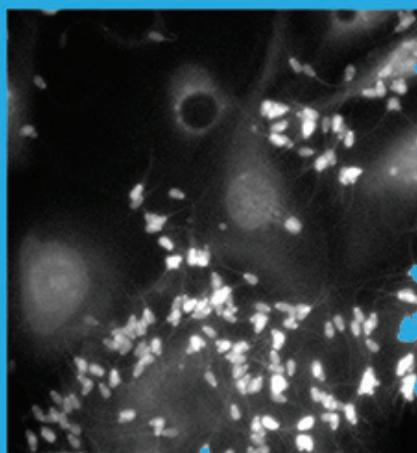
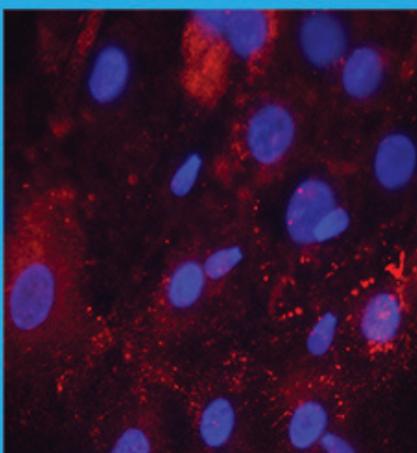
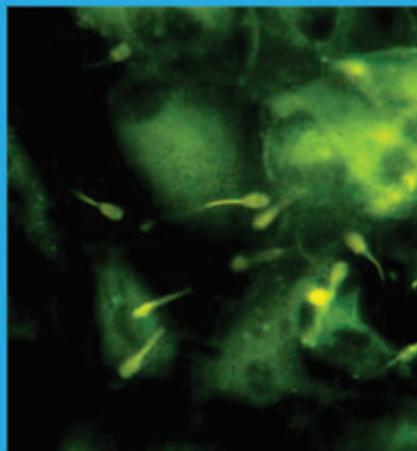
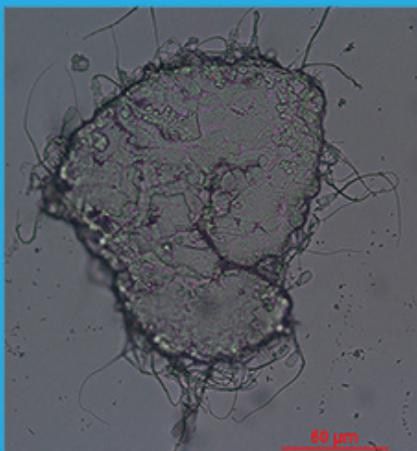


Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



- Farmacología tiroidea, interacciones medicamentosas más allá del reemplazo con levotiroxina
- Interacción de los espermatozoides con el tracto reproductor de la hembra: mucho más que una simple unión entre células
- Trabajo de actualización sobre cáncer de endometrio. Alteraciones en cadherina epitelial y progresión tumoral
- Impacto de la obesidad sobre la fertilidad en el varón: mecanismos y efectos
- Los anticonceptivos de progestinas de acción prolongada alteran la vasculatura endometrial inhibiendo la supervivencia de las células de músculo liso vascular uterinas
- Relación entre el cortisol salival y la depresión en adolescentes sobrevivientes de una catástrofe natural

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

AFILIADA A LA INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGICAL ENDOCRINOLOGY (ISGE)
Y A LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA (ALEG)



Año 22 • Volumen XXII • N° 3 • Diciembre de 2015 • ISSN 5053701

COMISIÓN DIRECTIVA 2015-2016

Presidente

Dr. Gabriel Fiszbajn

Vicepresidente

Dra. Susana Pilnik

Secretaria

Dra. Sandra Demayo

Prosecretaria

Dra. Adriana Monastero

Tesorera

Dra. Claudia Peyrallo

Vocales Titulares

Dra. Martina Carro

Dra. Laura Mitelberg

Dr. Domingo Mugnolo

Vocales Suplentes

Dra. Marisa Geller

Dra. Alicia Jawerbaum

Dra. María Belén Pérez Lana

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente

Dra. Nora Moses

Integrantes

Dra. Inés de la Parra

Dra. Marta Cortelezzi

Dr. Héctor Miechi

Dr. Sebastián Gogorza

Dr. Manuel Nölting

Dra. Susana Kopelman

Dr. Gabriel Faraj

Dra. Silvia Oizerovich

Dr. Carlos Allami

Dr. Carlos Nagle

Dr. Antonio Tempone

Dra. Teresa Nofal

Dra. Susana Pilnik

Dra. Cecilia Fenili

Dr. Guillermo Rossi

COMITÉ EDITORIAL

Directora de Publicaciones

Dra. Alicia Jawerbaum

Subdirectororas

Dra. Claudia Peyrallo

Dra. Roxana Reynoso

Colaboradores

Dra. Rosa Inés Barañao

Dra. Laura Boero

Dra. Martina Carro

Dr. Gabriel Faraj

Dra. Adriana Monastero

Dra. Jimena Soutelo

Dr. Germán Van Thillo

Propietaria:

Sociedad Argentina de Endocrinología
Ginecológica y Reproductiva

Domicilio Legal de la Revista:

Viamonte 2660, piso 6° ofic. D (C1056ABR), CABA, Argentina

Registro en la Dirección Nacional de Derecho de Autor:

Exp. N° XXXXXX. ISSN de la edición en papel: 5053701.

ISSN de la edición electrónica (en línea): XXXXXX. Registro de la marca "Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva" N° de concesión XXXXXX y N° de disposición XXXXX, Instituto Nacional de la Propiedad Industrial

Edita:

Sello Editorial Lugones® de Editorial Biotecnológica S.R.L.

Socio Gerente: Facundo Lugones

Jefa de Redacción: Lic. María Fernanda Cristoforetti

Diseño gráfico: Marisa Kantor

Av. Acoyte 25, 4° piso, ofic. E (C1405BFA), CABA,

Argentina. Tel.: (011) 4903-1090/2210

E-mail: administracion@editorialogica.com.ar

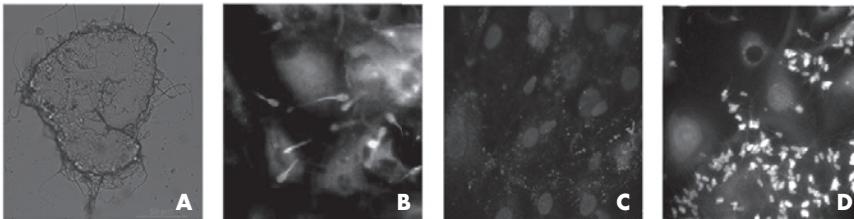
Año 22 • Volumen XXII • N° 3 • Diciembre de 2015

Imprenta: Gráfica Offset

Domicilio: Santa Elena 328, CABA, Argentina

La presente Edición está impresa en papel libre de cloro

Tapa



A) Co-cultivo de explantos de 24 hs de células epiteliales oviductales (CEO) y espermatozoides bovinos criopreservados (400x). Autora: Luciana Castellano. **B)** Co-cultivo de monocapa de CEOs y espermatozoides bovinos criopreservados teñidos con clortetraciclina (300x). Autora: María Gracia Gervasi. **C)** Inmunofluorescencia para determinar proteínas de matriz extracelular de co-cultivos de monocapa de CEOs y espermatozoides bovinos criopreservados marcados previamente con Hoechst (400x). Autora: Claudia Elena Osycka-Salut **D)** Co-cultivo de monocapa de CEOs con espermatozoides bovinos criopreservados teñidos con Hoechst (150x). Autora: María Gracia Gervasi.

SAEGRE no se hace responsable ni se identifica necesariamente con las opiniones vertidas por los autores.

SUBCOMISIONES 2015-2016

Comité Científico

Presidente

Dra. Nora Moses

Integrantes

Dra. Inés de la Parra
Dra. Marta Cortelezzi
Dr. Héctor Miechi
Dr. Sebastián Gogorza
Dr. Manuel Nölting
Dra. Susana Kopelman
Dr. Gabriel Faraj
Dra. Silvia Oizerovich
Dr. Carlos Allami
Dr. Carlos Nagle
Dr. Antonio Tempone
Dra. Teresa Nofal
Dra. Susana Pilnik
Dra. Cecilia Fenili
Dr. Guillermo Rossi

Relaciones Institucionales y Prensa

Colaboradores:

Dr. Damián Branca
Dra. Dora Daldevich

Colaboradores:

Dr. José Curto
Dra. Irene Dall'Agnoletta
Dr. Gabriel Faraj
Dra. Lidia D'amato
Dra. Viviana Mesch
Dra. Silvina Witis

Docencia e Investigación

Coordinadores:

Dra. Inés de La Parra
Dr. Carlos Nagle

Investigación:

Dra. Marta Cortelezzi

Programa Nacional de Formación Superior y Educación Continua

Director:

Dr. Carlos Allami
Integrantes:
Dra. Nora Moses
Dra. Marta Cortelezzi
Dr. Héctor Miechi
Dr. Gabriel Fiszbajn
Dra. Roxana Reynoso
Dra. Mabel Martino
Dr. Antonio Martínez
Dra. María Teresa Nofal
Dr. Gabriel Faraj
Dr. Sebastián Gogorza

Dra. Silvia Oizerovich
Dra. Claudia Firpo
Dra. Graciela Galiana
Dra. Marisa Geller
Dra. Susana Kopelman

Cursos y Jornadas

Coordinadores:

Dr. Domingo Mugnolo
Dra. María Alejandra Belardo

Integrantes:

Dra. Jimena Soutelo
Dr. Fabián Gómez Giglio
Dra. Claudia Firpo
Dr. Benjamín Montenegro
Dra. Cecilia Fenili
Dra. Laura Mitelberg
Dra. Fabiana Sayegh
Dr. Ricardo Cuevas
Dra. Paula Martínez
Dra. Claudia Peyrallo
Dra. Ana Herrera
Dr. Juan Aguilera
Dr. Natalio Kuperman

