

2. Fisiología del oviducto

Agustín Góngora Orjuela

Introducción

El oviducto de la vaca es la región anatómica que comunica el ovario con el útero, tiene una longitud aproximada de 25 cm. Durante mucho tiempo se pensó que este conducto solo cumplía una función pasiva, que consistía en permitir el transporte de los gametos hacia el sitio de fertilización y posteriormente el descenso del oocito fecundado hacia su nidación en el útero.

Recientemente han surgido un sinnúmero de evidencias que resaltan una participación activa de una serie de complejos mecanismos que permiten que la fertilización sea exitosa, además de otros eventos que favorecen el desarrollo del embrión en su etapa temprana y la posterior implantación. La investigación básica de los complejos mecanismos que ocurren en el oviducto, ha permitido hoy en día los grandes éxitos de la biotecnología reproductiva.

El objetivo de este capítulo es presentar los hallazgos más recientes acerca del oviducto y que han obligado a ver de forma distinta a este órgano.

2.1 Anatomía e histología del oviducto

Anatómicamente, el oviducto se divide en 4 segmentos que cumplen funciones distintas, la unión uterotubal (UUT), el istmo, la ampulla y el infundíbulo. La UUT forma una barrera que no permite el paso de agentes infecciosos desde el útero al oviducto, además regula la entrada de los espermatozoides; el istmo funciona como un reservorio de espermatozoides, la ampulla provee el microambiente adecuado para la fertilización (Suarez, 2008), y el infundíbulo contiene una gran cantidad de células secretoras y se encuentra abierto a la cavidad peritoneal a través del ostium (Menezo y Guerin 1997). (Figura 1).

El oviducto tiene un epitelio columnar simple compuesto de células ciliadas y células secretoras (Coy et al., 2012).



Figura 1. Tracto reproductivo de la vaca sometido a disección para dejar expuesto los oviductos.

2.2 Función del oviducto en el transporte del espermia, del oocito y del embrión

Para que la fertilización se lleve a cabo, el espermatozoide debe entrar en el oviducto después de recorrer una larga distancia hasta la ampulla. Diversos estudios señalan que aunque en la vagina, el cuello y los cuernos uterinos se depositan millones de espermatozoides, ya sea a través de la monta natural o la inseminación artificial, son pocos los que alcanzan el oviducto (Holt, 2009) y la gran mayoría se pierden por flujo retrógrado. Además los espermatozoides son vistos como

antígenos por el sistema inmune, que los hace objeto de ataque inmunológico por parte de los macrófagos y neutrófilos, lo que contribuye a disminuir el número que alcanzan el oviducto. La prostaglandina E2 secretada por el oviducto es la responsable de disminuir la fagocitosis de los espermatozoides por parte de los neutrófilos favoreciendo así su sobrevivencia en el lugar (Marey et al., 2014).

El transporte del oocito y el embrión es producido por el movimiento de los cilios de las células epiteliales y por la contracción del músculo liso del oviducto. Los receptores α -adrenérgicos promueven la contracción, mientras los receptores β -adrenérgicos la inhiben (Paton et al., 1977; Laszlo et al., 1988). Cuando estos receptores son bloqueados, no ocurre la fertilización, ni el transporte del embrión, lo que sugiere que el transporte es modulado por vía endocrina y autocrina/paracrina, esta última constituida por una serie de señales producidas por el oocito o el embrión (Kölle et al., 2009).

En el transporte espermático intervienen también los estrógenos (E2) y la prostaglandina F2 α los cuales incrementan la contractibilidad del músculo liso, aumentando la velocidad de los espermatozoides (Lindblom et al 1978; Weber et al 1991), de forma contraria, la progesterona (P4) relaja el músculo liso y por ende disminuye la velocidad de los espermatozoides (Lindblom y Hamberger 1980). La prostaglandina F2 α es producida por las células del estroma del oviducto (Yamamoto et al., 2014) que se suma a la producida por las células epiteliales del órgano (Kobayashi et al., 2013).

Mediante un sistema con video cámara digital “in vivo” al interior del oviducto de la vaca se ha podido establecer que los mecanismos de transporte producido por los cilios son diferentes en el istmo y la ampulla. Una vez ocurre la ovulación y el complejo oocito-cumulus (COC) entra en la ampulla, no es transportado por el movimiento de los cilios, sino que se adhiere firmemente al epitelio de la ampulla a través de las células del cúmulus y depende de la calidad del COC, cuando este sufre algún proceso de degeneración en vez de adherirse al epitelio, termina flotando en el lumen del oviducto (Kölle et al., 2009). Una vez ocurre la fertilización las células del cumulus desaparecen por la acción enzimática de las secreciones del oviducto (Croatto, 2002). Transcurrido un periodo de 24-48 horas pos fertilización, el embrión modifica la vascularización del oviducto e induce la formación de las células secretoras, lo que favorece el establecimiento de un microambiente oviductal y nutricional óptimo. En resumen, es el propio embrión quien inicia la cascada de señales de transducción a nivel local para favorecer su desarrollo, además es capaz de regular la velocidad del transporte actuando sobre los cilios del oviducto (Kölle et al., 2009).

2.3 Función del reservorio espermático

En la vaca como en otros mamíferos, en el istmo se establece un “reservorio de espermatozoides”, allí los espermatozoides se adhieren a las células epiteliales, lo cual retarda el proceso de capacitación espermática, hasta que ciertas señales asociadas con la ovulación, permiten una lenta liberación hacia la región distal de la ampulla (Suarez, 2008). La unión entre células se da a través de ciertos residuos de carbohidratos en la superficie de la célula epitelial y una proteína parecida a la lectina en la cabeza del espermatozoide (Suarez 2002). Se ha identificado que las moléculas que intervienen en este proceso son distintas en las diferentes especies, en el bovino, el carbohidrato que actúa es la fucosa (en la célula epitelial), la cual es reconocida por la espermedesina BSP1 (llamada también PCD-109 o BSPA1/A2) (Sostaric et al. 2008), en el equino es la galactosa (Dobranski et al., 1996) y en el hámster el ácido siálico (DeMott et al., 1995).

