

# Papel del Sistema Ubiquitina Proteasoma en la Espematogénesis

## Role of Ubiquitin-proteasome system in Espematogenesis

Héctor Zapata Carmona\*; Patricio Morales Retamal\*\* & Marco Jara González\*

---

**ZAPATA, C. H.; MORALES, R. P. & JARA, G. M.** Papel del sistema ubiquitina proteasoma en la espermatoogénesis. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(4):621-634, 2015.

**RESUMEN:** La espermatoogénesis consiste en una serie de eventos que constituyen un programa de diferenciación celular, con drásticos cambios en la morfología, en la bioquímica y en la expresión de genes, los cuales son temporal y especialmente regulados por mecanismos endocrinos, paracrinos y autocrinos. Durante las distintas fases de la espermatoogénesis y especialmente durante la fase de diferenciación de las espermátidas, existe degradación masiva de proteínas citosólicas, nucleares y de membrana debido a la eliminación de gran parte del citoplasma que posee la espermátida redonda. Esta degradación de proteínas ocurre dentro del epitelio seminífero y está mediada por los sistemas celulares descritos para este propósito. El proteasoma es un complejo multienzimático encargado de degradar la mayor parte de las proteínas nucleares y citosólicas, después de que éstas son marcadas para su destrucción por unión covalente de moléculas de ubiquitina. Esta destrucción selectiva de proteínas celulares es un mecanismo esencial en el proceso de espermatoogénesis. En este artículo se revisan los aspectos básicos del proceso fisiológico gonadal del macho y los conocimientos actuales sobre el rol del sistema ubiquitina proteasoma en el mantenimiento funcional de la espermatoogénesis.

**PALABRAS CLAVE:** Espermatoogénesis; Ubiquitina; Proteasoma.

---

## INTRODUCCION

Los espermatozoides son el producto de un proceso complejo de división y diferenciación celular llamado espermatoogénesis. En mamíferos, este proceso se realiza en el interior de los túbulos seminíferos y comprende el conjunto de cambios morfológicos y bioquímicos que experimentan las espermatoogonias para convertirse en células altamente especializadas, que poseen la dotación haploide del genoma de la especie (Russell *et al.*, 1990; Verhoeven *et al.*, 2010; Reid *et al.*, 2011). La espermatoogénesis está regulada principalmente por las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-testículo, siendo necesaria una adecuada secreción de FSH, LH y testosterona (Steinberger *et al.*, 1974; Matsumoto & Bremner, 1989), sumado a la ac-

ción de varios péptidos secretados intratesticularmente, los que regulan y modulan por mecanismos paracrinos y autocrinos las diferentes etapas del proceso espermatoogénético (Parvinen, 1982; Spiteri-Grech & Nieschlag, 1993).

En cada especie, la duración de la espermatoogénesis está bajo el control del genotipo de las propias células germinales (França *et al.*, 1998). Por esto la duración del proceso es diferente entre algunos mamíferos (Kerr *et al.*, 2006). Así, la espermatoogénesis en humanos tiene una duración aproximada de 74 días, mientras que en el mono *Macaca fascicularis* dura aproximadamente 42 días

\* Laboratorio de Biología de la Reproducción. Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

\*\* Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

Financiado por: FONDECYT 1120056 - CONICYT 21120844

(Fouquet & Dadoune, 1986). Igualmente, en la rata el proceso tiene una duración aproximada de 50 días, mientras que en el ratón dura aproximadamente 35 días (Adler, 1996). El proceso de espermatogénesis es similar en todos los mamíferos y puede subdividirse en tres fases que ocurren en momentos particulares de la vida de los machos, conocidas como: proliferativa, meiótica y espermiogénica.

**Fase Proliferativa:** La fase proliferativa, también conocida como fase premeiótica, consiste en divisiones mitóticas de las células troncales para originar secuencialmente pre-espermatogonias, espermatogonias tipo A y espermatogonias tipo B (Russell *et al.*). Las espermatogonias proliferan permanentemente a fin de incrementar y mantener una población de células espermatogoniales como reservorio, dando continuidad a la producción de espermatozoides durante la vida reproductiva de los machos. Estas células espermatogénicas de reserva resisten a una variedad de agresiones, tales como radiación y quimioterapia, sobreviviendo aun cuando otros tipos celulares han sido eliminados (Clermont & Bustos-Obregon, 1968; Hermo *et al.*, 2010). La destrucción completa de las espermatogonias troncales conduce a la pérdida irreversible de la capacidad reproductiva. Estas espermatogonias troncales pueden servir como una fuente potencial de células germinales que podrían repoblar el túbulo seminífero luego del daño testicular (Hermo *et al.*).

**Fase Meiótica:** Esta fase se inicia durante la pubertad de los machos y se extiende durante el resto de su vida. Las espermatogonias más diferenciadas duplicarán el contenido de ADN para luego ingresar a la primera división meiótica transformándose así en espermatoцитos primarios (Hermo *et al.*; Bellvé *et al.*, 1977). Específicamente cuando las espermatogonias tipo B duplican su material genético durante la fase S premeiótica se denominan espermatoцитos en preleptoteno (Russell *et al.*, 1990). Al finalizar la primera división meiótica se originan los espermatoцитos secundarios, los que experimentarán una rápida segunda división meiótica, dando lugar a las espermátidas haploides, denominadas por sus características morfológicas, espermátidas redondas (Bellvé *et al.*, 1977; Eddy, 2002).

**Fase Espermiogénica:** La espermiogénesis es la etapa final de la espermatogénesis. En esta fase se producen importantes cambios morfológicos y bioquímicos en las espermátidas redondas para transformarse gradualmente en espermátidas elongadas y, finalmente, con su liberación al lumen del túbulo seminífero, formar espermatozoides (Bellvé *et al.*; Hermo *et al.*). Estos cambios morfológicos consisten principalmente en la modificación de la forma del núcleo, la formación del acrosoma en el polo apical, la eliminación de gran parte del citoplasma, la redistribución de las mitocondrias hacia la pieza intermedia del espermatozoide, el desplazamiento de los centríolos y formación del flagelo a partir del centriolo distal (Hermo *et al.*).

### Ciclo del Epitelio Seminífero

El epitelio seminífero corresponde a una capa continua de células que recubre el interior de los túbulos seminíferos. Dicho epitelio está formado mayoritariamente por los sustentocitos, las que albergan y se asocian con células de la línea germinal en diferentes etapas de la espermatogénesis. Por lo tanto los sustentocitos está en contacto y regula la función de las espermatogonias, de espermatoцитos primarios, espermatoцитos secundarios, espermátidas redondas y espermátidas en diferentes etapas de la diferenciación hacia espermatozoides (Clermont 1972; Hogarth & Griswold, 2010).

Las células germinales presentes dentro de los túbulos seminíferos de muchos mamíferos están organizadas en asociaciones celulares definidas, llamadas estadios del ciclo del epitelio seminífero. Estas asociaciones celulares o estadios se distribuyen ordenada y secuencialmente a lo largo del túbulo seminífero y son claramente identificables por sus características morfológicas en secciones histológicas transversales de testículo teñidas con PAS-Hematoxilina. Las espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas en cada segmento de este epitelio progresan desde un estadio del ciclo al siguiente (Leblond & Clermont, 1952; Russell *et al.*).

Está claramente demostrado que la funcionalidad del sustentocito varía dependiendo de las células germinales a las que se en-

cuentra asociada en cada segmento del epitelio seminífero. Esto indica que los procesos celulares que se desarrollan en cada estadio del epitelio seminífero son por lo general únicos y propios de dicha asociación celular (Vogl *et al.*, 2008).

Aunque se conoce bastante sobre las etapas del proceso de espermatogénesis y las asociaciones celulares que las conforman, la regulación de los procesos circunscritos a segmentos específicos del túbulo seminífero, los mecanismos celulares y las vías de transducción de señales que en ellos participan, aún no están completamente dilucidados.

