https://doi.org/10.52326/ismv2024.26
CZU: 576.31:591.463

DINAMICA EVOLUȚIEI MOLECULARE A ȚESUTULUI TESTICULAR ȘI SPERMATOGENEZEI

Ion BALAN, Sergiu BALACCI, Nicolae ROȘCA, Vladimir BUZAN, Igor PETCU, Ion MEREUȚĂ, Galina OSIPCIUC, Vlada FURDUI, Valerian POPA, Parascovia ȚURCANU
Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Universitatea de Stat din Moldova

Abstract: Testicular morphology, sperm phenotypes and spermatogenesis process evolve rapidly, andspermatogenesis research remains underdeveloped and only a limited number are available, aggravating the study of the mechanisms of spermatogenesis and reproductive dysfunctions. In this study, attempts were made to clarify the molecular evolution of the testicle, the cellular source, the molecular mechanisms and evolutionary forces, which underlie the rapid phenotypic evolution of the testicle. Moreover, the development in recent years of single-cell

transcriptome sequencing technology in the process of spermatogenesis has facilitated the elucidation of how cellular interactions and the testicular microenvironment influence the progression of spermatogonial stem cells through different stages of development, including self-renewal, differentiation and eventual maturation in spermatozoa. At the same time, the application of spatial transcriptomics in spermatogenesis research has not only improved our understanding of molecular dynamics in the testicle, but has also provided a platform for perceiving the molecular mechanisms of spermatogonial stem cell differentiation.

Keywords: testicle, spermatogenesis, molecular evolution, spermatogonal stem cells.

INTRODUCERE

În ultimii treizeci de ani, datorită progreselor în biologia moleculară s-au înregistrat progrese semnificative în domeniul biologiei celulelor stem spermatogoniale și reproducerii în deblocarea evenimentelor moleculare și biochimice, care reglează spermatogeneza în testiculul mamiferelor.

Spermatogeneza, un proces extrem de complex și coordonat de țesutul testicular, menține producția de spermă pe toată durata vieții. Eficiența procesului de spermatogeneză depinde de componența moleculară, proliferarea și diferențierea continuă a celulelor stem spermatogoniale [1, 7]. Celulele stem spermatogoniale, situate pe membrana bazală a tubilor seminiferi ai testiculului prin proprietățile sistemice moleculare de suprafață, au capacitatea de a echilibra diviziunile de auto-reînnoire atât pentru ași menține concentrația stabilă, cât și diviziunile de diferențiere în celule spermatogene în diferite stadii de evoluție pentru a forma spermatozoizi printr-un proces biologic reglementat [1, 8]. Acest echilibru menține rezervorul de celule stem și satisface cererea proliferativă a testiculelor de a produce milioane de spermatozoizi în fiecare zi printr-un proces biologic complex și continuu. Spermatogeneza mamiferelor are loc în tubii seminiferi ai testiculului, unde celulele stem spermatogoniale suferă proliferare și diferențiere prin trei etape complexe: mitoză, meioză și spermatogeneză [13].

În mitoză spermatogoniile de tip A proliferează și produc spermatogonii de tip A și B. Spermatogoniile de tip A nu se diferențiază și continuă să mențină mitoza, în timp ce spermatogoniile de tip B se diferențiază în spermatocite primare [13, 15].

În meioză spermatocitele primare suferă replicare cromozomială, după care cromozomii omologi sunt legați și separați și se supun primei faze a meiozei cu formarea spermatocitelor și spermatidelor secundare. Spermatocitele secundare intră în a doua fază de diviziune meiotică, unde cromatidele surori se separă pentru a forma spermatide rotunde haploide.

În spermatogeneza spermatidele rotunde suferă modificări morfologice complexe și transformări cu modificări ale nucleoproteinelor, care duc la formarea spermatozoizilor maturi.

În același timp, tubii seminiferi, unde are loc spermatogeneza, organizează nișa biologică necesară pentru germinarea, maturarea și transportul spermatozoizilor. Mai mult, dezvoltarea tehnologiei de secvențiere a transcriptomului unicelular poate îmbunătăți cunoștințele referitor la înțelegerea procesului de evoluție moleculara a spermatogenezei. Prin urmare, în acest articol descriem unele caracteristici moleculare și principii secvenționale ale celulelor germinale în procesul de spermatogeneză.