Directores de Cursos

Capacitación Superior Buenos Aires

Dra. Nora Moses
Dra. Cecilia Fenili
Dra. Doris Rodríguez Vidal

Capacitación Superior Córdoba

Dr. Natalio Kuperman
Dra. Mónica Nañez

Capacitación Superior Tucumán

Dr. Damián Branca
Dr. Gabriel Faraj
Dra. Susana Pilnik
Dra. Fabiana Reina

Capacitación Superior Bariloche

Dr. Fabián Gómez Giglio
Dra. Teresa Nofal
Dra. Susana Kopelman

Capacitación Superior Paraguay

Dra. Nora Moses
Dra. Laura Mitelberg
Dra. Blanca Fretes
Dra. Fanny Corrales

Coordinadores de Curso

De Buenos Aires

Dra. Gabriela Kunzi
Dra. Florencia Salort
De Córdoba
Dra. Martina Carro
Dra. Viviana Mesch
De Tucumán
Dra. Marina Gelin
Dra. Belén Pérez Lana
Dra. Karina Tozzi
Dra. Sonia Patton
De Bariloche
Dra. Mariana Angeloni
Dra. Valeria Servetti
Dra. Lorena Giannoni
Dra. Norma Balsamo
De Paraguay
Dra. Marisa Geller
Dra. Lara Miechi
Dra. Graciela Colman
Dra. Liza Airaldi

Comité de Certificación y Recertificación

Coordinadoras:

Dra. Susana Kopelman
Dra. Roxana Reynoso

Miembros:

Dr. Manuel Nölting
Dr. Héctor Miechi
Dra. Graciela Lewitan
Dra. Viviana Mesch
Dr. Gabriel Faraj

Página WEB

Coordinadoras:

Dra. Viviana Mesch
Dra. Susana Pilnik

Integrantes:

Dra. Damián Branca
Dra. Viviana Mesch
Dra. Laura Mitelberg
Dra. Florencia Salort
Dra. Valeria Servetti

Comité de Ética Independiente

Integrantes:

Dr. Héctor Miechi
Dr. Enrique Gadow
Dr. Eduardo Gago

Delegado ante la International Society of Gynecological and Endocrinology

Dr. Héctor Miechi

Seguimiento y contacto con el socio

Coordinador:

Dra. Susana Pilnik

Subcomisión de Normatización de Conductas Médicas y Bioquímicas

Dra. Pilnik

Directoras:

Dra. Marta Cortelezzi
Dra. María Alejandra Belardo

Bioquímicos:

Dra. Verónica Amaral
Dra. Laura Boero
Dra. Cecilia Fenili
Dra. Elsa Figueira
Dra. María R Mongitore
Dr. Guillermo Rossi
Dra. Mónica Saavedra
Dra. Isabel Teres
Dra. Viviana Mesch
Dra. Graciela Galeana

Médicos:

Dra. Silvia Ciamartori
Dr. Gabriel Faraj
Dra. Gladys Fernandez
Dra. Graciela Lewitan
Dra. Laura Mitelberg
Dra. Claudia Peyrallo
Dra. Susana Pilnik
Dra. Doris Rodríguez Vidal
Dra. Silvia Oizerovich
Dr. Domingo Mugnolo

Coordinación de Filiales

Dr. Damián Branca

Filial Sur

Director: Dra. Alejandra Ederra

Filial NOA

Director: Dr. Néstor Zurqueta

Filial Litoral

Directores:

Dra. Irma Mirian Ré
Dr. Sergio Ghersevich
Filial Cuyo. Sede San Juan
Directora: Dra. Graciela Schabelman
Filial Córdoba Centro
Director: Dr. Natalio Kuperman
Filial Bariloche
Director: Dr. Fabián Gómez Giglio

Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Viamonte 2660, piso 6°, of. D (C1056ABR), (C1057AAU), Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Tel.: (5411) 4961-0290. Email: saegre@saegre.org.ar. Sitio web: www.saegre.org.ar

Esta publicación ha sido seleccionada y será indizada para la base de datos LILACS - Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud de publicaciones científicas y la base de datos BINACIS - Bibliografía Nacional en Ciencias de la Salud de Argentina. Estas bases de datos están accesibles desde el sitio de la Biblioteca Virtual en Salud de Argentina en <http://www.bvs.org.ar> y a nivel regional en el sitio <http://www.bireme.br>

ÍNDICE

- ACTUALIZACIÓN**
- Farmacología tiroidea, interacciones medicamentosas más allá del reemplazo con levotiroxina 01
Héctor Alejandro Serra, Marcelo Luis Ponte
 - Interacción de los espermatozoides con el tracto reproductor de la hembra: mucho más que una simple unión entre células 11
Claudia Osycka Salut, María Gracia Gervasi, Luciana Castellano, Carlos Agustín Alonso, Silvina Pérez Martínez
 - Trabajo de actualización sobre cáncer de endometrio. Alteraciones en cadherina epitelial y progresión tumoral 24
Mónica Vázquez Levin, María José Besso, María Florencia Abascal, Marina Rosso, Lara Lapyckyj, María Victoria Mencucci, Roberto Ortí, Alejandra Wernicke
- REVISIÓN**
- Impacto de la obesidad sobre la fertilidad en el varón: mecanismos y efectos 36
Uriel Marcelo Pragier
- ANÁLISIS CRÍTICO POR EXPERTOS DE TRABAJOS SELECCIONADOS**
- Los anticonceptivos de progestinas de acción prolongada alteran la vasculatura endometrial inhibiendo la supervivencia de las células de músculo liso vascular uterinas 43
Comentarios: Gabriela Meresman
 - Relación entre el cortisol salival y la depresión en adolescentes sobrevivientes de una catástrofe natural 45
Comentarios: Silvia Iglesias, Sergio Azzara, Bibiana Fabre, Daniela Bordalejo
- **NOVEDADES BIBLIOGRÁFICAS** 47

INDEX

- UPDATES**
- *Thyroid pharmacology, drug interactions beyond levothyroxine replacement* 01
Héctor Alejandro Serra, Marcelo Luis Ponte
 - *Sperm interaction with the female reproductive tract: more than a simple cellular attachment* 11
Claudia Osycka Salut, María Gracia Gervasi, Luciana Castellano, Carlos Agustín Alonso, Silvina Pérez Martínez
 - *An overview on endometrial cancer. Abnormalities in epithelial cadherin and tumor progression* 24
Mónica Vázquez Levin, María José Besso, María Florencia Abascal, Marina Rosso, Lara Lapyckyj, María Victoria Mencucci, Roberto Ortí, Alejandra Wernicke
- REVIEW**
- *Obesity's impact on male fertility: mechanisms and effects* 36
Uriel Marcelo Pragier
- CRITICAL ANALYSIS OF SELECTED ARTICLES: EXPERTS OPINIONS**
- *Long-acting progestin-only contraceptives impair endometrial vasculature by inhibiting uterine vascular smooth muscle cell survival* 43
Comments: Gabriela Meresman
 - *Relationship between salivary cortisol and depression in adolescent survivors of a major natural disaster* 45
Comments: Silvia Iglesias, Sergio Azzara, Bibiana Fabre, Daniela Bordalejo
- **NOVEL ARTICLES** 47

Interacción de los espermatozoides con el tracto reproductor de la hembra: mucho más que una simple unión entre células

Sperm interaction with the female reproductive tract: more than a simple cellular attachment

Claudia Osycka Salut¹, María Gracia Gervasi², Luciana Castellano¹,
Carlos Agustín Alonso¹, Silvina Pérez Martínez¹

¹ Laboratorio de Biología de la Reproducción en Mamíferos. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-CONICET), Buenos Aires, Argentina

² Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts, Estados Unidos

Contacto del autor: Claudia Osycka Salut

E-mail: claudia.osycka@gmail.com

Resumen

Los espermatozoides de mamíferos no son capaces de fecundar a un ovocito inmediatamente después de la eyaculación. Para que esto ocurra necesitan atravesar el tracto reproductor de la hembra donde sufren una serie de cambios metabólicos y estructurales que le confieren capacidad fecundante.

El tracto reproductor de la hembra interactúa con los espermatozoides a través de diferentes vías para facilitar su tránsito hacia el ovocito impidiendo la migración de patógenos dentro del tracto, manteniendo la sobrevivencia desde la cópula hasta la ovulación y seleccionando a los espermatozoides más aptos para la fecundación.

El oviducto de mamíferos actúa como un reservorio funcional de espermatozoides los cuales se unen a las células epiteliales a través de interacciones moleculares específicas. La unión de los espermatozoides al epitelio oviductal está mediada por residuos de carbohidratos de las células epiteliales y proteínas tipo lectinas presentes en la cabeza de los espermatozoides. La liberación de los espermatozoides en el período peri-ovulatorio es modulada principalmente por el remodelamiento de la membrana plasmática que ocurre durante el proceso de capacitación y/o hiperactivación espermática. Moléculas proteicas, glicosaminoglicanos y lípidos presentes en el fluido oviductal están involucrados en la regulación de la interacción espermatozoide-oviducto y en la fecundación en mamíferos.

En resumen, la selección espermática por el tracto reproductor de la hembra es clave para garantizar una fecundación exitosa.

Palabras clave: espermatozoide, tracto reproductor, reservorio oviductal, mamíferos.

Abstract

Mammalian spermatozoa are not capable of fertilizing the oocyte just upon ejaculation. They need to travel along the female reproductive tract, where they undergo a series of metabolic and structural changes that render them fertilizing competence.

The female reproductive tract interacts with sperm in several ways in order to facilitate sperm migration towards the egg while impeding migrations of pathogens into the genital tract, to keep sperm alive during the time between mating and ovulation, and to select the fittest sperm for fertilization.

Mammalian oviduct acts as a functional reservoir for sperm, which binds to the oviductal epithelial cells by specific molecular interactions. The adhesion of spermatozoa to the oviductal epithelium is mediated by specific interactions between carbohydrate moieties on the epithelial surface of the oviduct and lectins on the sperm head surface.

During the oestrus, sperm detachment is mainly modulated by the remodeling of the sperm plasma membrane that occurs through the capacitation process and/or by sperm hyperactivation. Proteins, glycosaminoglycans and lipid molecules present in the oviductal fluid are involved in the regulation of the sperm-oviduct interaction and mammalian fertilization.

In conclusion, sperm selection by the female reproductive tract is fundamental to ensure successful fertilization.