### **Degradación de Proteínas**

En el interior de la célula, las proteínas son constantemente degradadas y este proceso continuo, unido a la biosíntesis de proteínas, constituye el llamado recambio proteico. Ambos procesos tienen lugar a lo largo de la vida de la célula y son necesarios para mantener un adecuado nivel de proteínas para la actividad celular. Igualmente, la degradación de proteínas permite evitar la acumulación de proteínas anormales o innecesarias y facilita el reciclado de los aminoácidos (Ciechanover, 2005b). Actualmente, se sabe que la degradación de las proteínas desempeña un papel importante como punto de control de varios procesos biológicos, algunos tan fundamentales como el ciclo celular, la transducción de señales, la expresión génica, el desarrollo embrionario, la mantención del correcto plegamiento de las proteínas, el procesamiento de antígenos y muchos otros eventos celulares (Ciechanover, 2006; Kirschner, 1999).

Las proteínas tienen un periodo de vida limitado y están expuestas permanentemente a daño proteolítico, desnaturalización conformacional u otras modificaciones irreversibles (Kirschner). Igualmente, errores durante la síntesis de proteínas conllevan a su plegamiento incorrecto, generando proteínas no funcionales o defectuosas, lo que activa diversos mecanismos para su degradación.

En eucariotes existen dos mecanismos básicos para la degradación de proteínas. El primer mecanismo considera la degradación

proteica que se realiza en los lisosomas y el segundo mecanismo está referido a la degradación que se realiza en el citosol. Se sabe que las proteínas pertenecientes a membranas intracelulares, así como a la membrana plasmática, suelen ser degradadas por el sistema lisosomal. Los lisosomas también participan en la degradación de proteínas endocitadas y de proteínas intracelulares bajo condiciones de estrés como la hipoxia (He & Klionsky, 2009; Kroemer *et al.*, 2010; Pickart, 2004).

Sin embargo, en el citoplasma de células eucariotes, la mayor parte de la degradación no lisosomal de proteínas, ocurre gracias a la participación del Sistema Ubiquitina Proteasoma (SUP). En 1994, Rock *et al.*, fueron los primeros en demostrar que los proteasomas mediaban en la degradación de la mayoría de las proteínas citoplasmáticas (Rock *et al.*, 1994).

### **Sistema Ubiquitina Proteasoma**

La ubiquitina es una proteína monomérica de 76 residuos aminoácidos y un peso molecular de 8,5 kDa (Bebington *et al.*, 2001; Schlesinger *et al.*, 1975), que constituye el elemento esencial del sistema de proteólisis específica dependiente de ATP o SUP (Ciechanover, 2005a). Esta proteína es expresada por tres genes diferentes UBA, UBB y UBC situados en diferentes regiones del genoma eucariota (Grillari *et al.*, 2006; Ryu *et al.*, 2008). Esta proteína es altamente conservada durante la evolución de los eucariotes, de tal forma, que la ubiquitina humana y la de levadura difieren en sólo 3 residuos de los 76 aminoácidos (Pickart & Fushman, 2004).

La ubiquitina, especialmente las cadenas de poliubiquitina, son utilizadas como un marcador universal de proteólisis y son usadas para este propósito en todos los tejidos y organismos (Hershko & Ciechanover, 1998).

La ubiquitinación es una modificación post-traducciona que experimenta una gran cantidad de proteínas. Consiste en la unión covalente de una o varias moléculas de ubiquitina a una proteína sustrato. Actualmente, se han descrito tres enzimas que llevan a cabo el proceso de ubiquitinación, las cuales actúan de modo secuencial y son conocidas como E1, E2 y E3.

Su actividad culmina con la unión de múltiples ubiquitinas a los residuos lisina de las proteínas que deben ser eliminadas (Hershko & Ciechanover).

La E1 o enzima activadora de ubiquitina tiene por función activar a la molécula de ubiquitina generando con ella un enlace tiol-éster entre una cisteína de su sitio activo y la glicina del extremo carboxilo terminal de la ubiquitina, mediante el consumo de ATP (Fang & Weissman, 2004; Kim *et al.*, 2011). Normalmente cada organismo eucariote presenta un solo tipo de E1, aunque existen excepciones en plantas (Pickart & Eddins, 2004). Las E2 o enzimas conjugadoras de ubiquitina actúan como puente entre E1 y E3. Su mecanismo de acción depende del tipo de E3 con el que interaccione.

Las E3 o enzimas ubiquitina ligasas son enzimas que catalizan la unión de la ubiquitina a sustratos específicos, por lo que han sido descritas algo más de 650 tipos de enzimas E3 (de Bie & Ciechanover, 2011). Las E3 tienen la capacidad de unirse tanto a E2 como al sustrato y la interacción con el sustrato puede ser directa o mediada a través de proteínas auxiliares (Glickman & Ciechanover, 2002).

La ubiquitinación de proteínas es un proceso reversible. Las enzimas encargadas de remover ubiquitinas se denominan deubiquitininas (DUBs). Las DUBs presentan actividad cisteína proteasa que hidroliza de manera específica enlaces isopeptídicos entre el grupo carboxilo de la glicina 76 de la ubiquitina y una proteína diana (Glickman & Ciechanover). Las DUBs son muy abundantes y diversas, lo que hace suponer que tienen una alta especificidad de función y sustrato (Ventii & Wilkinson, 2008). Sus funciones están relacionadas con rescatar y reciclar las ubiquitinas que marcan a las proteínas, antes de su ingreso al proteasoma (Nandi *et al.*, 2006), lo que permite el mantenimiento de niveles de ubiquitina libres y la regulación de la estabilidad de los conjugados de ubiquitina (Glickman & Ciechanover).

El proteasoma es un complejo multienzimático con actividad proteolítica formado por múltiples subunidades (Jung *et al.*, 2009; Kloetzel, 2001). Este juega un papel central en la degradación intracelular de proteínas

y se encuentra tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células eucariotas (Nederlof *et al.*, 1995).

El proteasoma más sencillo de todos es el proteasoma 20S llamado así por su coeficiente de sedimentación, que tiene un peso molecular de aproximadamente 700 kDa (Orlowski, 1990) y al que se pueden unir distintos complejos reguladores el 19S, PA28 $\alpha/\beta$ , PA28 $\gamma$  y PA200 (Bousquet-Dubouch *et al.*, 2011; Jung *et al.*).

El proteasoma 20S se encuentra en todas las células eucarióticas, desde las levaduras al ser humano (Arrigo *et al.*, 1987), y tiene una estructura cuaternaria muy conservada que, al microscopio electrónico, aparece con la forma de un barril compuesto por 4 anillos apilados (Hegerl *et al.*, 1991, Jung *et al.*).

Estos anillos forman un cilindro que está compuesto por 28 subunidades, las cuales tienen pesos moleculares que oscilan entre 23 y 32 kDa (Claverol *et al.*; Jung *et al.*). Estas subunidades están organizadas en cuatro anillos alrededor de un canal central donde tiene lugar la proteólisis. Cada uno de los anillos externos contiene siete subunidades  $\alpha$ , numeradas de 1 a 7, cuya participación es necesaria para el ensamblaje del cilindro. Cada uno de los anillos internos contiene siete subunidades  $\beta$  ( $\beta$ 1- $\beta$ 7), tres de las cuales están implicadas en la actividad proteolítica del complejo. Específicamente, las subunidades  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 5 del proteasoma poseen los sitios activos con actividades proteolíticas que permiten, respectivamente, hidrolizar uniones peptídicas por el extremo carboxilo-terminal de aminoácidos ácidos con su actividad tipo peptidilglutamil péptido hidrolasa o PGPH, de aminoácidos básicos con su actividad tipo tripsina o de aminoácidos hidrofóbicos con su actividad tipo quimotripsina (Wilk & Orlowski, 1980, 1983). De esta manera, cada proteasoma contiene seis sitios activos (Jung *et al.*; Walz *et al.*, 1998).

