

Mitocondris gegants al segment intern dels cons de la retina de musaranyes del gènere *Sorex* (Insectivora, Soricidae)

1. INTRODUCCIÓ

Els mitocondris gegants, o megamitocondris, són mitocondris que han assolit unes dimensions inusualment grans (Tandler *et al.*, 1997). Formen un grup heterogeni de mitocondris respecte a les seves característiques fisiològiques i morfològiques (Knabe & Kuhn, 1996). Aquest tipus de mitocondris s'ha observat en diversos estudis sobre patologia de cèl·lules de vertebrats (Feldmann *et al.*, 1977; Matias *et al.*, 1991; Papadimitriou & Drachenberg, 1994) i també ha estat produït experimentalment al laboratori (Tandler and Hoppel, 1986; Hoppel and Tandler, 1993). Malgrat que la presència de megamitocondris està relacionada principalment amb deficiències nutricionals (Lloreta-Trull & Serrano, 1998), també han estat observats en cèl·lules aparentment sanes i no tractades (veure per exemple Slautterback, 1965; Grodums, 1977; Murakoski *et al.*, 1985; Marrero *et al.*, 1987; Spicer *et al.*, 1990; Tyler, 1992; Tandler *et al.*, 1997). En particular, a la retina dels mamífers només s'ha descrit megamitocondris als el·lipsoides dels cons de dos Scandentia: a la tupaia comuna, *Tupaia glis* (Samorajski *et al.*, 1996) i a la tupaia septentrional, *Tupaia belangeri* (Kühne, 1983; Foelix *et al.*, 1987; Knabe & Kuhn, 1996). A la retina dels vertebrats, l'el·lipsoide es localitza a la regió apical del segment intern de les cèl·lules fotoreceptores. Conté un agregat dens de mitocondris allargats, que normalment es disposen paral·lels a l'eix longitudinal del fotoreceptor. Malgrat que els mitocondris dels el·lipsoides mostren una gran varietat de formes i mides, també s'ha descrit formes poc freqüents i inusuals (Ishikawa & Yamada, 1969). Les característiques d'algunes d'aquestes formes modificades, com els el·lipsosomes d'alguns teleostis, les gotes d'oli de les retines de diferents amfibis, rèptils, aus i mamífers monotremes, i els megamitocondris de *Tupaia*, han estat relacionades amb la millora de les característiques òptiques dels fotoreceptors (Walls, 1963; Ishikawa and Yamada, 1969; Nag and Bhattacharjee, 1995; Knabe *et al.*, 1997; Douglas and Marshall, 1999). Aquestes estructures poden alterar la composició espectral de la llum transmesa, actuant com a filtres per a la llum de

baixa longitud d'ona o, fins i tot, com a “microlents” per millorar les funcions òptiques dels cons.

En aquest capítol es descriu un nou cas de mitocondris gegants a la retina d'euteris, concretament als el·lipsoïdes dels cons de tres espècies d'insectívors del gènere *Sorex*. Els resultats d'aquest estudi es comparen, des dels punts de vista morfològic i funcional, amb els descrits per Knabe *et al.* (1997) a *Tupaia*.

2. MATERIAL I MÈTODES

S'ha analitzat els segments interns dels fotoreceptors de la retina de 15 musaranyes del gènere *Sorex* (*S. minutus*: n = 4; *S. araneus*: n = 4; *S. coronatus*: n = 7). Els ulls han estat enucleats i tractats seguint els mateixos procediments per l'obtenció de talls semifins i ultrafins descrits al capítol 2.

3. RESULTATS

Les retines de totes les espècies analitzades estan constituïdes per cons i bastonets. Els dos tipus de fotoreceptors poden distingir-se, fins i tot amb el microscopi òptic. Els nuclis dels cons són grans i estan arrencats en una sola filera just per sota de la

membrana limitant externa, mentre que els nuclis dels bastonets són més petits i es distribueixen en diverses fileres per sota dels nuclis dels cons. A més, els el·lipsoïdes dels cons són més grans i apareixen més tenyits que els dels bastonets (**Fig. 1**).