ASPECTE MOLECULARE ALE EVOLUȚIEI TESTICULARE ȘI SPERMATOGENEZEI

Spermatogeneza este un proces complex și strâns reglementat, care include proliferarea spermatogoniei, diferențierea spermatogoniei în spermatocite, diviziunea meiotică a spermatocitelor producătoare de spermatide, maturarea spermatidelor și eliberarea de spermatozoizi maturi foarte specializați [12]. Evoluția rapida a testiculului se reflecta la nivel molecular și este explicată, în principal, prin selecția pozitivă asociată cu competiția spermatozoizilor, care reflectă presiunea evolutivă asupra masculilor pentru a obține succesul reproductiv [14]. În același timp, evoluția moleculară a tipurilor individuale de celule spermatogene rămâne în mare parte necaracterizată. Studiile recente au stabilit, că evoluția rapidă a testiculului se reflectă la nivel molecular, în special, secvențieri evidente, începând de la acizii

nucleici prin selecții pozitive în secvențele lor de codificare, până la dezvoltarea caracteristicilor specifice spermatogenezei [11].

Variațiile caracteristicilor spermatogenezei și de reproducere, cum ar fi dimensiunea testiculului, rata de producție a spermatozoizilor, morfologia spermatozoizilor și caracteristicile altor celule somatice testiculare, sunt reglementate în mod fundamental la nivel molecular în interiorul testiculului [14], unde ratele de modificare a expresiei evolutive sunt cele mai mari datorită schimbărilor adaptive frecvente [17].

În plus, majoritatea proceselor moleculare evolutive sunt exprimate, predominant în testicul, deținând un rol semnificativ în evoluția fenotipurilor testiculare, în special, mențin spermatogeneza prin auto-reînnoire și diferențiere continuă pentru a produce spermatozoizi în testicul [7].

Evoluția moleculară a testiculului este demonstrată prin studiile evolutive recente ale acizilor nucleici, care s-au confirmat prin descoperiri inovatoare privind sursa celulară și evoluția, forţele care stau la baza evoluţiei rapide a testiculului, auto-reînnoirea, proliferarea, diferențierea și apoptoza celulelor spermatogene, inclusiv și evenimente importante, care apar în timpul meiozei, replicarea ADN-ului și condensarea cromatinei [5, 16]. Cromatina din celulele spermatogene suferă o remodelare extinsă în timpul spermatogenezei, un proces care se produce concomitent cu asamblarea strânsă a ADN-ului în jurul protaminelor, care permit împachetarea densă a ADN-ului în capul compact al spermatozoizilor [5]. Această remodelare a cromatinei are implicații pentru transcripție și evoluția moleculară și duce la o transcriere larg răspândită a unui număr mic de gene din genom, care, la rândul său, facilitează transcrierea inițială și, în consecință duce la apariția frecventă de noi gene exprimate în testicule în timpul evoluției [10, 11].

Aceste gene cu expresie specifică în testicule tind să fie îmbogățite cu gene, ale căror secvențe de codificare au fost modelate prin selecție pozitivă. Mai mult, noile gene care apar în timpul evoluției sunt exprimate predominant în testicul și, prin urmare, contribuie la evoluția moleculară fenotipică [11, 13].

MECANISME DE DIFERENȚIERE DE LA CELULE STEM SPERMATOGONIALE LA SPERMATOZOIZI TESTICULARI

Desfășurarea spermatogenezei are loc preponderent sub influența celulelor stem spermatogoniale, care produc milioane de spermatozoizi zilnic, se auto-reînnoiesc și se diferențiază prin reglarea nișei acestora, printr-un proces reglementat de factorii solubili și moleculari din micromediul înconjurător [7]. Deși multe studii au explorat rolul acestor factori în spermatogeneză, modul în care celulele stem spermatogoniale echilibrează auto-reînnoirea și diferențierea rămâne până în prezent incomplet înțeles, iar aplicarea tehnologiei de secvențiere a transcriptomului unicelular oferă noi căi pentru a explora și aborda această problemă. Remedierea acestei stări ale celulelor stem spermatogoniale este posibilă prin secvențierea transcriptomului unicelular în timpul spermatogenezei [2, 13, 17]. În rezultat evoluează auto-reînnoirea exprimată prin cantități semnificative de factori moleculari de transcripție legați de celulele stem. În special, celulele stem în această stare inhibă absorbția glucozei, cu dezvoltarea mecanismului, care determină diferențierea acestora în testicul atunci când nutrienții, precum glucoza, sunt absorbiți [2]. Evoluția spermatogenezei continuă prin atenuarea semnalizării celulelor stem, splicing-ul ARN și multe activități mitocondriale critice în producerea adenozintrifosfatului și a lipidelor pentru creștere și diferenţiere [11, 13]. În acest sens, analiza testiculelor a identificat o stare dominantă în celulele stem spermatogoniale, caracterizată prin markeri specifici [2]. Aceste constatări aduc claritățiîn prezența fenotipurilor celulare substabile, care în același timp, permit celulelor stem spermatogoniale să se adapteze la reglarea dinamică a nișei ecologice și să mențină reglarea homeostatică în testicul. Celulele stem spermatogoniale sunt esențiale nu doar pentru menținerea homeostaziei testiculare, dar și pentru rolul lor esențial în stabilirea și menținerea nișelor ecologice pe toată lungimea peretelui tubular, facilitând auto-reînnoirea și diferențierea ordonată a celulelor stem spermatogoniale [3, 14].