Key words: sperm, reproductive tract, oviductal sperm reservoir, mammals.

1. El espermatozoide

El espermatozoide (del griego *esperma*, semilla, y *zoon*, animal) es una célula haploide que constituye la gameta masculina cuya función es fecundar al ovocito para la formación de un cigoto.

1.1 Morfología y función espermática

Morfológicamente el espermatozoide de mamífero puede dividirse en dos regiones: cabeza y cola.

La cabeza está constituida por un núcleo haploide, el acrosoma y una pequeña cantidad de citoesqueleto y citosol (Figura 1). El núcleo es más compacto al cambiar las histonas por protaminas, de tal forma que no habría ni replicación ni transcripción. La inactividad transcripcional del núcleo hace que el espermatozoide sea dependiente de modificaciones post-traduccionales como la fosforilación de proteínas necesarias para adaptar su función de acuerdo a las necesidades. El acrosoma es una vesícula derivada del aparato de Golgi que cubre aproximadamente la mitad de la cabeza y que contiene enzimas que degradan proteínas y glúcidos complejos.

La cola o flagelo es la porción responsable de la movilidad del espermatozoide. La cola puede subdividirse en tres regiones: pieza media, pieza principal y pieza terminal (Figura 1). En el cuello, porción que une la cabeza con el flagelo, están localizados los centriolos: el centriolo proximal se sitúa en la parte basal del núcleo y el centriolo distal da origen a los microtúbulos del axonema. El axonema recorre toda la cola y es la principal porción motora del flagelo. Está compuesto por microtúbulos, moléculas chaperonas, proteínas fijadoras de calcio y proteínas quinasas/fosfatasas. En la pieza media se localizan las mitocondrias que aportan el ATP necesario para el movimiento del flagelo¹.

La membrana plasmática se extiende recubriendo toda la cabeza y la cola cumpliendo un papel fundamental en la supervivencia del espermatozoide¹.

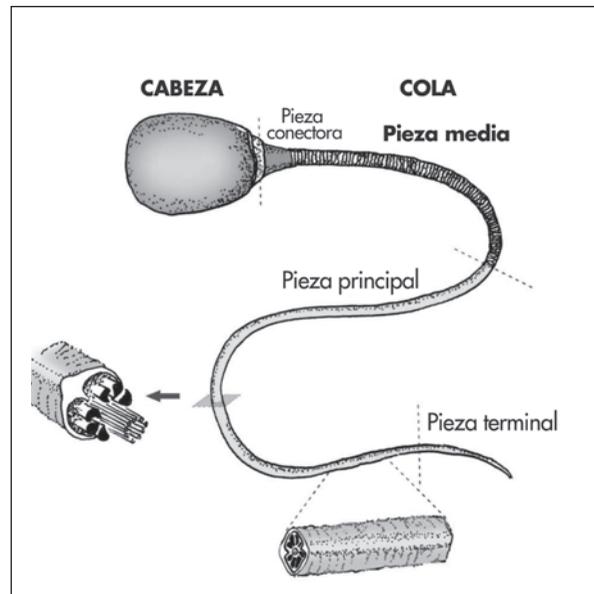


Figura 1: Representación esquemática del espermatozoide. La pieza conectora une a la cabeza del espermatozoide con la cola. Las regiones del flagelo son la pieza media, la pieza principal y la pieza terminal. La pieza media contiene la vaina mitocondrial mientras que la pieza principal contiene al axonema rodeado por las fibras densas. En el esquema se muestra un corte transversal y un corte longitudinal de la pieza principal.

1.2 Adquisición de la capacidad fecundante

Cuando los espermatozoides abandonan los túbulos seminíferos, si bien constituyen células altamente diferenciadas, son inmóviles, inmaduros y no tienen capacidad de fecundar al ovocito. La capacidad fecundante la adquieren durante su tránsito por el tracto reproductor del macho, en un proceso conocido como maduración espermática, y por el de la hembra, en un proceso conocido como capacitación.

1.2.1. Maduración espermática: ocurre en el epidídimo del macho e implica una serie de cambios en la membrana plasmática del espermatozoide. En este proceso se produce una reorganización lipídica y proteica que le confiere al espermatozoide nuevas propiedades antigénicas, además de adquirir la movilidad necesaria para la fecundación².

1.2.2. Capacitación espermática: los espermatozoides maduros son móviles pero aún no pueden fecundar a un ovocito. Esta habilidad la adquieren en el tracto reproductor de la hembra e implica una serie de cambios fisiológicos (estructurales y bioquímicos) conocidos como capacitación espermática que le confieren al espermatozoide la capacidad de llevar a cabo la reacción acrosomal para la posterior

fecundación². Algunas de las alteraciones descriptas durante este proceso son: cambios en la composición y fluidez de la membrana por la remoción de moléculas de colesterol de la misma; remoción, redistribución y/o aparición de proteínas en la superficie espermática; incremento del Ca²⁺ intracelular; incremento del pH citoplasmático; activación de canales iónicos y generación de especies reactivas del oxígeno^{3,4}.

Además el aumento de proteínas fosforiladas en residuos tirosina es un proceso que se encuentra directamente asociado a la capacitación y es modulado por una vía dependiente de AMPc³.

1.2.3. Hiperactivación: durante la capacitación se observa un cambio en el patrón de movilidad de los espermatozoides. Este proceso denominado hiperactivación se caracteriza por ser un movimiento de alta amplitud del flagelo asociado a un batido asimétrico del mismo².

Aunque el movimiento flagelar se activa cuando el espermatozoide es liberado del epidídimo caudal, este proceso es más notorio después de la inseminación: cuando el espermatozoide alcanza el istmo del oviducto e inicia un movimiento asimétrico, amplio y acelerado del flagelo, lo que lo lleva a moverse en círculos y lo ayuda a liberarse de las criptas oviductales para avanzar a través del lumen y alcanzar la ampolla, atravesar el cúmulo oóforo y unirse a la zona pelúcida del ovocito².

1.2.4. Reacción acrosomal: es un evento exocitótico que involucra la fusión de la membrana plasmática del espermatozoide con la membrana externa del acrosoma en la zona apical de la cabeza con la consecuente liberación del contenido enzimático².

2. Tránsito de los espermatozoides por el tracto reproductor femenino

El sitio de deposición del semen en la hembra varía entre los mamíferos. En primates y rumiantes el semen es eyaculado y depositado en la región de la vagina más cercana al cérvix (Figura 2). En minutos sólo aquellos espermatozoides que poseen morfología normal y son móviles pueden atravesar el cérvix y movilizarse a través del mucus cervical el cual actúa como barrera física. La mucosa del cérvix de bovinos presenta pliegues que forman canales orientados hacia la cavidad uterina. Los espermatozoides viajan por esos canales hasta el útero, evadiendo al sistema inmune de la hembra⁵.

En el útero, un gran número de espermatozoi-

des es eliminado post-inseminación pero no se conocen con exactitud los mecanismos involucrados en este proceso. Una de las posibles causas es la eliminación por el sistema inmune de la hembra. El rápido transporte de los espermatozoides por el útero debido a las contracciones del miometrio podrían prolongar la viabilidad y evitar el contacto de los mismos con el sistema inmunológico de la hembra para llegar al oviducto y asegurar la fecundación antes que ocurra una infiltración significativa de leucocitos en el útero⁶.

Una vez en el oviducto, los espermatozoides se unen a las células epiteliales de la región inferior del mismo (istmo) para formar lo que se conoce como reservorio oviductal (Figura 2), hasta que las señales relacionadas con la ovulación inducen la liberación de los espermatozoides hasta la región superior del oviducto (ampolla), donde ocurre la fecundación.

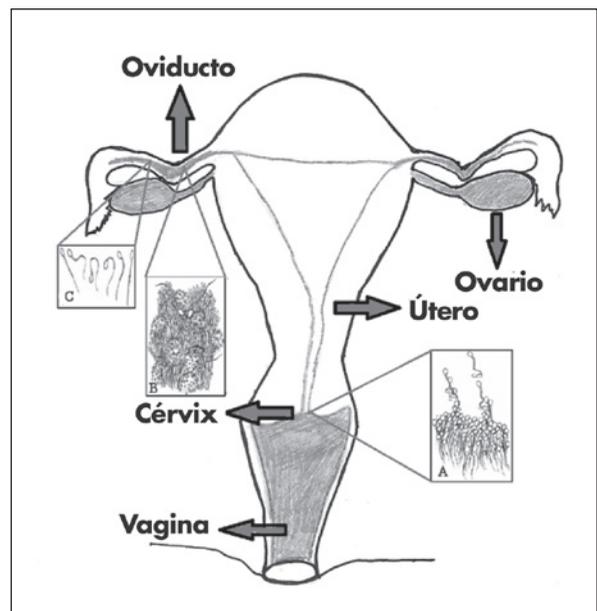


Figura 2: Tránsito de los espermatozoides por el tracto reproductor femenino. Durante la cópula los espermatozoides son depositados en la vagina, una vez allí atraviesan el cérvix hacia el útero (detalle panel A). Luego ascienden hasta llegar al oviducto donde se unen a las células epiteliales del mismo y forman el reservorio oviductal (detalle panel B). Frente a señales asociadas a la ovulación, los espermatozoides se liberan del istmo y se desplazan hacia la ampolla que es el sitio donde ocurre el encuentro con el ovocito (detalle panel C). Modificado de Ref.⁶.

2.1 Estructura y función del oviducto de mamíferos

El oviducto de mamíferos es un órgano tubular que conecta el ovario con el útero. Anatómicamente el oviducto presenta tres regiones: infundíbulo, ampolla e istmo (Figura 3).

El infundíbulo tiene forma de embudo y conecta el ovario con el oviducto. En su extremo distal posee prolongaciones digitiformes denominadas fimbrias.

La ampolla se extiende desde el infundíbulo hasta la unión ampolla-istmo. Esta región presenta una gran cantidad de pliegues y de superficie epitelial lo que favorece la secreción de moléculas hacia el lumen y el proceso de extravasación de sustancias a partir del plasma sanguíneo. La unión ampolla-istmo actúa como un esfínter funcional que controla el transporte del oocito hacia el útero⁷.

