



TRABAJO FIN DE MÁSTER

Importancia del ovocito en la óptima selección del espermatozoide durante la fecundación en humanos a partir de quimioatrayentes y carga genética

**Máster Universitario en Biología y Tecnología aplicada a la Reproducción
Humana Asistida**

Ángela Sánchez Simarro

Tutor: David Agudo Garcillán

Curso 2020/2021

Villaviciosa de Odón

A mis padres, por dármele todo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN AL OBJETO DE ESTUDIO.....	5
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
4. RESULTADOS.....	12
5. DISCUSIÓN.....	18
6. CONCLUSIONES.....	20
7. BIBLIOGRAFÍA.....	20

ABSTRACT

The oocyte does not have the passive role we have always thought. There are several selection mechanisms that have been discovered and they are only the beginning, since it is still not well known how fertilization occurs, how the gametes are related and recognized and the factors that influence the entire process.

Now we can affirm that the oocyte is not a passive element waiting to be fertilized, since it promotes the release of chemotactic substances that activate the sperm, the follicular fluid attracts them to the oocyte, in addition to having the ability to accept or reject sperm according to the genetic load of the male gamete.

This proves that reproduction is not unplanned, but is determined by the choice that the oocyte makes for the sperm, a phenomenon that has been called “genetically biased fertilization”.

RESUMEN

El ovocito no tiene el papel pasivo que nos han contado o que hemos pensado siempre. Son varios los mecanismos de selección que se han descubierto y son solo el principio, ya que todavía no se conoce bien cómo se produce la fecundación, cómo se relacionan y reconocen los gametos y los factores que influyen en todo el proceso.

Ahora podemos afirmar que el ovocito no es un elemento pasivo que espera ser fecundado, ya que promueve la liberación de sustancias quimiotácticas que activan al espermatozoide, el líquido folicular los atrae hacia el ovocito, además de tener la capacidad de aceptar o rechazar a los espermatozoides según la carga genética del gameto masculino.

Esto demuestra que la reproducción no es aleatoria, sino que está determinada por la elección que hace el óvulo sobre el espermatozoide, un fenómeno que se ha denominado como “fertilización genéticamente tendenciosa”.

Palabras clave: fecundación, quimioatrayentes, ovocito, capacitación, carga genética

1. INTRODUCCIÓN AL OBJETO DE ESTUDIO

La **fecundación** es el proceso por el cual un ovocito y un espermatozoide se fusionan para formar un cigoto con el genoma de ambos progenitores. Para que se produzca la fecundación, los espermatozoides eyaculados deben llegar al óvulo, que, después de la ovulación, ha viajado desde el ovario hasta la trompa de Falopio. Hasta hace poco tiempo, se suponía que después de la eyaculación en el tracto genital femenino un gran número de espermatozoides empezaban una carrera de fondo hacia el ovocito y competían entre ellos para fecundarlo, siendo solo el mejor y más rápido el que lo conseguía. Esta afirmación instauró la idea de que el único objetivo del ovocito era esperar a ser fecundado, actuando así de forma pasiva. Sin embargo, gracias a numerosos estudios ^[1, 2, 6, 7], podemos por fin tumbar ese mito, ya que se ha demostrado que los óvulos son un elemento activo y participa plenamente en la fecundación. Los ovocitos liberan unas sustancias químicas llamadas **quimioatrayentes en el líquido folicular** que atraen el esperma al ovocito no fecundado. La cuestión es, ¿pueden los ovocitos a partir de estos quimioatrayentes elegir específicamente qué espermatozoide es el que atraen?

Antes de esto ya se estudió que el aparato reproductor femenino había evolucionado con el objetivo de facilitar la reserva de espermatozoides en el interior del tracto, al mismo tiempo que impedir la migración de patógenos, y para poder mantener un esperma óptimo hasta el momento de la fecundación. Por parte del aparato reproductor masculino, los espermatozoides también deben someterse a cambios morfológicos como bioquímicos para poder realizar una correcta fecundación ^[8]. Ambos cambios los estudiaremos a continuación.

Interacciones físicas

Superficie de las paredes del aparato reproductor femenino

El útero está revestido por una capa mucosa con un epitelio simple columnar ciliado que facilita el transporte de los espermatozoides hacia las trompas de Falopio. Pero, además, la estructura de la superficie parece ser que podría afectar la dirección de estos. Suarez S., (2015) en su estudio nos describe que los espermatozoides tienden

a acumularse sobre las superficies y que cuando están nadando horizontalmente y alcanzan una pared vertical, tienden a continuar nadando siguiendo la esquina que une ambas paredes. Se realizó el ensayo construyendo unos microcanales de polidimetilsiloxano, un polímero a base de silicio blando y elástico parecido al epitelio, y depositando una muestra de semen. Se evidenció entonces que los espermatozoides que nadaban a lo largo de una superficie y se encontraban con un giro brusco, abandonaban esta superficie en busca de otra. Esto nos hace pensar que gracias a los microsurcos que tienen las paredes del útero los espermatozoides pueden ser guiados con mayor facilidad hacia una fecundación exitosa.