La actividad del proteasoma está modulada por los complejos reguladores que se pueden unir a los anillos  $\alpha$ . En ausencia de estos complejos el canal del proteasoma está cerrado por el extremo N-terminal de las siete diferentes unidades  $\alpha$  y por consiguiente la actividad

proteolítica está reprimida (Bajorek & Glickman, 2004; Rechsteiner & Hill, 2005). Cuatro complejos reguladores proteasomales han sido identificados en células de mamíferos: 19S, PA28 $\alpha/\beta$ , PA28 $\gamma$  y PA200.

El prototipo de proteasoma eucariótico (Fig. 1), el proteasoma 26S está conformado por un complejo proteolítico central, el "core" 20S, más dos complejos reguladores 19S (Pickart & Cohen).

### Regulación del Proteasoma

La localización celular del proteasoma 26S se modifica de acuerdo con las necesidades de la célula y en particular en condiciones de estrés. Al localizarse en diferentes compartimientos de la célula interactúa con una gran variedad de proteínas, las que podrían estabilizar y regular diferencialmente su actividad proteolítica.

La actividad proteasomal está regulada a varios niveles. 1) Por modulación de la expresi

ón de sus subunidades constituyentes. 2) Por la distribución intracelular y disponibilidad de las subunidades para formar proteasomas funcionales, dado que algunas subunidades presentan señal de localización nuclear (Nederlof *et al.*; Sorokin *et al.*, 2007). 3) Por la unión diferencial de los complejos reguladores que se unen al "core" 20S permitiendo abrir los extremos del proteasoma para facilitar la entrada de la proteína que será degradada (Savulescu & Glickman, 2011). 4) Por modificaciones co-traduccionales y post-traduccionales como fosforilación, N-acetilación, glicosilación, N-miristoilación y S-glutacionilación de varias de las subunidades (Konstantinova *et al.*, 2008). Aunque la función de la mayoría de estas modificaciones sobre las subunidades del proteasoma todavía no está clara, su presencia no es constante, y cambian según el estado fisiológico de la célula, sugiriendo que estas modificaciones podrían estar regulando la funcionalidad de este complejo catalítico (Konstantinova *et al.*).

Recientemente, se ha demostrado que los

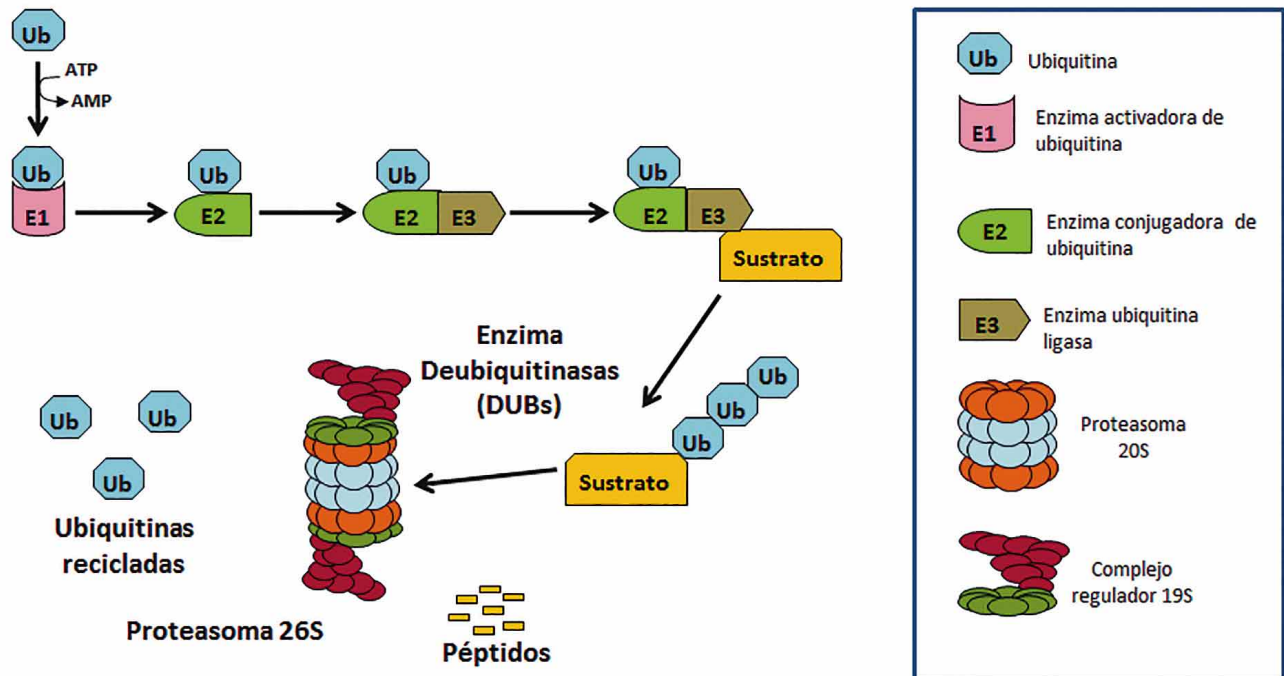


Fig. 1. Esquema del sistema ubiquitina proteasoma. La ubiquitina es activada por la enzima activadora de ubiquitina (E1) y luego es transferida a una enzima conjugadora de ubiquitina (E2). La E2 transfiere la ubiquitina activada a su sustrato proteico, al cual se une específicamente a una ubiquitina ligasa en particular (E3). La conjugación repetida de ubiquitina genera una cadena de poliubiquitina sobre el sustrato que sirve de señal para la degradación por el proteasoma 26S. El sustrato es degradado, obteniéndose como producto la generación de péptidos cortos y ubiquitina libre, que se puede volver a utilizar.

proteasomas pueden estar localizados no sólo en el interior de la célula, sino también fuera de ella. Proteasomas han sido identificados en la cara extracelular de la membrana plasmática de espermatozoides humanos (Morales *et al.*). Igualmente, proteasomas se han identificado en el suero sanguíneo de pacientes normales y pacientes con diferentes enfermedades tales como leucemia, mieloma, carcinoma y otras (Feist *et al.*, 2007; Jakob *et al.*; Wada *et al.*, 1993). Los mecanismos moleculares de la secreción de proteasoma y su papel en el medio extracelular todavía no han sido esclarecidos.

### **Espermatogénesis y Sistema Ubiquitina Proteasoma**

La relación entre el SUP y la espermatogénesis ha sido documentada en diversas especies. Durante la espermatogénesis, y sobre todo en la fase de diferenciación de espermátidas, ocurre un remodelamiento celular masivo en el cual la ubiquitinación de proteínas está fuertemente involucrada (Baarends *et al.*, 1999b).

La ubiquitina participa en todas las fases de la espermatogénesis, que abarcan desde la formación del huso mitótico en las células germinales hasta la formación estructural de los flagelos de las espermátidas (Lee & Lui, 2008). La expresión de ubiquitina en espermátidas redondas y espermatozoides maduros ha sido demostrada en gallos (Agell & Mezquita, 1988), hombres y ratones (Tipler *et al.*, 1997). Igualmente, la ubiquitina es altamente expresada durante la diferenciación de las células germinales y en los sustentocitos de ratón (Baarends *et al.*, 1999b).

