



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
MATEMÁTICAS

MODELAJE DE DINÁMICAS ADAPTATIVAS RELEVANTES A LA  
FECUNDACIÓN DEL ERIZO DE MAR

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:  
VANESSA ALDERETE ACOSTA

DIRECTOR DE LA TESIS:  
DR. GUSTAVO CARLOS MARTÍNEZ-MEKLER  
INSTITUTO DE CIENCIAS FÍSICAS, UNAM

MÉXICO, D.F. (6 DE DICIEMBRE DE 2013)



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



# Índice general

Agradecimientos	III
Resumen	v
<b>I Introducción y trabajos preliminares</b>	<b>1</b>
1. Introducción	3
2. Preliminares	7
<b>II Resultados</b>	<b>13</b>
3. Construcción del Modelo	15
3.1. Ecuaciones del Modelo . . . . .	15
3.2. Retroalimentación de $\gamma(t)$ a $F(t)$ . . . . .	18
3.3. Modelo utilizando ecuaciones de osciladores . . . . .	23
3.4. Ecuaciones de Osciladores . . . . .	25
4. Resultados a partir del modelo	29
4.1. Sincronización de los procesos. . . . .	29
4.1.1. Utilizando la razón entre las frecuencias $\omega_c$ y $\omega_0$ . . . . .	30
4.1.2. Utilizando el tiempo de activación . . . . .	33
4.2. Sobre el proceso de quimiotaxis . . . . .	34
<b>III Conclusiones y perspectivas</b>	<b>39</b>
5. Conclusiones y perspectivas	41

<b>IV Apéndices</b>	<b>43</b>
A. Figuras	45
B. ¿Qué sucede biológicamente?	55
B.1. El proceso bioquímico. . . . .	55
Bibliografía	59

# Agradecimientos

Quiero agradecer a todas las personas que hicieron posible la culminación de mis estudios de maestría y la elaboración de esta tesis.

A mi familia, que a pesar de la distancia no ha dejado de darme ánimos, papás, Luis, Erica, Romina y Beto. A mi gente linda de Cd. Juárez, Lizeth y familia Quezada Maldonado completa, Kallita, Lydia, Padilla amigos todos y siempre a mi lado.

A la familia en mi nuevo lugar, han estado a mi lado en proceso de este trabajo, gracias por no dejarme caer Liz, Adriana, Antonio, Aubin, Jesús, José Luis, Óscar, de verdad gracias, son pilares muy fuertes para mi.

A mi grupo de trabajo: Alejandro, Alfredo, Jesús, Rafael y claro al director de mi tesis el Dr. Gustavo Martínez-Makler, gracias a todos ustedes por su tiempo y tanta paciencia y por todas las enseñanzas que me han brindado.

A mi tutor de maestría, el Dr. Pedro Miramontes, por tan asertados consejos y buena orientación, muchas gracias.

Al Dr. Angel Cano por su asesoramiento y apoyo. Asimismo y al proyecto PAPIIT UNAM IA100112 con nombre Grupos Kleinianos complejos, por el financiamiento otorgado durante la realización de este trabajo de tesis.

A todos ustedes, muchas gracias.

Cuernavaca, Morelos. 6 de diciembre de 2013

Vanessa Alderete Acosta



# Resumen

Comprender el proceso de fecundación es fundamental para la vida. De manera teórica se puede abordar este problema a través de la creación de modelos matemáticos simples que incorporen elementos esenciales del proceso y recuperen su fenomenología. Estos modelos permiten identificar comportamientos y parámetros que contribuyen a un mejor entendimiento del fenómeno biológico y ayuden a proponer nuevos experimentos *in vitro*.

De los estudios documentados sobre erizos de mar, se sabe que la *quimiotaxis* puede favorecer al encuentro de los gametos femeninos y masculinos.

En este trabajo se prestó atención principalmente a dos procesos involucrados en la fecundación que son relevantes para la quimiotaxis: la forma del nado del espermatozoide y las fluctuaciones de iones calcio intraflagelares. Debido a que ambos procesos presentan comportamientos periódicos o cuasi periódicos, surgió la motivación de realizar un modelo utilizando ecuaciones de osciladores.

Los resultados obtenidos en la tesis son los siguientes:

- Se construyó un modelo en el cual se hizo una propuesta de retroalimentación en ambas direcciones entre el nado del espermatozoide y las fluctuaciones de calcio intraflagelar.
- Bajo la hipótesis de que la sincronización de los procesos mencionados en el punto anterior es un aspecto importante para que se lleve a cabo el proceso de quimiotaxis, se hizo un barrido en los valores de la frecuencia de las fluctuaciones de calcio intraflagelar y la frecuencia del nado del espermatozoide. Los resultados obtenidos, a través de la interpretación de gráficas de las trayectorias del espermatozoide generadas con el modelo, fueron que las frecuencias deben ser cercanas entre sí, tal y como sucede biológicamente, de lo contrario las gráficas referentes al nado del espermatozoide presentan comportamientos no observables en las trayectorias que describen los espermatozoides en los laboratorios.

- Se consideró la razón que existe entre ambas frecuencias y se hizo variar, con ello se obtuvieron cambios cualitativos en el nado, lo cual permitió identificar a esa razón como un parámetro de control de la quimiotaxis.
- Al variar la fase considerada en el modelo y fijar las frecuencias de ambos procesos, a partir de datos obtenidos experimentalmente, se encontraron rangos de valores para la fase corresponden a comportamientos observados *in vitro*, los cuales fueron coherentes con rangos para la fase determinados experimentalmente.
- Se identificaron parámetros básicos relacionados con la retroalimentación del nado del espermatozoide hacia las fluctuaciones de calcio intraflagelar, los cuales al ser modificados en el modelo generaron cambios en las trayectorias del nado, lo que contribuyó a un mejor entendimiento de trabajos experimentales en proceso.

Una aportación general de la tesis es poner de manifiesto que la generación de modelos matemáticos simples que incorporan aspectos fundamentales de fenómenos biológicos pueden contribuir a su mejor comprensión y plantear líneas de investigación futuras.

# Parte I

## Introducción y trabajos preliminares



# Capítulo 1

## Introducción

Uno de los procesos fundamentales para la preservación de las especies es la fecundación. En el caso de las especies con reproducción sexual, es el proceso donde los gametos masculinos y femeninos se unen para formar un nuevo individuo. Por gameto<sup>1</sup> masculino entenderemos espermatozoide, y se tienen tres maneras equivalentes de referirse al gameto femenino: óvulo, ovocito o huevo.

Existen dos tipos de fecundación: interna y externa. La primera sucede dentro del tracto genital femenino, mientras que la segunda fuera de él. Para que la fecundación se lleve a cabo, debe existir una interacción entre el espermatozoide y el óvulo que promueva su encuentro. Una forma en que ocurre la interacción entre los gametos es a través de compuestos químicos llamados quimioatrayentes que son secretados junto con el ovocito y que lo rodean.

Las especies con fecundación externa han desarrollado estrategias que optimizan la exploración espacial para que el encuentro con el huevo ocurra de modo eficiente. Una de ellas es la *quimiotaxis*<sup>2</sup>, que consiste en re-orientar la trayectoria del espermatozoide en función de la concentración del quimioatrayente.

Un ejemplo de fecundación externa que ha sido muy estudiado es la del erizo de mar (*equinoides*), debido a que en los laboratorios reproducir el ambiente en el cual se reproducen estos es más simple que reproducir el ambiente para el caso de los mamíferos. Los datos experimentales que empleamos en este trabajo provienen de tres géneros diferentes de erizos: *Arbacia punctulata*, *Strongylocentrotus purpuratus* y *Lytechinus pictus*.

De estos tres géneros, dos de ellos son considerados quimiotácticos: *A. punctulata*

---

<sup>1</sup>Célula sexual.

<sup>2</sup>Del griego *khymia*, 'álquimia', 'química'; y el griego *trix*, 'orden', 'formación'

y *L. pictus*; el estímulo a los que estos reaccionan son un dodecapéptido<sup>3</sup> llamado *resact* y un decapeptido llamado *speract*, respectivamente.

En el caso de *S. purpuratus* se sabe que *in vitro* responde también a *speract* y se ha observado que parece describir una trayectoria aleatoria, por lo que no se le considera quimiotáctico. Sin embargo, recientemente se tienen indicios experimentales de que la quimiotaxis puede estar presente a distancias muy cortas del huevo, zona donde el gradiente de concentración del estímulo presenta pendiente muy grande.

Se cree que una de las razones por la cual la quimiotaxis se da en las dos primeras especies es que en su etapa de reproducción se encuentran en aguas profundas, mientras que *S. purpuratus* se localiza en costas donde la turbulencia del agua es más fuerte que los otros casos.

En adelante, al hablar de quimiotaxis en el erizo de mar se tratará de *L. pictus*; en caso contrario se hará la aclaración.

Una vez que el flagelo del espermatozoide del erizo, que se encuentra moviéndose en el mar, entra en contacto con el estímulo, se desencadena una serie de procesos bioquímicos intracelulares (ver Apéndice B). Entre estos se presta particular atención a la generación de fluctuaciones de calcio intraflagelar, ya que éstas están relacionadas con el redireccionamiento en la trayectoria que describe el espermatozoide para llegar al ovocito y fecundarlo.

Para el estudio de la fecundación del erizo de mar, en este trabajo se consideran dos procesos, uno mecánico, el nado del espermatozoide; y otro bioquímico, las fluctuaciones internas de calcio. Ambos son considerados procesos oscilatorios; el primero se asemeja a círculos cuando no hay estímulo, y el segundo por referirse a fluctuaciones cuasi periódicas.

Basados en las observaciones hechas en los experimentos realizados *in vitro*, los objetivos a alcanzar en este trabajo son:

---

<sup>3</sup>Péptido.- Molcula formada por la unin covalente de dos o ms aminocidos

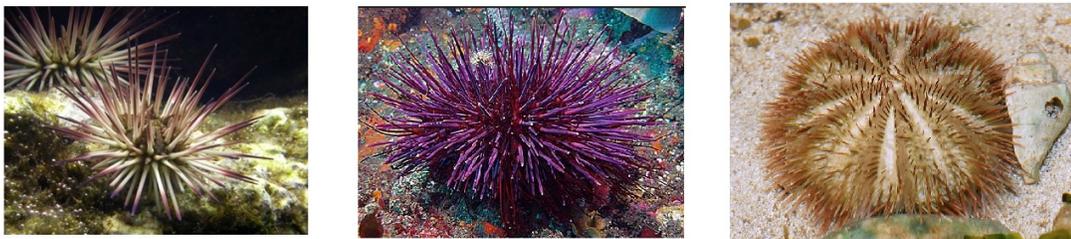


Figura 1.1: Erizos de mar. A la izquierda *Arbacia punctulata*, al centro *Strongylocentrotus purpuratus* y a la derecha *Lytechinus pictus* [2, 3, 4].

- 1) Plantear ecuaciones que recuperen de manera cualitativa algunos aspectos de la fenomenología observada en los experimentos que contribuyan a entender el comportamiento tanto de las fluctuaciones internas de calcio como del nado del espermatozoide.
- 2) Explorar el comportamiento dinámico del modelo planteado; hacer una propuesta de cómo interactúan el nado del espermatozoide y las fluctuaciones de calcio intraflagelar.
- 3) Al variar parámetros, identificar elementos relevantes al encuentro del espermatozoide y el óvulo que sugieran experimentos futuros.
- 4) Establecer bajo cuáles condiciones se sincronizan ambos procesos.
- 5) Determinar condiciones conducentes a quimiotaxis.

El propósito de la tesis es elaborar un formalismo matemático que incorpore la retroalimentación que opera en ambas direcciones entre los dos procesos considerados: cómo las fluctuaciones de calcio intraflagelar afectan al nado del espermatozoide, y cómo el nado determina la manera en que se producen las fluctuaciones. La hipótesis del trabajo es que la sincronización entre ambos procesos es fundamental para que se lleve a cabo la fecundación.

En el capítulo 1 (los preliminares) se presenta una recopilación de trabajos relevantes para nuestro estudio. En dichos trabajos se introducen modelos donde sólo se observa la manera en que las fluctuaciones internas de calcio modulan la forma en que cambia la trayectoria del nado, pero no se plantea cómo el nado regula las fluctuaciones de calcio intraflagelar.

En el capítulo 2 se plantean un par de ecuaciones fenomenológicas dependientes del tiempo, con las cuales se recupera de manera cualitativa el comportamiento del nado del espermatozoide y de las fluctuaciones de calcio intraflagelar observado experimentalmente. También se presenta una propuesta de cómo el nado, a través de la interacción con el estímulo, puede afectar cómo se producen estas fluctuaciones, es decir, se exhibe explícitamente una forma en que puede llevarse a cabo la retroalimentación en ambos sentidos.

Con base en los planteamientos anteriores, en el capítulo 3 se construye un modelo donde se exhibe de manera explícita la forma en que interactúan las fluctuaciones de calcio intraflagelar y el nado del espermatozoide. Además se da una interpretación del modelo.

En el capítulo 4, al hacer modificaciones en la frecuencia del nado del espermatozoide y la frecuencia de las fluctuaciones de calcio intraflagelar se hace un análisis

para ver bajo qué condiciones se sincronizan ambos procesos. Se comparan los resultados obtenidos con el modelo contra los resultados experimentales y de este último se pudieron generar hipótesis para trabajos experimentales y teóricos posteriores.

Para finalizar, en el capítulo 5 se hace un análisis del trabajo realizado en la tesis y de los resultados obtenidos.

# Capítulo 2

## Preliminares

A principios del siglo pasado, en 1901, se sabía que los microorganismos ciliados y flagelados se mueven describiendo trayectorias helicoidales, y que estos parecían reaccionar a estímulos; sin embargo, no se sabía cómo. Así, H.S. Jennings [5] discute la forma en que se mueve el espermatozoide, tanto el batido flagelar como la propulsión, desde un enfoque mecánico, sin poderlo relacionar con lo que sucede dentro del espermatozoide.

Luego, a mediados del siglo J. Gray [6] probó que en organismos flagelados el batido del flagelo cambia al haber una interacción con el estímulo (Fig.2.1); además describe el tipo de trayectorias que los espermatozoides describen en el plano.

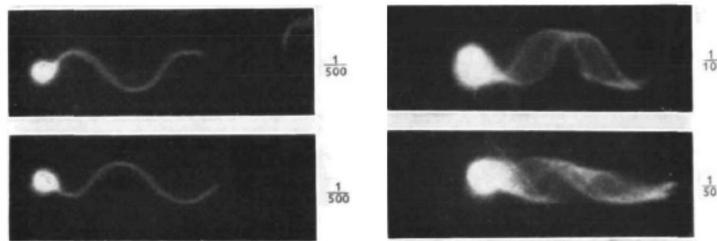


Figura 2.1: Imágenes tomadas usando iluminación estroboscópica usando fondo oscuro. Modificado de [6].

En la década de los noventa del siglo pasado H.C. Crenshaw [7, 8, 9, 10, 11] considera diferentes marcos de referencia para simular la trayectoria que describe un organismo flagelado. En sus trabajos hace descripciones matemáticas de ellos calculando curvatura y torsión. Luego, considerando al espermatozoide como una partícula moviéndose en el espacio sobre una trayectoria parametrizada  $\gamma(t)$ , obtiene diferentes marcos de referencia: el primero es el dado por las tres coordenadas

cartesianas  $x$ ,  $y$  y  $z$ . Luego, considera al organismo moviéndose sobre una hélice en términos de tres direcciones  $\hat{i}$ ,  $\hat{j}$  y  $\hat{k}$ , donde  $\hat{k}$  se refiere al eje central de la hélice e  $\hat{i}$  y  $\hat{j}$  forman el plano ortogonal a  $\hat{k}$ . Por último, colocándose sobre el organismo y tomando en cuenta el marco de referencia o triedro de Frénet, obtiene la tercera descripción de movimiento en términos de los vectores tangente, normal y binormal de  $\gamma(t)$  en cada tiempo  $t$  (Fig.2.2). En estos trabajos, bajo consideraciones exclusivamente mecánicas, se llega a la conclusión de que el eje central de la hélice sobre la cual se desplaza el espermatozoide debe alinearse de forma perpendicular respecto a la dirección en que se propaga el gradiente del estímulo.