Fluidos y viscosidad

La composición de la vagina y el útero a nivel de fluidos raramente es estática. La secreción de líquidos como el flujo vaginal, las contracciones del útero y el movimiento ciliar son algunos de los factores que provocan esta inestabilidad en el aparato reproductor femenino. Evidentemente por acción de la gravedad estos flujos tienden a depositarse, por lo que los espermatozoides corren el riesgo de no poder llegar nunca a su objetivo. Pero en un cierto rango bajo de velocidad del flujo, los espermatozoides pueden todavía orientarse y nadar en contra de este flujo, sin embargo, por encima de este valor son arrastrados corriente abajo. Como comentábamos anteriormente, la vagina y el útero están repletos de microsurcos en sus paredes, y en este caso además de su función de guía hacia el ovocito, también proporcionan protección a los espermatozoides, ya que si se diese el caso de una fuerte velocidad de flujo podrían provocar la salida de los espermatozoides. Esto se corroboró gracias a un ensayo en el que se introdujo semen de toro en un dispositivo de microfluidos con microsurcos parecidos a los que encontramos en el útero. Tras forzar un gran flujo de fluidos, los espermatozoides tendieron a introducirse en los microsurcos y evitar así ser eliminados ^[8].

Por otro lado, tenemos que tener en cuenta que todos estos fluidos tienen como propiedad ser altamente viscosos, como es el caso del moco cervical. Estos fluidos viscoelásticos pueden reducir la velocidad de nado de los espermatozoides, pero en

algunos casos como en espermatozoides hiperactivos podría ser beneficioso, ya que la viscosidad podría ayudarles a llevar a cabo una mejor dirección hacia el ovocito [8].

Interacciones moleculares

Esperma y epitelio de la unión uterotubárica

La anatomía de la unión útero-trompas de Falopio varía entre las especies de mamíferos, pero normalmente este conducto es estrecho y está recubierto de mucosa y cientos de pliegues que varían según el sector del oviducto, formando así un canal complejo y difícil de acceder para los espermatozoides [8].

Hasta ahora pensábamos que simplemente los espermatozoides nadaban a través de este oviducto hasta llegar a fertilizar el ovocito, pero recientemente Okabe M (2015) a través de su estudio nos mostró que los espermatozoides tienen una proteína de membrana llamada ADAM3, formada por una desintegrina y metaloproteasa 3, que es fundamental para la fecundación, ya que es la encargada de la migración de los espermatozoides a través del oviducto. El estudio se experimentó con ratones a los cuales se les desactivó ADAM3 y produjeron espermatozoides morfológicamente normales, pero habían perdido la capacidad de pasar por el conducto de las trompas de Falopio. Desafortunadamente, todavía no se ha encontrado ADAM3 en humanos, por lo que en este campo sigue siendo un misterio sin resolver.

Zona pelúcida (ZP)

La zona pelúcida es la matriz extracelular, una red de filamentos interconectados, que rodea los ovocitos de los mamíferos y que se compone principalmente de cuatro glicoproteínas: ZP1, ZP2, ZP3 y ZP4. Estas glicoproteínas tienen como papel fundamental el éxito de la fecundación, ya que intervienen en la unión del espermatozoide al óvulo y tras esto en el bloqueo del óvulo para así evitar la polispermia. Entre ellas comparten elementos estructurales, tales como el péptido señal, el dominio ZP, el dominio transmembrana y la cola citoplasmática corta (figura 1).

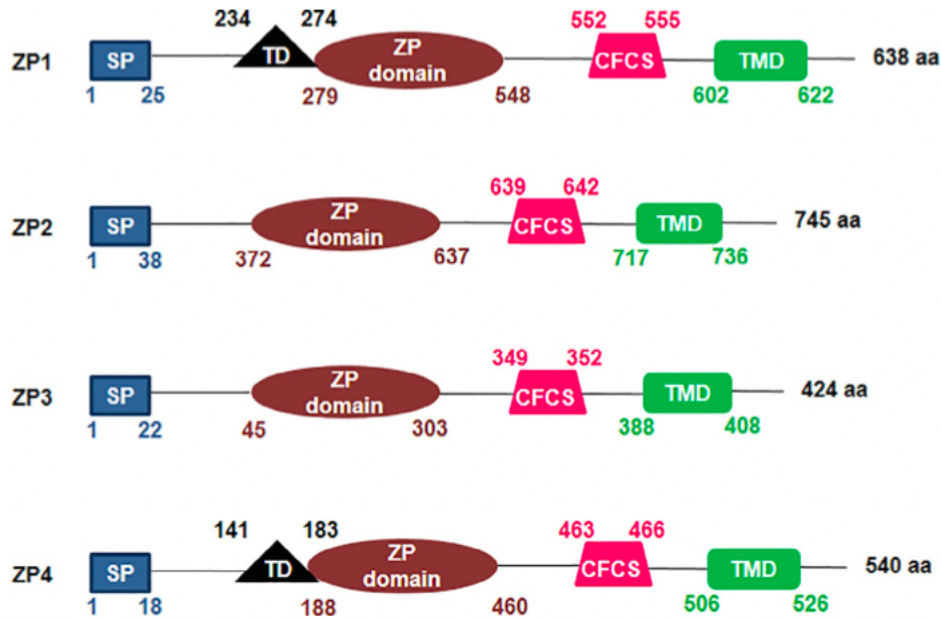


Figura 1. Elementos estructurales de las glicoproteínas ZP1, ZP2, ZP3 y ZP4 (información extraída de Gupta SK, 2018)