El istmo forma el tercio proximal del oviducto y se encuentra adyacente al útero. Histológicamente se caracteriza por poseer una porción muscular engrosada organizada en varias capas y el epitelio presenta pocos pliegues.

El sitio de unión con el útero se denomina unión útero-tubaria. Esta región se caracteriza por su estrechez, resultado de la gruesa capa muscular de su pared siendo una nueva barrera física que deben atravesar los espermatozoides.

La pared oviductal está compuesta por tres capas: una serosa externa, una capa muscular doble intermedia y una capa epitelial interna denominada mucosa (Figura 3). La mucosa consiste en un epitelio cilíndrico simple sobre un estroma de tejido conjuntivo vascularizado. El epitelio está compuesto por células ciliadas y células secretoras. Además la mucosa está organizada formando pliegues hacia la luz del oviducto los cuales van incrementando su complejidad desde la unión útero-tubaria hacia el extremo del infundíbulo (Figura 3).

El oviducto se encuentra completamente inervado por fibras nerviosas autónomas simpáticas y la mayor inervación se encuentra en la capa de musculatura circular del istmo, siendo éste un posible mecanismo de regulación de la permeabilidad del oviducto⁷.

Además el oviducto se encuentra asociado a un sistema vascular local constituido por la arteria ovárica de la cual se desprende la rama oviductal (Figura 4) que se ramifica en numerosas arteriolas formando una red vascular que irriga el istmo oviductal⁷.

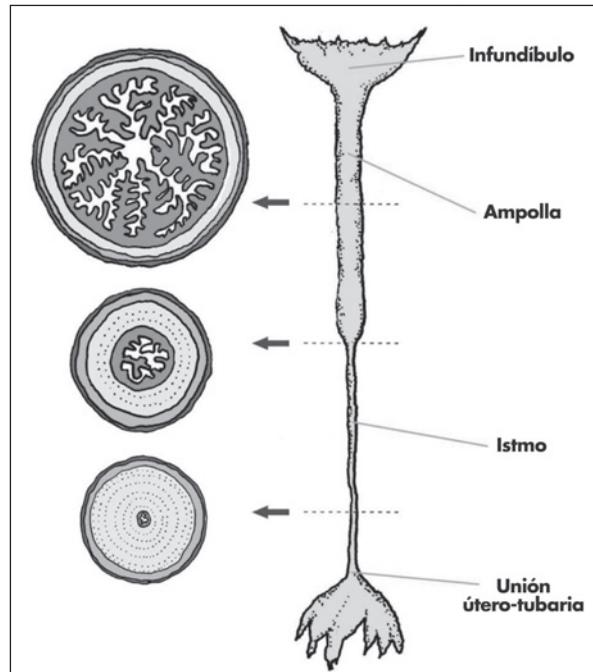


Figura 3: Representación esquemática del oviducto de mamíferos. Infundíbulo: región próxima al ovario; ampolla: posee una delgada capa muscular y una mucosa muy desarrollada; istmo: región con la musculatura circular engrosada y una mucosa simple, lugar donde se forma el reservorio oviductal; unión útero-tubaria: región estrecha que conecta al oviducto con el útero.

De esta manera, algunas moléculas producidas por el ovario que ingresan a la vena ovárica, pasan por un sistema de contra-corriente a la arteria ovárica hasta la rama oviductal alcanzando el oviducto. Por ejemplo, las hormonas producidas en los folículos ováricos maduros llegan a las arteriolas del oviducto ipsilateral al ovario, coordinando los cambios en el epitelio y la funcionalidad del mismo sincrónicamente con la maduración del folículo⁷.

Entre las diversas funciones del oviducto pueden mencionarse: el transporte de las gametas, la finalización de la capacitación espermática, la fecundación, el desarrollo de los primeros estadios embrionarios y el transporte sincronizado del embrión hacia el útero para su posterior implantación.

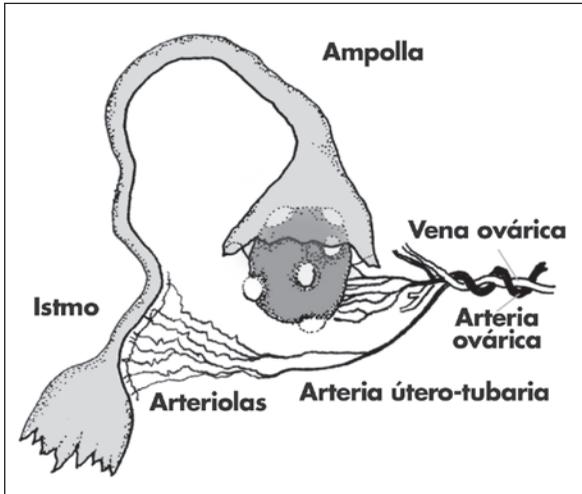


Figura 4: Representación esquemática del sistema vascular relacionado al oviducto. Es posible el pasaje de componentes desde la vena ovárica hacia la arteria ovárica mediante un sistema de contra-corriente. Modificado de Ref.⁷.

3. Interacción espermatozoide-tracto reproductor de la hembra

En los mamíferos, el tracto reproductor de la hembra interactúa de diversas maneras con los espermatozoides seleccionando los más aptos a fin de garantizar el éxito de la fecundación. La interacción de los espermatozoides con el tracto reproductor de la hembra puede ser física o molecular. Las interacciones físicas son aquellas que modifican la movilidad y la migración de los espermatozoides en respuesta a la microarquitectura de las paredes y al flujo y la viscosidad de fluidos presentes en el tracto de la hembra. Las interacciones moleculares incluyen la “comunicación” entre moléculas de la superficie del espermatozoide y del epitelio en el tracto femenino⁵.

3.1 Interacciones físicas

3.1.1 Superficies: la arquitectura de las diferentes superficies celulares puede afectar la dirección del movimiento de los espermatozoides. In vitro, los espermatozoides no presentan un movimiento aleatorio y tienden a agruparse en distintas superficies como vidrio y plástico. En un plano horizontal y en presencia de paredes laterales, los espermatozoides tienden a desplazarse y agruparse en las esquinas⁵.

Las paredes del tracto reproductor femenino son más complejas que la superficie de un portaobjeto o las utilizadas in vitro. Denissenko et al. diseñaron microcanales confeccionados con polidimetilsiloxano de diversas configuraciones y evalua-

ron cómo las diferentes superficies curvas y ángulos afectan el movimiento de los espermatozoides⁸. Existe una semejanza entre el modelo in vitro desarrollado por Denissenko y la superficie interior de la unión útero-tubaria bovina lo que sugiere que la arquitectura de las paredes de dicha unión, y también las del oviducto, podrían tener influencia en el tránsito de las gametas y de los embriones.

3.1.2. Fluidos: los fluidos del tracto reproductor de la hembra no se encuentran en un estado estático. El flujo de los mismos está regulado por el batido ciliar de las células epiteliales, las contracciones del músculo liso y las secreciones del tracto hacia el lumen⁵. Cuando la velocidad del flujo de los fluidos se mantiene en un rango bajo, los espermatozoides se orientan y migran en dirección contraria al mismo. Por debajo de este rango el movimiento no se ve afectado, y por encima, los espermatozoides se mueven en dirección al flujo⁹.

La viscoelasticidad es otra característica de los fluidos que puede afectar el movimiento de los espermatozoides dentro del tracto. Los espermatozoides se enfrentan a fluidos viscosos como el mucus cervical, el fluido oviductal y la matriz del cúmulus oóforo, los cuales poseen diferentes propiedades elásticas⁵. Los fluidos viscoelásticos reducen la velocidad de la movilidad progresiva de los espermatozoides y pueden afectar el batido de la cola y en consecuencia la trayectoria de los mismos.

A partir de la evidencia experimental existente hasta el momento, se puede concluir que tanto la microarquitectura de las superficies del tracto femenino como las características de los fluidos afectarían la migración de los espermatozoides.

3.2 Interacciones moleculares

Como se mencionó anteriormente, las interacciones moleculares son aquellas que se establecen entre moléculas presentes en la superficie de los espermatozoides con las del epitelio del tracto femenino.

3.2.1. Interacción con el epitelio del útero: si bien las interacciones moleculares fueron descritas principalmente en el epitelio que reviste la unión útero-tubaria y el del oviducto, algunos trabajos reportan la interacción de espermatozoides con el epitelio endometrial y/o uterosomas. En cerdos, se han encontrado espermatozoides intactos, viables y móviles unidos al epitelio del útero. Esta unión sería independiente de lectinas¹⁰. También fueron

descriptas vesículas en el fluido del útero de ratón denominadas “uteromas” las cuales se unirían al acrosoma y a la pieza media de los espermatozoides durante su recorrido por el tracto y le transferirían proteínas a su membrana¹¹.

3.2.2. Interacción con el epitelio de la unión útero-tubaria: la unión útero-tubaria es la transición entre el útero y el istmo y es considerado un esfínter fisiológico. La anatomía de esta región varía considerablemente entre especies. Los espermatozoides atraviesan esta región como consecuencia de su movilidad más que por un efecto de las contracciones del tracto. Sin embargo, estudios recientes en ratón indican que la movilidad no es suficiente para permitir que los espermatozoides atraviesen esta región. Estudios previos desarrollados en diversos ratones *knock out* para proteínas que afectan la distribución y la expresión de la metaloproteasa 3 (ADAM 3) indican que los espermatozoides deficientes en estas proteínas poseen una morfología aparentemente normal, pero no son capaces de atravesar la unión útero-tubaria¹². Estos resultados sugieren que proteínas de la superficie espermática interactúan con el epitelio de esta región o que le confieren a los espermatozoides la capacidad de atravesarla.

3.2.3. Interacción con el epitelio oviductal: el almacenamiento de los espermatozoides en el tracto reproductor femenino es una estrategia reproductiva que parece haber surgido repetidamente a lo largo de la filogenia. Esta estrategia reproductiva evolucionó en forma independiente en insectos, peces, reptiles, anfibios, aves y mamíferos. Se cree que el valor adaptativo de la formación de un reservorio espermático radica en solucionar el problema de la asincronía que existe entre el momento de la cópula y la ovulación, que puede ocurrir en un rango de horas (en la mayoría de los mamíferos) hasta días, meses e incluso años en algunos reptiles¹³. Esta estructura transitoria fue descrita por primera vez en el hámster por los investigadores Chang y Yanagimachi en el año 1963¹⁴ y posteriormente en una gran variedad de especies, entre ellas: conejos, porcinos, ovinos y bovinos⁵. En humanos, aún no es clara la existencia del reservorio oviductal debido a las limitaciones éticas y técnicas para desarrollar los experimentos in vivo. Sin embargo, existen trabajos que demuestran la posible formación del reservorio en el oviducto de esta especie, los cuales serán desarrollados más adelante (Ver: 6. Estudios realizados en humanos).