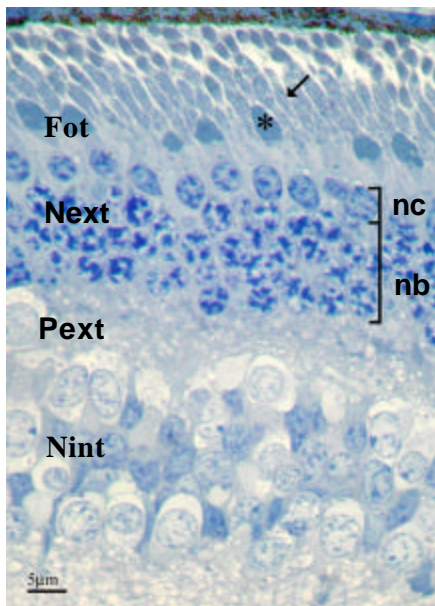
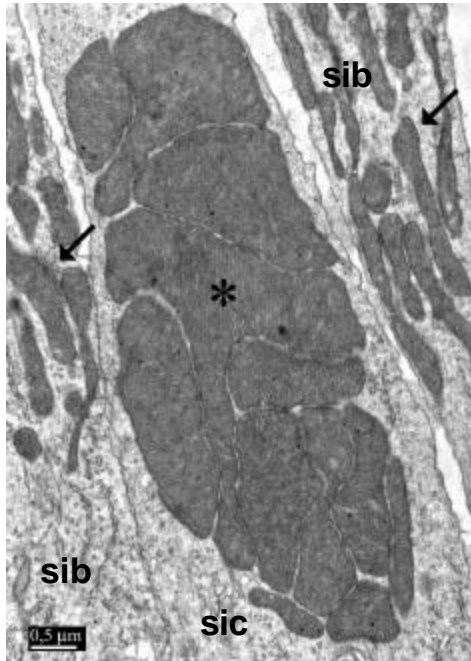


Figura 1. Secció semifina d'una retina de *S. coronatus*. Fot, capa de fotoreceptors; Next, capa nuclear externa; Pext, capa plexiforme externa; Nint, capa nuclear interna; nc, nuclis de cons; nb, nuclis de bastonets; *, segment intern de con; ↙, segment intern de bastonet.

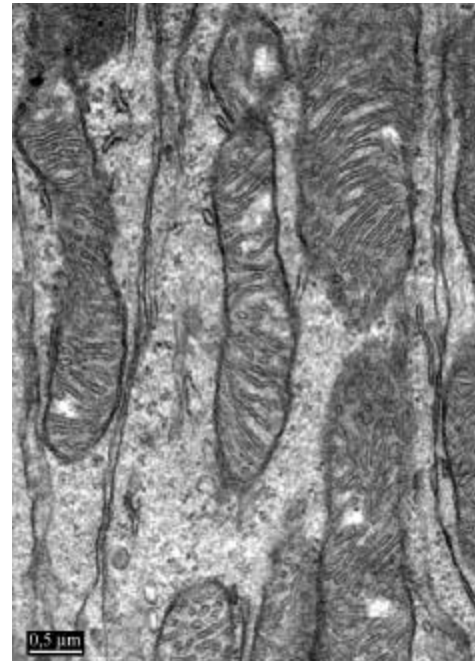
El microscopi electrònic de transmissió ha revelat que l'el·lipsoide dels segments interns dels bastonets contenen mitocondris de perfils allargats amb una amplitud màxima que no supera 1.0 μm (Figs. 2A i 2B). Aquests mitocondris tenen una matriu moderadament electrodensa i es disposen paral·lels a l'eix longitudinal del fotoreceptor. Les crestes mitocondrials són tubulars, escasses i estan distribuïdes a l'atzar (Fig. 2-B).

En les seccions ultrafines, s'observen dos tipus de segment interns de cons aparentment diferents. Un d'ells conté mitocondris relativament petits i dispersos per tot l'el·lipsoide (Fig. 2-C) mentre que a l'altre tipus, l'el·lipsoide és ple de mitocondris molt grans (megamitocondris) que freqüentment estan acompanyats per mitocondris més petits (Figs. 2A i 2-D). No obstant, l'anàlisi de talls seriatos de la retina de *S. coronatus* ha revelat que els perfils més petits observats en el primer tipus morfològic es corresponen, en realitat, a parts dels megamitocondris descrits en el segon tipus (Fig. 3). Així, cada el·lipsoide de cons conté un o diversos megamitocondris altament ramificats. Tots tenen un cos gran, situat a la porció apical o central de l'el·lipsoide, i diversos processos que travessen l'el·lipsoide en totes direccions. Per tant, els dos tipus morfològics de segment intern prèviament descrits en seccions ultrafines es corresponen, respectivament, a seccions de les porcions laterals i centrals de l'el·lipsoide. Adjacents als megamitocondris, es troben nombrosos mitocondris més petits situats a la perifèria i a la regió basal de l'el·lipsoide (Fig. 2D i Fig. 3). No obstant, no s'ha pogut establir si constitueixen mitocondris individuals o es corresponen als extrems dels processos dels megamitocondris.