Capacitación del esperma

La capacitación del esperma es un acontecimiento básico que ocurre en el aparato reproductor femenino tras darse la eyaculación y que es esencial para que se lleve a cabo la fecundación. Se trata de cambios fisiológicos que experimenta el espermatozoide, tales como:

Modificación de la membrana

La membrana está formada por una bicapa lipídica y proteínas unidas por interacciones no covalentes, además de carbohidratos, en su mayoría cadenas de azúcares simples o polisacáridos.

En cuanto a los **lípidos**, los encontramos siempre anclados en el mismo lugar, aspecto importante ya que para la fusión entre los gametos de ambos progenitores se necesita de un microambiente de lípidos. Los lípidos que predominan en la

membrana plasmática de los espermatozoides es aproximadamente un 70% de fosfolípidos, 25% lípidos neutrales, como el colesterol, y un 5% de glicoproteínas, siendo el colesterol el principal esteroide de la membrana [16]. El colesterol juega un papel fundamental en la capacitación del espermatozoide, ya que se somete a una redistribución en la membrana plasmática, pasando al margen apical de la cabeza del espermatozoide, seguidamente de exteriorizarse por la membrana hacia el ambiente extracelular. La función del colesterol mientras está en la membrana plasmática es de estabilizarla al imponer un orden conformacional a los lípidos, por lo que cuando el colesterol pasa al exterior de la membrana plasmática, permite que el espermatozoide pueda seguir con el proceso de capacitación y que sea más fácil su unión con el ovocito [17].

Además, también podemos encontrar **factores descapacitantes**, pequeñas moléculas que funcionan protegiendo a los espermatozoides, estabilizando el acrosoma e inhibiendo la unión con la zona pelúcida, que más adelante estudiaremos. Es importante remover estos factores ya que los factores descapacitantes podrían fácilmente ocultar los receptores de membrana [12].

Estas modificaciones lipoproteicas van a permitir la exteriorización de receptores, activar los canales iónicos que intervienen en la activación de mecanismos de transducción y por último van a posibilitar al espermatozoide responder a inductores específicos y culminar con la reacción acrosomal.

Hiperactivación

Además, se produce la hiperactivación de los espermatozoides, provocando cambios en la movilidad del flagelo. Esta hiperactivación no se podría llevar a cabo sin el aporte de Ca^{2+} , el cual se une a proteínas de la parte interna del flagelo induciendo un aumento del movimiento. Esta modificación en el patrón de movimiento lo que provocará será que el desplazamiento del espermatozoide en vez de ser rectilíneo pasará a ser oscilante [12, 16].

Reacción acrosomal (RA)

El acrosoma es un orgánulo que encontramos en la punta de la cabeza del espermatozoide maduro entre la membrana interna y externa ^[13], y la reacción acrosomal da como resultado un acontecimiento excitótico necesario para una fecundación exitosa ^[14]. En esta exocitosis se efectúa la fusión de membrana plasmática con la membrana acrosomal externa, desprendiendo a continuación vesículas que se han formado, y dejando ver cómo la membrana acrosomal interna es ahora la nueva membrana externa. En este caso también es imprescindible la intervención del Ca^{2+} para activar la RA, ya que la entrada de Ca^{2+} intracelular conduce a modificaciones en los lípidos, como el colesterol como comentábamos anteriormente, y a la activación de folipasa A_2 específica de fosfatidilcolina, que a su vez producen ácido araquidónico y lisofosfatidilcolina, esenciales para la fusión de membranas en la RA ^[12].

Por otro lado, tampoco se ha cuestionado sobre si la **unión** entre **ovocito** y **espermatozoide** es dependiente del contenido genético de ambos, ya que siempre se ha supuesto que al darse una transmisión equitativa de alelos diferentes gracias a la meiosis esto ya nos proporciona una genética equilibrada a la descendencia, por lo que no sería necesario un mecanismo de selección en los gametos. Sí que existe, sin embargo, una preferencia entre individuos para elegir a su pareja. Esto lo podemos ver, por ejemplo, en la cornamenta de los ciervos, en el plumaje de los pavos reales o sin ir mas lejos, en los seres humanos, tendemos a elegir a nuestra pareja por sus rasgos físicos. ¿Coincidirá nuestra elección sobre nuestra pareja con la elección que hará el ovocito sobre el espermatozoide teniendo en cuenta su carga genética?

2. OJETIVOS

En esta revisión bibliográfica son dos los **principales objetivos** que nos planteamos, por un lado, describir cómo los espermatozoides responden al líquido folicular, una fuerte fuente de quimioatrayentes, ya sea de su pareja o no, y, por otro lado, estudiar si influye la carga genética del espermatozoide para ser elegido por el ovocito.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología realizada en este trabajado está basada en un exhaustivo análisis y revisión bibliográfica, durante el período de tiempo comprendido entre abril de 2021 hasta septiembre de 2021. Las principales fuentes y bases de datos biomédicas utilizadas han sido: *Pubmed*, *Medline*, y *Embase*.