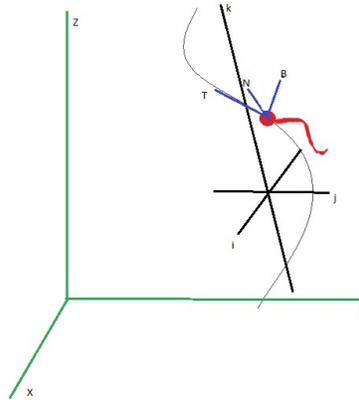


Figura 2.2: Marcos de referencia del movimiento de un organismo flagelado en el espacio. En verde se muestra el marco cartesiano, en negro el dado en coordenadas  $\hat{i}$ ,  $\hat{j}$  y  $\hat{k}$  referente a la hélice sobre la cual se desplaza el espermatozoide, y en azul el marco de referencia de Frénet.

En 2003, trabajando con *A. punctulata*, U.B. Kaupp et al. [13] muestran que las fluctuaciones de calcio son provocadas debido al contacto del flagelo del espermatozoide con el péptido estímulo llamado *resact*. Además, notaron que después de que se producen esas fluctuaciones, ocurre un cambio tanto en el batido del flagelo como en la trayectoria que describe el nado del espermatozoide (Fig.2.3).

En ese mismo año C.D. Wood et al. [14] reportan que *S. purpuratus* y *A. punctulata* sufren cambios en la trayectoria del nado, concomitantes con cambios intracelulares al entrar en contacto con los péptidos *speract* y *resact*, respectivamente.

En el 2005 M. Böhmer et al. [15] observan que el espermatozoide de *A. punctulata*, al ser estimulado *in vitro* con *resact* uniformemente distribuido presenta una fluctuación de calcio intraflagelar grande, la cual poco a poco va decreciendo para quedar en fluctuaciones menos marcadas; mientras que la trayectoria que describe

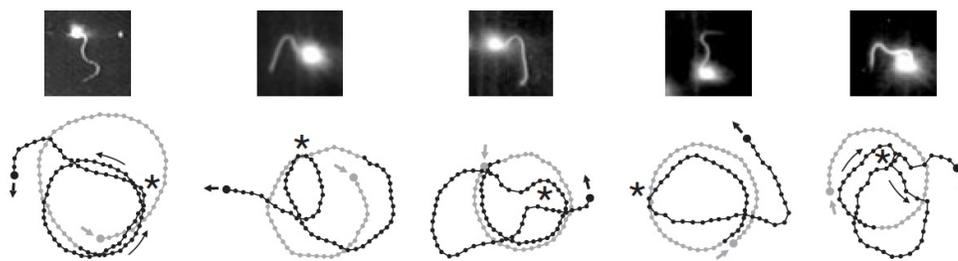


Figura 2.3: En la parte superior se muestran los cambios en el batido flagelar y en la parte inferior, señalado con una estrella la posición en la trayectoria donde se encuentra el espermatozoide al tener esta forma. Modificado de [13].

el nado del espermatozoide, que es un círculo casi uniforme, cambia, dando lugar a un círculo que se desplaza, similar a una cicloide que eventualmente se estaciona para quedarse trazando otro círculo, pero esta vez de mayor radio que el primero, el cual poco a poco decrece y queda menor que el inicial. Es decir, una vez que el espermatozoide entra en contacto una sola vez con el estímulo, éste se traslada a otra zona, y su comportamiento se vuelve semejante al inicial (Fig: 2.4).

En los estudios teóricos reportados en [17] y [18] se obtuvieron diversos resultados, tales como:

- i) El batido flagelar provoca nados circulares.
- ii) Proponen que una buena estrategia para que haya quimiotaxis es que el espermatozoide muestre un gradiente de manera circular, en dos dimensiones, o bien en manera helicoidal, en tres dimensiones.
- iii) Dan la descripción teórica del movimiento en dos y tres dimensiones. Considerando que las trayectorias que los organismos describen son hélices con radio uniforme, desplazándose en el espacio, que se dirigen al centro del gradiente. También considerando pequeñas perturbaciones al trazar las trayectorias que describen el nado del espermatozoide (Fig:2.5).
- iv) Proponen que las fluctuaciones de calcio deben afectar la manera en que cambia el nado del espermatozoide.

En [23] los autores explican que debido al comportamiento de microtubulos del axonema en el flagelo del espermatozoide, se provoca un batido flagelar pronunciado que lo desplaza en trayectorias circulares (Fig.2.6).

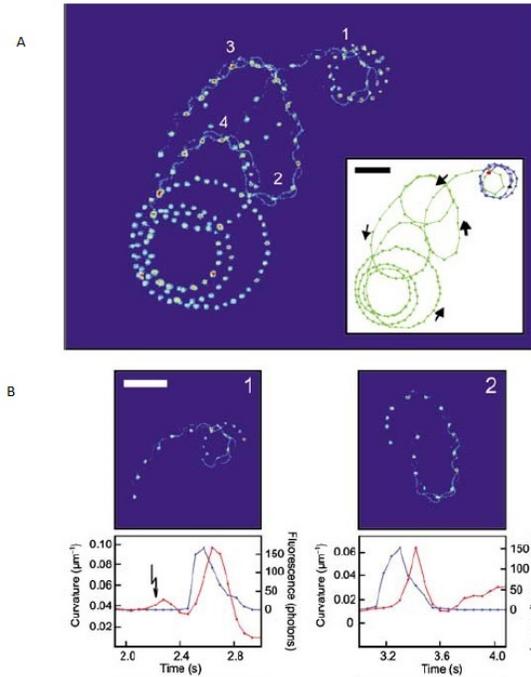


Figura 2.4: Dinámica del  $Ca^{2+}$  en *A. Punctulata*. (A) Señales de  $Ca^{2+}$  en célula única a lo largo de su trayectoria después de haber sido estimulada; (B) Los cambios antes, durante y después de la estimulación tanto en la fluorescencia de  $Ca^{2+}$  (rojo) como en los cambios de la curvatura del nado (azul). Modificado de [15].

Además, se hizo un análisis entre los nados en dos dimensiones y tres dimensiones. Desde 1901, se sabía que las trayectorias que recorren los espermatozoides al nadar son de tipo helicoidal, es decir, se llevan a cabo en un espacio tridimensional; sin embargo, los estudios *in vitro* reportados hasta entonces habían sido únicamente en dos dimensiones. Esto se explica ya que a partir de una trayectoria descrita en dos dimensiones (como se observa en el laboratorio) no es posible obtener una única trayectoria en tres dimensiones, es decir, no existe una biyección entre trayectorias en dos dimensiones y tres dimensiones (Fig.2.7).

Por último, en [24] los autores proponen una relación explícita entre los cambios en las fluctuaciones de calcio intraflagelar con la curvatura de la trayectoria del nado del espermatozoide en dos dimensiones, relación que está dada a través de la razón de cambio en el tiempo de las fluctuaciones de calcio intraflagelar. Se observó que la curvatura del nado era mayor cuando ocurrían cambios abruptos en la concentración

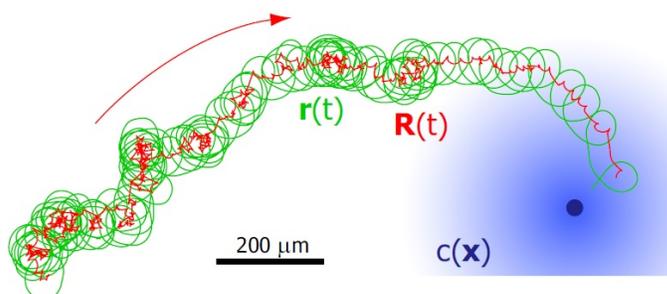


Figura 2.5: Trayectoria cicloidal con ruido del nado  $r(t)$ . De color verde la trayectoria del nado en un campo de concentración radial del quimioattractor  $c(x)$ , el cual está en color azul; luego en color rojo está representada la trayectoria de los centros de circunferencia  $R(t)$  por los que se desplaza la cicloide. Modificado de la tesis doctoral de B.M. Friedrich [16].

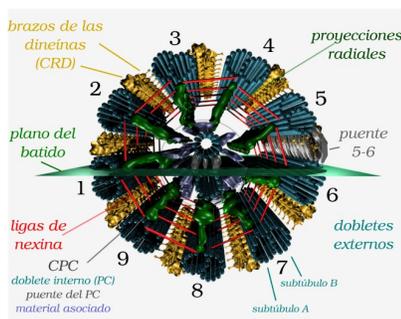


Figura 2.6: Corte transversal del axonema del espermatozoide. Modificado de [23].

de calcio, mientras que la curvatura disminuía en caso contrario (Fig.2.8).

Además, a partir de resultados experimentales, ajustaron la forma algebraica en que se relacionan la curvatura de la trayectoria del nado con la razón de cambio en las fluctuaciones de calcio intraflagelar, la cual está dada por:

$$\kappa(t) = \kappa_0 + \beta \frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$$

Aquí  $\kappa$  denota la curvatura en el tiempo  $t$ ,  $\kappa_0$  la curvatura con que inicia el nados del espermatozoide,  $\beta$  una constante de proporcionalidad, la cual se puede obtener de los experimentos y  $\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$  la razón de cambio en el tiempo del calcio intraflagelar.

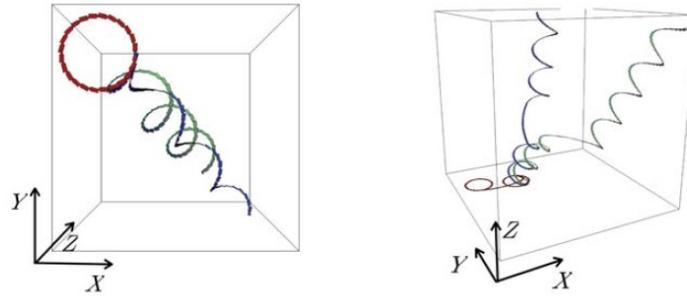


Figura 2.7: Proyección de las trayectorias a dos dimensiones del nado del espermatozoide que es en tres dimensiones. Modificado de [23].

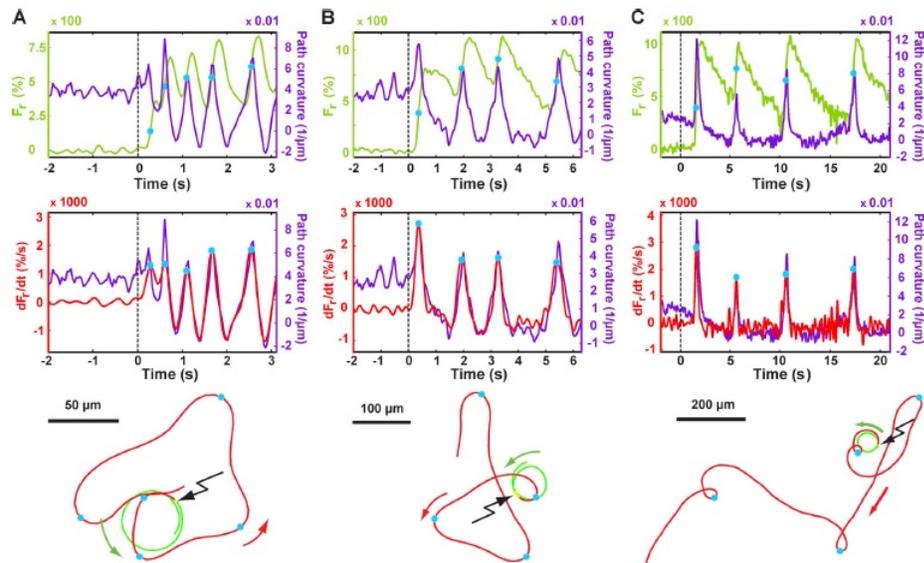


Figura 2.8: La señal de  $Ca^{2+}$  determina la forma de la trayectoria del nado. Tanto en A, B y C se tiene la comparación gráfica de la señal de fluorescencia de  $Ca^{2+}$  en color verde en la parte superior y de  $\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$  en color rojo en la parte central, contra los cambios en la curvatura en el nado que se muestra en color morado. En las figuras de la parte inferior se muestran con puntos azules los lugares con mayor curvatura en la trayectoria que describe el nado del espermatozoide y se hace referencia en las gráficas, también con un punto azul, en el momento en que estas curvaturas suceden. Modificado de [24].

# Parte II

## Resultados



# Capítulo 3

## Construcción del Modelo

En este capítulo se muestra el desarrollo del modelo matemático que relaciona el nado del espermatozoide con las fluctuaciones de calcio intraflagelar, así como su interpretación. Se empieza por analizar cada uno de los procesos a partir de los trabajos mencionados en los preliminares, luego se proponen ecuaciones dependientes del tiempo que recuperan la fenomenología observada. En el caso del nado del espermatozoide se modelará la trayectoria promedio que describe la cabeza del espermatozoide.

También se presenta la propuesta de la retroalimentación del nado del espermatozoide hacia las fluctuaciones de calcio intraflagelar, resultante de recorrer el gradiente del estímulo.

### 3.1. Análisis de los procesos y planteamiento de las ecuaciones del modelo

El análisis empezará por describir el comportamiento de las fluctuaciones de calcio intraflagelar. En el laboratorio la fluorescencia de las fluctuaciones de calcio pueden ser registradas y expresadas por medio de una gráfica; esta última es la que se trata de reproducir como una función dependiente del tiempo. De aquí en adelante se denotará por  $F(t) := [Ca^{2+}]_i$  a la concentración de calcio intraflagelar como función del tiempo.

Como una primera aproximación en esta tesis se propone describir a  $F(t)$  como una función sinusoidal; esto debido a que la fluorescencia de las fluctuaciones de calcio intraflagelares registrada que se obtiene es una gráfica que oscila de manera cuasi periódica (Fig: 3.1).

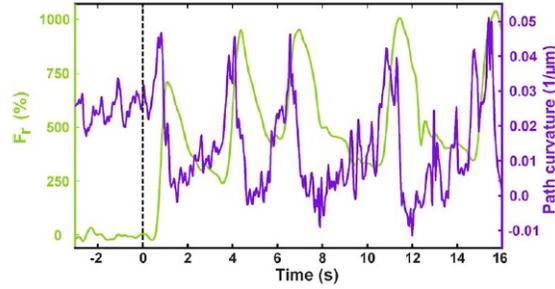


Figura 3.1: Fluctuaciones de calcio intraflagelar  $F(t) = [Ca^{2+}]_i$ . En verde, la gráfica generada a partir del registro de la fluorescencia producida por las fluctuaciones de calcio intraflagelar. En morado, los cambios en la curvatura en la trayectoria de nado del espermatozoide. Modificado de [24].

Por otro lado, las observaciones hechas en el laboratorio sugieren que la función relevante al nado es la derivada  $F'(t)$ , puesto que la gráfica de la razón de cambio con que se generan las fluctuaciones de calcio se ajusta mejor a los cambios que presenta la curvatura de la trayectoria del nado del espermatozoide, tal como se muestra al comparar la Figura 3.1 con la Figura 3.2.

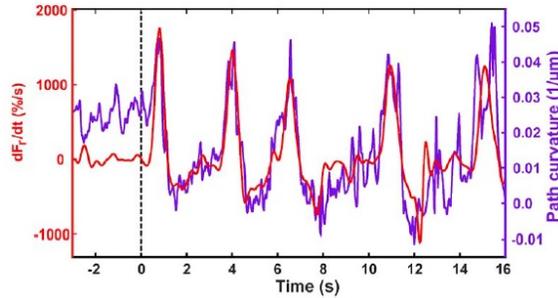


Figura 3.2: Tasa de cambio de las fluctuaciones de calcio intraflagelar  $\frac{F(t)}{dt} = \frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$ . En rojo, la gráfica generada a partir de derivar el registro de la fluorescencia producida por las fluctuaciones de calcio intraflagelar. En morado, los cambios en la curvatura en la trayectoria de nado del espermatozoide. Modificado de [24].

Como primera propuesta para obtener la gráfica de la razón de cambio de las fluctuaciones de calcio intraflagelar en este trabajo se plantea la siguiente ecuación:

$$F'(t) = A_0 \sin(\omega_c t), \quad (3.1)$$

donde  $A_0$  y  $\omega_c$  denotan la amplitud y frecuencia iniciales de  $F'(t)$ , respectivamen-

te.

Ahora, para obtener la ecuación de la gráfica que describe la trayectoria del nado del espermatozoide, denotada por  $\gamma(t)$ , se considera la trayectoria que éste describe antes de entrar en contacto con el estímulo, la cual describe únicamente círculos, es decir, tenemos que la ecuación para este primer desplazamiento está dada por:

$$\gamma(t) = (r(t) \cos(\omega_0 t), r(t) \sin(\omega_0 t)), \quad (3.2)$$

donde en un principio se considera al radio constante, es decir,  $r(t) = r_0$ , y  $\omega_0$  es la frecuencia inicial del nado.