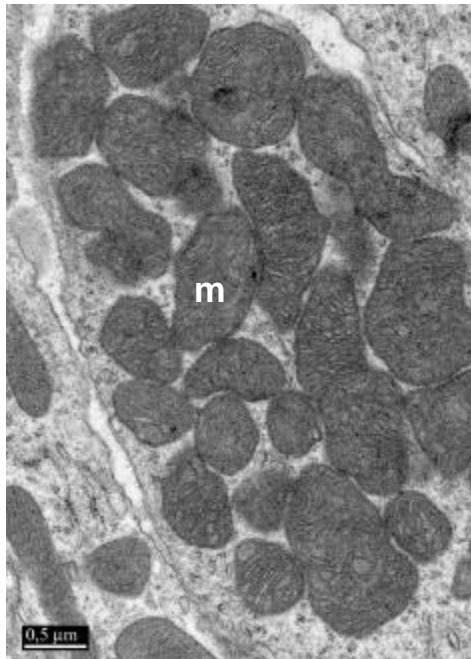
Els megamitocondris de *Sorex* tenen una longitud màxima de 4.22 μm a *S. araneus*, 5.68 μm a *S. coronatus*, i 2.42 μm a *S. minutus*. En totes tres espècies, aquests orgànuls presenten una forma irregular i tenen tendència a encaixar entre elles com peces d'un puzzle (Figs. 2-D i Fig. 3); formen una massa sòlida que omple tot l'el·lipsoide (Fig. 2-A) i deixen un espai de transició mínima amb la base del segment extern. La matriu dels megamitocondris és densa als electrons amb un



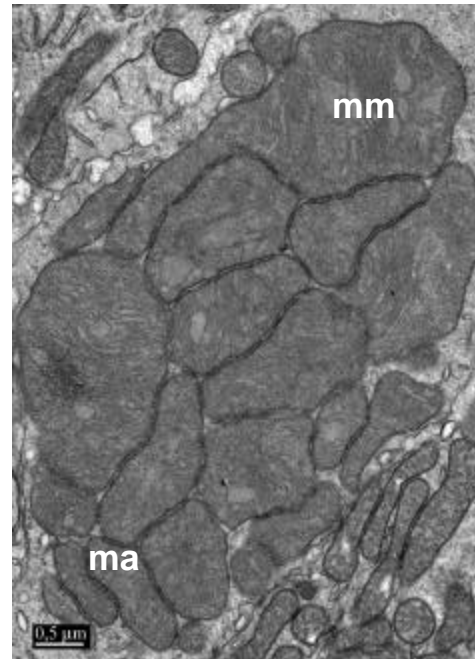
A: *S. coronatus*



B: *S. coronatus*



C: *S. minutus*



D: *S. araneus*

Figura 2. Fotomicrografies al microscopi electrònic de transmissió de seccions longitudinals de segments interns de fotoreceptors de *Sorex*. **A:** segments interns de bastonets (sib) i de cons (sic); ✓, mitocondri de bastonet; *, mitocondris de con. **B:** perfils mitocondrials de bastonet. **C:** porció lateral d'un segment intern de con; m, mitocondri petit. **D:** porció central d'un segment intern de con; mm, megamitocondri; ma, mitocondris adjacents.