Se han aceptado artículos y documentos más relevantes publicados en los últimos años, siendo el estudio de Ralt et al. (1992) el más antiguo, pero imprescindible por sus avances en el campo de estudio. Se ha incidido principalmente en aquellos artículos que trataban en torno al objeto de estudio, es decir, los quimioatrayentes, la capacitación de los espermatozoides, las interacciones entre gametos y la fecundación en general. La búsqueda ha sido realizada en inglés principalmente por ser la lengua vehicular en el campo médico. Las palabras clave utilizadas para esta recerca han sido: *load genetic*, *fertility*, *chemoattractant*, *chemotaxis*, *oocyte*, *follicular fluid*, principalmente. Los operadores booleanos utilizados han sido: "AND", "OR", "NOT", combinándose las palabras clave con los conectores para poder encontrar artículos válidos para el objetivo de trabajo.

Se han incluido los artículos que cumplen los siguientes requisitos:

- Artículos originales publicados en revistas con proceso de revisión
- El diseño de los artículos debe ser meta-análisis, revisiones sistemáticas y ensayos clínicos aleatorizados, libres de pago, hecho en humanos y escritos en inglés o castellano

Se han excluido artículos como:

- Estudios secundarios, como resúmenes de congresos, artículos de opinión o casos únicos y excepcionales
- Estudios ambiguos que no manifiestan con claridad el diseño metodológico
- Estudios publicados en idiomas diferentes al inglés o español

4. RESULTADOS

Los animales, principalmente los machos, antes del apareamiento realizan una serie de rituales para intentar seducir así a una hembra de su misma especie. Estas señales pueden ser tanto visuales, acústicas como químicas y ofrecen a las hembras la oportunidad de evaluar la calidad y compatibilidad genética de su posible y futura pareja. Pero la elección de pareja puede continuar también después del apareamiento a través de la comunicación química entre el sistema reproductor femenino y el esperma. Esta **comunicación quimiosensorial** post-apareamiento entre los óvulos y los espermatozoides es debida a la liberación por parte de los ovocitos de sustancias químicas denominadas **quimioatrayentes** y puede facilitar la elección de pareja mediada por gametos, permitiendo que los ovocitos ejerzan una elección crítica y sesguen las fertilizaciones hacia machos específicos. Si sabemos poco sobre si realmente estas señales químicas liberadas por los ovocitos ayudan a elegir a un mejor esperma, en algunas especies, como los humanos, es una cuestión casi inexplorada.

Sun et al., (2003) demostró en su estudio que los **invertebrados marinos** del sexo femenino también utilizaban estos quimioatrayentes para atraer preferentemente a machos específicos, aumentando así las tasas de fecundación, la viabilidad del embrión y la supervivencia de la descendencia. Además, concluyó que este proceso era específico entre la especie, por lo que no podía ser reconocido por otra especie o incluso por un miembro de otra familia. Su estudio se centró en estudiar si esta especificidad también se daba en humanos, conejos y bovinos y según sus resultados los espermatozoides de cada una de estas especies respondieron igualmente bien a los quimioatrayentes de cualquiera de los ovocitos examinados, por lo que podemos asumir que sí que existe

falta de especificidad de especie relacionada con la quimiotaxis entre especies, lo que da lugar a pensar que los quimioatrayentes de estas tres especies en concreto son muy similares.

En la **reproducción de mamíferos**, la quimioatracción es el último paso de una serie de mecanismos que actúa para reclutar aquellos espermatozoides capacitados para los óvulos. Esta capacitación, como comentábamos anteriormente, es un proceso fundamental al que deben someterse, ya que solo los que estén capacitados podrán unirse al receptor de esperma en la cubierta del ovocito, penetrarlo y luego fusionarse con él ^[6]. Como comenté previamente, a diferencia de los invertebrados marinos, los espermatozoides de los mamíferos carecen de especificidad de especie en las respuestas a los quimioatrayentes ^[5, 18], lo que nos invita a pensar que estos cortejos para seducir, que ayudan a la hembra a decidir qué macho será el preferido, reducen la necesidad de procesos posteriores al apareamiento. Sin embargo, parece ser que los quimioatrayentes de mamíferos ejercen un papel importante en la elección de pareja, ya sea para maximizar la compatibilidad genética entre parejas potenciales ^[4] o para reforzar o anular las decisiones de elección de pareja antes del apareamiento ^[7].

Hay dos mecanismos activos básicos que orientan a los espermatozoides hacia el ovocito para fecundarlo: la **quimiotaxis**, que está correlacionada con los quimioatrayentes, y la **termotaxis**, movimiento a través de un gradiente de temperatura. En la década de los 60 se realizaron los primeros experimentos en torno a la quimiotaxis, y se demostró que los espermatozoides humanos respondían a los quimioatrayentes presentes en el líquido folicular que rodea los óvulos alterando su comportamiento de natación para orientarse y **acumularse en el líquido folicular**. De hecho, se plantea la posibilidad de que se secreten diferentes quimioatrayentes a lo largo del oviducto para promover procesos quimiotácticos secuenciales. En cuanto a la termotaxis, los espermatozoides se guían por la temperatura del aparato reproductor femenino en la que conforme se va ascendiendo, va aumentando la temperatura. A diferencia de la quimiotaxis que se ha demostrado en múltiples especies de mamíferos, la termotaxis de momento solo se ha podido evidenciar en humanos y conejos ^[18].