Luego de [24] se sabe que la variación de la curvatura en el tiempo de forma algebraica está dada por la ecuación:

$$\kappa(t) = \kappa_0 + \beta F'(t), \quad (3.3)$$

Donde  $\kappa_0$  es la curvatura inicial,  $\beta$  es una constante de proporcionalidad que se puede obtener de los experimentos y  $F'(t) := \frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$  denota la razón de cambio respecto al tiempo de las fluctuaciones de calcio intraflagelar.

Por otro lado, como la curvatura de una circunferencia es el inverso multiplicativo de su radio,  $\kappa = \frac{1}{r}$ , al multiplicar el radio inicial de  $\gamma(t)$  por el inverso de (3.3) en esta tesis se propone que la ecuación para el radio de  $\gamma(t)$  en función del tiempo sea:

$$r(t) = \frac{\zeta r_0}{\kappa_0 + \beta F'(t)}, \quad (3.4)$$

con  $r_0$  el radio inicial de  $\gamma(t)$  y  $\zeta$  una constante de proporcionalidad.

En la Figura 3.3 se muestra que efectivamente se están dando los cambios en el tamaño de los radios, es decir, para cada tiempo  $t$  hay un cambio en la ecuación y por tanto la trayectoria se desplaza por diferentes circunferencias.

Sustituyendo (3.4) en (3.2), se tiene una primera ecuación para reproducir la trayectoria que describe el nado del espermatozoide:

$$\gamma(t) = \left( \frac{\zeta r_0}{\kappa_0 + \beta F'(t)} \cos(\omega_0 t), \frac{\zeta r_0}{\kappa_0 + \beta F'(t)} \sin(\omega_0 t) \right), \quad (3.5)$$

De manera alternativa se utilizará ver la gráfica de la trayectoria de  $\gamma(t)$  realizando un levantamiento, el cual se obtiene al agregar una dimensión más al graficar, desplazado los centros de las circunferencias que describen las trayectorias a lo largo del eje  $z$ , este último perpendicular al plano de giro original, como se muestra en la Figura 3.4:

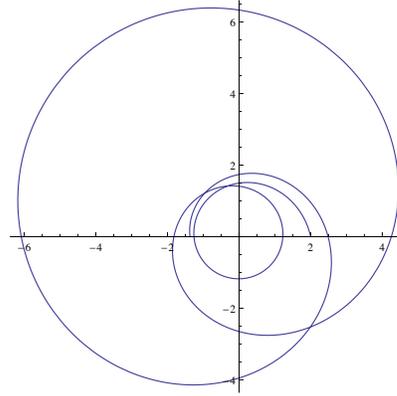


Figura 3.3: Trayectoria de  $\gamma(t)$ . Se consideran las ecuaciones (3.6), (3.2) y (3.4).

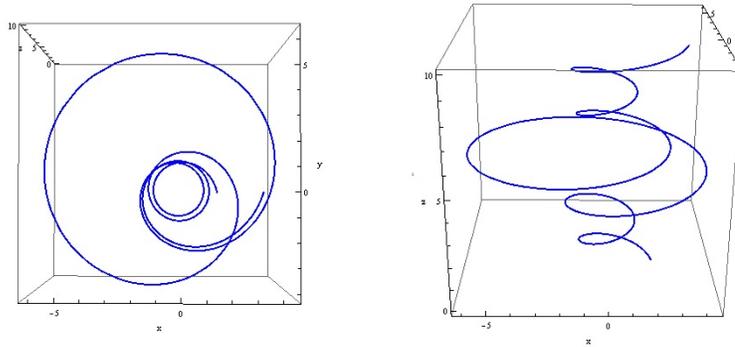


Figura 3.4: Visualización del cambio en la curvatura al hacer un levantamiento en tres dimensiones.

### 3.2. Planteamiento de la retroalimentación de $\gamma(t)$ a $F(t)$

Para incorporar la retroalimentación del nado del espermatozoide hacia la generación de las fluctuaciones de calcio intraflagelar, se supondrá que hay quimiotaxis y que el sistema bioquímico se ha activado, es decir, que uno de los receptores de speract del flagelo del espermatozoide ha entrado en contacto con el estímulo; el cual presenta un gradiente de concentración en el agua. A partir de ese momento, el nado del espermatozoide se realizará dentro de dicho gradiente que proviene de las capas exteriores que cubren al óvulo.

Para los fines del modelo que se presenta, se ha considerado un gradiente estacio-

nario, denotado por  $\nabla S$ . Es decir, se considerará que el estímulo se ha difundido en el medio y que la velocidad con la que cambia es despreciable en relación a la velocidad con que el espermatozoide lleva a cabo la exploración espacial.

En los experimentos *in vitro*, se observa que después de haber activado artificialmente el estímulo con luz ultravioleta, aproximadamente 200 milisegundos después, el espermatozoide cambia la manera en que nada, y por lo tanto, la curvatura de la trayectoria que describe: aparece una curvatura grande, a la cual se hará referencia como giro, y luego una pequeña, reminiscente a un nado recto. Estos movimientos permiten que la trayectoria del espermatozoide se redireccione y dirija hacia el centro del gradiente (Fig:3.5).

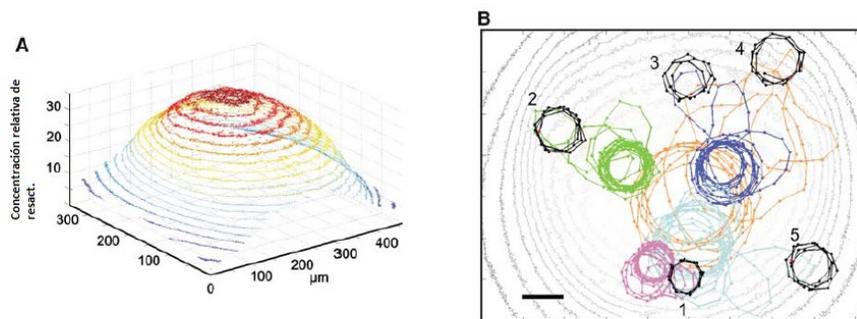


Figura 3.5: Trayectoria del nado del espermatozoide de *A. punctulata* en un gradiente de resact. En (A) se simula el gradiente de resact generado artificialmente con luz ultravioleta. En (B) se muestran las trayectorias de varios espermatozoides proyectadas en el plano, una por cada color que se muestra. Modificado de [15].

De lo anterior se proponen en esta tesis dos maneras de cómo el nado del espermatozoide afecta a la tasa de cambio de las fluctuaciones de calcio intraflagelar; la primera es a través de una función que cuantifica la cantidad de estímulo a la cual se enfrenta el espermatozoide y la segunda es una función que exprese la cantidad de speract que se va adhiriendo al flagelo del espermatozoide, ambas considerando el nado dentro del gradiente  $\nabla S$ .

Para poder hacer un análisis cualitativo de ambas propuestas se han hecho un par de consideraciones: se está suponiendo que hay quimiotaxis y por lo tanto, en promedio,  $\gamma(t)$  se dirige al centro del gradiente, y que debido a la manera en que nada el espermatozoide, según las observaciones *in vitro*, éste se acerca y aleja del centro del gradiente en cada vuelta que da.

Entonces, para la primera propuesta, que es cuantificar la cantidad de estímulo a

la cual se enfrenta el espermatozoide al ir nadando dentro de un gradiente, se obtiene una gráfica como la que se muestra en la Figura 3.6(B).

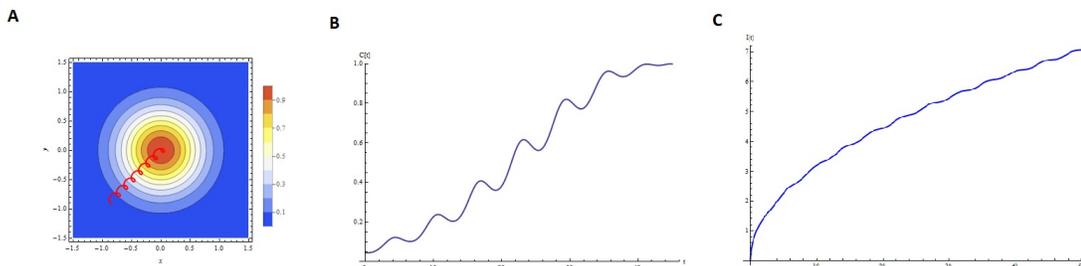


Figura 3.6: (A) Representación del nado del espermatozoide con una cicloide dirigida al centro de un gradiente de concentración gaussiano.(B) Gráfica, denotada por  $C(t)$ , que resulta de cuantificar la cantidad de estímulo en cada tiempo. (C) Gráfica de la función  $I(t)$ , que representa la cantidad de estímulo que se le adhiere al flagelo del espermatozoide. Gráficas realizadas utilizando *Wolfram Mathematica 9*.

Luego, la función de la segunda propuesta, que es la cantidad de estímulo que se adhiere al flagelo del espermatozoide, tiene dos comportamientos, cuando la trayectoria del nado del espermatozoide entra al gradiente, esta función debe ser creciente, pues percibe en cada tiempo más estímulo, mientras que al nadar en dirección contraria y salir del gradiente, el comportamiento puede presentar dos variantes, según sea la pendiente del gradiente: puede ser constante o crecer más lento que en la fase ascendente anterior.

A esta última función se le llamará intensidad del estímulo y estará denotada por  $I(t) := I(\gamma(t), \nabla S)$ , escribiéndola de esta forma para enfatizar que  $I(t)$  depende tanto del nado como del gradiente del estímulo y es a la cual se considerará para realizar la retroalimentación.

Supongamos entonces que en  $t = t_j$  es el primer instante para el cual existe un intervalo de tiempo  $J$  en el cual  $I'(t_i) < \approx I'(t_j)$  para todo  $t_i$  en  $J$  con  $t_i > t_j$ , es decir, se tiene un cambio en la pendiente de tal manera que después de este punto la cantidad de estímulo que se adhiere al flagelo es menor o igual a la registrada un instante anterior, y por lo tanto, el espermatozoide está nadando en dirección contraria al centro del gradiente, sin dejar de girar. Una vez que empieza a nadar en esa dirección, según las observaciones hechas en laboratorio, viene un tiempo de activación, al cual se le asociará una fase  $\tau_d$ . Luego de este periodo se produce el primer incremento grande de las fluctuaciones de calcio; esto hace que el espermatozoide redireccione su nado hacia el centro del gradiente. De esta forma, se puede

relacionar a los cambios en la pendiente de  $I(t)$  con los cambios pronunciados en las fluctuaciones de calcio intraflagelar.

Aquí se propone que  $I'(t)$  está modulando la amplitud en la ecuación sinusoidal (3.6), la cual se planteó para  $F'(t)$ , ecuación (3.6) de la sección anterior. A estos incrementos en la amplitud se les llamará picos de  $F'(t)$ .

Por lo tanto, la ecuación propuesta para describir a la derivada de las fluctuaciones de calcio intraflagelar es la siguiente:

$$F'(t) = \frac{\lambda A_0}{I'(t) + \delta} \sin(\omega_c t + \tau_d), \quad (3.6)$$

donde:

- $A_0$  es la amplitud en estado basal de  $F'(t)$ .
- $\lambda$  es una constante de proporcionalidad.
- $I'(t)$  es la derivada de  $I(t)$ .
- $\frac{A_0}{\delta}$  es la amplitud del primer pico de  $F'(t)$ , el cual se puede calcular de las gráficas obtenidas experimentalmente.
- $\omega_c$  es la frecuencia de  $F(t)$ ; y
- $\tau_d$  es la fase asociada al tiempo de activación de la vía de señalización del calcio.

Se tiene entonces que, a través de  $I(t)$ , el nado del espermatozoide influye a la forma en que se producen los picos en  $F'(t)$ , ya que  $I(t)$  depende de  $\gamma(t)$  y por la regla de la cadena se tiene

$$\frac{dI(\gamma(t))}{dt} = \frac{dI}{d\gamma} \cdot \frac{d\gamma(t)}{dt} \quad (3.7)$$

Sustituyendo (3.7) en (3.6), la retroalimentación del nado hacia las fluctuaciones de calcio intraflagelar es:

$$F'(t) = \frac{\lambda A_0}{\frac{dI}{d\gamma} \cdot \frac{d\gamma(t)}{dt} + \delta} \sin(\omega_c t + \tau_d) \quad (3.8)$$

En principio la ecuación (3.8) es la que se necesita para dar la retroalimentación en ambas direcciones; sin embargo, en la práctica, no se cuenta con una ecuación explícita para  $I(t)$ . En este trabajo se propone la siguiente ecuación para  $I(t)$  que recupera la fenomenología observada en la Figura 3.6:

$$I(t) = \nu \sin(\omega_0 t) + \xi \sqrt{t} \quad (3.9)$$

Donde  $\nu$  y  $\xi$  son constantes.

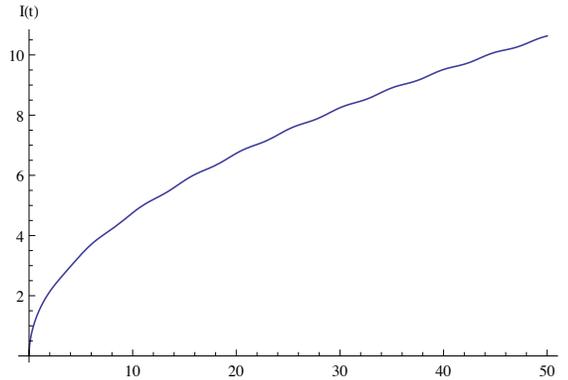


Figura 3.7: Intensidad del estímulo. Considerando  $\nu = 0,03$  y  $\xi = 1,5$  en (3.9).

Además, se considera que  $\gamma(t)$  debe heredarle a  $I(t)$  la frecuencia que debe tener, pues  $I(t)$  depende de  $\gamma(t)$  y  $\nabla S$  que, como se mencionó, es un gradiente estacionario. La gráfica que se obtiene para  $F'(t)$  con retroalimentación, tomando a  $I(t)$  como en (3.9) se muestra en la Figura 3.8.

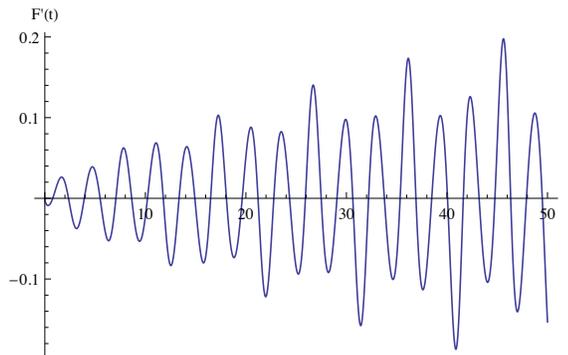


Figura 3.8: Derivada  $F'(t)$  del calcio, considerando el modelo con retroalimentación. Con  $\nu = 0,03$  y  $\xi = 1,5$  en (3.9).

Encontrar de manera explícita la ecuación para  $I(t)$  considerando a  $\nabla S$  un gradiente estacionario o no estacionario, da pie a trabajos teóricos posteriores.

### 3.3. Modelo utilizando ecuaciones de osciladores

Un proceso es considerado oscilatorio si está compuesto por oscilaciones; recordemos que una oscilación es la repetición de un evento de manera periódica o cuasi periódica. El ejemplo clásico es un péndulo sin fricción, cuyas oscilaciones consisten en estar yendo y viniendo de un lado a otro, por efecto de la gravedad, sin detenerse a menos que alguna fuerza externa lo frene o afecte de alguna manera su vaivén.

En nuestro caso, tenemos que tanto el nado del espermatozoide como las fluctuaciones de calcio intraflagelar pueden ser considerados procesos oscilatorios ya que, por un lado, el nado a falta de estímulo se encuentra dando vueltas en un círculo, lo cual es el caso de un oscilador armónico simple; y una vez que ha detectado estímulo, la curvatura de la trayectoria que describe cambia de pequeña a grande una y otra vez hasta localizar al ovocito.

Por otro lado, los experimentos *in vitro* muestran que a la vía de señalización bioquímica del calcio interno activada por el estímulo se le confiere un comportamiento cuasi periódico, de aquí que podemos considerar a las fluctuaciones de calcio intraflagelar como un oscilador, propiedad que se hereda a su derivada  $F'(t)$ .