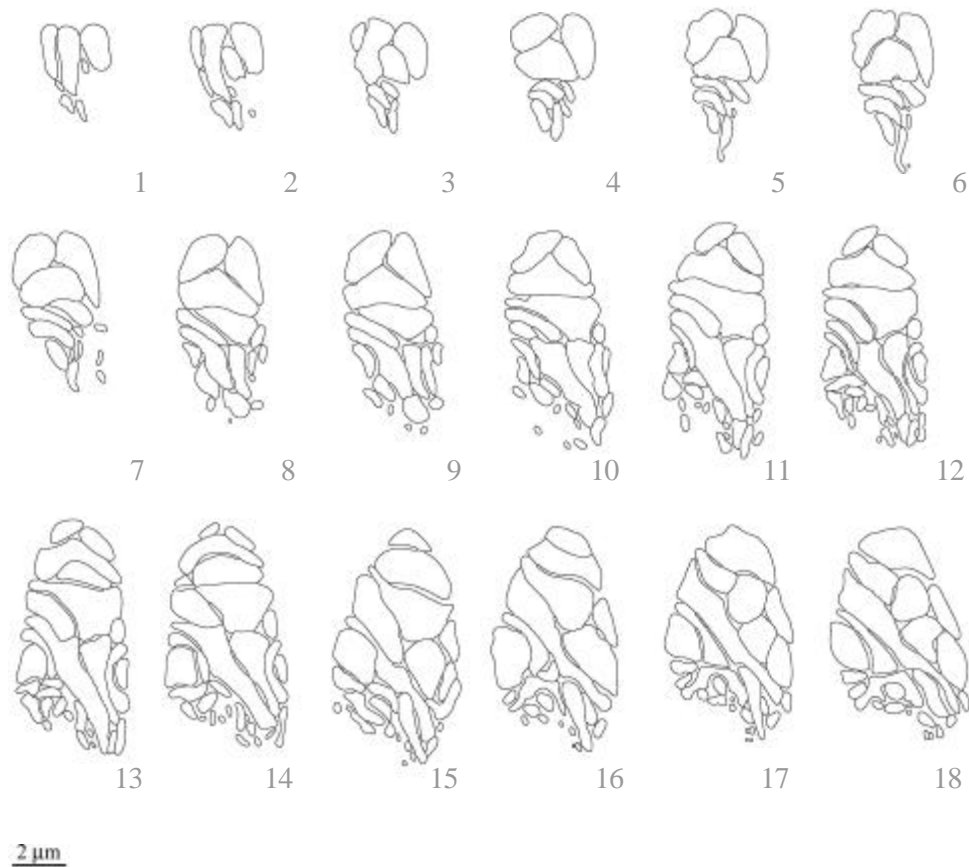


Figura 3. Dibuix esquemàtic obtingut a partir de 40 seccions ultrafines seriades d'un con de *S. coronatus*, mostrant les configuracions dels megamitocondris des de la porció lateral (1) fins a la central (18) de l'el·lipsoide.

complex sistema de crestes estretament empaquetades (Fig. 4-A), que mostren una disposició de bandes paral·leles clares i fosques que es corresponen als compartiment intracrestals i a la matriu intercrestals, respectivament. No obstant, també s'ha observat zones desproveïdes de crestes (Fig. 4-B). Les crestes dels megamitocondris són tubulars, amb un diàmetre relativament constant (rang = 0.02-0.03 μm , n = 36), diferenciant-se en longitud i distribució inclús dins del mateix mitocondri. Algunes d'elles s'estenen a través de tot el diàmetre màxim del mitocondri (Fig. 4-A), mentre que d'altres estan fenestrades o fins i tot interrompen el seu trajecte, mostrant extrems arrodonits i dilatats (Fig. 4-B). Les crestes formen tant línies rectes com lleugerament corbades o en ziga-zaga (Fig. 4-C), i en alguns casos formen espirals o