Centrándonos en la **quimiotaxis**, podemos decir que se caracteriza por cambios de dirección en el movimiento hacia la fuente del quimioatrayente. Este cambio de comportamiento por parte del espermatozoide dependerá de su patrón de nado. Por ejemplo, en la figura 2 podemos observar que aquellos espermatozoides que nadan en línea recta y que no han sido estimulados por un quimioatrayente, cuando se expone experimenta un cambio rápido en su dirección orientándose hacia la fuente de quimioatrayente. En cambio, si el espermatozoide ya tenía un nado circular, cuando se le expone a un quimioatrayente seguirá moviéndose de esta forma, pero también dirigiéndose hacia el quimioatrayente.

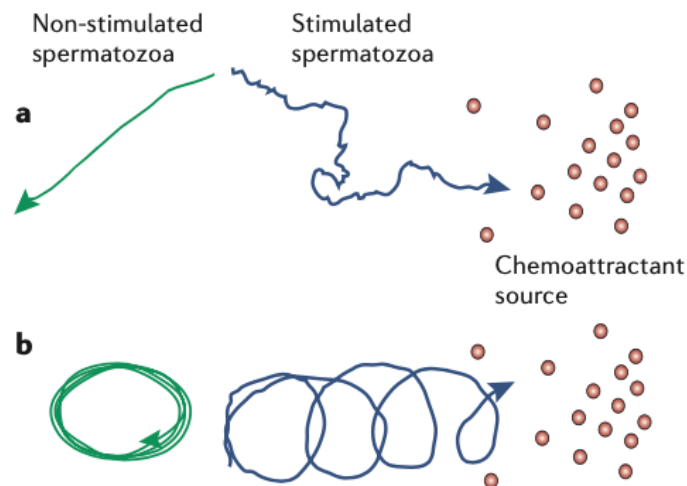


Figura 2. Tipos de respuesta de los espermatozoides a los quimioatrayentes (información extraída de Eisenbach et al.)

Pero, ¿qué sustancias actúan como quimioatrayentes y cuál es su origen? Probablemente la **progesterona** sea uno de los mayores quimioatrayentes que podemos encontrar en el líquido folicular, ya que es el esteroide principal presente en el microambiente del ovocito durante la ovulación ^[19]. Esto se demostró al calcular las concentraciones de progesterona y observando que causaron la acumulación de esperma y que, a su misma vez, podría ser inhibido por un antagonista del receptor de progesterona. Pero no solamente podemos encontrar progesterona en el líquido folicular: también se ha descubierto que el odorante **bourgeonal** era quimioatrayente

para los espermatozoides humanos, pero a diferencia de la progesterona, esta sustancia no se secreta en el tracto genital femenino, Por último, también se ha identificado una hormona polipeptídica como quimioatrayente, el **péptido natriurético auricular (ANP)**. Es secretada por la porción auricular del corazón, se ha identificado en el líquido folicular humano y también se han descrito receptores específicos de ANP en espermatozoides humanos ^[18]. Así pues, gracias a la quimiotaxis y la termotaxis, con ayuda de las contracciones oviductales, los espermatozoides pueden llegar al ovocito, aunque solo lo podrán fecundar aquellos espermatozoides que durante este proceso también se hayan capacitado.

En cuanto al **origen** ya hace varios años, Ralt et al. (1992) comentó en su estudio la posibilidad de atracción de los espermatozoides a los ovocitos gracias a los **factores foliculares**. Este hecho se estudió midiendo la acumulación de espermatozoides en el líquido folicular y así pudieron demostrar que los espermatozoides humanos sí se acumulan en el líquido folicular y que de hecho esta acumulación se correlaciona con la capacidad del óvulo para ser fertilizado. Sin embargo, se demostró que solo una pequeña porción de espermatozoides respondía a estos quimioatrayentes. Se encontró tan solo alrededor de 200 espermatozoides en la trompa de Falopio, de aproximadamente $280 \cdot 10^6$ espermatozoides eyaculados en la vagina, hecho que avala la teoría de que solo una pequeña fracción de espermatozoides responde a los factores de quimioatracción y que por lo tanto esta acción mediada por los ovocitos tiene como principal objetivo hacer una criba de la población total y finalmente elegir al espermatozoide. Además, también se investigó sobre si podría haber un mecanismo negativo que evitase que aquellos espermatozoides demasiado maduros o inmaduros llegasen al ovocito por este mismo factor, pero esto es todavía una pregunta sin resolver. Además, observó que los espermatozoides, a parte de ser atraídos por los quimioatrayentes del líquido folicular, también podían producir respuestas de comportamiento diferente según el líquido folicular que interaccionaba con ellos, de modo que una misma hembra podía manifestar variaciones en sus quimioatrayentes y esto podía coincidir o no con su elección previa de pareja.