La mayoría de los espermatozoides que llega al istmo oviductal se une a las células epiteliales del mismo formando lo que se conoce como “reservorio oviductal”. Este reservorio representa más que una simple unión de los espermatozoides a las células epiteliales ya que esta interacción afecta directamente la viabilidad y la función espermática manteniendo la fertilidad de los mismos. Varios autores demostraron que la incubación de los espermatozoides (humanos, bovinos, porcinos y ovinos) con vesículas formadas por membrana del epitelio del istmo prolonga la viabilidad y movilidad de los mismos, mantiene bajos los niveles de Ca^{2+} intracelular y retrasa la capacitación espermática^{5,13}. Más aún, la incubación de espermatozoides con cultivos primarios de células epiteliales del oviducto mantiene la viabilidad de las gametas al menos por 48 horas de cultivo¹⁵.

La adhesión al oviducto es un mecanismo clave en la selección de subpoblaciones de espermatozoides de alta calidad⁵: los espermatozoides que se unen al epitelio oviductal se caracterizan por presentar acrosoma intacto, estado no capacitado, bajo contenido de Ca^{2+} intracelular libre, morfología adecuada y estructura normal de la cromatina^{5,13}; en resumen, poseen todas aquellas características que indican que son espermatozoides con capacidad fecundante.

Al llegar al oviducto, los espermatozoides son mantenidos allí hasta el momento de la ovulación en el que un pequeño número es liberado permitiendo el encuentro de los mismos con el ovocito. El proceso de liberación del epitelio oviductal ocurre en forma gradual en el que diferentes subpoblaciones de espermatozoides son liberadas en el tiempo reduciendo las posibilidades de polispermia y de iniciar tempranamente el proceso de reacción acrosomal⁵.

4. Reservorio oviductal

Como se mencionó anteriormente, la formación del reservorio ocurre mediante la unión de los espermatozoides a las células ciliadas del epitelio oviductal. En todas las especies estudiadas hasta el momento, el proceso de unión de los espermatozoides a las células epiteliales está mediado por residuos de azúcares presentes en las células epiteliales y proteínas de la familia de las lectinas ubicadas en la cabeza de los espermatozoides.

4.1. Moléculas presentes en el oviducto que intervienen en la formación del reservorio oviductal

Varias moléculas presentes tanto en el epitelio como en el fluido oviductal regulan la interacción espermatozoide-oviducto modulando la función espermática.

Durante la formación del reservorio, los espermatozoides se unen a las células epiteliales del oviducto a través de un proceso reversible que involucra reconocimiento de oligosacáridos de la membrana apical de las células epiteliales del oviducto¹⁶ con lectinas dependientes de Ca^{2+} de la membrana del espermatozoide¹⁷. En todas las especies estudiadas hasta el momento se ha demostrado la participación de diferentes residuos glicosídicos en dicho proceso: ácido siálico y fetuina en hámsters, galactosa o glicoproteínas con residuos galactosilos en equinos, manosil-oligosacáridos en porcinos, fucosa en bovinos y galactosa, y N-acetilgalactosamina en camélidos sudamericanos^{5,18}.

El fluido oviductal contiene glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa involucradas en la regulación del balance redox, el cual es importante para la movilidad y viabilidad espermática¹⁹. Por otro lado, el oviducto expresa diversas proteínas como la oviductina y la osteopontina, entre otras, que se unen a los espermatozoides. No es clara la función de ambas pero se ha observado un incremento en la fosforilación en residuos tirosina en espermatozoides de ratón incubados in vitro con oviductina y una disminución de la polispermia en estudios de fecundación in vitro en presencia de osteopontina¹³.

En la especie bovina, se han propuesto a las proteínas de la familia de las anexinas (ANXA1, 2, 4 y 5) presentes en las cilias de las células epiteliales del oviducto como receptoras de los espermatozoides⁵. Las ANXAs, que contienen fucosa, se unen con gran afinidad a la heparina y a los glicosaminoglicanos relacionados y están presentes en la superficie apical del epitelio del oviducto. En porcinos, la ANXA2 sería la glicoproteína que participaría en la unión del espermatozoide al oviducto²⁰.

Por otro lado, ciertas proteínas solubles del fluido oviductal como las chaperonas HSP70 en cerdos, también regularían la formación del reservorio²⁰.

Recientemente fue descrita la incorporación de proteínas integrales al espermatozoide por fusión de sus membranas con exosomas secretados por el oviducto, denominados "oviductosomas"^{13,21}.

4.2. Moléculas presentes en los espermatozoides que intervienen en la formación del reservorio oviductal

Hasta el momento, las proteínas que participan en la adhesión de los espermatozoides al oviducto han sido descritas principalmente en bovinos y porcinos.

En bovinos, tres proteínas de la familia de proteínas del plasma seminal bovino "*Binder of Sperm*" (BSP) han sido purificadas y bien caracterizadas: BSP1, BSP3 y BSP5 (previamente denominadas PDC-109 o BSP-A1/A2, BSP-A3 y BSP-30 kDa respectivamente). La BSP1 es una proteína ácida pequeña que une heparina que es secretada por las vesículas seminales y cubre la membrana plasmática en la región post-acrosomal del espermatozoide asociándose a fosfolípidos de membrana que contienen colina. En el oviducto, la BSP1 ligada a la superficie de los espermatozoides reconoce residuos fucosilados presentes en las células epiteliales del mismo. Esta interacción permite la adhesión de los espermatozoides al epitelio contribuyendo de esta manera a la formación del reservorio⁶. Las otras proteínas BSP3 y BSP5 favorecen la unión de los espermatozoides al epitelio oviductal bovino²².

Proteínas homólogas a las BSP han sido purificadas y caracterizadas a partir del plasma seminal de cerdo, cabra, oveja, visón y caballo²³. Por ejemplo, en cerdo fue descrita la adhesina AQN1 la cual reconoce carbohidratos como manosa y galactosa, y también a la proteína de adhesión DQH la cual posee sitios de reconocimiento para heparina. Ambas moléculas regularían la interacción espermatozoide-oviducto en esta especie²⁰. A su vez, se han identificado secuencias de ADN homólogas a estas proteínas en el genoma de humanos, ratón, rata, perro y chimpancé, y proteínas epididimarias que tendrían funciones similares a las BSP en conejo, ratón y humanos⁵.

5. Liberación de los espermatozoides del epitelio oviductal

Si bien aún no se conocen en detalle los mecanismos moleculares que intervienen en la liberación de los espermatozoides del reservorio oviductal, se sabe que este proceso es modulado por el ciclo estral de la hembra, siendo mayor la liberación en el momento periovulatorio⁵. Se han propuesto varias hipótesis para la liberación de los espermatozoides del oviducto. La mayoría de ellas apunta a cambios que ocurren en los espermatozoides durante su almacenamiento en el reservorio ya que se ha

demostrado que no se producen cambios en la exposición de los residuos glicosilados expuestos en el epitelio oviductal durante el período periovulatorio⁶. Sin embargo, es interesante destacar que luego del apareo natural se produce una modificación en la expresión génica del oviducto murino y porcino respecto a la que presenta el órgano durante el estro^{24,25}. Esto sugiere que la entrada de los espermatozoides al oviducto, induce la activación de una o varias vías de señales de transducción modificando el transcriptoma oviductal.

Por otro lado, la capacidad de unión de los espermatozoides capacitados al epitelio oviductal es menor respecto de los no capacitados. Por ello es que entre los mecanismos de liberación propuestos se encuentran los cambios que ocurren en la membrana de la cabeza de los espermatozoides durante la capacitación espermática, cambios en el patrón de movilidad que ocurren en los espermatozoides durante la hiperactivación o una combinación de ambos^{5,26}. Durante el período peri-ovulatorio se produce un influjo de iones de Ca^{2+} desde el fluido oviductal hacia los espermatozoides que se encuentran unidos al oviducto. Se postula que este remodelado de la membrana podría modificar la exposición de las moléculas de unión entre los espermatozoides y el epitelio oviductal²⁶. En concordancia con estos resultados, Revah et al. demostraron que durante la capacitación espermática en bovinos se pierden o modifican proteínas de la membrana disminuyendo la afinidad por los residuos fucosilados del oviducto²⁷. A su vez, Gwathmey et al. comprobaron que durante la capacitación espermática en bovinos desaparece la proteína BSP1 de la cabeza del espermatozoide²⁸. A partir de estos resultados, estos autores propusieron que la pérdida de las diferentes BSPs durante la capacitación sería un mecanismo de liberación de los espermatozoides del oviducto. Estudios posteriores de interacción demostraron que la unión y liberación de las BSP espermáticas a las ANXAS oviductales es un evento dinámico y complejo en el que los espermatozoides se unen y liberan varias veces del reservorio. Se propone además que durante la hiperactivación, los espermatozoides adquieren un patrón de movilidad particular que les confiere la fuerza apropiada para despegarse del epitelio oviductal y desplazarse hacia la ampolla^{5,26}. Recientemente se han propuesto hipótesis alternativas para la liberación de los espermatozoides. La primera de ellas se basa en la detección de la actividad de glicosidasas dependiente del ciclo estral en el fluido oviductal de bovinos y porcinos²⁶.

Estas enzimas podrían actuar sobre residuos glicosilados específicos necesarios para mantener la unión de los espermatozoides al oviducto y de esta manera promover la liberación de los mismos del reservorio²⁶. Otra hipótesis surgió a partir de las investigaciones realizadas en oviductos porcinos que indican que las células epiteliales del mismo secretan una proteína que puede unirse a residuos glicosilados la cual podría competir con los espermatozoides por los sitios de unión al epitelio oviductal regulando, de esta manera, el proceso de liberación²⁶.