Se ha demostrado que varias enzimas que participan en la ubiquitinación son altamente expresadas en testículos y parecen jugar un papel durante la espermatogénesis. Específicamente, la HERC4 que corresponde a una E3 testicular, ha sido relacionada con la maduración de los espermatozoides de ratón, asegurando una fertilidad normal (Rodríguez & Stewart, 2007). La UBC4, es una enzima E2 que es específica del testículo del ratón y tanto su ARNm como la proteína son expresadas principalmente en las espermátidas redondas. Por ello se ha propuesto que UBC4 juega un papel im-

portante en la maduración temprana de espermatozoides en testículo de ratón (Bedard *et al.*, 2005; Wing *et al.*, 1996).

En la ascidia *Ciona intestinalis*, se ha caracterizado la Ube2r, una enzima E2 que se expresa en el testículo, principalmente en las células germinales durante la última etapa de la espermatogénesis y se localiza en la cabeza y cola de los espermatozoides, sugiriendo una participación tanto en la espermatogénesis como en la fertilización (Yokota *et al.*, 2010). Todas estas investigaciones demuestran que la ubiquitina y al parecer el SUP, desempeñan un papel fundamental en la formación del gameto masculino.

En el alga *Chara vulgaris*, se ha comprobado que la actividad del proteasoma es indispensable para los eventos propios de la espermiogénesis temprana, participando en la sustitución de proteínas nucleares en etapas finales de la espermatogénesis y en la eliminación de las histonas (Wojtczak & Kwiatkowska, 2008).

De modo similar, la UbCH1, una DUB, es expresada en testículos de ratón (Kon *et al.*, 1999) y en epidídimo de humano y rata (Fraile *et al.*, 1996, Santamaria *et al.*, 1993).

En los últimos años se ha identificado ubiquitina en centrosoma de espermatozoides de ratón, y varias subunidades del proteasoma han sido detectadas en las proximidades de los centriolos, sugiriendo una relación directa entre el SUP y la funcionalidad del espermatozoide (Mochida *et al.*, 2000; Wojcik *et al.*, 2000).

En el año 2002, Ma *et al.* analizaron y caracterizaron la expresión de los genes que codifican para subunidades del proteasoma en *Drosophila melanogaster*. Los resultados muestran que existen genes para isoformas de las subunidades del "core" 20S y del 19S que se expresan únicamente en la línea germinal de los machos, específicamente en células de etapas tardías de la espermiogénesis y que dichas isoformas se mantienen en el espermatozoide. Estos resultados apuntan hacia un papel específico del proteasoma en la espermatogénesis y en la diferenciación o función del espermatozoide (Ma *et al.*, 2002).

El uso de inhibidores del proteasoma afectan la espermatogénesis de *Chara vulgaris*. Las algas tratadas con epoxomicina muestran un incremento de células detenidas en fases tempranas de la espermiogénesis, concomitante con la disminución de las células en fases intermedias de la espermiogénesis y una total desaparición de las células en las fases tardías de dicho proceso. Con estos resultados, se puede pensar que la actividad del proteasoma es fundamental durante la espermatogénesis de *Chara vulgaris*, teniendo un papel preponderante en la diferenciación de las espermatidas (Kwiatkowska *et al.*, 2003).

En mamíferos, el SUP participa activamente en las últimas etapas de la espermatogénesis, teniendo un importante papel en la remodelación de la cromatina, específicamente en el reemplazo de las histonas por proteínas de transición y luego por protaminas (Kinyamu *et al.*, 2005; Haraguchi *et al.*, 2007). Específicamente, la histona H2A de ratón (Baarends *et al.*, 1999a) y la histona H3 de rata (Chen *et al.*, 1998) son ubiquitinadas y se desechan en la gota citoplasmática del espermatozoide antes de su liberación desde el epitelio seminífero.

Por otro lado el PA200, uno de los complejos reguladores del "core" 20S, tiene una alta expresión en testículo, con una localización principalmente nuclear lo que sugiere que podría participar en la degradación de proteínas que intervienen en la reparación del DNA post crossing over (Ortega *et al.*, 2005; Ustrell *et al.*, 2002). Se ha demostrado que ratones knockout para el complejo regulador PA200 presentan un deterioro significativo de la fertilidad, debido a una disminución en la producción de espermatozoides normales, lo que sugiere que PA200 tiene una función crítica en la espermatogénesis (Khor *et al.*). Sin embargo otros complejos reguladores del proteasoma que son independientes de ATP no son absolutamente necesarios para la fertilidad. Se ha demostrado que ratones deficientes en PA28 $\alpha$ , PA28 $\beta$  y PA28 $\gamma$  son fértiles (Barton *et al.*, 2004; Murata *et al.*, 1999, 2001).

### Proteasoma y espermatozoides

La presencia del proteasoma en los espermatozoides ha sido estudiada en diversas

especies tales como erizo de mar (Matsumura & Aketa, 1991), ascidias (Saitoh *et al.*, 1993), salmón (Inaba *et al.*, 1993) y también mamíferos, incluyendo humanos (Morales *et al.*; Wojcik *et al.*, 2000) y rata (Mochida *et al.*, 2000). El proteasoma espermático se localiza en la membrana plasmática que cubre el acrosoma, lo que permite la degradación de proteínas antes o durante la capacitación (Morales *et al.*). Por debajo de la membrana plasmática del espermatozoide, el proteasoma puede residir en la membrana acrosómica externa, en la matriz acrosomal y/o en la membrana acrosomal interna (Morales *et al.*; Sutovsky *et al.*). Además de estar localizado en la región acrosomal, el proteasoma también está presente en la pieza de conexión y en algunos casos, en la pieza media del flagelo y en los cuerpos residuales de los espermatozoides (Bialy *et al.*, 2001).

En invertebrados marinos el SUP está involucrado en múltiples etapas del proceso de fecundación, en particular en el proceso de penetración de los espermatozoides a través de la membrana vitelina (Sawada *et al.*; Yokota & Sawada, 2007). Sawada *et al.*, reportaron en *Ascidia* la existencia de dos proteasas tipo tripsina: acrosina y espermosina, y dos isoformas del proteasoma, el proteasoma 20S y un proteasoma de 930 kDa, los que juegan un papel clave durante la fecundación (Sawada *et al.*, 1996, 1983, 1984).

En humanos, el proteasoma espermático está involucrado en la exocitosis acrosomal y en la fase sostenida del influjo de calcio que la precede (Morales *et al.*). Diversas evidencias indican que la fosforilación y la actividad del proteasoma está regulada por proteínas de la matriz extracelular, tales como fibronectina y laminina (Diaz *et al.*, 2007; Tapia *et al.*). Además, se ha comprobado que espermatozoides con alteraciones morfológicas, sobre todo en la región del cuello, muestran disminución de las actividades proteolíticas del proteasoma y una menor expresión de algunas de sus subunidades (Rawe *et al.*, 2008).

### Espermatoproteasoma

Actualmente, se han descrito en eucariotes tres proteasomas tejidos-específicos: inmunoproteasoma, timoproteasoma y el

Tabla I. Resumen de proteínas del SUP descritas en la literatura que están presentes y que podrían tener una función en la espermatogénesis y/o fecundación.