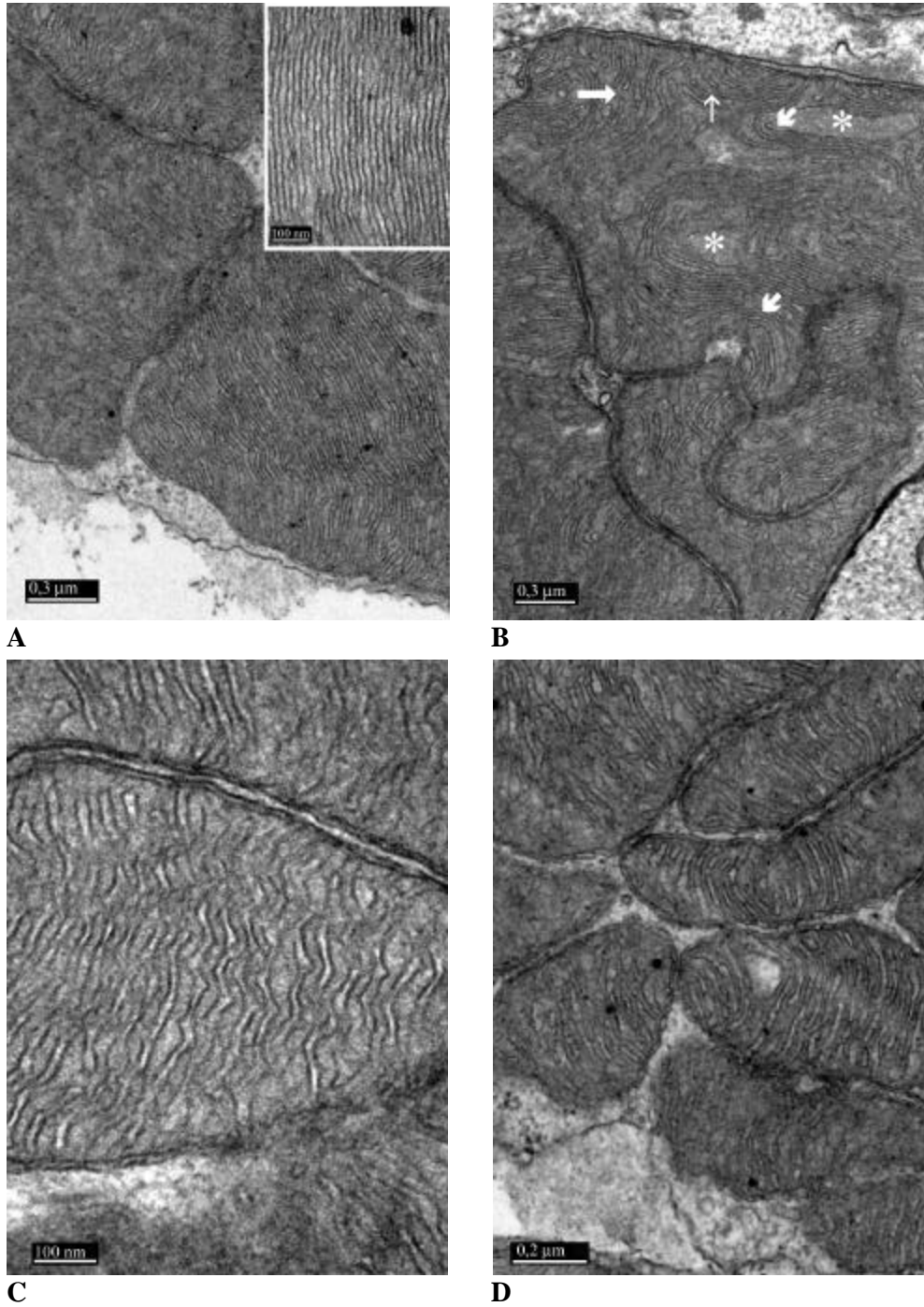


Figura 4. Fotomicrografies a grans augments de megamitocondris dels segment intern de *S. coronatus*. **A:** Disposició paral·lela de les crestes megamitocondrials de *S. coronatus*. Al requadre, crestes megamitocondrials de *S. araneus*, a més augment. **B:** Diferents disposicions de les crestes megamitocondrials. *, zones desproveïdes de crestes; ↑, extrems dilatats; ↙, corbes; →, crestes interrompudes. **C:** Crestes megamitocondrials en ziga-zaga. **D:** Crestes de mitocondris adjacents amb disposició aparentment continua.

corbes (Fig. 4-B). Sovint, l'orientació de les crestes dels mitocondris immediatament adjacents coincideixen i adopten una disposició aparentment contínua (Fig. 4-D). Els mitocondris més petits i de forma irregular situats a la base de l'el·lipsoide i al voltant de la zona central dels megamitocondris mostren crestes més esparses, que es distribueixen aleatòriament dins de la matriu electrodensa.