5.1 Moléculas involucradas en la liberación de los espermatozoides del reservorio oviductal

Hasta el momento es escasa la información acerca de las moléculas presentes en el oviducto que desencadenan estos mecanismos de liberación. Existen evidencias en porcinos que indican que tanto el complejo cúmulo-ovocito como las hormonas ováricas influyen en la liberación de los espermatozoides del reservorio oviductal⁷.

Por otro lado, los glicosaminoglicanos sulfatados (como la heparina y el fucoidan) son potentes inductores de la liberación de los espermatozoides del oviducto y modulan progresivamente la capacitación espermática en bovinos⁶. Es interesante destacar que estas moléculas, entre otras, están presentes en el fluido oviductal bovino y son reguladas por el ciclo estral, encontrándose su mayor concentración en el momento periovulatorio. Aún se desconoce el origen de estas moléculas inductoras in vivo; las mismas podrían ser secretadas por el epitelio oviductal bajo la influencia de hormonas, estar presentes en los complejos cúmulo-ovocito o provenir del fluido folicular⁷. Recientemente se ha demostrado que medios condicionados provenientes de monocapas de células epiteliales del oviducto promueven la liberación de espermatozoides unidos a explantos oviductales, indicando que el epitelio oviductal secreta factores solubles aún desconocidos que participan en la regulación de la interacción espermatozoide-oviducto²⁹. Es interesante destacar que las proteínas BSP espermáticas poseen sitios de unión a heparina y la incubación de los espermatozoides con este glicosaminoglicano produce la remoción de las BSP de la membrana plasmática de los mismos con disminución de la afinidad por residuos fucosilados²⁸.

La participación de moléculas lipídicas en la regulación de la interacción espermatozoide oviducto ha sido poco estudiada.

En nuestro laboratorio hemos descrito la participación de mediadores lipídicos como los endocannabinoides en la regulación de la liberación de los espermatozoides del oviducto en bovinos. Para ello desarrollamos diferentes modelos *in vitro* para estudiar la interacción espermatozoide-oviducto y la selección espermática por este órgano en bovinos (Figura 5).

El sistema endocannabinoide está compuesto por los endocannabinoides derivados de los fosfolípidos de membrana, como la anandamida, las enzimas de síntesis y degradación de los mismos y los receptores de cannabinoides tipo 1 y tipo 2 (CB1 y CB2) y de vanilloides (TRPV1). Nuestros estudios indican que tanto los espermatozoides como las células epiteliales del oviducto expresan los receptores CB1, CB2 y TRPV1 en bovinos^{30,31}.

Recientemente demostramos que el fluido oviductal bovino contiene concentraciones nanomolares de anandamida, las cuales fluctúan durante el ciclo estral encontrándose los mayores niveles durante el período periovulatorio³².

La anandamida puede ser incorporada por los espermatozoides a través de transportadores putativos o por difusión, o activar a los receptores de CB1 y CB2 y/o a los TRPV1 regulando la función espermática³³. Estudios realizados en humanos y porcinos sugieren la posible existencia de un gradiente de anandamida en el oviducto que apoya la participación de endocannabinoide en la regulación de la función espermática^{33,34}. Además hemos demostrado que concentraciones nanomolares de anandamida inhiben la unión y/o liberan a los espermatozoides de las células epiteliales del oviducto mediante la activación de los receptores CB1 y/o TRPV1 pero no de los receptores CB2³⁰. En este sistema, la anandamida actúa incrementando los niveles de óxido nítrico y de Ca²⁺ espermáticos^{35,36}.

Asimismo estudios posteriores realizados en nuestro laboratorio indicaron que las hormonas ováricas (estradiol y progesterona) inducen la liberación de los espermatozoides del epitelio oviductal bovino (Figura 6).

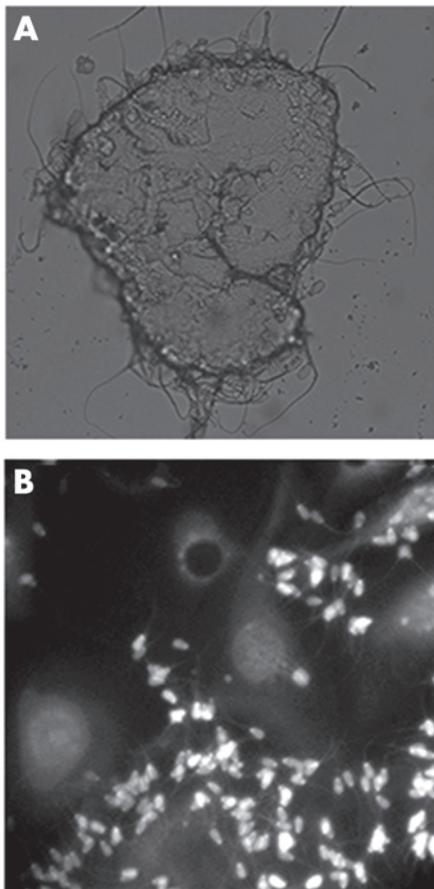


Figura 5: Modelos de cocultivos espermatozoides (ESP)-células epiteliales del oviducto (CEO) en bovinos. A) Cocultivos explantos CEO-ESP, (400X); B) cocultivos monocapa CEO-ESP marcados con Hoechst, (150X).

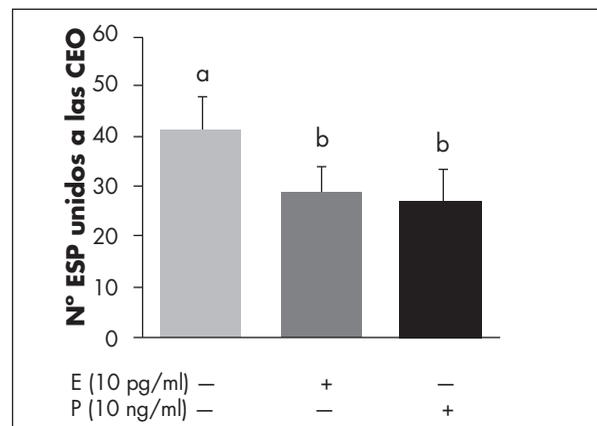


Figura 6: Liberación de los espermatozoides de las CEO (células epiteliales oviductales) en presencia de hormonas ováricas. Los cocultivos espermatozoides-CEO fueron incubados durante 2 horas con las hormonas E (estradiol), P (progesterona) (n=10). Los resultados se expresan como N° de espermatozoides (ESP) promedio unidos a las CEO. a≠b, p<0,05.

El mecanismo de acción de estradiol involucra la activación de los receptores CB1 y/o TRPV1 ya que su efecto fue revertido por la incubación con los antagonistas de ambos receptores (Figuras 7A y 8A), sugiriendo que dicha hormona estaría activando una vía que favorece la activación de estos receptores o regulando el metabolismo de la anandamida.

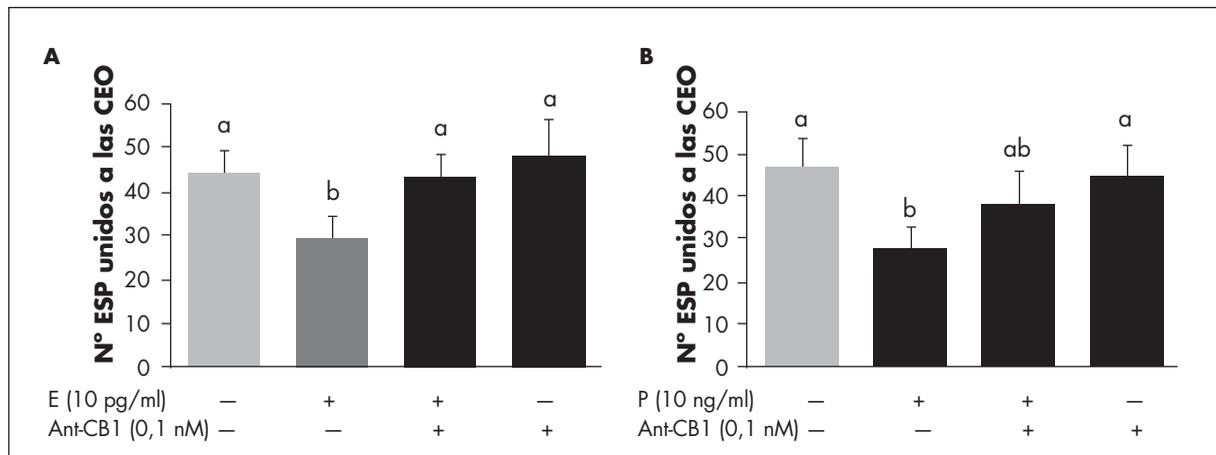


Figura 7: Liberación de los espermatozoides de las CEO con hormonas ováricas en presencia de antagonista de CB1. A) Efecto del antagonista de CB1 (Ant-CB1) sobre la liberación con E (estradiol), (n=6). B) Efecto del Ant-CB1 sobre la liberación con P, (progesterona) (n=5). Los resultados se expresan como N° de espermatozoides (ESP) promedio unidos a las células epiteliales del oviducto (CEO). $\alpha \neq b$, $p < 0,05$.

Por otro lado, la acción de la progesterona sobre la liberación de los espermatozoides del epitelio oviductal bovino no parecería estar mediada por anandamida ya que los antagonistas utilizados no revierten el efecto de la hormona (Figuras 7B y

8B). Esto sugiere que la progesterona podría inducir la liberación de los espermatozoides del oviducto mediante un mecanismo de acción alternativo que no involucra a la anandamida.