Al estudio de los quimioatrayentes del líquido folicular se unió Fitzpatrick et al. (2020) recientemente, donde en su investigación utilizaron dos diseños experimentales distintos, **exponiendo los espermatozoides al líquido folicular** de dos hembras de forma simultánea y no simultánea. Para ello obtuvieron las muestras de parejas que se estaban sometiendo a un tratamiento de reproducción asistida en lugar de hacerlo con espermatozoides de donantes que no estaban en tratamiento de fertilidad, ya que el objetivo era correlacionar entre la propia elección que hacemos para decidir pareja y las interacciones entre sus gametos. En el **ensayo de elección simultánea**, los espermatozoides fueron expuestos al líquido folicular en tubos microcapilares de 2 µl tanto de su pareja como de otra mujer que no lo era, para determinar si estos nadaban de manera preferencial y constante hacia el líquido folicular de su pareja o no. En cambio, en el **ensayo de elección no simultánea**, se les presentó a los espermatozoides la posibilidad de elegir entre el líquido folicular de una mujer (ya sea su pareja o no) y una muestra control. Finalmente se comprobó que, en el experimento de elección simultánea, las tasas de fertilización con FIV fueron más altas cuando los espermatozoides respondieron al líquido folicular de su pareja. Al mismo tiempo se comprobó que la calidad del embrión aumentaba cuando el espermatozoide había tenido preferencia sobre el líquido folicular de su pareja.

Estos no son los únicos estudios en relación al carácter activo del ovocito. Pang et al. (2011) analizó la **estructura** mediante secuenciación de todas las **glicoproteínas** que forman parte de la ZP y definieron que la secuencia terminal más abundante de los de N-glicanos y O-glicanos unidos a la ZP era la secuencia **sialyl-Lewis^x (SLe^x)**. Recientemente ha salido a la luz otro estudio (Wang et al. 2021) sobre esta secuencia. En él se describieron proteínas de unión a SLe^x en la membrana plasmática de espermatozoides capacitados mediante cromatografía de afinidad seguida de un análisis espectrométrico de masas. Gracias a este método se pudieron describir cuatro proteínas involucradas en la interacción del espermatozoide con el ovocito: **C1orf56**, la proteína de unión a ZP1 (**ZPBP1**), la proteína 2 relacionada con el choque térmico (**HSPA2**) y la proteína 1 asociada a la membrana del acrosoma del espermatozoide (**SPACA 1**). El estudio se centró en investigar sobre C1orf56 y para comprobar que efectivamente juega un papel importante en la fecundación, realizaron un ensayo con un anticuerpo

anti-C1orf56 y se observó que la concentración de espermatozoides unidos a la ZP disminuyó considerablemente en comparación con los espermatozoides de control no tratados. Este anticuerpo suprimió la unión de los espermatozoides a la secuencia SLeX de la ZP, por lo que de esta forma se demostró la participación de esta interacción. Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual C1orf56 regula la unión de espermatozoides a la secuencia SLeX de la ZP.

En relación a la glicoproteínas de la ZP, Wassarman et al., (2008) en su investigación con ratones manifiesta que la glicoproteína **ZP3** presente en la zona pelúcida de los ovocitos es la encargada de **rechazar** a aquellos espermatozoides que no han completado la capacitación, en concreto la reacción acrosomal, ya que observó a través de marcaje radioactivo que ZP3 se localizaba en la región acrosómica de las cabezas de los espermatozoides con un acrosoma intacto, pero no en las cabezas de los espermatozoides que habían llevado a cabo la RA. Además, también realizaron otra prueba con perlas de sílice, las cuales se unían covalentemente a ZP3. Los espermatozoides con un acrosoma intacto, es decir, aquellos que no habían realizado la RA, se habían unido a las perlas de ZP3 y no a las perlas vacías ni a las que contenían otras proteínas, y una vez se unían, los espermatozoides podían completar la RA y después ser liberados. Estos resultados nos proporcionan una clara evidencia de que en el caso del ratón, el ovocito, a través de la ZP3, va a poder seleccionar a los mejores espermatozoides. No ocurre lo mismo si hablamos de humanos y así lo expresa Gupta SK (2018) en su estudio, donde mantiene que ZP1, ZP3 y ZP4 son las encargadas de inducir la RA en el esperma humano.

En cuanto a la **carga genética**, Nadeau (2017) está empezando a desmontar los mitos de la pasividad femenina reproductiva a la hora de elegir espermatozoide a través de su investigación en la que en primer lugar cruzaron ratones macho sanos con dos grupos de hembras, uno sano y otro portador de mutaciones para genes cancerígenos. La descendencia cumplió las Leyes de Mendel donde las crías tenían genes aleatorios. En cambio, cuando se hizo el cruzamiento con un grupo de hembras sanas con dos grupos de macho, uno sano y el otro portador, el resultado contradujo las Leyes de Mendel, ya

que solo se presentaron el gen potencialmente nocivo el 27% de las crías, y no el 75% como debería ser.