De lo anterior surge la motivación para estudiar el nado del espermatozoide como un problema de dos osciladores acoplados, para los cuales la retroalimentación es determinante.

Considerando las ecuaciones que simulan el comportamiento de ambos procesos, planteadas en las secciones anteriores, se puede obtener un sistema de ecuaciones diferenciales de movimiento, y así ver cómo el nado y las fluctuaciones de calcio intraflagelar están interactuando.

El procedimiento inicia con la ecuación fenomenológica que describe la trayectoria del nado,  $\gamma(t)$ , que en coordenadas cartesianas está dada por

$$\gamma(t) = \left( \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \cos(\omega_0 t), \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \sin(\omega_0 t) \right) \quad (3.10)$$

con  $\kappa(t) = \kappa_0 + \beta F'(t)$ .

Defínanse  $u(t) = \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \cos(\omega_0 t)$  y  $v(t) = \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \sin(\omega_0 t)$ .

Como  $\gamma(t)$  es la solución general a la ecuación diferencial que se construirá, se tiene que tanto  $u(t)$  como  $v(t)$  también son soluciones, de hecho son las soluciones particulares al problema, y se trabaja con ellas para construir la ecuación diferencial ordinaria de segundo orden.

Sin pérdida de generalidad, se tomará a  $u(t)$  para la construcción, sin embargo, el procedimiento es el mismo si se comenzara tomando a  $v(t)$ .

Derivando a  $u(t)$ , obtenemos

$$\begin{aligned}
u'(t) &= \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} [\cos(\omega_0 t)]' + \left[ \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \right]' \cos(\omega_0 t) \\
&= -\omega_0 \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \sin(\omega_0 t) - \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} \frac{\zeta r_o}{\kappa(t)} \cos(\omega_0 t)
\end{aligned}$$

Por lo tanto,

$$u'(t) = -\omega_0 v(t) - \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} u(t). \quad (3.11)$$

De (3.11) se despeja  $v(t)$ :

$$v(t) = -\frac{1}{\omega_0} \left[ u'(t) + \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} u(t) \right]. \quad (3.12)$$

Al derivar (3.12), se obtiene,

$$v'(t) = -\frac{1}{\omega_0} \left\{ u''(t) + \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} u'(t) + \left[ \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)} - \left( \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} \right)^2 \right] u(t) \right\} \quad (3.13)$$

Considerando la primera definición que se dio para  $v(t)$ , es decir,  $v(t) = \frac{r_o}{\kappa(t)} \sin(\omega_0 t)$ , al derivarla se obtiene:

$$v'(t) = \omega_0 u(t) - \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} v(t). \quad (3.14)$$

Si se sustituye (3.12) en (3.14) se tiene que:

$$v'(t) = \omega_0 u(t) + \frac{1}{\omega_0} \left[ \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} u'(t) + \left( \frac{\kappa'(t)}{\kappa(t)} \right)^2 u(t) \right] \quad (3.15)$$

Igualando (3.13) con (3.15) y haciendo un cambio de variable,  $u(t)$  por  $\gamma(t)$ , se llega a la siguiente ecuación diferencial ordinaria de segundo orden de la cual  $\gamma(t)$  es solución:

$$\frac{d^2 u(t)}{dt^2} + 2 \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)} \frac{du(t)}{dt} + \left( \omega_0^2 + \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)} \right) u(t) = 0, \quad (3.16)$$

con  $\kappa(t) = \kappa_0 + \beta F'(t)$ .

Para construir la ecuación diferencial ordinaria de segundo orden para las fluctuaciones de calcio intraflagelar, basta con derivar una vez a

$$F'(t) = \frac{\lambda A_0}{a(t)} \text{Sin}(\omega_c t + \tau_d) \quad (3.17)$$

donde  $a(t) = I'(t_j) + \delta$ .

Al derivar (3.17), se obtiene,

$$F''(t) = \frac{\lambda A_0 \omega_c}{a(t)} \cos(\omega_c t + \tau_d) - \frac{a'(t)}{a(t)} \frac{\lambda A_0}{a(t)} \sin(\omega_c t + \tau_d) \quad (3.18)$$

Reagrupando términos en (3.18) se llega a la siguiente ecuación diferencial de segundo orden, que tiene como solución la ecuación de las fluctuaciones de calcio intraflagelar:

$$F''(t) + \frac{a''(t)}{a(t)} F'(t) = \frac{\omega_c}{a(t)} \cos(\omega_c t + \tau_d). \quad (3.19)$$

### 3.4. Interpretación del modelo con ecuaciones de osciladores

Recordemos que la forma de la ecuación diferencial de un oscilador armónico amortiguado y forzado es la siguiente:

$$m \cdot \frac{d^2 u}{dt^2} + b \cdot \frac{du}{dt} + c \cdot u = f(t) \quad (3.20)$$

donde  $m$  es la masa de la partícula u objeto en movimiento;  $b$  es la constante de amortiguamiento, la cual depende sólo de la velocidad y actúa en dirección opuesta al movimiento;  $c$  es la constante de restitución, la cual depende de la posición y se encarga de regresar al sistema a su posición de equilibrio; y  $f(t)$  es un forzamiento externo. Tanto  $b$  como  $c$  pueden ser también funciones dependientes del tiempo.

Si tomamos en la ecuación (3.20)  $u(t) = \gamma(t)$ ,  $m = 1$ ,  $b = 2 \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)}$ ,  $c = \omega_0^2 + \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)}$  y  $f(t) = 0$ , obtenemos:

$$\frac{d^2 \gamma(t)}{dt^2} + 2 \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)} \frac{d\gamma(t)}{dt} + \left( \omega_0^2 + \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)} \right) \gamma(t) = 0, \quad (3.21)$$

donde  $\kappa(t) = \kappa_0 + \beta F'(t)$ , con  $F'(t) := \frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$ , es decir, se tiene la ecuación diferencial de segundo orden (3.16) obtenida en el capítulo anterior, de la cual  $u(t)$  es solución.

Se observa en (3.21) que  $\gamma(t)$  es solución a una ecuación diferencial ordinaria homogénea en la cual  $F'(t)$  forma parte de la fuerza de restitución y en la fuerza de amortiguamiento.

Que  $F'(t)$  afecte a la fuerza de restitución se ajusta al hecho de que la razón de cambio de las fluctuaciones de calcio intraflagelar modula la curvatura del nado. Ahora, como aparece también en la fuerza de amortiguamiento, indica que de alguna forma está modulando la velocidad a la cual se desplaza el espermatozoide. De consultas hechas a los doctores Alberto Darzon y Adán Guerrero del Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada de la UNAM, sabemos que el tiempo que dura el nado recto y el giro del espermatozoide son del mismo orden, y además, que la distancia recorrida en el nado recto es mayor que la del giro, lo que implica que el espermatozoide tiene cambios en la velocidad durante su recorrido, siendo mayor en los nados rectos.

Se puede relacionar el hecho de que las fluctuaciones de calcio, además de modular la curvatura de la trayectoria del nado, también modulan la velocidad con la cual se desplaza el espermatozoide, puesto que al haber un pico en la razón de cambio de las fluctuaciones de calcio intraflagelar la velocidad empieza a aumentar y aparece un nado recto, luego disminuye cuando aparece un giro, momento en el cual hay cambios menos pronunciados en las fluctuaciones de calcio intraflagelar, como se observa en la figura 3.9.

Por otro lado, si en (3.20) se toma,  $u(t) = F(t)$ ,  $m = 1$ ,  $b = \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)}$ ,  $c = 0$  y  $f(t) = \frac{\omega_c}{\kappa(t)} \text{Cos}(\omega_c t + \tau_d)$ , llegamos a la ecuación (3.19)

$$F''(t) + \frac{\kappa''(t)}{\kappa(t)} F'(t) = \frac{\omega_c}{a(t)} \cos(\omega_c t + \tau_d), \quad (3.22)$$

donde  $a(t) = I'(t) + \delta$ , que es la ecuación diferencial obtenida para  $F(t)$  en el capítulo anterior.

Se tiene entonces que  $F(t) := [Ca^{2+}]_i$  satisface un oscilador, donde  $\gamma(t)$  a través de  $a(t) = I'(t) + \delta$ , afecta a la fuerza de amortiguamiento y al forzamiento externo del sistema.

Que  $\gamma(t)$  afecte la fuerza de amortiguamiento y con esto haga que el sistema sea disipativo, puede deberse a que en su nado el espermatozoide por momentos nada hacia dentro del gradiente y en otros hacia afuera, y esto haga que el sistema se relaje, lo que coincide con los datos experimentales donde se propone que en el momento en que el espermatozoide nada “hacia afuera” del gradiente hay un periodo

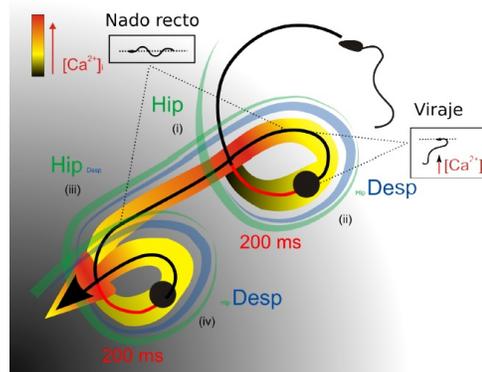


Figura 3.9: Cambios en las concentraciones de calcio intraflagelar. La línea negra representa la trayectoria que describe el nado del espermatozoide y la coloración representa los cambios en la concentración de calcio intraflagelar según la posición del espermatozoide en la trayectoria. El color rojo representa una mayor concentración. Nótese que en la zona donde aparece el color rojo empiezan los nados rectos, y cuando la concentración de calcio intraflagelar disminuye aparecen los giros. Considerando que los segmentos de trayectoria de nados rectos y giros son recorridos en tiempos iguales, y que las distancias son diferentes, siendo mayor la del nado recto, se tiene un cambio en las velocidades en cada tipo de segmento del nado. Modificado de [23].

de desensibilización en los receptores de estímulo en el flagelo, como ya se mencionó, y por lo tanto haya un relajamiento en el sistema bioquímico, pues deja de recibir activadores.

Por otro lado,  $\gamma(t)$  actúa como fuerza externa en el sistema bioquímico, a través de  $a(t)$ , el comportamiento del sistema oscilante  $F(t)$  depende del movimiento del espermatozoide dentro del gradiente de concentración del estímulo.

De esto último podemos concluir que si se considera la propuesta hecha de cómo el nado del espermatozoide influye en la generación de las fluctuaciones de calcio intraflagelar a través de la función de la intensidad del estímulo, se obtiene un proceso de retroalimentación en ambas direcciones entre los procesos considerados.



# Capítulo 4

## Resultados a partir del modelo

Trabajando con las ecuaciones (3.16) y (3.19), se hacen modificaciones en sus parámetros para ver bajo que condiciones se puede dar la sincronización de ambos procesos. Así también se busca tener información sobre cuales son los parámetros relacionados con el proceso de quimiotaxis.

### 4.1. Sincronización de los procesos.

Al considerar la quimiotaxis, resulta fundamental la temporalidad de los procesos subyacentes. Nuestra hipótesis de trabajo es que se da la quimiotaxis gracias a un ajuste fino entre la frecuencia de las oscilaciones del nado del espermatozoide y la frecuencia de las oscilaciones de la vía de señalización del calcio. Este ajuste involucra un proceso de “sincronización”, en el sentido amplio de la palabra.

En este trabajo, con base en el comportamiento de la trayectoria del nado del espermatozoide,  $\gamma(t)$ , al modificar valores en los parámetros del sistema, se encontraron regiones de “sincronización”.

El procedimiento que se siguió fue contrastar las trayectorias de  $\gamma(t)$ , considerando la retroalimentación en ambas direcciones, con las trayectorias de los espermatozoides que se observan en los experimentos *in vitro*.

Lo primero que se hizo fue utilizar la razón que existe entre las frecuencias naturales de ambos procesos, y con esto establecer las regiones de sincronización de las frecuencias a partir del factor de proporcionalidad.

Luego, variando la fase  $\tau_d$  asociada al tiempo de activación de la señal bioquímica, se encontraron regiones de valores para  $\tau_d$  en las cuales la trayectoria que describe  $\gamma(t)$  vuelve a ser comparable con las trayectorias de los espermatozoides observadas en laboratorios. Estas regiones de valores son importantes pues favorecen el proceso

de quimiotaxis, ya que, depende de  $\tau_d$  que el espermatozoide gire en tiempo para redireccionar su nado al centro del gradiente.

#### 4.1.1. Utilizando la razón entre las frecuencias $\omega_c$ y $\omega_0$ .

Los resultados se obtuvieron al graficar la trayectoria del nado  $\gamma(t)$ , ver Apéndice A, considerando que existe la retroalimentación del nado hacia las fluctuaciones de calcio intraflagelar, haciendo un levantamiento a tres dimensiones, agregando como tercera coordenada en la parametrización de  $\gamma(t)$  al tiempo, como se muestra abajo en la ecuación (4.1), es decir, se considera al eje  $Z$  como centro de la hélice que describe la trayectoria del nado del espermatozoide.

Las gráficas se realizaron utilizando *Wolfram Mathematica 9.0* y considerando las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned}
 I(t) &= \nu \sin(\omega_0 t) + \xi \sqrt{t} \\
 F'(t) &= \frac{\lambda A_0}{\delta + I'(t)} \text{sen}(\omega_c t + \tau_d) \\
 \kappa(t) &= \kappa_0 + \beta F'(t) \\
 r(t) &= \frac{\zeta r_0}{\kappa(t)} \\
 \gamma(t) &= (r(t) \cos(\omega_0 t), r(t) \text{sen}(\omega_0 t), t)
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

Donde  $\nu$ ,  $\zeta$ ,  $\lambda$  y  $\xi$  son constantes de proporcionalidad.

De los experimentos realizados *in vitro*, se sabe que para los géneros de *L. Pictus* y *S. Purpuratus*, en nados *L. Pictus* presenta 1.67 vueltas por segundo y *S. Purpuratus* 1.45 vueltas por segundo; éstas son sus frecuencias naturales de nado. En el caso de las fluctuaciones de calcio intraflagelar ambos presentan dos oscilaciones por segundo; sin embargo, en el caso de *S. Purpuratus* también pueden presentarse 1.5 oscilaciones por segundo [25].

Con las ecuaciones anteriores se hizo una exploración modificando los valores de los parámetros  $\omega_0$  y  $\omega_c$ , que son la frecuencia del nado del espermatozoide y la frecuencia naturales de las fluctuaciones de calcio intraflagelar, respectivamente, dejando fijos los valores de las otras variables como se muestra en el Cuadro 4.1. Estos cambios en las frecuencias se hicieron, fijando a  $\omega_c$  y considerando que  $\omega_0 = \alpha \omega_c$ , con  $\alpha \in [0, 1]$ . Nótese que  $\alpha$  es un número adimensional pues  $\alpha = \frac{\omega_0}{\omega_c}$ .

Las trayectorias que se obtienen considerando los valores anteriores son las que se muestran en la Figura 4.1 para *L. Pictus* y Figuras 4.2 y 4.3 para *S. Purpuratus*.

Parámetros	<i>L. Pictus</i>	<i>S. Purpuratus</i>
$\beta_0$	0.06	0.06
$r_0$	25	17
$\kappa_0$	$\frac{1}{r_0}$	$\frac{1}{r_0}$
$A_0$	0.3	0.3
$\tau_d$	$\frac{\pi}{4}$	$\frac{\pi}{4}$
$\lambda$	0.05	0.02
$\zeta$	0.007	0.007
$\nu$	0.03	0.05
$\xi$	1	1
$\delta$	$\frac{A_0\lambda\beta}{3}$	$\frac{A_0\lambda\beta}{3}$

Cuadro 4.1: Valores de los parámetros, considerando datos experimentales obtenidos de [22].