<b>SUP</b>	<b>Función</b>	<b>Identificada en</b>	<b>Especie</b>	<b>Referencia bibliográfica</b>
<b>UBA1</b>	Enzima activadora de ubiquitina	Espermatozoide	Cerdo	Yi <i>et al.</i> (2012)
<b>UBC4</b>	Enzima conjugadora de ubiquitina	Espermátidas redondas	Ratón	Bedard <i>et al.</i> (2005)
<b>Ube2r</b>	Enzima conjugadora de ubiquitina	Línea germinal, espermatozoides	Ciona intestinalis	Yokota <i>et al.</i> (2010)
<b>UBE2J1</b>	Enzima conjugadora de ubiquitina	Testículo	Ratón	Koenig <i>et al.</i> (2014)
<b>HERC4</b>	Enzima ubiquitina ligasa	Espermatozoide	Ratón	Rodriguez & Stewart (2007)
<b>E3A</b>	Enzima ubiquitina ligasa	Espermatozoide	Ratón	Baker <i>et al.</i> (2008)
<b>RNF19a</b>	Enzima ubiquitina ligasa	Espermátidas	Rata	Rivkin <i>et al.</i> (2009)
<b>ZNF645</b>	Enzima ubiquitina ligasa	Espermatozoide	Humano	Liu <i>et al.</i> (2010)
<b>UBR7</b>	Enzima ubiquitina ligasa	Espermatozoide	Cerdo	Zimmerman <i>et al.</i> (2014)
<b>UbCH1</b>	Enzima deubiquitinante	Testículo	Ratón	Santamaria <i>et al.</i> (1993)
<b>PA200</b>	Complejo regulador del proteasoma 20S	Epidídimo	Hombre	Fraile <i>et al.</i> (1996); Kon <i>et al.</i> (1999)
<b>PA28α/β</b>	Complejo regulador del proteasoma 20S	Testículo	Ratón	Ustrell <i>et al.</i> (2002)
<b>PA28 γ</b>	Complejo regulador del proteasoma 20S	Testículo	Ratón	Murata <i>et al.</i> (2001)
<b>α4T1 y α4T2</b>	Subunidad del 20S	Isoformas exclusivas de la Línea germinal	Drosophila melanogaster	Barton <i>et al.</i> (2004)
<b>PSMA8</b>	Subunidad del 20S	Isoforma exclusiva de espermátidas	Macaco	Yuan <i>et al.</i> (1996)
<b>Proteasoma</b>	Complejo 20S - 26S	Espermatozoides	Bovino	Qian <i>et al.</i> (2013)
			Erizo de mar	Skerget <i>et al.</i> (2013)
			Salmón	Matsumura & Aketa (1991)
			Ascidias	Inaba <i>et al.</i> (1993)
			Hombre	Saitoh <i>et al.</i> (1993)
			Rata	Tipler <i>et al.</i> (1997); Morales <i>et al.</i> (2000)
			Ratón	Mochida <i>et al.</i> (2000)
			Bovinos y Porcinos	Wojcik <i>et al.</i> (2000)
				Zimmerman & Sutovsky (2009)



espermatoproteasoma (Kniepert & Groettrup, 2014). Se cree que estos proteasomas tejidos-específicos, permiten una funcionalidad más eficiente en la degradación de proteínas que estarían involucradas en procesos que ocurren únicamente en estos tejidos (Kniepert & Groettrup).

El proteasoma de testículo (espermatoproteasoma) está formado por un tipo de subunidad  $\alpha 4$  específica. La existencia de una subunidad específica del proteasoma testicular fue descrita ha mediado de la década de 1990 en *Drosophila melanogaster*. Belote *et al.*, informaron de dos subunidades de tipo  $\alpha 4$  específicas ( $\alpha 4T1$  y  $\alpha 4T2$ ) codificadas por genes parálogos que son expresadas exclusivamente en la línea germinal masculina (Yuan *et al.*, 1996).

Un artículo reciente ha identificado una subunidad específica de tipo  $\alpha 4$  en los testículos de mamíferos, denominada PSMA8 o  $\alpha 4s$ . Su expresión está restringida a espermátidas redondas y elongadas en testículos de macaco Rhesus (Skerget *et al.*, 2013) y bovino (Qian *et al.*, 2013). Aunque las subunidades de tipo  $\alpha$  no poseen actividad proteolítica, la función de la subunidad PSMA8 no es clara.

Considerando que en el testículo de mamífero se realizan procesos biológicos únicos y específicos que están relacionados a la formación de gametos y que para ello se requieren de proteínas particulares que participan exclusivamente en estos procesos, tal como ocurre en el crossing over o en el recambio de histonas durante la espermiogénesis, es posible pensar que la subunidad PSMA8 podría mediar la interacción del core del proteasoma con ciertas moléculas que le proporcionen especificidad para la actividad proteolítica. Acorde con esta línea de pensamiento, recientemente se ha propuesto que la subunidad PSMA8 que se encuentra en el core 20S del proteasoma testicular podría mediar la interacción con el complejo regulador PA200, el cual podría estar participando en la degradación de histonas durante la espermatogénesis (Qian *et al.*).

### Conclusión y perspectiva

Considerando los antecedentes planteados en esta revisión, queda claro que el SUP

juega un papel importante en varios niveles de la espermatogénesis. A la fecha, existe un gran número de evidencias que demuestran la presencia y localización de los componentes del SUP a nivel testicular (Tabla I). Sin embargo, los estudios funcionales de la actividad proteasomal son menos abundantes. El estudio de las funciones del SUP es crítico, ya que la inactivación de estos genes da como resultados una progresión anormal o la detención del desarrollo de la espermatogénesis, lo que conduce a la infertilidad.

La especificidad del proceso de ubiquitinación de proteínas está dada por la enzima ubiquitina ligasa o E3. Por lo tanto, la identificación de las E3 ligasas implicadas en los procesos de ubiquitinación de proteínas en el epitelio seminífero proporcionará información fundamental para comprender los mecanismos celulares implicados en la regulación de la espermatogénesis.

La existencia de proteasomas específicos de tejidos, como el espermatoproteasoma podría estimular el desarrollo de inhibidores selectivos de las subunidades que los diferencian de los proteasomas somáticos, como la subunidad PSMA8, los cuales podrían sentar las bases de la investigación para el desarrollo de anticonceptivos masculinos.

---

ZAPATA, C. H.; MORALES, R. P. & JARA, G. M. Role of ubiquitin-proteasome system in spermatogenesis. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(4):621-634, 2015.

**SUMMARY:** Spermatogenesis is a series of events that constitute programmed cell differentiation, with dramatic changes in morphology, biochemistry and gene expression which are regulated by temporal and especially endocrine, paracrine and autocrine mechanisms. During the various stages of spermatogenesis and particularly during the differentiation of spermatids, there is massive degradation of cytosolic proteins, nuclear and membrane due to the elimination of much of the cytoplasm which has round spermatid. This protein degradation occurs within the seminiferous epithelium and is mediated by cellular systems described for this purpose. The proteasome is a multienzyme complex responsible for degrading the majority of nuclear and cytosolic proteins, after they are marked for destruction by covalent attachment of ubiquitin

molecules. This selective destruction of cellular proteins is a key mechanism in the process of spermatogenesis. This article discusses the basics of male gonadal physiological process and the current understanding of the role of the ubiquitin proteasome system in the functional maintenance of spermatogenesis are reviewed.