Deși tehnologia de secvențiere a transcriptomului unicelular a dezvăluit, că celulele stem spermatogoniale sunt mai diverse decât pot fi clasificate folosind cariotipuri, un profil transcripțional complet asociat cu categorizarea cariotipică până în prezent nu a fost încă stabilit. Mai mult, s-a demonstrat că existența diversității stărilor celulelor stem spermatogoniale denotă faptul, că diferențierea spermatogonială nu este binară, dar reprezintă un proces cu creștere și scădere treptată, dependent de rolurile lor funcționale. Identificarea și recunoașterea acestui proces dinamic reprezintă o importanță semnificativă pentru înțelegerea mecanismelor, care reglează proliferarea și diferențierea celulelor stem, precum și comportamentele acestora referitor la reproducție, senescență și integritatea liniei germinale.

DINAMICA TRANSCRIPTOMULUI ÎN PROCESUL SPERMATOGENEZEI

Biologii moleculari au fost conștienți de zeci de ani că testiculul exprimă multe sau chiar majoritatea genelor, mai multe gene decât alte organe și, că testiculul reprezintă o complexitate excepțională a transcriptomului. În mod special, analizele transcriptomului, populațiilor îmbogățite pentru tipuri individuale de celule spermatogene au dezvăluit sursa celulară a acestei transcripții larg răspândite: spermatocite pachitenice și spermatide rotunde [16]. În plus, datele epigenomice corelate la nivelul genomului au stabilit o stare generală a cromatinei laxe în aceste tipuri de celule [16]. La rândul său, histonele specifice testiculelor, introduse în timpul remodelării masive a cromatinei produc o stare generală deschisă și permisivă din punct de vedere transcripțional al cromatinei în spermatocite și spermatidele rotunde în concordanță cu proprietățile acestor tipuri de histone [5, 6]. În același timp, procesul de reambalare necesită o stare de ambalare liberă pentru încorporarea histonelor și contribuie la o stare deschisă a cromatinei în aceste celule și, prin urmare, facilitează în continuare transcripția, iar referitor la cromozomii sexuali s-a evidențiat reducerea masivă a abundenței transcriptelor în timpul și după meioză din cauza inactivării cromozomilor sexuali meiotici [3, 9, 16].

În timpul spermatogenezei reglarea translațională la nivel molecular este deosebit de pronunțată și complicată [11, 17], iar traducerea este, în general, reprimată pentru multe transcrieri moleculare în spermatocite și spermatide și, parțial, întârziată la stadiile spermatogenice ulterioare ale experimentelor moleculare [11, 17]. Traducerea întârziată a transcrierilor are loc deoarece proteinele codificate sunt necesare doar în stadiile spermatogene foarte târzii, în spermatide sau spermatozoizi, când genomul devine inert din punct de vedere transcripțional datorită condensării cromatinei în proteinele de tranziție și protamine [6]. Explicație alternativă există și din considerentele, că represiunea moleculară translațională în spermatocitele tardive și spermatidele rotunde poate contracara transcripția în aceste tipuri de celule din cauza stării permisive de cromatină și astfel, poate preveni consecințele negative ale proteinelor sau fragmentelor de proteine potențial dăunătoare în regiuni intergenice [6, 11].

În acest context, cercetările au identificat, de asemenea, procese transcripționale și modele conservate de expresie a genelor la diverse nivele, gene exprimate predominant în spermatogonii și celulele care susțin testiculele grupându-se de-a lungul evoluției, oferind potențial un avantaj selectiv pentru masculi [11]. Studiul a elucidat diferențe transcripționale între spermatozoizi și inactivarea cromozomilor sexuali meiotici ce denotă despre o posibilă caracteristică universală a sistemului cromozomial sexual al mamiferelor [11]. În prezent sunt disponibile multe seturi de date transcriptomice, care dezvăluie evoluția rapidă a testiculului cu o singură celulă, dar date adecvate despre transcriptoamele cu lungime completă unicelulare, care indică schimbări evolutive ale nivelurilor de expresie, rămân limitate. Transcriptomele unicelulare de lungime completă oferă avantajul unic de a identifica diferite variante transcripționale, vitale pentru elucidarea mecanismelor moleculare specifice. Pentru a înțelege efectele modificărilor post-transcripționale asupra spermatogenezei, sunt necesare date, care se concentrează exclusiv pe traducerea unicelulară și a secvențelor de legare a ribozomului.