5. DISCUSIÓN

Con el estudio de Eisenbach M et al. (2006) se revelaron la **quimiotaxis** y la **termotaxis** como mecanismos que funcionan de guía para los espermatozoides. Sin embargo, aún quedan por resolver muchas cuestiones importantes como, por ejemplo, cuáles son todos los quimioatrayentes que intervienen en el proceso o si solo están involucradas las sustancias del líquido folicular. A pesar de esto, podemos concluir que ambos mecanismos son esenciales para la fertilización, siempre y cuando se tenga en cuenta que solo responderán quimiotácticamente aquellos espermatozoides que hayan sido capacitados y teniendo presente que este porcentaje de espermatozoides es muy bajo, es casi imposible que un número tan bajo de espermatozoides consiga fecundar sin esta ayuda por parte del ovocito.

En cuanto a las **sustancias** que **actúan como quimioatrayentes**, Teves et al. (2006) realizó un ensayo in vitro donde mostraba que la **progesterona** era el principal quimioatrayente que guiaba a los espermatozoides de mamíferos mediante la quimiotaxis. Sin embargo, esto no se corroboró in vivo, pero sugirieron que el sitio más probable de actuación de la progesterona como quimioatrayente debería ser a lo largo del cumulus oophorus, ya que al tener viscosidad podría mantener el gradiente de progesterona estable. Además, en el mismo estudio comenta otro tipo de posibles quimioatrayentes y la pregunta que nos surge es el por qué de tantos quimioatrayentes. Las respuestas que podríamos dar son varias: en primer lugar, podemos pensar que los espermatozoides pueden detectar diferentes quimioatrayentes a través del aparato reproductor femenino y que todos estos podrían actuar de forma secuencial hacia la siguiente fuente de quimioatrayentes. En segundo lugar, podría ser que los espermatozoides utilicen todos estos quimioatrayentes para “calcular” su ruta hacia el ovocito. En tercer lugar, como ya comentó Ralt et al. (1992) en su estudio, los espermatozoides podían producir respuestas de comportamiento diferente según el líquido folicular que interaccionaba con ellos, en este caso según el quimioatrayente que interaccionase. Por último, puede ser que sea un tema de seguridad, es decir, ya que la

fecundación es un proceso tan complejo y todavía con muchos aspectos por descubrir, la multiplicidad de los quimioatrayentes podría ayudar a que no sea tan fácil fecundar. De todas formas, todas estas hipótesis son simplemente suposiciones que todavía no están evidenciadas científicamente.

En el estudio de Wassarman et al., (2008) purificaron las glicoproteínas ZP1, ZP2 y ZP3 de ratones para poder estudiar cuáles eran sus funciones. Hicieron un ensayo con espermatozoides no capacitados y tras esto, de las tres glicoproteínas solo ZP3 inhibió la unión de los espermatozoides a los ovocitos e inducía a los espermatozoides a completar la RA. Por el contrario, Gupta SK (2018) concluyó que en humanos no solo ZP3 juega un papel fundamental en la unión con espermatozoides, sino que ZP1, ZP3 y ZP4 son igual de competentes en la unión espermatozoide-ovocito.

Fitzpatrick et al., (2020) demostró que la acumulación de espermatozoides en el líquido folicular depende de las combinaciones específicas de líquido folicular y espermatozoides, y que el líquido folicular atrae preferentemente espermatozoides de machos específicos. Así pues, la cantidad de espermatozoides capaces de fertilizar el óvulo disminuye constantemente a medida que se atraviese el aparato reproductor femenino, lo que indica que la capacidad de los quimioatrayentes para reclutar espermatozoides de un macho específico puede tener un gran impacto en asegurar el éxito de la fecundación. Con respecto a los quimioatrayentes, se concluyó que permiten a las hembras participar en la selección de pareja mediada por gametos incluso después del apareamiento. Este descubrimiento amplía la tradicional visión de que la quimioatracción solo juega un papel importante en las interacciones ovocito-espermatozoide, en cambio ahora sabemos que la comunicación química entre estos gametos también puede ser de gran relevancia seleccionando sexualmente.

En cuanto a la investigación de selección de gametos por carga genética, son pocos los estudios que hablan sobre ello, ya que es un campo que se está estudiando recientemente. De momento solo contamos con el estudio de Nadeau (2017), pero de suma importancia incluirlo en esta revisión bibliográfica debido a los avances que ha supuesto. En el estudio se demuestra que el cruce entre hembras sanas y machos

enfermos, solo un 27% de las crías estaban enfermas, frente al 75% que se esperaría según las Leyes de Mendel.

Por último, en el estudio más reciente sobre cómo se **reconocen** los **gametos** femeninos y masculinos, Wang Y et al. (2021) localizó hasta cuatro proteínas, siendo la más estudiada C1orf56, en la región acrosómica de espermatozoides capacitados que tienen la capacidad de unirse a la ZP del ovocito. Utilizaron el anticuerpo anti-C1orf56 para comprobar que suprimía la unión de los espermatozoides a la secuencia SLeX y por ende a la ZP. Sin embargo, todavía no se ha podido estudiar el mecanismo por el cual C1orf56 regula esta unión.

