).