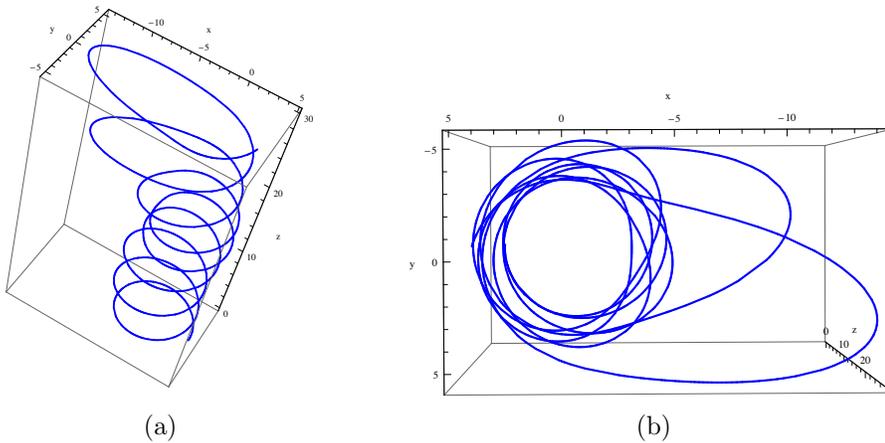


Figura 4.1: Trayectorias del nado de *L. Pictus* utilizando datos experimentales,  $\alpha = 0,835$ . (a) Vista lateral. (b) Vista superior.

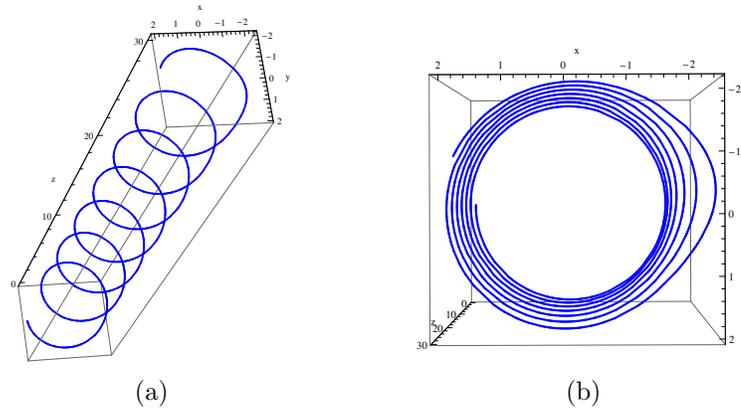


Figura 4.2: Trayectorias del nado de *S. purpuratus* utilizando datos experimentales,  $\omega_c = 1,5$  y  $\alpha = 0,97$ . (a) Vista lateral. (b) Vista superior.

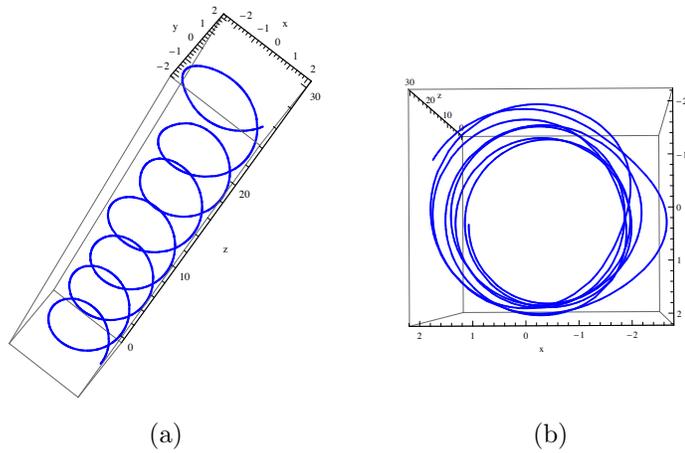


Figura 4.3: Trayectorias del nado de *S. purpuratus* utilizando datos experimentales,  $\omega_c = 2$  y  $\alpha = 0,725$ . (a) Vista lateral. (b) Vista superior.

Después considerando  $\omega_0 = \alpha\omega_c$  se hizo un primer análisis fijando  $\omega_c$ , en los dos géneros, y haciendo variar a  $\alpha \in [0, 1]$ . Al graficar lo anterior se obtuvieron las trayectorias para el nado del espermatozoide que se muestran en las Figuras A.1 y A.2 para *L. Pictus* y Figuras ?? para *S. Purpuratus*.

De lo anterior, y considerando en ambos géneros que la quiralidad del nado siempre es igual por [26], se tiene que para el caso referente a *L. Pictus*,  $\alpha$  puede tomar valores mayores o iguales a 0.45 y estrictamente menores a 0.9.

Considerando los valores de *S. Purpuratus*, y haciendo variar a  $\alpha$  como antes, se obtuvieron las trayectorias que se muestran en la Figura A.5 y Figura A.6 con  $\omega_c = 2$  y  $\omega_c = 1,5$ , respectivamente. En este caso, los intervalos correspondientes a cada frecuencia para  $\alpha$  son  $[0.25, 0.9)$  y  $[0.25, 1]$ .

Del análisis anterior puede concluir que las ecuaciones propuestas para la trayectoria que describe el nado del espermatozoide y de la razón de cambio de las fluctuaciones de calcio intraflagelar, considerando la retroalimentación en ambas direcciones, se ajustan a lo observado en los experimentos *in vitro*, pues los valores para  $\alpha$  experimentales, pertenecen a los intervalos de  $\alpha$  obtenidos al graficar las trayectorias.

Además, en todos los casos donde los comportamientos de las trayectorias graficadas son coherentes con las observadas experimentalmente, la relación entre las frecuencias de los procesos es que la frecuencia del nado es menor que la frecuencia de las fluctuaciones de calcio intraflagelar, tal como sucede en los experimentos *in vitro*.

#### 4.1.2. Utilizando el tiempo de activación

Otro parámetro importante a considerar es el tiempo que le toma a la señal de calcio reaccionar, asociado a la fase  $\tau_d$ .

Haciendo variar a  $\tau_d$  entre 0 y  $\pi$ , que son los valores entre los cuales se encuentra una fase, se obtuvieron las trayectorias que se muestran en la Figura A.7 para *L. Pictus* y Figuras A.8 y A.9 para *S. Purpuratus*.

De las gráficas, en el caso de *L. Pictus* la fase  $\tau_d$  pertenece al intervalo  $[\frac{\pi}{8}, \frac{3\pi}{4}]$ , mientras que para *S. Purpuratus*,  $\tau_d \in [0, \frac{\pi}{3}]$ .

Los resultados obtenidos son consistentes con los resultados experimentales. Para *L. Pictus* se muestran en la Figura 4.4, mientras que por [26] se corroboró la información para *S. Purpuratus*.

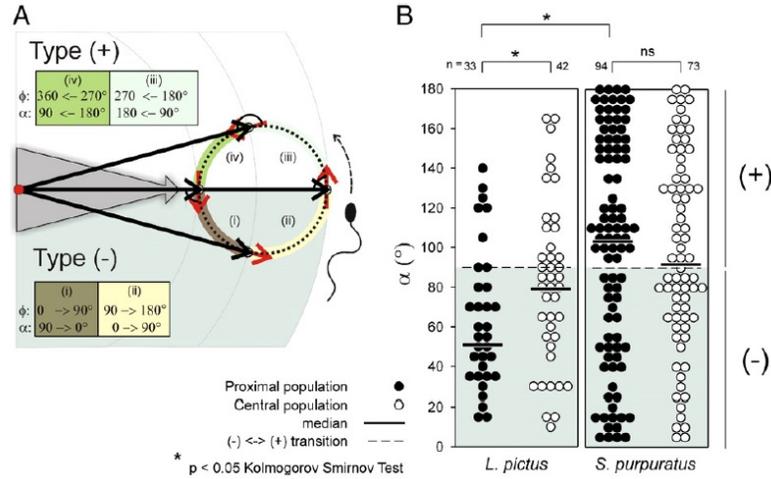


Figura 4.4: Tiempo de activación. (A) Trayectoria del nado, dividiéndola en cuatro partes iguales, correspondientes a los intervalos donde  $\tau_d$  toma valores, ya sea en la fase ascendente o en la fase descendente. (B) Graficando por repetición de eventos, se observa que para el caso de *L. Pictus* la mayoría de los casos de la población próxima al centro del gradiente se dan entre los 15 y 90 grados, equivalentes a  $\frac{\pi}{12}$  y  $\frac{\pi}{2}$ . Bajo las condiciones en que se realizó el experimento, en el caso de *S. Purpuratus*, no se muestra ninguna preferencia por la región a la cual deba pertenecer  $\tau_d$ . Modificado de [22].

## 4.2. Sobre el proceso de quimiotaxis

Por quimiotaxis se entiende el proceso mediante el cual un organismo responde a alguna sustancia de tal forma que modifica su trayectoria para lograr algún objetivo, ya sea localizar comida, alejarse de tóxicos o como el caso del espermatozoide, fecundar.

De los dos géneros de espermatozoides que se están considerando, *L. Pictus* y *S. Purpuratus*, experimentalmente al primero se le ha considerado quimiotáctico, mientras que al segundo no. Sin embargo, una hipótesis que se tiene es que *S. Purpuratus*, en distancias muy cercanas al óvulo, reacciona quimiotácticamente. A esto último se le da la interpretación de que *S. Purpuratus* requiere gradientes de concentración con mayor pendiente, por estar próximo al huevo, para presentar quimiotaxis.

Al considerar los valores experimentales en los parámetros del sistema y graficar las trayectorias de ambos géneros, se obtienen las gráficas de la Figura 4.5. Se observa que las gráficas correspondientes a *S. Purpuratus*, presentan una región donde el comportamiento de la trayectoria se sale del cuadro de visualización que se interpreta

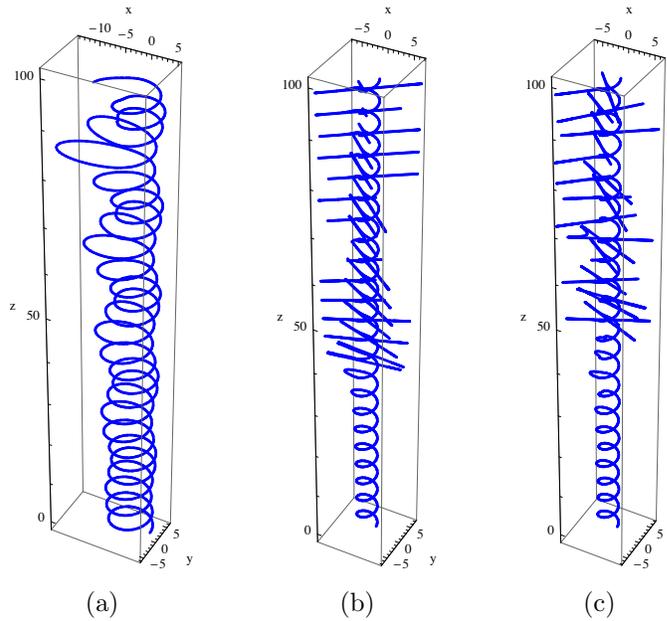


Figura 4.5: Trayectorias del nado del espermatozoide utilizando datos experimentales. (a) *L. Pictus*,  $\omega_c = 2$  y  $\omega_0 = 1,67$ . (b) *S. Purpuratus*,  $\omega_c = 1,5$  y  $\omega_0 = 1,45$ . (c) *S. Purpuratus*,  $\omega_c = 2$  y  $\omega_0 = 1,45$ . Se observa que en los casos (b) y (c) la trayectoria presenta un comportamiento aleatorio a partir, aproximadamente, de  $t = 45$ . Mientras que en el caso (a) no se tiene este comportamiento.

cómo estrategia de fecundación para localizar al óvulo, el espermatozoide realiza una mayor exploración espacial debido a las condiciones en que se reproduce este género, que es en costas, a diferencia de *L. Pictus*, el cual una vez que ha percibido el estímulo, presenta sólo pequeños nados rectos para redireccionar su nado.

Considerar incrementos en la pendiente de la función  $I(t)$ , a través de la cual se propone la retroalimentación del nado hacia las fluctuaciones de calcio intraflagelar, es equivalente a estar simulando que el espermatozoide ha llegado a una distancia corta del óvulo.

La ecuación de la gráfica que describe cualitativamente el comportamiento de  $I(t)$ , es

$$I(t) = \nu \sin(\omega_0 t) + \xi h(t), \quad (4.2)$$

Donde  $\nu$  y  $\xi$  son constantes y  $h(t)$  es una función dependiente del tiempo.

La parte sinusoidal es heredada del movimiento del espermatozoide. Y tanto  $\nu$ ,  $\xi$  y  $h(t)$  están determinadas a partir de la distribución espacial del estímulo. La

amplitud depende del registro espacial del gradiente que realiza el espermatozoide,  $\xi$  se relaciona con la pendiente del crecimiento que se le desee dar al gradiente y  $h(t)$  está determinada por la forma del gradiente. En las gráficas de la sección anterior se consideran,  $\nu = 0,05$ ,  $\xi = 1$  y  $h(t) = \sqrt{t}$ .

Para generar cambios en la pendiente de  $I(t)$ , es necesario modificar la constante  $\xi$  de forma significativa, como se muestra en la figura 4.6.

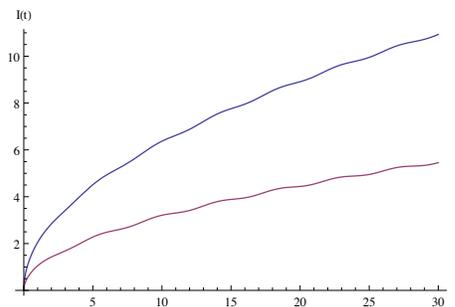


Figura 4.6: Cambios en las variables de la función  $I(t)$ . En morado se representa  $I(t)$  con  $\xi = 1$ . En azul se representa  $I(t)$  con  $\xi = 2$ .

Los cambios que se dan en la gráfica de la trayectoria  $\gamma(t)$  para el género de *S. Purpuratus* al hacer las modificaciones en el parámetro  $\xi$  se muestran en la Figura A.10.

Efectivamente, se produjo una corrección en la trayectoria, que se puede interpretar como el hecho de que, al estar tan cerca del óvulo, el espermatozoide no necesita ya de los nados rectos, y por lo tanto, sólo da pequeños giros para acertar en el huevo.

Considerando resultados experimentales preliminares, cabe mencionar que el modelo no sólo predice la adquisición de quimiotaxis, sino que pone de manifiesto cómo el aumento en el gradiente del estímulo interviene en la dinámica.

El compendio de los resultados del capítulo 3 se muestra en el Cuadro 4.2.

Casos	Género	Resultados
Frecuencias conmen- suradas, $\omega_0 = \alpha \omega_c$	<i>L. Pictus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <math>\alpha \in [0.45, 0.9)</math></li> </ul>
	<i>S. Purpuratus</i>	Con $\omega_c = 1,5$ <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <math>\alpha \in [0.25, 1)</math></li> </ul>
		Con $\omega_c = 2$ <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <math>\alpha \in [0.25, 0.9)</math>.</li> </ul>
Cambio en la fa- se $\tau_d$	<i>L. Pictus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <math>\tau_d \in [\frac{\pi}{8}, \frac{3\pi}{4}]</math>.</li> <li>■ El nado recto más pronun- ciado se da en <math>\tau_d \approx \frac{\pi}{2}</math>.</li> </ul>
	<i>S. Purpuratus</i>	Con ambas frecuencias, $\omega_c = 1,5$ y $\omega_0 = 2$ se obtuvo: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <math>\tau_d \in [0, \frac{\pi}{3}]</math></li> <li>■ El nado recto más pronun- ciado se da en <math>\tau_d \approx \frac{\pi}{8}</math></li> </ul>
Al variar $\xi$ , la pendiente de la función $I(t)$ .	<i>S. Purpuratus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ El segmento de la trayec- toria <math>\gamma(t)</math> que parece tener un comportamiento errático, mostrado en la Figura 4.5, se corrige. Con lo cual, se puede considerar que a distancias cortas del óvulo, el comportamiento de este género es quimiotáctico.</li> </ul>

Cuadro 4.2: Compendio de resultados.



## Parte III

# Conclusiones y perspectivas



# Capítulo 5

## Conclusiones y perspectivas

El propósito de esta tesis es el contribuir a la comprensión del proceso de fecundación a través de modelos matemáticos con base en los estudios experimentales realizados con espermatozoides de erizo de mar.

De trabajos experimentales realizados *in vitro* con espermatozoides de diferentes géneros de erizos de mar, *A. punctulata*, *L. pictus* y *S. purpuratus*, se desprenden las siguientes características del proceso de fecundación:

- Los espermatozoides reaccionan a estímulos químicos provenientes de las capas exteriores del óvulo.
- Al entrar en contacto con el estímulo se producen fluctuaciones internas de calcio que modulan la trayectoria del nado del espermatozoide.
- *A. punctulata* y *L. pictus* son considerados quimiotácticos, es decir, una vez que entran en contacto con el estímulo se desplazan en dirección al óvulo, mientras que *S. purpuratus* no parece ser quimiotáctico.