6. CONCLUSIONES

Como hemos podido estudiar en esta revisión bibliográfica sobre la participación del ovocito en la selección del espermatozoide para su fecundación, los resultados nos indican que la fecundación no es un proceso aleatorio, utilizando múltiples mecanismos, como la liberación de quimioatrayentes por parte del ovocito que activan al espermatozoide y la capacidad de aceptar o rechazar espermatozoides según su carga genética y, además, acaba con el retrato que por décadas se ha hecho de los espermatozoides, representados como luchadores que compiten por llegar a un ovocito pasivo, cuando ahora se conoce que es el óvulo el que elige qué espermatozoide lo fecunda.

Este hecho avanzará los tratamientos de fertilidad y además puede ayudarnos a comprender algunas de las causas actualmente inexplicables de infertilidad en las parejas.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Fitzpatrick JL, Willis C, Devigili A, Young A, Carroll M, Hunter HR, Brison DR. 2020 Chemical signals from eggs facilitate cryptic female choice in humans. Proc. R.Soc.B 287: 20200805. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2020.0805>

2. Nadeau JH. 2017. Do Gametes Woo? Evidence for Their Nonrandom Union at Fertilization. *Genetics*, Vol. 207, 369–387. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300109>
3. Ralt D, Goldenberg M, Fetterolf P, Thompson D, Dor J, Mashiach S, Barbers DL, Eisenbach M. 1991 Sperm attraction to a follicular factor(s) correlates with human egg fertilizability. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 2840–2844. (doi:10.1073/pnas.88.7.2840)
4. Sun F, Giojalas LC, Rovasio RA, Tur-Kaspa I, Sanchez R, Eisenbach M. 2003 Lack of species-specificity in mammalian sperm chemotaxis. *Dev. Biol.* 255, 423–427. (doi:10.1016/S0012-1606(02)00090-8)
5. Eisenbach M, Giojalas LC. 2006 Sperm guidance in mammals: an unpaved road to the egg. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 276–285. (doi:10.1038/nrm1893)
6. Mays HL, Hill GE. 2004 Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends Ecol. Evol.* 19, 554–559. (doi:10.1016/j.tree.2004.07.018)
7. Devigili A, Fitzpatrick JL, Gasparini C, Ramnarine IW, Pilastro A, Evans JP. 2018 Possible glimpses into early speciation: the effect of ovarian fluid on sperm velocity accords with post-copulatory isolation between two guppy populations. *J. Evol. Biol.* 31, 66–74. (doi:10.1111/jeb.13194)
8. Suarez S. 2015. Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. *Cell Tissue Res.* (doi:10.1007/s00441-015-2244-2)
9. Okabe M. 2015. Mechanisms of fertilization elucidated by gene-manipulated animals. *Asian Journal of Andrology*. 646-652; doi: 10.4103/1008-682X.153299
10. Wassarman PM, Litscher ES. 2008. Mammalian fertilization: the egg's multifunctional zona pellucida. *The International Journal of Developmental Biology*. 52(5-6), 665–676. doi:10.1387/ijdb.072524pw
11. Gupta SK. 2018. The Human Egg's Zona Pellucida. *Current Topics in Developmental Biology*. (doi:10.1016/bs.ctdb.2018.01.001)
12. Ríos EA, Ruiz AC, García DA, Rubio PZ, Tobón AR, García AR. 2010. Bases fisiológicas de la capacitación y de la reacción acrosomal del espermatozoide. *ContactoS*.
13. Hirohashi N, Yanagimachi R. 2018. Sperm acrosome reaction: its site and role in fertilization. *Biology of Reproduction*. (doi:10.1093/biolre/joy045)

14. Simons J, Fauci L. 2018. A Model for the Acrosome Reaction in Mammalian Sperm. *Society for Mathematical Biology*. (doi:10.1007/s11538-018-0478-3)
15. Pang PC, Chiu PC, Lee CL, Chang LY, Panico M, Morris HR, Dell A. 2011. Human Sperm Binding Is Mediated by the Sialyl-Lewis^x Oligosaccharide on the Zona Pellucida
16. Puga LC, Luque GM, Balestrini PA, Marín-Briggiler CI, Ramorowski A, Buffone MG. 2018. Molecular Basis of Human Sperm Capacitation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. (doi:10.3389/fcell.2018.00072)
17. Leahy T, Gadella BM. 2015. New insights into the regulation of cholesterol efflux from the sperm membrane. *Asian Journal of Andrology*. (doi:10.4103/1008-682X.153309)
18. Eisenbach M, Giojalas LC. 2006. Sperm guidance in mammals - an unpaved road to the egg.
19. Teves ME, Barbano F, Guidobaldi HA, Sanchez R, Miska W, & Giojalas LC. 2006. Progesterone at the picomolar range is a chemoattractant for mammalian spermatozoa. *Fertility and Sterility*, 86(3), 745–749. (doi:10.1016/j.fertnstert.2006)
20. Wang Y, Zhao W, Mei S, Chen P, Leung TY, Lee C-L, Yeung WSB, Ou JP, Liang X, Chiu PCN. 2021. Identification of Sialyl-Lewis(x)-Interacting Protein on Human Spermatozoa. *Front. Cell Dev. Biol.* 9:700396. (doi: 10.3389/fcell.2021.700396).