4. DISCUSSIÓ

Els resultats han indicat que *S. araneus*, *S. minutus* i *S. coronatus* tenen megamitocondris, es a dir, mitocondris de dimensions inusuals (Tandler *et al.*, 1997) al segment intern dels cons. Malgrat que la morfologia de l'ull i del sistema visual de les musaranyes ha estat descrita prèviament (Verrier, 1935; Rochon-Duvigneaud, 1943; Sato, 1977; Grün & Schwammlberger, 1980; Branis, 1981, 1985; Sigmund *et al.*, 1987), en pocs estudis s'ha analitzat l'ultraestructura dels fotoreceptors. Particularment, no s'ha descrit megamitocondris pel gènere *Crocidura* (Grün & Schwammlberger, 1980; Sigmund *et al.*, 1987; dades pròpies no publicades) ni per *Neomys* (Grün & Schwammlberger, 1980; dades pròpies no publicades). Respecte a *Sorex*, Grün & Schwammlberger (1980) no assenyalen la presència de megamitocondris a la retina de *S. coronatus*. Aquests autors només indiquen que en els segments interns dels bastonets, "...the ellipsoid is enlarged in its scleral part and densely filled with mitochondria.". També observen que el segment intern dels cons, "...is fusiform, and both the cytoplasm and mitochondria appear dark, ...". En canvi, Sigmund *et al.* (1987) destaquen la mida inusual, la forma, la matriu electrodensa, i el sistema de crestes dels mitocondris de l'el·lipsoide del segment intern dels cons de *S. araneus*. Tenint en compte la morfologia i la mida dels mitocondris que mostra la figura 6b i 7b de Sigmund *et al.* (1987), sembla que es corresponen a seccions laterals dels segments interns dels cons mostrant els processos terminals dels megamitocondris. Així, encara que els mitocondris descrits per Sigmund *et al.* (1987) són grans, el seu diàmetre màxim es inferior a 2 µm i no estan tan densament agrupats com el cos principal dels mitocondris gegants observats en el present estudi a les espècies de *Sorex*.

Comparats amb els segments interns dels bastonets de *Sorex*, els mitocondris dels cons són extraordinaris respecte a la seva mida, matriu electrodensa, i la complexa distribució de les crestes. En molts aspectes morfològics, aquests orgànuls engrandits són similars als descrits en els cons de *Tupai glis* per Samorajski *et al.* (1966) i els de *T. belangeri* per Foelix *et al.* (1987), Knabe & Kuhn (1996) i Knabe *et al.* (1997). Segons la reconstrucció en tres dimensions feta per Knabe & Kuhn (1996), les porcions apical i central de cada el·lipsoide dels cons de *Tupaia* estan ocupades per diversos megamitocondris. Aquests megamitocondris emeten llargs processos que acaben en grups de nombrosos mitocondris més petits a tocar de la membrana plasmàtica i a la porció basal de l'el·lipsoide. La diferència principal entre els megamitocondris de *Sorex* i *Tupaia* radica en l'orientació de les crestes. A *Tupaia*, les crestes estan disposades en cercles concèntrics o línies ondulades per la matriu mitocondrial. No obstant, en els dos gèneres, el trajecte de les crestes d'un megamitocondri formen un dibuix continu amb les crestes del megamitocondri veí.

Actualment, hi ha poca informació relacionada amb la natura i fisiologia dels megamitocondris a cèl·lules normals no tractades experimentalment. Respecte a l'ontogènia d'aquests orgànuls en els segments interns dels cons, Foelix *et al.* (1987) suggereixen que s'originen per la fusió de mitocondris més petits, mentre que Knabe & Kuhn (1996) aporten evidències de que apareixen pel creixement d'un únic mitocondri durant el període embrionari i fins i tot després del naixement.

Respecte a la fisiologia dels megamitocondris, Ghadially (1997) comenta que no se sap si la seva mida gran proporciona alguna avantatge funcional. Slaughterback (1965) indica que, en general, els mitocondris grans amb crestes llargues i densament disposades difícilment poden tenir una funció metabòlica eficaç. A més, segons Bereiter-Hahn (1990), la conformació condensada de les crestes podria representar un estat de baixa energia dels mitocondris (veure Bereiter-Hahn i les referències que cita). Coincidint amb aquestes observacions, Knabe *et al.* (1997) argumenten que molts dels trets morfològics dels megamitocondris dels segments interns dels cons no estarien relacionats amb cap funció metabòlica coneguda. Proposen que aquests orgànuls tenen una funció òptica i que són els nombrosos mitocondris que les