**KEY WORDS: Spermatogenesis; Ubiquitin; Proteasome.**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, I. D. Comparison of the duration of spermatogenesis between male rodents and humans. *Mutat. Res.*, 352(1-2):169-72, 1996.
- Agell, N. & Mezquita, C. Cellular content of ubiquitin and formation of ubiquitin conjugates during chicken spermatogenesis. *Biochem. J.*, 250(3):883-9, 1988.
- Arrigo, A. P.; Simon, M.; Darlix, J. L. & Spahr, P. F. A 20S particle ubiquitous from yeast to human. *J. Mol. Evol.*, 25(2):141-50, 1987.
- Baarends, W. M.; Hoogerbrugge, J. W.; Roest, H. P.; Ooms, M.; Vreeburg, J.; Hoeijmakers, J. H. & Grootegoed, J. A. Histone ubiquitination and chromatin remodeling in mouse spermatogenesis. *Dev. Biol.*, 207(2):322-33, 1999a.
- Baarends, W. M.; Roest, H. P. & Grootegoed, J. A. The ubiquitin system in gametogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 151(1-5):5-16, 1999b.
- Bajorek, M. & Glickman, M. H. Keepers at the final gates: regulatory complexes and gating of the proteasome channel. *Cell. Mol. Life Sci.*, 61(13):1579-88, 2004.
- Barton, L. F.; Runnels, H. A.; Schell, T. D.; Cho, Y.; Gibbons, R.; Tevethia, S. S.; Deepe, G. S. Jr. & Monaco, J. J. Immune defects in 28-kDa proteasome activator gamma-deficient mice. *J. Immunol.*, 172(6):3948-54, 2004.
- Bebington, C.; Doherty, F. J. & Fleming, S. D. The possible biological and reproductive functions of ubiquitin. *Hum. Reprod. Update*, 7(1):102-11, 2001.
- Bedard, N.; Hingamp, P.; Pang, Z.; Karaplis, A.; Morales, C.; Trasler, J.; Cyr, D.; Gagnon, C. & Wing, S. S. Mice lacking the UBC4-testis gene have a delay in postnatal testis development but normal spermatogenesis and fertility. *Mol. Cell. Biol.*, 25(15):6346-54, 2005.
- Bellvé, A. R.; Cavicchia, J. C.; Millette, C. F.; O'Brien, D. A.; Bhatnagar, Y. M. & Dym, M. Spermatogenic cells of the prepuberal mouse. Isolation and morphological characterization. *J. Cell Biol.*, 74(1):68-85, 1977.
- Bialy, L. P.; Ziemba, H. T.; Marianowski, P.; Fracki, S.; Bury, M. & Wójcik, C. Localization of a proteasomal antigen in human spermatozoa: immunohistochemical electron microscopic study. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 39(2):129-30, 2001.
- Bousquet-Dubouch, M. P.; Fabre, B.; Monsarrat, B. & Burlet-Schiltz, O. Proteomics to study the diversity and dynamics of proteasome complexes: from fundamentals to the clinic. *Expert Rev. Proteomics*, 8(4):459-81, 2011.
- Ciechanover, A. Intracellular protein degradation: from a vague idea, through the lysosome and the ubiquitin-proteasome system, and onto human diseases and drug targeting (Nobel lecture). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 44(37):5944-67, 2005a.
- Ciechanover, A. Intracellular protein degradation: from a vague idea, through the lysosome and the ubiquitin-proteasome system, and onto human diseases and drug targeting (Nobel lecture). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 44(37):5944-67, 2005b.
- Ciechanover, A. The ubiquitin proteolytic system: from an idea to the patient bed. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 3(1):21-31, 2006.
- Claverol, S.; Burlet-Schiltz, O.; Girbal-Neuhauser, E.; Gairin, J. E. & Monsarrat, B. Mapping and structural dissection of human 20 S proteasome using proteomic approaches. *Mol. Cell. Proteomics*, 1(8):567-78, 2002.
- Clermont, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.*, 52(1):198-236, 1972
- Clermont, Y. & Bustos-Obregon, E. Re-examination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto". *Am. J. Anat.*, 122(2):237-47, 1968.
- Chen, H. Y.; Sun, J. M.; Zhang, Y.; Davie, J. R. & Meistrich, M. L. Ubiquitination of histone H3 in elongating spermatids of rat testes. *J. Biol. Chem.*, 273(21):13165-9, 1998.

- de Bie, P. & Ciechanover, A. Ubiquitination of E3 ligases: self-regulation of the ubiquitin system via proteolytic and non-proteolytic mechanisms. *Cell. Death Differ.*, 18(9):1393-402, 2011.
- Diaz, E. S.; Kong, M. & Morales, P. Effect of fibronectin on proteasome activity, acrosome reaction, tyrosine phosphorylation and intracellular calcium concentrations of human sperm. *Hum. Reprod.*, 22(5):1420-30, 2007.
- Eddy, E. M. Male germ cell gene expression. *Recent Prog. Horm. Res.*, 57:103-28, 2002.
- Fang, S. & Weissman, A. M. A Field Guide to Ubiquitylation. *Cell. Mol. Life Sci.*, 61(13):1546-61, 2004.
- Feist, E.; Brychcy, M.; Hausdorf, G.; Hoyer, B.; Egerer, K.; Dörner, T.; Kuckelkorn, U. & Burmester, G. R. Anti-proteasome autoantibodies contribute to anti-nuclear antibody patterns on human larynx carcinoma cells. *Ann. Rheum. Dis.*, 66(1):5-11, 2007.
- Fouquet, J. P. & Dadoune, J. P. Renewal of spermatogonia in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Biol. Reprod.*, 35(1):199-207, 1986.
- Fraile, B.; Martin, R.; De Miguel, M. P.; Arenas, M. I.; Bethencourt, F. R.; Peinado, F.; Paniagua, R. & Santamaria, L. Light and electron microscopic immunohistochemical localization of protein gene product 9.5 and ubiquitin immunoreactivities in the human epididymis and vas deferens. *Biol. Reprod.*, 55(2):291-7, 1996.
- França, L. R.; Ogawa, T.; Avarbock, M. R.; Brinster, R. L. & Russell, L. D. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol. Reprod.*, 59(6):1371-7, 1998.
- Glickman, M. H. & Ciechanover, A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev.*, 82(2):373-428, 2002.
- Grillari, J.; Katinger, H. & Voglauer, R. Aging and the ubiquitinome: traditional and non-traditional functions of ubiquitin in aging cells and tissues. *Exp. Gerontol.*, 41(11):1067-79, 2006.
- Haraguchi, C. M.; Mabuchi, T.; Hirata, S.; Shoda, T.; Tokumoto, T.; Hoshi, K. & Yokota, S. Possible function of caudal nuclear pocket: degradation of nucleoproteins by ubiquitin-proteasome system in rat spermatids and human sperm. *J. Histochem. Cytochem.*, 55(6):585-95, 2007.
- He, C. & Klionsky, D. J. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu. Rev. Genet.*, 43:67-93, 2009.
- Hegerl, R.; Pfeifer, G.; Pühler, G.; Dahlmann, B. & Baumeister, W. The three-dimensional structure of proteasomes from *Thermoplasma acidophilum* as determined by electron microscopy using random conical tilting. *F. E. B. S. Lett.*, 283(1):117-21, 1991.
- Hermo, L.; Pelletier, R. M.; Cyr, D. G. & Smith, C. E. Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part 1: background to spermatogenesis, spermatogonia, and spermatocytes. *Microsc. Res. Tech.*, 73(4):241-78, 2010.
- Hershko, A. & Ciechanover, A. The ubiquitin system. *Annu. Rev. Biochem.*, 67:425-79, 1998.
- Hogarth, C. A. & Griswold, M. D. The key role of vitamin A in spermatogenesis. *J. Clin. Invest.*, 120(4):956-62, 2010.
- Inaba, K.; Akazome, Y. & Morisawa, M. Purification of proteasomes from salmonid fish sperm and their localization along sperm flagella. *J. Cell. Sci.*, 104(Pt. 3):907-15, 1993.
- Jakob, C.; Egerer, K.; Liebisch, P.; Türkmen, S.; Zavrski, I.; Kuckelkorn, U.; Heider, U.; Kaiser, M.; Fleissner, C.; Sterz, J.; Kleeberg, L.; Feist, E.; Burmester, G. R.; Kloetzel, P. M. & Sezer, O. Circulating proteasome levels are an independent prognostic factor for survival in multiple myeloma. *Blood*, 109(5):2100-5, 2007.
- Jung, T.; Catalgol, B. & Grune, T. The proteasomal system. *Mol. Aspects Med.*, 30(4):191-296, 2009.
- Kerr, J. B.; Loveland, K. L.; O'Bryan, M. K. & De Kretser, D. M. *Citology of the Testis and Intrinsic Control Mechanisms*. En: Neill, J. D. (Ed.). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3rd ed. New York, Elsevier, 2006.
- Khor, B.; Bredemeyer, A. L.; Huang, C. Y.; Turnbull, I. R.; Evans, R.; Maggi, L. B. Jr.; White, J. M.; Walker, L. M.; Carnes, K.; Hess, R. A. & Sleckman, B. P. Proteasome activator PA200 is required for normal spermatogenesis. *Mol. Cell. Biol.*, 26(8):2999-3007, 2006.
- Kim, H. M.; Yu, Y. & Cheng, Y. Structure characterization of the 26S proteasome. *Biochim. Biophys. Acta*, 1809(2):67-79, 2011.