Debido a que ambos procesos, tanto las fluctuaciones de calcio intraflagelar como el nado del espermatozoide, presentan comportamientos periódicos o casi periódicos, surge la motivación de realizar un modelaje relacionado con osciladores.

Los objetivos por alcanzar son: plantear un modelo matemático que acople las fluctuaciones de calcio intraflagelar con el nado del espermatozoide; determinar relaciones entre los parámetros del modelo que favorezcan quimiotaxis; explorar la importancia de la sincronización de ambos procesos para la quimiotaxis, y poder generar propuestas para trabajos teóricos y experimentales futuros.

El procedimiento para determinar el tipo de oscilador adecuado para los procesos involucrados, se basó en el planteamiento de ecuaciones dependientes del tiempo que recuperasen de manera cualitativa el comportamiento de cada uno de estos.

A partir de la forma de estas ecuaciones, se obtuvo un modelo matemático compuesto por un sistema de ecuaciones diferenciales cuya forma es de osciladores, con parámetros dependientes del tiempo y con forzamiento, resultantes de la retroalimentación entre ambos procesos.

Trabajando con las soluciones de las ecuaciones diferenciales, se recuperaron comportamientos de trayectorias comparables con las observadas en los experimentos *in vitro*.

Bajo la hipótesis de que la sincronización es un aspecto importante para la quimiotaxis se procedió a hacer un barrido en los valores de la frecuencia de las fluctuaciones de calcio intraflagelar y la frecuencia del nado,  $\omega_c$  y  $\omega_0$  respectivamente. Los resultados que se obtuvieron son:

- Las frecuencias  $\omega_c$  y  $\omega_0$  deben ser cercanas, tal y como sucede biológicamente; de lo contrario, las trayectorias graficadas presentan comportamientos no observables en los laboratorios.
- Variaciones en la razón de ambas frecuencias producen cambios cualitativos en el nado de los espermatozoides, lo cual se ejemplificó al incorporar los datos experimentales para los géneros de *L. Pictus* y *S. Purpuratus* (Ver Cuadro 4.2).

Por otro lado, haciendo variar la fase, fijando las frecuencias según los datos experimentales, se encontraron rangos de valores para la fase, que determinan comportamientos observados, coherentes con rangos determinados experimentalmente.

Por último, para el caso considerado no quimiotáctico, al hacer modificaciones en la pendiente de la ecuación de adherencia del estímulo al flagelo del espermatozoide, se producen cambios en la trayectoria del nado, de tal manera que este caso pueda ser interpretado como quimiotáctico. Lo cual puso de manifiesto que la retroalimentación del nado del espermatozoide a las fluctuaciones de calcio intraflagelar planteada en la tesis, es importante para la quimiotaxis. Esto contribuyó a un mejor entendimiento de trabajos experimentales recientes en proceso.

Una aportación general de la tesis es poner de manifiesto que la generación de modelos matemáticos simples que incorporan aspectos fundamentales de fenómenos biológicos pueden contribuir a su mejor comprensión y plantear líneas de investigación futuras.

# Parte IV

## Apéndices



# Apéndice A

## Figuras

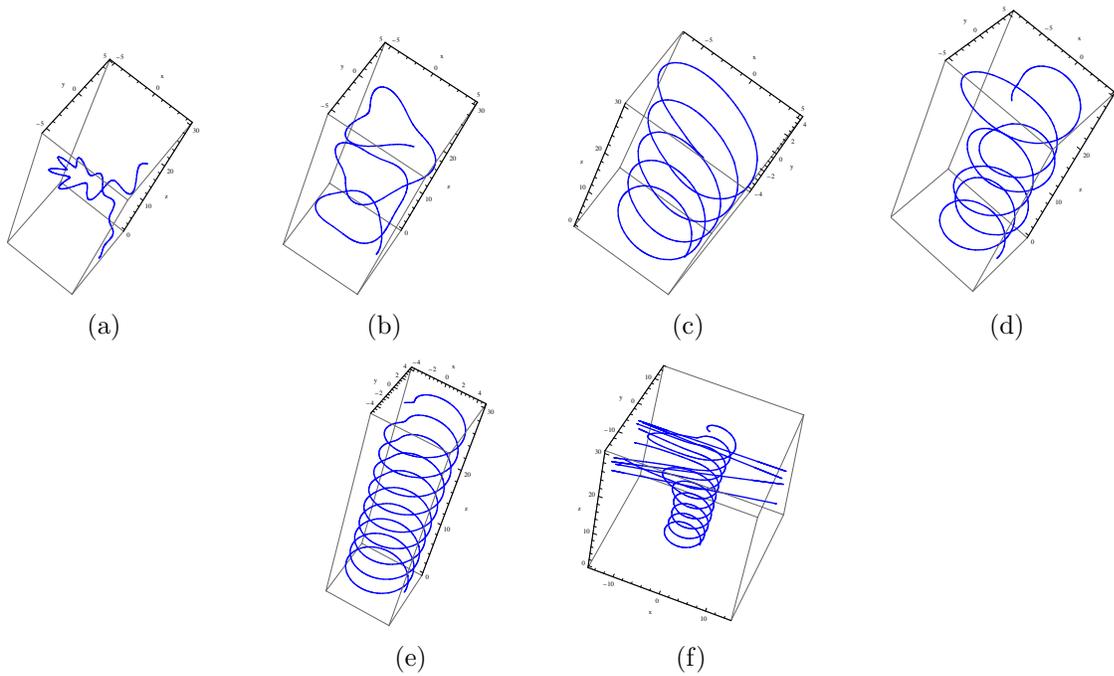


Figura A.1: Trayectorias del nado de *L. Pictus* utilizando datos experimentales y variando  $\alpha$ ,  $\omega_c = 2$ . (a)  $\alpha = 0,1$ . (b)  $\alpha = 0,3$ . (c)  $\alpha = 0,5$ . (d)  $\alpha = 0,7$ . (e)  $\alpha = 1$ . (f)  $\alpha = 1,1$

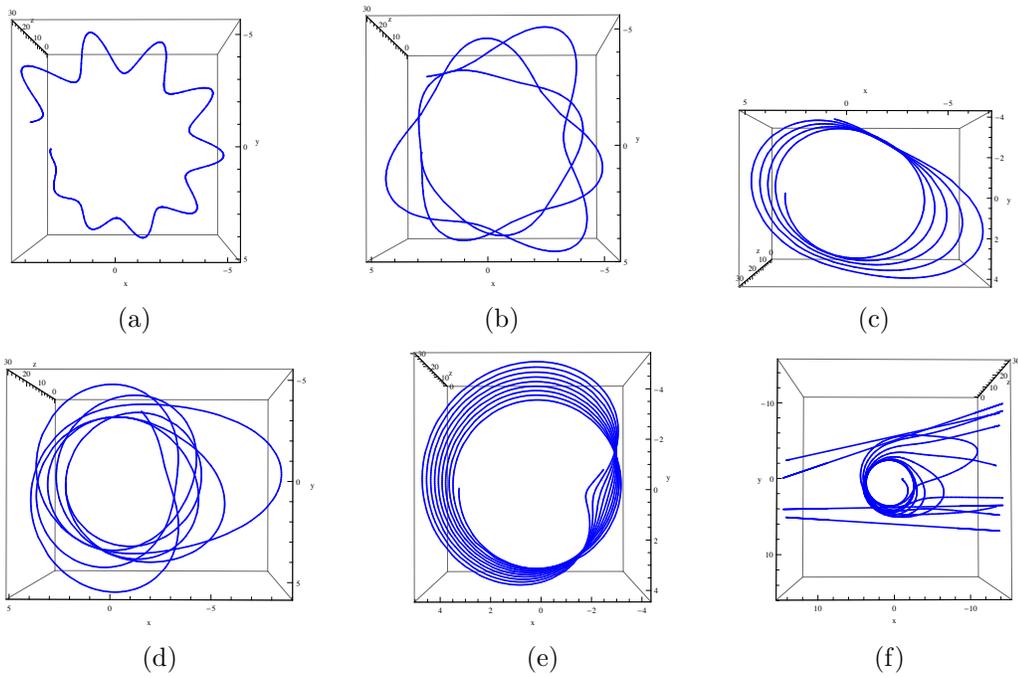


Figura A.2: Trayectorias del nado de *L. Pictus* utilizando datos experimentales y variando  $\alpha$ ,  $\omega_c = 2$ , haciendo una proyección al plano  $XY$ . (a)  $\alpha = 0,1$ . (b)  $\alpha = 0,3$ . (c)  $\alpha = 0,5$ . (d)  $\alpha = 0,7$ . (e)  $\alpha = 1$ . (f)  $\alpha = 1,1$

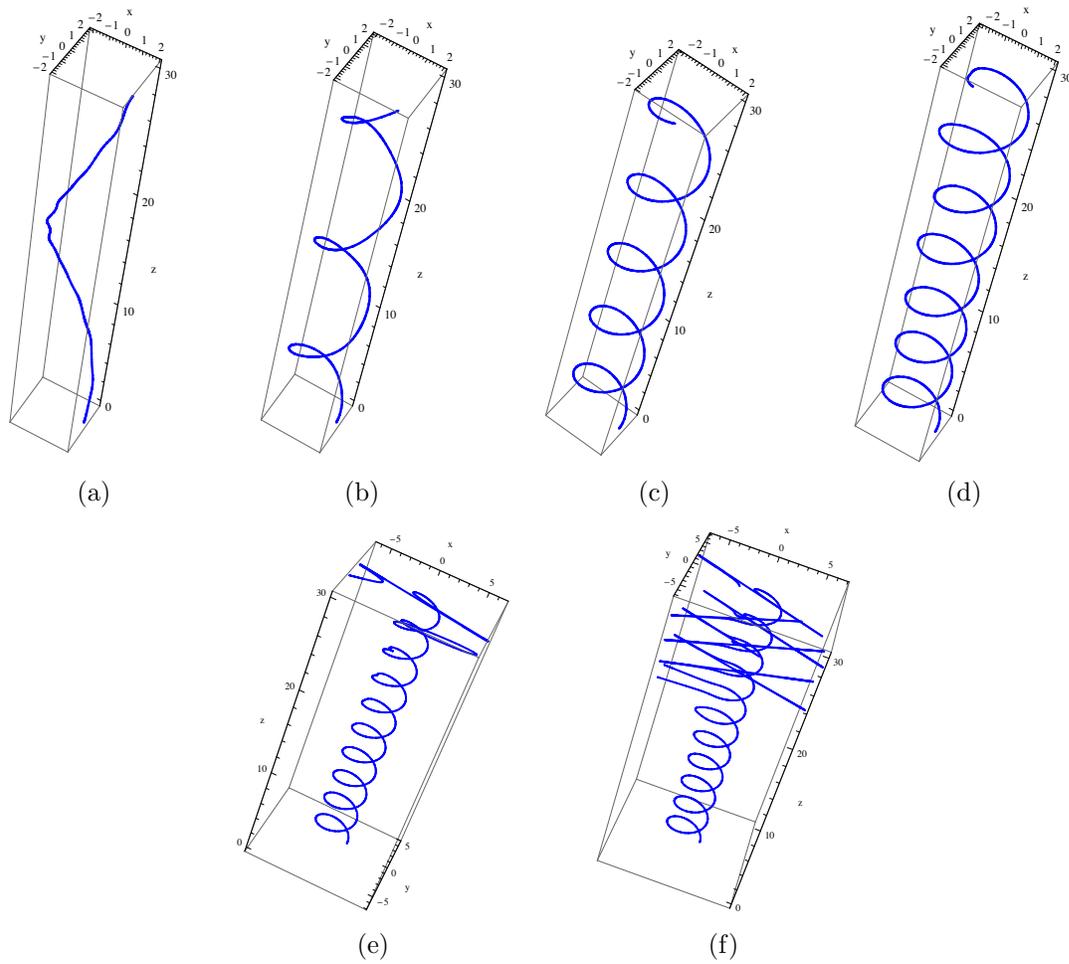


Figura A.3: Trayectorias del nado de *S. purpuratus* utilizando datos experimentales y variando  $\alpha$ ,  $\omega_c = 2$ . (a)  $\alpha = 0,1$ . (b)  $\alpha = 0,3$ . (c)  $\alpha = 0,5$ . (d)  $\alpha = 0,7$ . (e)  $\alpha = 1$ . (f)  $\alpha = 1,1$

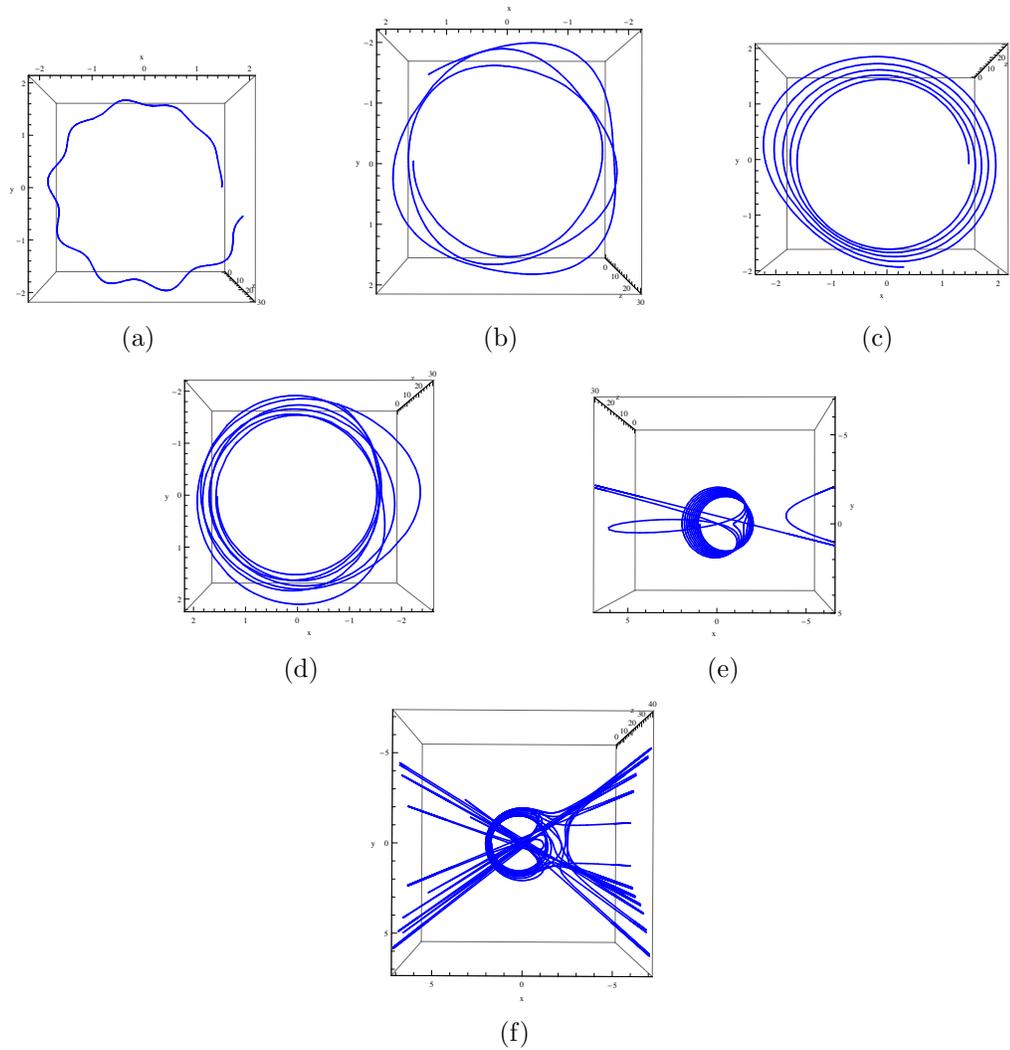


Figura A.4: Trayectorias del nado de *S. purpuratus* utilizando datos experimentales y variando  $\alpha$ ,  $\omega_c = 2$ , haciendo una proyección al plano  $XY$ . (a)  $\alpha = 0,1$ . (b)  $\alpha = 0,3$ . (c)  $\alpha = 0,5$ . (d)  $\alpha = 0,7$ . (e)  $\alpha = 1$ . (f)  $\alpha = 1,1$