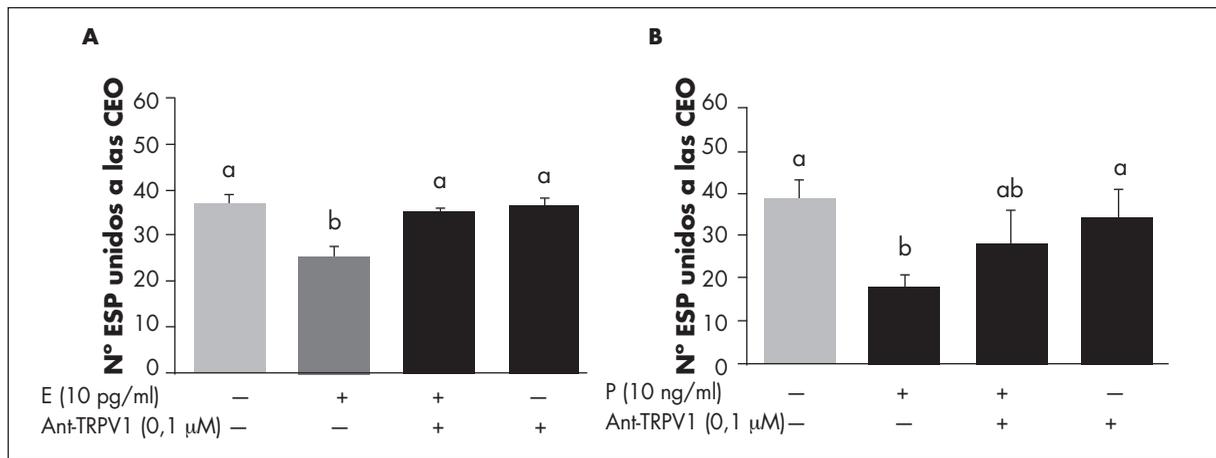


Figura 8: Liberación de los espermatozoides de las CEO con hormonas ováricas en presencia de un antagonista de TRPV1. A) Efecto de un antagonista de TRPV1 (Ant-TRPV1) sobre la liberación con E (estradiol), (n=7). B) Efecto de Ant-TRPV1 sobre la liberación con P (progesterona), (n=6). Los resultados se expresan como N° de espermatozoides (ESP) promedio unidos a las células epiteliales del oviducto (CEO). $\alpha \neq b$, $p < 0,05$.

En espermatozoides humanos la progesterona activa diversas vías moleculares las cuales involucran incremento de Ca^{2+} y de AMPc, entre otros³⁷.

Recientemente se ha descrito que la progesterona aumenta los niveles de Ca^{2+} y promueve la hiperactivación de los espermatozoides de humanos y de hámster³⁷. Por lo tanto, en nuestro modelo la progesterona podría incrementar el Ca^{2+} intracelular e hiperactivar la movilidad de los espermatozoi-

des favoreciendo la liberación de los mismos del epitelio oviductal.

6. Estudios realizados en humanos

El reservorio oviductal en humanos aún no ha sido demostrado debido a las dificultades metodológicas y éticas para llevar a cabo una investigación in vivo. Es por ello que la mayoría de los trabajos que sugiere la existencia del mismo y la importan-

cia de la unión de los espermatozoides al oviducto se basa en experimentos *in vitro*.

Existe un único estudio *in vivo* que apoya el concepto de reservorio oviductal en el oviducto humano donde se han encontrado espermatozoides unidos a este órgano 18 horas post-inseminación³⁸.

Inicialmente en 1989, Lippes y Wagh incubaron espermatozoides con la fracción proteica del fluido oviductal humano. Este trabajo fue la primera evidencia en esta especie de que las proteínas oviductales se adhieren a la superficie espermática³⁹. En 1995, Pacey et al. fueron los primeros en realizar cocultivos de explantos provenientes de oviductos con espermatozoides en humanos. Estos estudios indican que la unión de espermatozoides con acrosoma intacto a las cilias de las células epiteliales es resistente a una serie de lavados y al proceso de fijación, sugiriendo un contacto directo entre ambos tipos celulares⁴⁰. Estos resultados fueron confirmados recientemente utilizando oviductos enteros inseminados *in vitro* mediante microscopía electrónica de barrido⁴¹.

Posteriormente numerosos trabajos se enfocaron en la regulación de la capacidad fecundante de los espermatozoides por el oviducto. Reeve et al. han observado un menor número de espermatozoides unidos a explantos de oviductos provenientes de pacientes con endometriosis, proponiendo esta deficiencia como una de las posibles causas de infertilidad de mujeres con esta patología⁴². Por otro lado, se describió que la incubación de espermatozoides con secreciones del oviducto, modifica la afinidad de unión a la zona pelúcida de los mismos⁴³. Resultados similares fueron obtenidos a partir de estudios de cocultivos de espermatozoides con cultivos de células epiteliales oviductales donde a pesar de que no se observaron cambios en el patrón de movilidad espermática, el número de espermatozoides unidos a hemizonas humanas fue mayor cuando los mismos se cocultivaron con células del oviducto⁴⁴.

A su vez, el medio condicionado obtenido a partir de cultivos de explantos oviductales disminuye los eventos asociados a la capacitación espermática y la reacción acrosomal e incrementa la movilidad, sugiriendo que proteínas del fluido oviductal podrían estabilizar la membrana de los espermatozoides evitando que los mismos inicien el proceso de capacitación espermática en momentos previos a la ovulación⁴⁵.

A diferencia de estudios realizados en otros ma-

míferos, las proteínas que participan en la unión de los espermatozoides al oviducto en humanos, aún no han sido dilucidadas y son pocos los trabajos al respecto. Por un lado, se ha propuesto el reconocimiento de la secuencia aminoacídica RGD (secuencia común de unión a integrinas presente en diversas glicoproteínas) y a las integrinas como posibles mediadores de la interacción entre el espermatozoide y el oviducto en esta especie⁴⁶.

A su vez, chaperonas como Grp78 presentes en el fluido oviductal, interaccionarían con los espermatozoides modulando la unión de los mismos con la zona pelúcida⁴⁷. Otras proteínas descritas en oviducto y fluido oviductal humano que podrían estar involucradas en la interacción del espermatozoide con el epitelio oviductal son la oviductina y lactoferrina. Ambas modificarían la capacidad de unión de los espermatozoides a la zona pelúcida⁴⁸.

Por otro lado, recientemente Huang et al. han demostrado que proteínas de membrana de una línea celular inmortalizada de epitelio oviductal humano (OE-E6/E7), interactúan con los espermatozoides humanos y los protege del daño inducido por las especies reactivas del oxígeno, dado que inducen la activación de enzimas antioxidantes del espermatozoide, como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa⁴⁹. Posteriormente el mismo grupo estudió la participación de la enzima fucosil transferasa espermática en la unión al oviducto. Esta molécula que se encuentra en el acrosoma, y que es receptora de glicodelina y de glicoproteínas de la zona pelúcida, participa en la unión al epitelio oviductal humano y mediaría el efecto protector del oviducto contra el daño oxidativo espermático⁵⁰.

7. Conclusiones finales

Los espermatozoides sufren numerosos cambios fisiológicos luego de la eyaculación que optimizan su capacidad de fecundar con éxito a un ovocito. La hipótesis de que los espermatozoides interactúan con el entorno local no es un concepto nuevo. De hecho, la total capacidad de fecundar a un ovocito la adquieren y manifiestan durante su paso a través del tracto reproductor de la hembra. El tracto reproductor de la hembra interactúa con los espermatozoides a través de diferentes vías para facilitar su tránsito hacia el ovocito manteniendo la sobrevida hasta la ovulación y seleccionando a los espermatozoides de mejor calidad para la fecundación y el posterior desarrollo embrionario; sin embargo, gran parte de los componentes molecula-

res del microambiente en el que tienen lugar estos eventos aún es desconocido.

Los cambios bioquímicos y estructurales que sufren los espermatozoides tanto en la cabeza (capacitación espermática) como en la cola (hiperactivación) contribuyen a la capacidad de los espermatozoides para adherirse y fecundar al ovocito. Según la especie, los espermatozoides pueden permanecer en el oviducto durante varios días unidos a las células epiteliales, manteniendo la viabilidad y su potencial fecundante dado que esta unión retrasa la capacitación espermática hasta que señales relacionadas con la ovulación inducen la liberación de los mismos hacia el sitio de fecundación. La liberación del epitelio es concomitante con los cambios asociados a la capacitación e hiperactivación espermática.

La comprensión de los mecanismos moleculares que regulan la interacción espermatozoide-tracto reproductor de la hembra podría favorecer el desarrollo de métodos alternativos, como cultivos con células o fluidos del tracto reproductor de la hembra, para mejorar la selección fisiológica del espermatozoide en las técnicas de biotecnología de la reproducción en especies de importancia pecuaria y tomarse como punto de partida para mejorar la selección de los espermatozoides en las técnicas de reproducción asistida en humanos.

Agradecimientos:

Los autores agradecen a Daniel Rodríguez O'Toole y a Jorge Luis Osycka por los esquemas realizados para este trabajo, a Cabañas Las Lilas (Buenos Aires, Argentina), ALTA CIALE (Centro de Inseminación Artificial La Elisa, Buenos Aires, Argentina) y CIAVT (Centro de Inseminación Artificial Venado Tuerto, Santa Fe, Argentina) por el material bovino gentilmente donado y a las fuentes de financiación FONCYT y CONICET (PICT 2012-1195 y PIP 0496).

REFERENCIAS

1. Eddy EM. The spermatozoon. In: Neill JD, editor. *Knobil and Neill's - Physiology of Reproduction*. Third Ed. 2006. p. 3-53.
2. Yanagimachi R. Mammalian fertilization. In: J KEN, editor. *The Physiology of Reproduction*. 1994. p. 189-317.
3. Visconti PE, Krapf D, de la Vega-Beltrán JL, Acevedo JJ, Darszon A. Ion channels, phosphorylation and mammalian sperm capacitation. *Asian J. Androl.* 2011; 13:395-405.
4. De Lamirande E, O'Flaherty C. Sperm activation: role of reactive oxygen species and kinases. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Jan; 1784(1):106-15.