- Kinyamu, H. K.; Chen, J. & Archer, T. K. Linking the ubiquitin-proteasome pathway to chromatin remodeling/modification by nuclear receptors. *J. Mol. Endocrinol.*, 34(2):281-97, 2005.
- Kirschner, M. Intracellular proteolysis. *Trends Cell Biol.*, 9(1):M42-5, 1999.
- Kloetzel, P. M. Antigen processing by the proteasome. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2(3):179-87, 2001.
- Kniepert, A. & Groettrup, M. The unique functions of tissue-specific proteasomes. *Trends Biochem. Sci.*, 39(1):17-24, 2014.
- Kon, Y.; Endoh, D. & Iwanaga, T. Expression of protein gene product 9.5, a neuronal ubiquitin C-terminal hydrolase, and its developing change in sertoli cells of mouse testis. *Mol. Reprod. Dev.*, 54(4):333-41, 1999.
- Konstantinova, I. M.; Tsimokha, A. S. & Mittenberg, A. G. Role of proteasomes in cellular regulation. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.*, 267:59-124, 2008.
- Kroemer, G.; Mariño, G. & Levine, B. Autophagy and the integrated stress response. *Mol. Cell.*, 40(2):280-93, 2010.
- Kwiatkowska, M.; Wojtczak, A.; Popońska, K. & Teodorczyk, M. The influence of epoxomicin, inhibitor of proteasomal proteolytic activity, on spermiogenesis in *Chara vulgaris*. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 41(1):51-4, 2003.
- Leblond, C. P. & Clermont, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 55(4):548-73, 1952.
- Lui, W. Y. & Lee, W. M. Ubiquitin system in male reproduction and its relevance to contraception. *Immunol. Endocr. Metab. Agents Med. Chem.*, 8(1):14-9, 2008.
- Ma, J.; Katz, E. & Belote, J. M. Expression of proteasome subunit isoforms during spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Insect Mol. Biol.*, 11(6):627-39, 2002.
- Matsumoto, A. M. & Bremner, W. J. Endocrine control of human spermatogenesis. *J. Steroid Biochem.*, 33(4B):789-90, 1989.
- Matsumura, K. & Aketa, K. Proteasome (multicatalytic proteinase) of sea urchin sperm and its possible participation in the acrosome reaction. *Mol. Reprod. Dev.*, 29(2):189-99, 1991.
- Mochida, K.; Tres, L. L. & Kierszenbaum, A. L. Structural features of the 26S proteasome complex isolated from rat testis and sperm tail. *Mol. Reprod. Dev.*, 57(2):176-84, 2000.
- Morales, P.; Kong, M.; Pizarro, E. & Pasten, C. Participation of the sperm proteasome in human fertilization. *Hum. Reprod.*, 18(5):1010-7, 2003.
- Morales, P.; Pizarro, E.; Kong, M. & Jara, M. Extracellular localization of proteasomes in human sperm. *Mol. Reprod. Dev.*, 68(1):115-24, 2004.
- Murata, S.; Kawahara, H.; Tohma, S.; Yamamoto, K.; Kasahara, M.; Nabeshima, Y.; Tanaka, K. & Chiba, T. Growth retardation in mice lacking the proteasome activator PA28gamma. *J. Biol. Chem.*, 274(53):38211-5, 1999.
- Murata, S.; Udono, H.; Tanahashi, N.; Hamada, N.; Watanabe, K.; Adachi, K.; Yamano, T.; Yui, K.; Kobayashi, N.; Kasahara, M.; Tanaka, K. & Chiba, T. Immunoproteasome assembly and antigen presentation in mice lacking both PA28alpha and PA28beta. *E. M. B. O. J.*, 20(21):5898-907, 2001.
- Nandi, D.; Tahiliani, P.; Kumar, A. & Chandu, D. The ubiquitin-proteasome system. *J. Biosci.*, 31(1):137-55, 2006.
- Nederlof, P. M.; Wang, H. R. & Baumeister, W. Nuclear localization signals of human and Thermoplasma proteasomal alpha subunits are functional *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 92(26):12060-4, 1995.
- Orlowski, M. The multicatalytic proteinase complex, a major extralysosomal proteolytic system. *Biochemistry*, 29(45):10289-97, 1990.
- Ortega, J.; Heymann, J. B.; Kajava, A. V.; Ustrell, V.; Rechsteiner, M. & Steven, A. C. The axial channel of the 20S proteasome opens upon binding of the PA200 activator. *J. Mol. Biol.*, 346(5):1221-7, 2005.
- Parvinen, M. Regulation of the seminiferous epithelium. *Endocr. Rev.*, 3(4):404-17, 1982.
- Pickart, C. M. Back to the future with ubiquitin. *Cell*, 116(2):181-90, 2004.
- Pickart, C. M. & Cohen, R. E. Proteasomes and their kin: proteases in the machine age. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 5(3):177-87, 2004.
- Pickart, C. M. & Eddins, M. J. Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta*, 1695(1-3):55-72, 2004.