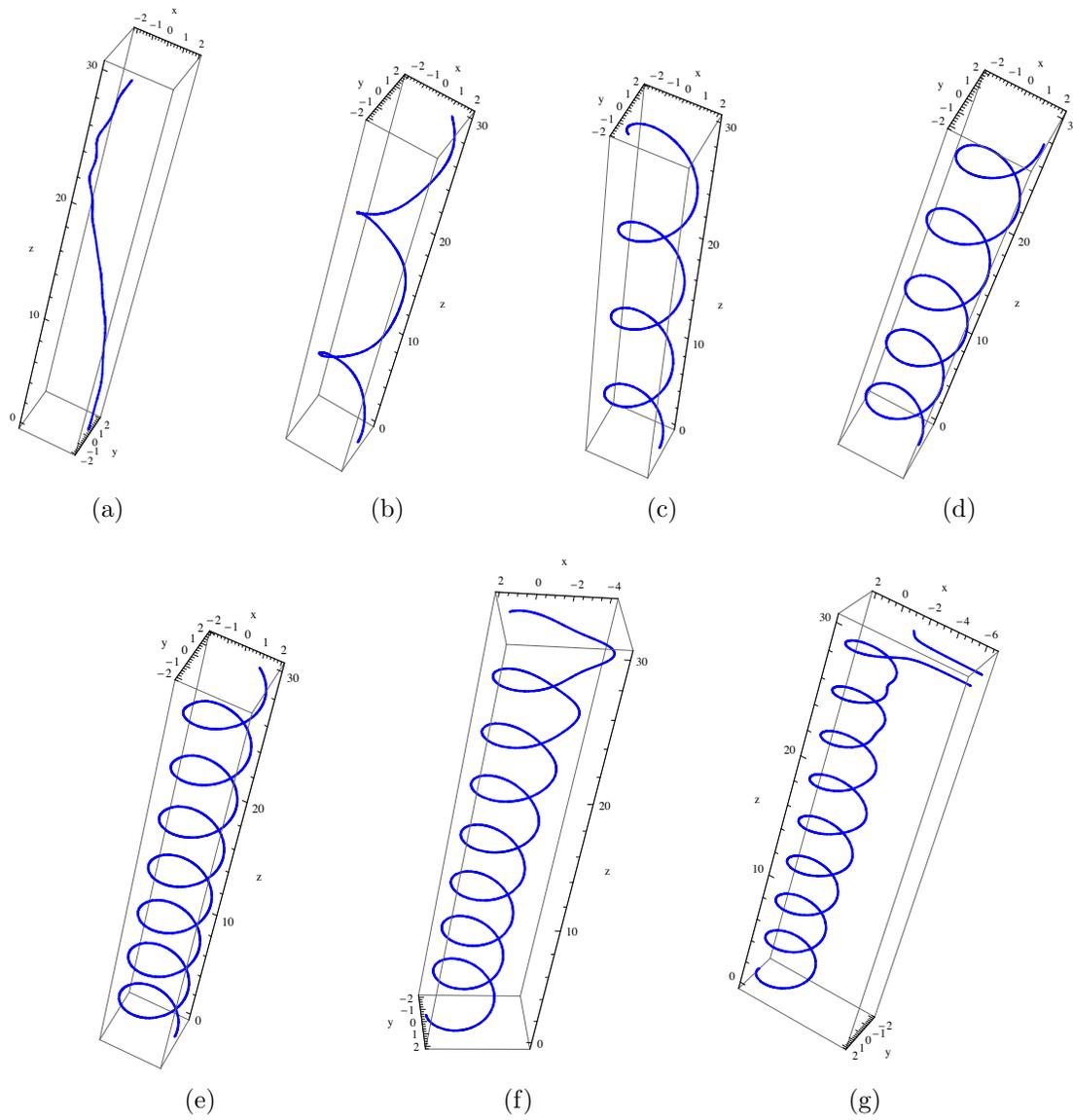


Figura A.5: Trayectorias del nado de *S. purpuratus* utilizando datos experimentales y variando  $\alpha$ ,  $\omega_c = 1,5$ . (a)  $\alpha = 0,1$ . (b)  $\alpha = 0,3$ . (c)  $\alpha = 0,5$ . (d)  $\alpha = 0,7$ . (e)  $\alpha = 1$ . (f)  $\alpha = 1,1$  (g)  $\alpha = 1,2$ .

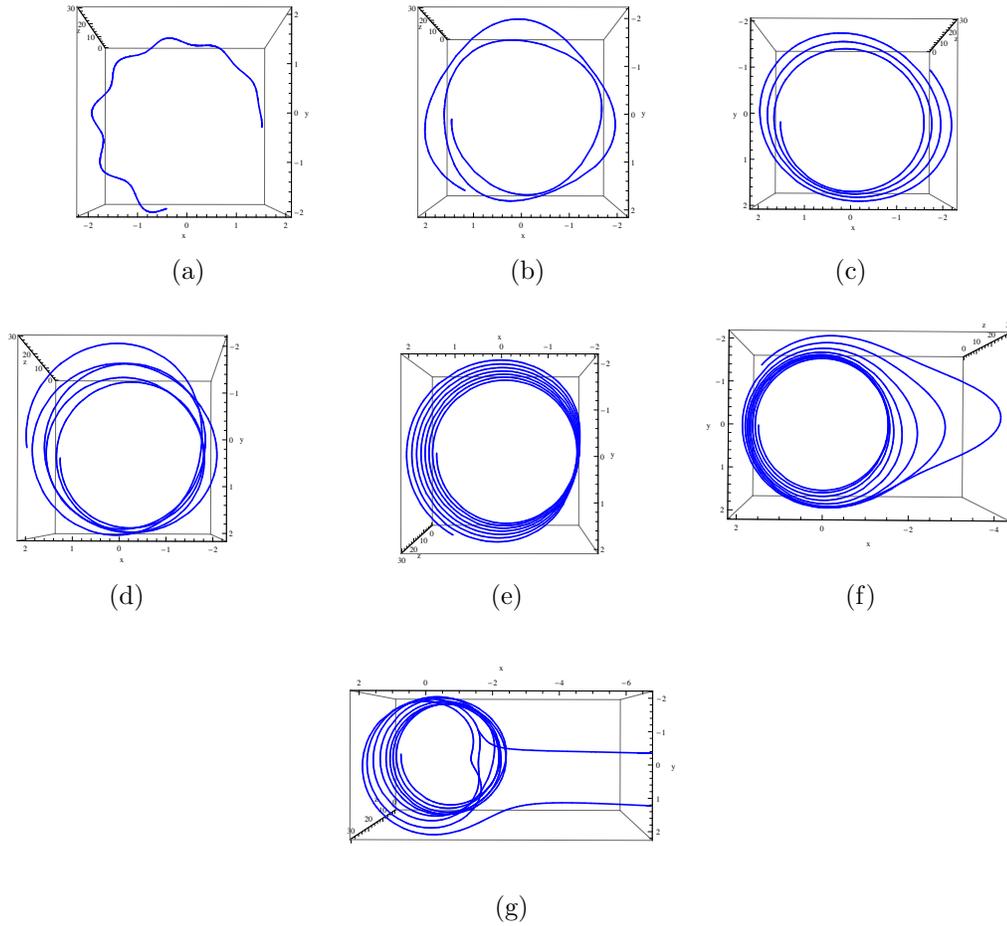


Figura A.6: Trayectorias del nado de *S. purpuratus* utilizando datos experimentales y variando  $\alpha$ ,  $\omega_c = 1,5$ , haciendo una proyección al plano  $XY$ . (a)  $\alpha = 0,1$ . (b)  $\alpha = 0,3$ . (c)  $\alpha = 0,5$ . (d)  $\alpha = 0,7$ . (e)  $\alpha = 1$ . (f)  $\alpha = 1,1$  (g)  $\alpha = 1,2$ .

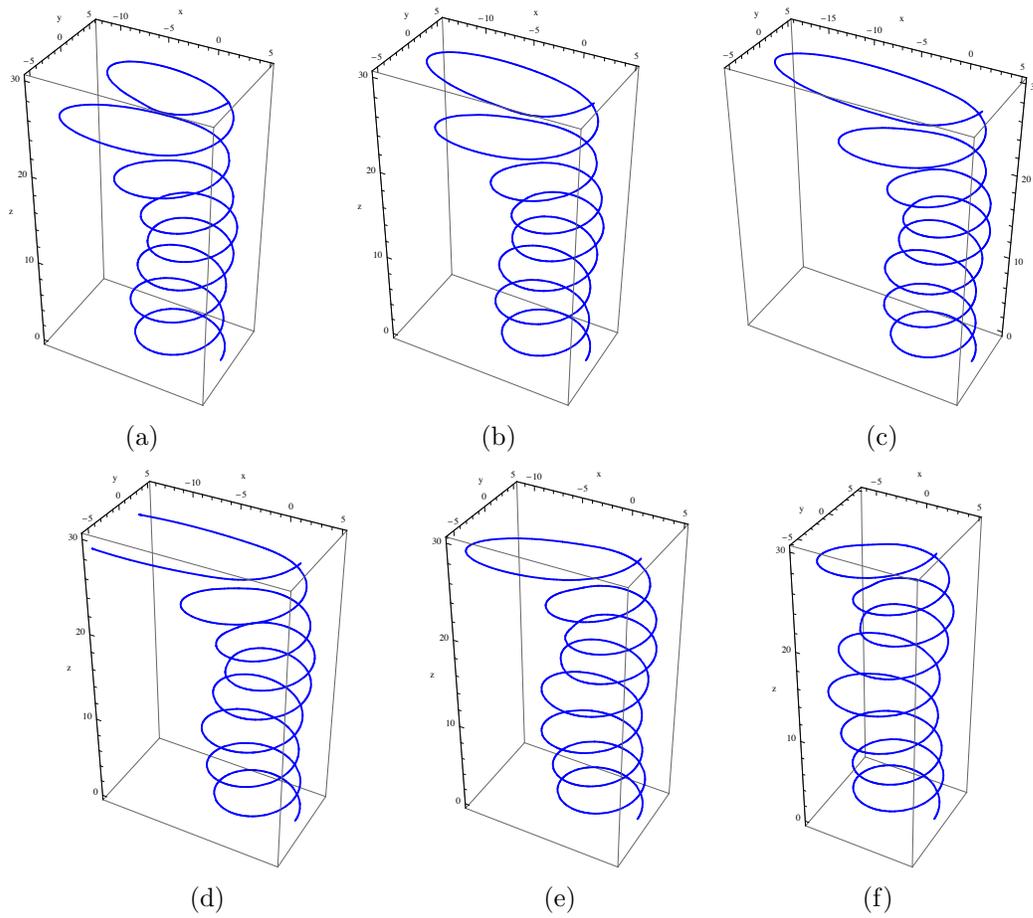


Figura A.7: Cambios en la trayectoria para los valores referentes a *L. pictus*, haciendo variar a  $\tau_d$  entre 0 y  $\Pi$ . Con  $\omega_c = 2$  y  $\omega_0 = 1,67$  (a)  $\tau_d = \frac{\Pi}{8}$ . (b)  $\tau_d = \frac{\Pi}{4}$ . (c)  $\tau_d = \frac{\Pi}{3}$ . (d)  $\tau_d = \frac{\Pi}{2}$ . (e)  $\tau_d = \frac{3\Pi}{4}$  (f)  $\tau_d = \Pi$ .

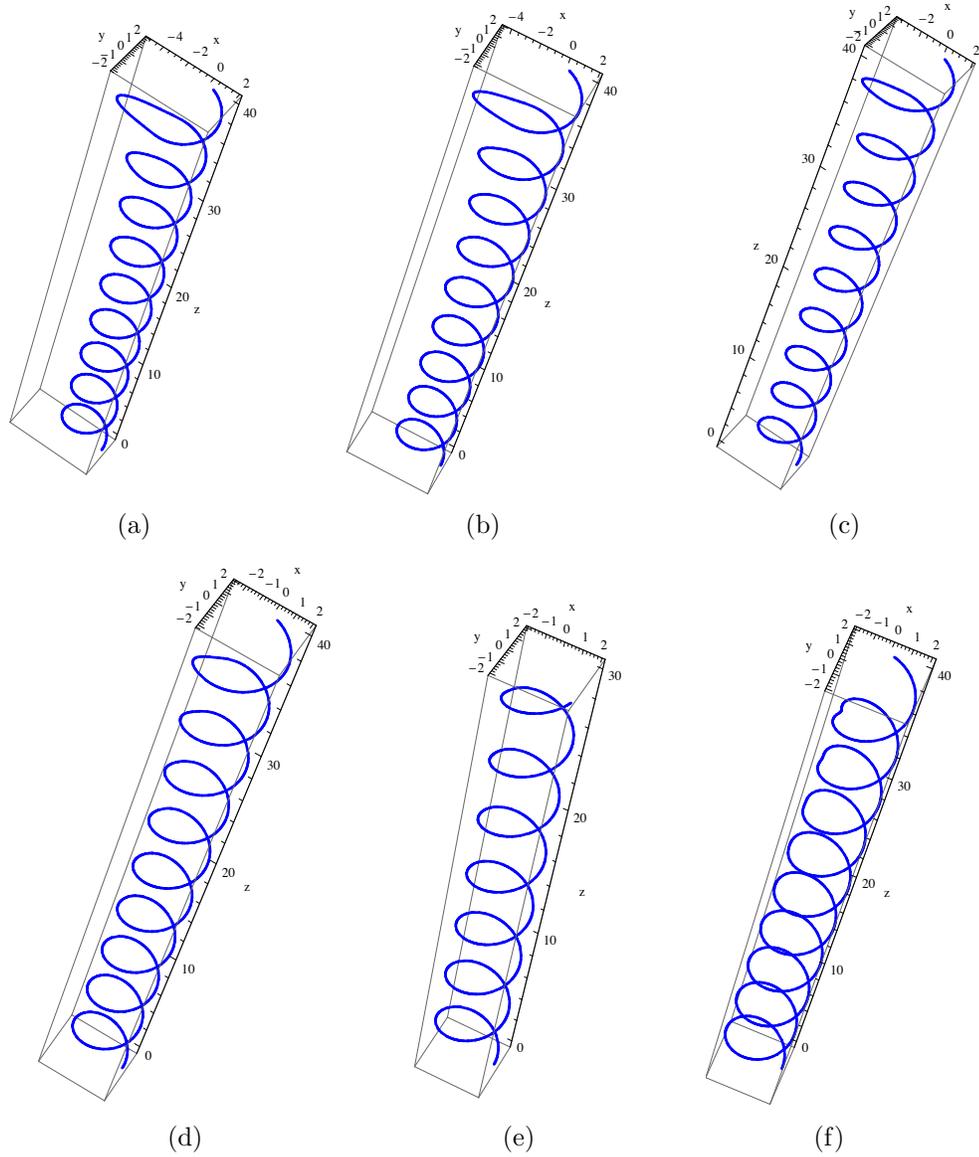


Figura A.8: Cambios en la trayectoria para los valores referentes a *S. Purpuratus*, haciendo variar a  $\tau_d$  entre 0 y  $\Pi$ . Con  $\omega_c = 1,5$  y  $\omega_0 = 1,45$  (a)  $\tau_d = \frac{\Pi}{8}$ . (b)  $\tau_d = \frac{\Pi}{4}$ . (c)  $\tau_d = \frac{\Pi}{3}$ . (d)  $\tau_d = \frac{\Pi}{2}$ . (e)  $\tau_d = \frac{3\Pi}{4}$  (f)  $\tau_d = \Pi$ .