CONCLUZII

În studiul dinamicii moleculare a celulelor germinale în timpul spermatogenezei și ale evoluției moleculare a spermatogenezei am recurs la datele disponibile referitor la biologia evoluției testiculare în derularea procesului de spermatogeneză, la posibilitățile tehnologiei de secvențiere a celulelor unice și la perspectivele instrumentelor de analiză a transcriptoamelor unicelulare cu lungime completă pentru investigațiile moleculare viitoare ale diversității evolutive a testiculului.

Celulele stem spermatogoniale stau la baza spermatogenezei, sunt cele mai rare dintre toate celulele germinale ale testiculelor și depășite numeric de diferențierea spermatogoniilor, spermatocitelor, spermatidelor și spermatozoizilor pe care le produc. Aceste celule stem au capacitatea de a echilibra diviziunile de auto-reînnoire și diviziunile de diferențiere, de a menține rezervorul de celule stem și satisface necesitățile proliferative ale testiculelor. Studiul celulelor stem spermatogoniale sunt deosebit de complicate, deoarece aceste celule sunt puține la număr și nu există în literatura disponibilă caracteristici unice de identificare și de reglare de țesutul testicular în menținerea liniei spermatogene. Viitorul studiului domeniului biologiei moleculare și potențialului celulelor stem spermatogoniale va reveni originilor, reglementării și activității acestor celule în tractul testicular.

BIBLIOGRAFIE

1. De Rooij DG. The nature and dynamics of spermatogonial stem cells. Development, 2017, 144, 3022-3030.
2. Guo JT, Sosa E, Chitiashvili T et al. Single-cell analysis of the developing human testis reveals somatic niche cell specification and fetal germline stem cell establishment. Cell Stem Cell, 2021, 28(4), 764-778.
3. Julien P et al. Mechanisms and evolutionary patterns of mammalian and avian dosage compensation. PLoS Biol., 2012, 10, e1001328.
4. Kaessmann H. Origins, evolution, and phenotypic impact of new genes. Genome Res., 2010, 20, 1313-1326.
5. Kimmins S & Sassone-Corsi P. Chromatin remodelling and epigenetic features of germ cells. Nature, 2005, 434, 583-589.
6. Kleene KC. A possible meiotic function of the peculiar patterns of gene expression in mammalian spermatogenic cells. Mech. Dev., 2001, 106, 3-23.
7. Kubota H, Brinster RL. Spermatogonial stem cells. Biol. Reprod., 2018, 99, 52-74.
8. Lok D et al. Morphology, proliferation, and differentiation of undifferentiated spermatogonia in the Chinese hamster and the ram. Anat. Rec., 1982, 203, 83-99.
9. Marin R et al. Convergent origination of a Drosophila-like dosage compensation mechanism in a reptile lineage. Genome Res., 2017, 27, 1974-1987.
10. Mazin PV, Khaitovich P, Cardoso-Moreira M & Kaessmann H. Alternative splicing during mammalian organ development. Nat. Genet., 2021, 53, 925-934.
11. Murat F, Mbengue N, Winge SB et al. The molecular evolution of spermatogenesis across mammals. Nature, 2023, 613(7943), 308-316.
12. Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. Semin. Cell Dev. Biol., 2016, 59, 10-26.
13. Rabbani M, Zheng XN, Manske GL et al. Decoding the spermatogenesis program: new insights from transcriptomic analyses. Annual Review of Genetics, 2022, 56, 339-368.
14. Ramm SA, Schärer L, Ehmcke J et al. Sperm competition and the evolution of spermatogenesis. Molecular Human Reproduction, 2014, 20(12), 1169-1179.
15. Sharma S, Wistuba J, Pock T et al. Spermatogonial stem cells:updates from specification to clinical relevance. Human Reproduction Update, 2019, 25(3), 275-297.
16. Soumillon M et al. Cellular source and mechanisms of high transcriptome complexity in the mammalian testis. Cell Rep., 2013, 3, 2179-2190.
17. Wang ZY et al. Transcriptome and translatome co-evolution in mammals. Nature, 2020, 588, 642-647.