- Pickart, C. M. & Fushman, D. Polyubiquitin chains: polymeric protein signals. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 8(6):610-6, 2004.
- Qian, M. X.; Pang, Y.; Liu, C. H.; Haratake, K.; Du, B. Y.; Ji, D. Y.; Wang, G. F.; Zhu, Q. Q.; Song, W.; Yu, Y.; Zhang, X. X.; Huang, H. T.; Miao, S.; Chen, L. B.; Zhang, Z. H.; Liang, Y. N.; Liu, S.; Cha, H.; Yang, D.; Zhai, Y.; Komatsu, T.; Tsuruta, F.; Li, H.; Cao, C.; Li, W.; Li, G. H.; Cheng, Y.; Chiba, T.; Wang, L.; Goldberg, A. L.; Shen, Y. & Qiu, X. B. Acetylation-mediated proteasomal degradation of core histones during DNA repair and spermatogenesis. *Cell*, 153(5):1012-24, 2013.
- Rawe, V. Y.; Díaz, E. S.; Abdelmassih, R.; Wójcik, C.; Morales, P.; Sutovsky, P. & Chemes, H. E. The role of sperm proteasomes during sperm aster formation and early zygote development: implications for fertilization failure in humans. *Hum. Reprod.*, 23(3):573-80, 2008.
- Rechsteiner, M. & Hill, C. P. Mobilizing the proteolytic machine: cell biological roles of proteasome activators and inhibitors. *Trends Cell. Biol.*, 15(1):27-33, 2005.
- Reid, A. T.; Redgrove, K.; Aitken, R. J. & Nixon, B. Cellular mechanisms regulating sperm-zona pellucida interaction. *Asian J. Androl.*, 13(1):88-96, 2011.
- Rock, K. L.; Gramm, C.; Rothstein, L.; Clark, K.; Stein, R.; Dick, L.; Hwang, D. & Goldberg, A. L. Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell*, 78(5):761-71, 1994.
- Rodriguez, C. I. & Stewart, C. L. Disruption of the ubiquitin ligase HERC4 causes defects in spermatozoon maturation and impaired fertility. *Dev. Biol.*, 312(2):501-8, 2007.
- Russell, L.; Ettl, R.; Sinha Hikim, A. & Clegg, E. *Histological And Histopathological Evaluation Of The Testis*. Clearwater, Cache River Press, 1990.
- Ryu, K. Y.; Sinnar, S. A.; Reinholdt, L. G.; Vaccari, S.; Hall, S.; Garcia, M. A.; Zaitseva, T. S.; Bouley, D. M.; Boekelheide, K.; Handel, M. A.; Conti, M. & Kopio, R. R. The mouse polyubiquitin gene Ubb is essential for meiotic progression. *Mol. Cell. Biol.*, 28(3):1136-46, 2008.
- Saitoh, Y.; Sawada, H. & Yokosawa, H. High-molecular-weight protease complexes (proteasomes) of sperm of the ascidian, *Halocynthia roretzi*: isolation, characterization, and physiological roles in fertilization. *Dev. Biol.*, 158(1):238-44, 1993.
- Santamaría, L.; Martín, R.; Paniagua, R.; Fraile, B.; Nistal, M.; Terenghi, G. & Polak, J. M. Protein gene product 9.5 and ubiquitin immunoreactivities in rat epididymis epithelium. *Histochemistry*, 100(2):131-8, 1993.
- Savulescu, A. F. & Glickman, M. H. Proteasome activator 200: the heat is on... *Mol. Cell. Proteomics*, 10(5):R110.006890, 2011.
- Sawada, H.; Iwasaki, K.; Kihara-Negishi, F.; Ariga, H. & Yokosawa, H. Localization, expression, and the role in fertilization of spermosin, an ascidian sperm trypsin-like protease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 222(2):499-504, 1996.
- Sawada, H.; Sakai, N.; Abe, Y.; Tanaka, E.; Takahashi, Y.; Fujino, J.; Kodama, E.; Takizawa, S. & Yokosawa, H. Extracellular ubiquitination and proteasome-mediated degradation of the ascidian sperm receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99(3):1223-8, 2002.
- Sawada, H.; Yokosawa, H.; Hoshi, M. & Ishii, S. Ascidian sperm chymotrypsin-like enzyme; participation in fertilization. *Experientia*, 39(4):377-8, 1983.
- Sawada, H.; Yokosawa, H. & Ishii, S. Purification and characterization of two types of trypsin-like enzymes from sperm of the ascidian (Prochordata) *Halocynthia roretzi*. Evidence for the presence of spermosin, a novel acrosin-like enzyme. *J. Biol. Chem.*, 259(5):2900-4, 1984.
- Schlesinger, D. H.; Goldstein, G. & Niall, H. D. The complete amino acid sequence of ubiquitin, an adenylate cyclase stimulating polypeptide probably universal in living cells. *Biochemistry*, 14(10):2214-8, 1975.
- Skerget, S.; Rosenow, M.; Polpitiya, A.; Petritis, K.; Dorus, S. & Karr, T. L. The Rhesus macaque (*Macaca mulatta*) sperm proteome. *Mol. Cell. Proteomics*, 12(11):3052-67, 2013.
- Sorokin, A. V.; Kim, E. R. & Ovchinnikov, L. P. Nucleocytoplasmic transport of proteins. *Biochemistry (Mosc.)*, 72(13):1439-57, 2007.
- Spiteri-Grech, J. & Nieschlag, E. Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis--a review. *J. Reprod. Fertil.*, 98(1):1-14, 1993.
- Steinberger, E.; Steinberger, A. & Sanborn, B. Endocrine control of spermatogenesis. *Basic Life Sci.*, 4(Part A):163-81, 1974.
- Sutovsky, P.; Manandhar, G.; McCauley, T. C.; Caamaño, J. N.; Sutovsky, M.; Thompson, W. E.

- & Day, B. N. Proteasomal interference prevents zona pellucida penetration and fertilization in mammals. *Biol. Reprod.*, 71(5):1625-37, 2004.
- Tapia, S.; Rojas, M.; Morales, P.; Ramirez, M. A. & Diaz, E. S. The laminin-induced acrosome reaction in human sperm is mediated by Src kinases and the proteasome. *Biol. Reprod.*, 85(2):357-66, 2011.
- Tipler, C. P.; Hutchon, S. P.; Hendil, K.; Tanaka, K.; Fishel, S. & Mayer, R. J. Purification and characterization of 26S proteasomes from human and mouse spermatozoa. *Mol. Hum. Reprod.*, 3(12):1053-60, 1997.
- Ustrell, V.; Hoffman, L.; Pratt, G. & Rechsteiner, M. PA200, a nuclear proteasome activator involved in DNA repair. *E. M. B. O. J.*, 21(13):3516-25, 2002
- Ventii, K. H. & Wilkinson, K. D. Protein partners of deubiquitinating enzymes. *Biochem. J.*, 414(2):161-75, 2008.
- Verhoeven, G.; Willems, A.; Denolet, E.; Swinnen, J. V. & De Gendt, K. Androgens and spermatogenesis: lessons from transgenic mouse models. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 365(1546):1537-56, 2010.
- Vogl, A. W.; Vaid, K. S. & Guttman, J. A. The Sertoli cell cytoskeleton. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 636:186-211, 2008.
- Wada, M.; Kosaka, M.; Saito, S.; Sano, T.; Tanaka, K. & Ichihara, A. Serum concentration and localization in tumor cells of proteasomes in patients with hematologic malignancy and their pathophysiologic significance. *J. Lab. Clin. Med.*, 121(2):215-23, 1993.
- Walz, J.; Erdmann, A.; Kania, M.; Typke, D.; Koster, A. J. & Baumeister, W. 26S proteasome structure revealed by three-dimensional electron microscopy. *J. Struct. Biol.*, 121(1):19-29, 1998.
- Wilk, S. & Orlowski, M. Cation-sensitive neutral endopeptidase: isolation and specificity of the bovine pituitary enzyme. *J. Neurochem.*, 35(5):1172-82, 1980.
- Wilk, S. & Orlowski, M. Evidence that pituitary cation-sensitive neutral endopeptidase is a multicatalytic protease complex. *J. Neurochem.*, 40(3):842-9, 1983.
- Wing, S. S.; Bédard, N.; Morales, C.; Hingamp, P. & Trasler, J. A novel rat homolog of the *Saccharomyces cerevisiae* ubiquitin-conjugating enzymes UBC4 and UBC5 with distinct biochemical features is induced during spermatogenesis. *Mol. Cell. Biol.*, 16(8):4064-72, 1996.
- Wojcik, C.; Benchaib, M.; Lornage, J.; Czyba, J. C. & Guerin, J. F. Proteasomes in human spermatozoa. *Int. J. Androl.*, 23(3):169-77, 2000.
- Wojtczak, A. & Kwiatkowska, M. Immunocytochemical and ultrastructural analyses of the function of the ubiquitin-proteasome system during spermiogenesis with the use of the inhibitors of proteasome proteolytic activity in the alga, *Chara vulgaris*. *Biol. Reprod.*, 78(4):577-85, 2008.
- Yokota, N.; Harada, Y. & Sawada, H. Identification of testis-specific ubiquitin-conjugating enzyme in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Reprod. Dev.*, 77(7):640-7, 2010.
- Yokota, N. & Sawada, H. Sperm proteasomes are responsible for the acrosome reaction and sperm penetration of the vitelline envelope during fertilization of the sea urchin *Pseudocentrotus depressus*. *Dev. Biol.*, 308(1):222-31, 2007.
- Yuan, X.; Miller, M. & Belote, J. M. Duplicated proteasome subunit genes in *Drosophila melanogaster* encoding testes-specific isoforms. *Genetics*, 144(1):147-57, 1996.

Dirección para Correspondencia:  
Marco Antonio Jara González  
Departamento Biomédico  
Facultad Ciencias de la Salud  
Universidad de Antofagasta  
Casilla 170  
Antofagasta  
CHILE

Email: marco.jara@uantof.cl

Recibido : 02-10-2015  
Aceptado: 23-11-2015