envolten els responsables de l'actiu metabolisme dels cons, degut a que tenen una relació superfície-volum més favorable. Tenint en compte les similituds morfològiques entre els mitocondris dels segments interns de *Tupaia* i *Sorex*, és raonable assumir que els mitocondris gegants de les espècies de *Sorex* analitzades en el present estudi podrien tenir altres funcions que les metabòliques. Degut a que l'el·lipsoide dels fotoreceptors dels ulls de vertebrats sembla ser un mecanisme per concentrar la llum (Walls, 1963), diverses característiques morfològiques en els segments interns dels cons de *Sorex* podrien recolzar una funció òptica pels mitocondris gegants. Així, la forma i disposició altament condensada d'aquests orgànuls gegants i les seves crestes (amb un citosol i matriu mitocondrial reduïts) podrien actuar de manera similar a com ho fan les fibres del cristal·lí i les fibres de col·lagen de la còrnia, es a dir, col·lectant els raigs divergents de llum i refractar-los sobre els segments externs dels fotoreceptors retinals. La distància mínima que hi ha entre els megamitocondris i els discs dels segments externs podria també afavorir la canalització de la llum. A més, com que els mitocondris gegants actuen sobre fotoreceptors individuals, tenen avantatges sobre el cristal·lí o la còrnia. Igual que a la retina de *Tupaia* (Knabe *et al.*, 1997), els nuclis dels cons de *Sorex* es disposen en una sola filera, els segments interns són més amples que els segments externs, i els segments externs dels cons adjacents estan amplament separats. Com a conseqüència, la presència de la massa sòlida i fusiforme dels megamitocondris podrien afavorir una forta refracció de la llum que ha incidit sobre les porcions laterals dels segments interns cap als discs dels segments externs dels cons. De fet, l'índex de refracció mitjà de diversos segments interns de cons de *Tupaia belangeri* és 1.405 (Knabe *et al.*, 1997), l'índex de refracció més elevat assenyalat per mamífers (Sidman, 1957; Borwein, 1981).

Caldria afegir que les gotetes d'oli i els el·lipsosomes, dues estructures refràctils de l'el·lipsoide de la retina de molts vertebrats, s'originen directe o indirectament dels mitocondris (Ishikawa & Yamada, 1969; Anctil & Ali, 1976; MacNichol *et al.*, 1978; Nag & Bhattacharjee, 1995). Aquestes estructures es situen immediatament abans del segment extern i molts raigs de llum han de passar a través d'elles abans d'incidir sobre els pigments visuals dels cons. Ambdues estructures podrien alterar la

sensibilitat espectral dels fotoreceptors i actuar com a filtres per longituds d'ona curta (veure la revisió de Douglas & Marshall, 1999). Al mateix temps, podrien també actuar com a microlents per incrementar la captura de fotons per part del segment extern (Walls & Judd, 1933; Young & Martin, 1984; Douglas & Marshall, 1999). Com a la majoria de mamífers, als segments interns de *Sorex* no hi ha ni gotetes d'oli ni el-lipsosomes, pel que els megamitocondris podrien realitzar les seves funcions.

Finalment, si els megamitocondris dels cons de la retina de *Sorex* actuen com a microlents col·lectores de llum, augmentaran l'eficàcia dels cons. Aquest fet podria estar relacionat amb els diferents patrons d'activitat mostrat per les espècies de *Sorex* en comparació amb els d'altres sorícids, com *Crocidura* i *Neomys*, que tenen els el·lipsoides desproveïts de mitocondris gegants. Malgrat que totes les musaranyes mostren un ritme d'activitat polifàsic degut a la seva elevada activitat metabòlica (Niethammer & Krapp, 1990), les del gènere *Sorex* són molt més actives durant les hores de llum que, per exemple, les del gènere *Crocidura* (Sigmund *et al.*, 1987).

Pot concloure's que, l'el·lipsoide de *Sorex*, com en altres vertebrats (Ishikawa & Yamada, 1969) podrien realitzar dues funcions: com a font d'energia per la cèl·lula fotoreceptora i com un mecanisme per incrementar l'eficàcia dels cons. No obstant, són necessaris nous estudis ultraestructurals i fisiològics per poder interpretar amb precisió la funció dels mitocondris gegants al segment intern de ls cons d'aquestes espècies.