5. Suarez SS. Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. *Cell Tissue Res.* 2015 Jul 17.
6. Suarez SS. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int. J. Dev. Biol.* 2008; 52:455-62.
7. Hunter RHF. Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biol. Rev.* 2012 Feb 23; 87(1):244-55.
8. Denissenko P, Kantsler V, Smith DJ, Kirkman-Brown J. Human spermatozoa migration in microchannels reveals boundary-following navigation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012 May 22; 109(21):8007-10.
9. Tung C, Hu L, Fiore AG, Ardon F, Hickman DG, Gilbert RO, et al. Microgrooves and fluid flows provide preferential passageways for sperm over pathogen *Tritrichomonas foetus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015 Apr 28; 112(17):5431-6.
10. Taylor U, Rath D, Zerbe H, Schuberth HJ. Interaction of intact porcine spermatozoa with epithelial cells and neutrophilic granulocytes during uterine passage. *Reprod. Domest. Anim.* 2008 Apr; 43(2):166-75.
11. Griffiths GS, Galileo DS, Reese K, Martin-DeLeon P. Investigating the role of murine epididymosomes and uterosomes in GPI-linked protein transfer to sperm using SPAM1 as a model. *Mol. Reprod. Dev.* 2008 Nov; 75(11):1627-36.
12. Okabe M. Mechanisms of fertilization elucidated by gene-manipulated animals. *Asian J. Androl.* 2015; 17(4):646-52.
13. Miller DJ. Regulation of sperm function by pviduct fluid and the epithelium: insight into the role of glycans. *Reprod. Domest. Anim.* 2015 Jul; 50 Suppl 2:31-9.
14. Yanagimachi R, Chang MC. Sperm ascent through the oviduct of the hamster and rabbit in relation to the time of ovulation. *J. Reprod. Fertil.* 1963 Dec; 6(4):413-20.
15. Yeste M, Lloyd RE, Badia E, Briz M, Bonet S, Holt W V. Direct contact between boar spermatozoa and porcine oviductal epithelial cell (OEC) cultures is needed for optimal sperm survival in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 2009 Jul; 113(1-4):263-78.
16. DeMott RP, Lefebvre R, Suarez SS. Carbohydrates mediate the adherence of hamster sperm to oviductal epithelium. *Biol. Reprod.* 1995 Jun; 52(6):1395-403.
17. Suarez SS, Revah I, Lo M, Kölle S. Bull sperm binding to oviductal epithelium is mediated by a Ca²⁺-dependent lectin on sperm that recognizes Lewis-a trisaccharide. *Biol. Reprod.* 1998 Jul; 59(1):39-44.
18. Apichela SA, Valz-Gianinet JN, Schuster S, Jimenez-Diaz MA, Roldan-Olarte EM, Miceli DC. Lectin binding patterns and carbohydrate mediation of sperm binding to llama oviductal cells in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 2009/08/18 ed. 2010; 118(2-4):344-53.
19. Lapointe J, Bilodeau JF. Antioxidant defenses are modulated in the cow oviduct during the estrous cycle. *Biol. Reprod.* 2003 Apr; 68(4):1157-64.
20. Talevi R, Gualtieri R. Molecules involved in sperm-oviduct adhesion and release. *Theriogenology.* 2010 Apr 1; 73(6):796-801.
21. Al-Dossary A, Bathala P, Caplan JL, Martin-DeLeon P. Oviductosome-sperm membrane interaction in cargo delivery: detection of fusion and underlying molecular players using 3D super-resolution structured illumination microscopy (SR-SIM). *J. Biol. Chem.* 2015 May 28; 290(29):17710-23.
22. Gwathmey TM, Ignatz GG, Mueller JL, Manjunath P, Suarez SS. Bovine seminal plasma proteins PDC-109, BSP-A3, and BSP-30-kDa share functional roles in storing sperm in the oviduct. *Biol. Reprod.* 2006 Oct; 75(4):501-7.

23. Jois PS, Plante G, Thérien I, Manjunath P. Functional characterization of the domains of the bovine binder of SPERM 5 (BSP5) protein. *Reprod. Biol. Endocrinol. Reproductive Biology and Endocrinology*; 2015 Jan; 13(1):64.
24. Fazeli A. Sperm-induced modification of the oviductal gene expression profile after natural insemination in mice. *Biol. Reprod.* 2004 Jul 1; 71(1):60-5.
25. López-Úbeda R, García-Vázquez F, Romar R, Gadea J, Muñoz M, Hunter RHF, et al. Oviductal transcriptome is modified after insemination during spontaneous ovulation in the sow. *PLoS One.* 2015 Jan; 10(6):e0130128.
26. Coy P, García-Vázquez FA, Visconti PE, Avilés M. Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *Reproduction.* 2012. 144: 649-60.
27. Revah I, Gadella BM, Flesch FM, Colenbrander B, Suárez SS. Physiological state of bull sperm affects fucose and mannose-binding properties. *Biol. Reprod.* 2000 Apr; 62(4):1010-5.
28. Gwathmey TM. PDC-109 (BSP-A1/A2) Promotes bull sperm binding to oviductal epithelium in vitro and may be involved in forming the oviductal sperm reservoir. *Biol. Reprod.* 2003 May 28; 69(3):809-15.
29. Gualtieri R, Mollo V, Braun S, Barbato V, Fiorentino I, Talevi R. Bovine oviductal monolayers cultured under three-dimension conditions secrete factors able to release spermatozoa adhering to the tubal reservoir in vitro. *Theriogenology.* 2013 Feb; 79(3):429-35.
30. Gervasi MG, Rapanelli M, Ribeiro ML, Farina M, Billi S, Franchi AM, et al. The endocannabinoid system in bull sperm and bovine oviductal epithelium: role of anandamide in sperm-oviduct interaction. *Reproduction.* 2009; 137:403-14.
31. Gervasi MG, Osycka-Salut C, Caballero J, Vázquez-Levin M, Pereyra E, Billi S, et al. Anandamide capacitates bull spermatozoa through CB1 and TRPV1 activation. *PLoS One.* 2011 Jan; 6(2):e16993.
32. Gervasi MG, Marczylo TH, Lam PM, Rana S, Franchi AM, Konje JC, et al. Anandamide levels fluctuate in the bovine oviduct during the oestrous cycle. *PLoS One.* 2013 Jan; 8(8):e72521.
33. Maccarrone M, Barboni B, Paradisi A, Bernabó N, Gasperi V, Pistilli MG, et al. Characterization of the endocannabinoid system in boar spermatozoa and implications for sperm capacitation and acrosome reaction. *J. Cell Sci.* 2005 Oct 1; 118(Pt 19):4393-404.
34. Wang H, Dey SK, Maccarrone M. Jekyll and hyde: two faces of cannabinoid signaling in male and female fertility. *Endocr. Rev.* 2006 Aug; 27(5):427-48.
35. Osycka-Salut C, Gervasi MG, Pereyra E, Cella M, Ribeiro ML, Franchi AM, et al. Anandamide induces sperm release from oviductal epithelia through nitric oxide pathway in bovines. *PLoS One.* 2012/03/01 ed. 2012; 7(2):e30671.
36. Gervasi MG, Osycka-Salut C, Sanchez T, Alonso C, Lladós C, Castellano L, et al. Sperm release from the oviductal epithelium depends on Ca(2+) influx upon activation of CB1 and TRPV1 by anandamide. *J. Cell Biochem.* 2015 Jun 30.
37. Luconi M, Francavilla F, Porazzi I, Macerola B, Forti G, Baldi E. Human spermatozoa as a model for studying membrane receptors mediating rapid nongenomic effects of progesterone and estrogens. *Steroids.* 2004 Aug; 69(8-9):553-9.
38. Williams M, Hill CJ, Scudamore I, Dunphy B, Cooke ID, Barratt CLR. Sperm numbers and distribution within the human Fallopian tube around ovulation. *Hum. Reprod.* 1993; 8(12):2019-26.
39. Lippes J, Wagh P V. Human oviductal fluid (hOF) proteins. IV. Evidence for hOF proteins binding to human sperm. *Fertil Steril.* 1989 Jan; 51(1):89-94.
40. Pacey AA, Hill CJ, Scudamore W, Warren MA, Barratt CLR, Cooke ID, et al. The interaction in vitro of human spermatozoa with epithelial cells from the human uterine (Fallopian) tube. 1995; 10(2):360-6.
41. Vigil P, Salgado AM, Cortés ME. Ultrastructural interaction between spermatozoon and human oviductal cells in vitro. *J. Electron. Microsc. (Tokyo).* 2012 Apr; 61(2):123-6.
42. Reeve L, Lashen H, Pacey A. Endometriosis affects sperm-endosalpigeal interactions. *Hum. Reprod.* 2005 Feb; 20(2):448-51.
43. Munuce MJ, Serravalle A, Caille AM, Zumoffen C, Botti G, Cabada M, et al. Human tubal secretion can modify the affinity of human spermatozoa for the zona pellucida. *Fertil Steril.* 2009 Feb; 91(2):407-13.
44. Ziskind G, Paltieli Y, Eibschitz IZU, Ohel G. The effect of human Fallopian tube epithelium on human sperm velocity motility and binding. *Andrology.* 2000;17(3):3-6.
45. Zumoffen CM, Caille AM, Munuce MJ, Cabada MO, Ghersevich SA. Proteins from human oviductal tissue-conditioned medium modulate sperm capacitation. *Hum Reprod.* 2010/03/27 ed. 2010;25(6):1504-12.
46. Reeve L, Ledger W, Pacey A. Does the Arg-Gly-Asp (RGD) adhesion sequence play a role in mediating sperm interaction with the human endosalpinx? *Hum. Reprod.* 2003 Jul 1; 18(7):1461-8.
47. Marín-Briggiler CI, González-Echeverría MF, Munuce MJ, Ghersevich S, Caille AM, Hellman U, et al. Glucose-regulated protein 78 (Grp78/BiP) is secreted by human oviduct epithelial cells and the recombinant protein modulates sperm-zona pellucida binding. *Fertil Steril.* 2010 Mar 15; 93(5):1574-84.
48. Ghersevich S, Massa E, Zumoffen C. Oviductal secretion and gamete interaction. *Reproduction.* 2015 Jan; 149(1):R1-R14.
49. Huang VW, Zhao W, Lee C-L, Lee CYL, Lam KKW, Ko JKY, et al. Cell membrane proteins from oviductal epithelial cell line protect human spermatozoa from oxidative damage. *Fertil Steril.* 2013 Apr; 99(5):1444-1452.e3.
50. Huang V, Lee C, Lee Y, Lam K, Ko J, Yeunga W, et al. Sperm Fucosyltransferase-5 mediates spermatozoa-oviductal epithelial cell interaction to protect human spermatozoa from oxidative damage. *Hum. Reprod. Update.* 2015;(852):1-30.