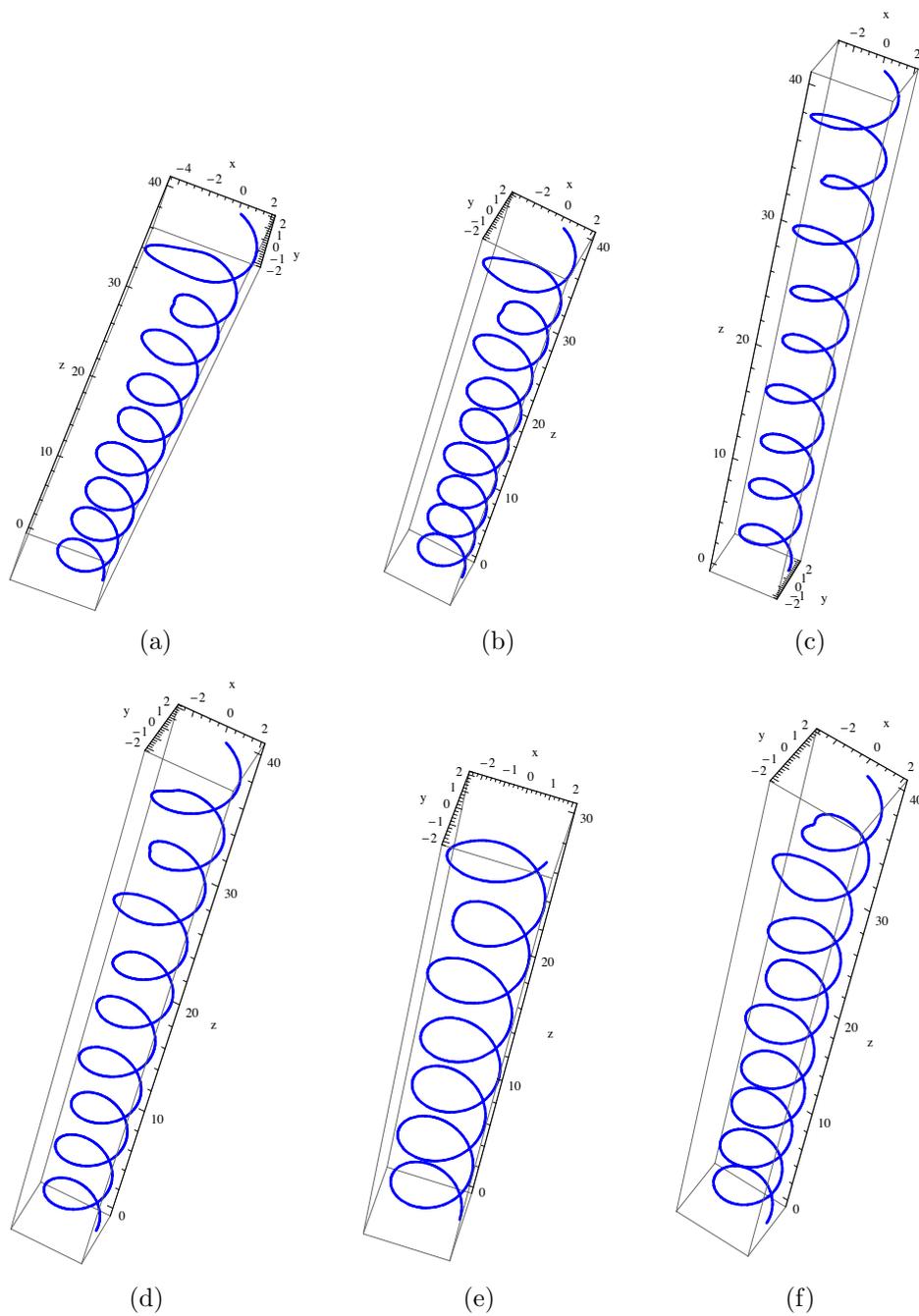


Figura A.9: Cambios en la trayectoria para los valores referentes a *S. Purpuratus*, haciendo variar a  $\tau_d$  entre 0 y  $\Pi$ . Con  $\omega_c = 2$  y  $\omega_0 = 1,45$  (a)  $\tau_d = \frac{\Pi}{8}$ . (b)  $\tau_d = \frac{\Pi}{4}$ . (c)  $\tau_d = \frac{\Pi}{3}$ . (d)  $\tau_d = \frac{\Pi}{2}$ . (e)  $\tau_d = \frac{3\Pi}{4}$  (f)  $\tau_d = \Pi$ .

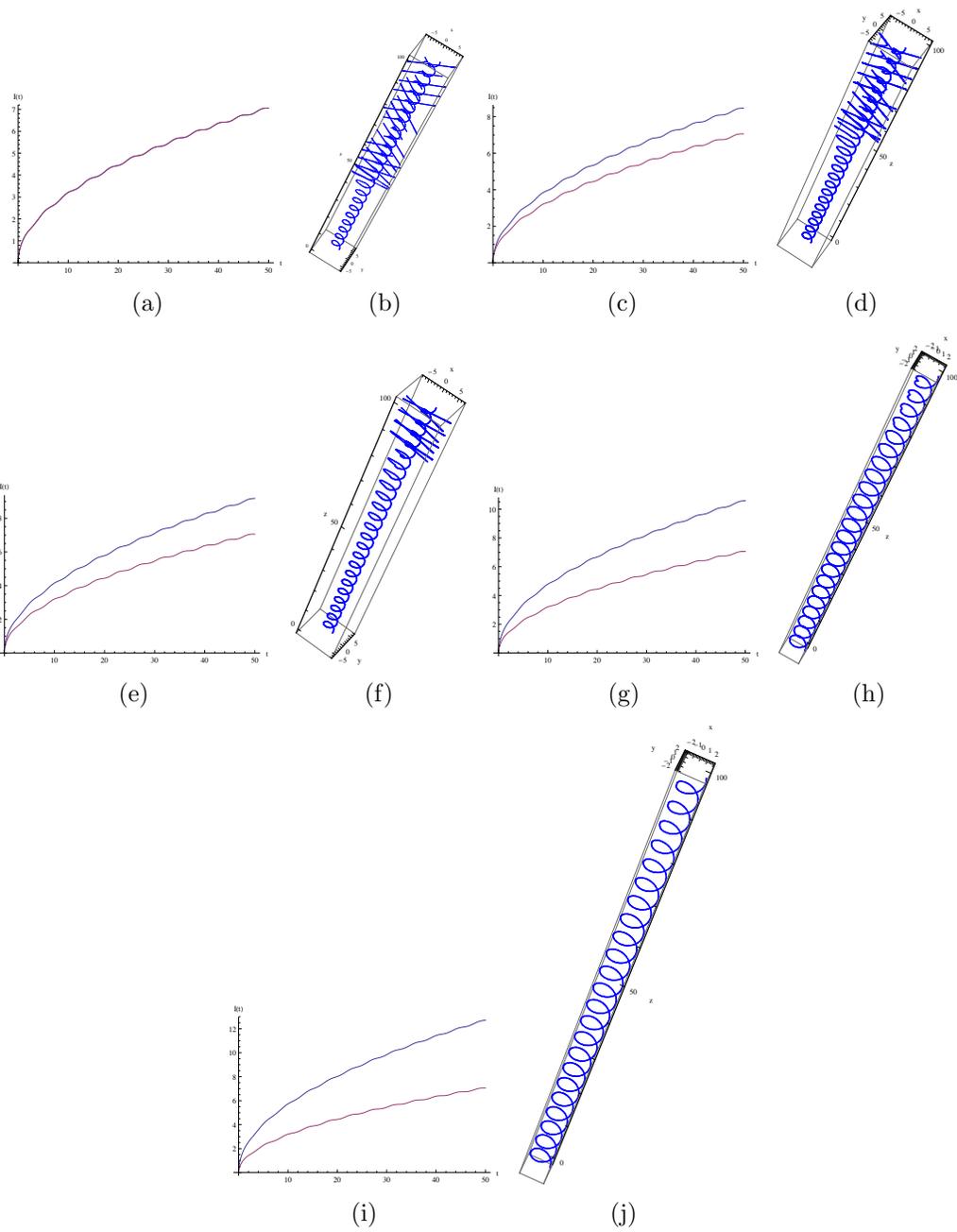


Figura A.10: Trayectoria del nado referido a los datos del género *S. Purpuratus*. A la izquierda se muestran los cambios hechos en la pendiente de la función  $I(t)$  haciendo variar  $\xi$  entre 0 y 1.7 y a la derecha las modificaciones que se producen en la trayectoria del nado  $\gamma(t)$ .

# Apéndice B

## ¿Qué sucede biológicamente?

### B.1. El proceso bioquímico.

Para que se lleve a cabo el proceso de reproducción en las especies con reproducción sexual es necesario que exista una comunicación entre los gamentos femeninos y masculinos.

Sabemos que el ovocito, o bien el gamento femenino, debe ser fecundado por el gameto masculino, es decir, por el espermatozoide. ¿Pero cómo sucede esto?

El espermatozoide está compuesto por una cabeza y un flagelo. En la cabeza se encuentra el núcleo donde se encuentra el ADN compactado; el acrosoma, el cual contiene enzimas que serán útiles para su fisión con el ovocito, y un centriolo, que es una estructura de donde nace el axonema. Sin embargo, la parte que nos interesa estudiar es el flagelo, pues es éste el encargado de la propulsión y movilidad del espermatozoide, lo cual le permite cumplir con su función principal: fecundar al ovocito y depositar en él su material genético.

El espermatozoide encuentra al ovocito debido a un intercambio de iones a través de su membrana plasmática, éste intercambio le permite un cambio en su movilidad y un cambio interno que le permite luego poder fecundar.

Los canales iónicos son proteínas que permiten el flujo de iones a favor del gradiente de concentración, es decir, de mayor concentración a menor concentración, a través de la membrana y se encuentran uniformemente distribuidas a lo largo del flagelo. Entre las funciones básicas de los canales iónicos están la selectividad iónica, la dependencia de voltaje, la regulación por pH dada por segundos mensajeros (calcio  $Ca^{2+}$ , AMPc, GMPc,  $IP_3$ ) y por el estado de fosforilación.

El estudio de las mediciones de las cantidades de iones que son intercambiadas del exterior al interior, y viceversa, de espermatozoide han ayudado a interpretar lo

que sucede en el proceso de reproducción. Éstas mediciones, a pesar que el espermatozoide sea una célula tan pequeña, se han podido hacer debido al desarrollo de moléculas fluorescentes que detectan selectivamente cambios en las concentraciones intracelulares de calcio<sup>2+</sup> ( $[Ca^{2+}]_i$ ), potencial de hidrógeno ( $pH_i$ ), sodio<sup>+</sup> ( $[Na^+]_i$ ), potencial eléctrico de la membrana ( $Em$ ) y otros. Estas mediciones se han hecho en población y en célula única.

El movimiento flagelar está generado por el axonema, que es un aparato complejo formado por cientos de proteínas. Este movimiento está regulado por la composición del medio intracelular y especialmente por el  $Ca^{2+}$ .

Se ha visto que el ovocito de erizo de mar en las capas más externas que lo rodean se encuentran péptidos que regulan la movilidad del espermatozoide. Se tienen estudios de tres especies de erizo de mar: la especie *Arbacia Punculata* responde a muy bajas concentraciones de un dodecapéptido llamado *resact*, mientras que las especies *Strongylocentrotus purpuratus* y *Lytechinus pictus* reaccionan al decapeptido llamado *speract*.

Una vez que se ha detectado el péptido al cual reaccionar, se desencadena la siguiente serie de procesos:

1. Se activa transitoriamente una guanilato ciclase que aumenta temporalmente la concentración de GMPc.
2. La elevación del GMPc activa un canal selectivo para  $K^+$  que hace más negativa a la célula, es decir, la hiperpolariza.
3. La hiperpolarización estimula un intercambio de  $Na^+$  por  $H^+$  a través de la membrana plásmica; aumenta el  $pH_i$  y activa intercambiadores  $Na^+/Ca^{2+}$  disminuyendo el  $[Ca^{2+}]_i$ , y también estimula a una adenilato ciclase, elevando los niveles de AMPc. Además la hiperpolarización remueve la inactivación de los canales de  $Ca^{2+}$  voltaje dependientes.
4. La hiperpolarización y el aumento de AMPc activan un canal iónico del espermatozoide llamado SpHCN de la familia HCN que depolariza la célula.
5. Se abren los canales de  $Ca^{2+}$ .
6. El  $Ca^{2+}$  activa los canales *CaKC* (canales de calcio y potasio) produciendo una hiperpolarización nuevamente.
7. Se regresa al punto tres y se repite el proceso; es decir, se producen fluctuaciones de calcio.

Estas fluctuaciones de en la concentración de  $Ca^{2+}$  están relacionadas con la simetría del batido flagelar (específicamente quien se relaciona es  $\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt}$ , ver [24]) y esto a su vez produce cambios en la curvatura de la trayectoria que recorre el espermatozoide en búsqueda del ovocito.



# Bibliografía

- [1] Pikovsky A, Rosenblum M, Kurths J. 2001. *Synchronization*. Cambridge University Press.
- [2] Smithsonian Marine Station at Fort Pierce. [http : //www.sms.si.edu/irlspec/Arbaci\\_punctu.htm](http://www.sms.si.edu/irlspec/Arbaci_punctu.htm)
- [3] Wikipedia.org [http : //en.wikipedia.org/wiki/Strongylocentrotus\\_purpuratus](http://en.wikipedia.org/wiki/Strongylocentrotus_purpuratus)
- [4] Wikipedia.org [http : //en.wikipedia.org/wiki/Lytechinus\\_variegatus](http://en.wikipedia.org/wiki/Lytechinus_variegatus)
- [5] Jennings H.S. On the significance of the spiral swimming of organisms. *Am. Nat.* 1901; 35:369-378.
- [6] Gray J, The movement of sea-urchin spermatozoa. *J. exp. Biol.* 1955; 32:775-801.
- [7] Crenshaw H.C. Kinematics of helical motion of microorganisms capable of motion with four degrees of freedom. *Biofhys J* 1989; 56:1029-1035.
- [8] Crenshaw H.C. Helical orientation: a novel mechanism for the orientation of microorganisms. *Lect Notes Biomath* 1990; 89:361-386.
- [9] Crenshaw H.C. Orientation by helical motion-I. Kinematics of the helical motion of organisms with up to six degrees of freedom. *Bull Math Bio.* 1993a; 55:197-212.
- [10] Crenshaw H.C. Orientation by helical motion-III. Microorganisms can orient to stimuli by changing the direction of their rotational velocity. *Bull Math Bio.* 1993b; 55:231-255.
- [11] Crenshaw H.C, Edelstein-Keshet L. Orientation by helical motion-II. Changing the direction of the axis of motion. *Bull Math Bio.* 1993;55:213-230

- [12] Crenshaw H.C. A new look at locomotion in microorganisms: Rotating and Traslating. *Amer Zool* 1996; 36:608-618.
- [13] Kaupp UB, Solzin J, Hidebrand E, Brown JE, Helbig A, Hagen V, Beyermann M, Pampaloni F, Weyand I. The signal flow and motor response controlling chemotaxis of sea urchin sperm. *Nat Cell Biol* 2003; 5:109-117.
- [14] Wood CD, Darzon A, Whitaker. Speract induces calcium oscillations in the sperm tail. *The Journal of Cell Biol.* 2003; 161: 89-101.
- [15] Böhmer M, Van Q, Weyand I, Hagen V, Beyermann M, Matsumoto M, Hoshi M, Hilderbrand E, Kaupp UB.  $Ca^{2+}$  spikes in the flagellum control chemotactic behavior of sperm. *The EMBO Journal* 2005; 24:2741-2752.
- [16] Friedrich BM. Tesis doctoral. Chemotaxis of Sperm Cells. Max-Planck-Institut fur Physik komplexer Systeme. 2008
- [17] Friedrich BM, Jülischer F. Chemotaxis of sperm cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:13256-13261.
- [18] Friedrich BM, Jülischer F. The stochastic dance of circling sperm cells: sperm chemotaxis in the plane. *New Journal of Physics* 2008; 10:123025.
- [19] Friedrich BM. Search along presisten random walks. *Phys Biol* 2008; 5:026007.
- [20] Kaupp UB, Kashikar ND, Weyand I. MEchanisms of sperm chemotaxis. *Annu Rev Physiol* 2008; 70:93-117.
- [21] Darszon A, Guerrero A, Galindo B, Nishigaki T, Wood C. Sperm-activating peptides in regulation of ion fluxes, signal transduction and motility. *Dev. Biol* 2008; 52, 595-606.
- [22] Guerrero A, Nishigaki T, Carneiro J, Tatsu Y, Wood C.D, Darzon A. Tuning sperm chemotaxis by calcium burst timing. *Dev. Biol* 2010; 344, 52-65.
- [23] Gerrero A, Carneiro J, Pimentel A, Wood CD, Corkidi G, Darszon A. Strategies for location the famale gamete: the importance of measuring sperm trajectories in three spatial dimensions. *MHR* 2011; Vol 17, 8:511-523.
- [24] Alvarez L, Dai L, Friedrich BM, Kashikar ND, Gregor I, Pascal R, Kaupp UB. The rate or change in  $Ca^{2+}$  concentration controls sperm chemotaxis. *The Journal of cell Biol* 2012; 10.1083/jcb.201106096.

- [25] Guerrero A, Espinal J, Wood C, Rendón J, Carneiro J, Martinez-Mekler G, Darzon A. Niflumic acid disrupts marine spermatozoan chemotaxis without impairing the spatiotemporal detection of chemoattractant gradients. *Journal of Cell Science* 2013; 126, 1477-1487.
- [26] Conversaciones privadas con los doctores Alberto Darzon y Adan Guerrero del Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada de la UNAM.