La PCD-109 hace parte del grupo de proteínas que están presentes en el plasma seminal (BPS), en el que se han identificado otras 2 proteínas: la BSP30K y BSPA3 que también aumentan la unión del espermatozoide al epitelio (Gwathmey et al., 2006). Se ha propuesto que la función de la PCD-109 es estabilizar la membrana plasmática, reduciendo la fluidez de la membrana, e inmovilizando el colesterol contenido en los fosfolípidos de la membrana; estos mecanismos permitirían mantener la fertilidad del espermatozoide dentro del reservorio (Suarez, 2008).

A nivel de la región apical de la membrana plasmática de las células oviductales, se ha podido purificar las anexinas ANXA1, 2, 4 y 5 como receptores espermáticos, estas contienen fucosa, la cual se une fuertemente a la heparina y otras sustancias relacionadas con los glicosaminoglucanos (Ishitsuka et al., 1998).

El reservorio espermático cumple 3 funciones: i) permite la lenta liberación de los espermatozoides para evitar la polispermia, ii) mantiene la fertilidad del espermatozoide hasta la liberación del oocito y su posterior unión en la ampulla, y iii) inicia el proceso de capacitación y el aumento de la motilidad con el objeto de obtener la capacidad fertilizante (Suarez, 2002). La liberación de los espermatozoides del reservorio es modulada a nivel endocrino de acuerdo con la fase del ciclo estral en que se encuentre el animal, y se incrementa a medida que se acerca la ovulación (Suarez, 2008).

No se conocen con certeza las sustancias que intervienen en el proceso de liberación de los espermatozoides del reservorio, aunque estudios *in vitro* han de-

mostrado que los glicoconjugados sulfatados y disulfidos reducidos son potentes inductores de la liberación espermática del epitelio oviductal (Talevi et al., 2007; Gualtieri et al., 2009). Estas dos moléculas parecen actuar como señales fisiológicas ya que son similares a los glicosaminoglucanos parecidos a la heparina y el glutatión (Talevi y Gualtieri, 2010). (Figura 2).

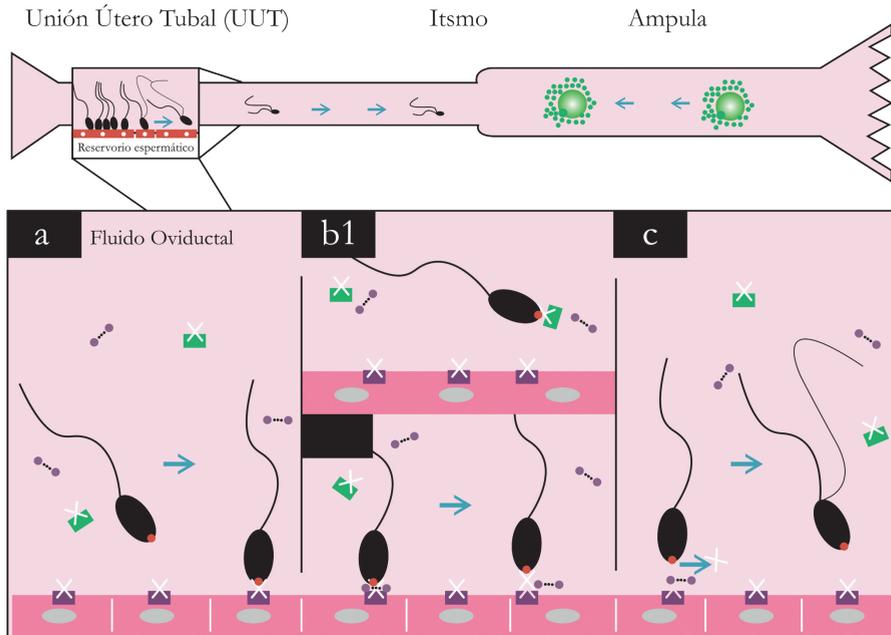


Figura 2. Representación esquemática de las partes anatómicas del oviducto y función del reservorio espermático (modificado con permiso Coy et al., 2012. *Reproduction* 144:649-660).

Recientemente, se descubrió algunos endocannabinoides como la Amandamida que regula la liberación del espermatozoide de la célula epitelial, a la vez promueve la capacitación espermática (Gervasi et al., 2013).

Se ha sugerido que el oviducto podría intervenir en la selección espermática, mecanismo que aún no ha sido dilucidado completamente. Tal parece que existe un reconocimiento de la calidad espermática, que podría estar relacionado con la integridad y el contenido de DNA (Holt y Fazelli, 2010).

En la actualidad hay una extensa investigación que busca conocer el efecto de la temperatura sobre los mecanismos moleculares en el oviducto y otros órganos del tracto reproductivo. Se conoce hasta el momento, que la temperatura entre los

diferentes segmentos del oviducto no es la misma, por lo que se establecería un gradiente de temperatura que podría influenciar estos mecanismos. En la región caudal del istmo la temperatura es de 1-2 grados °C menor que en la porción craneal de la ampulla (Hunter, 2009), de acuerdo con esto, el paso del espermatozoide desde un ambiente de mayor temperatura (en el útero) hacia uno de menor temperatura (el istmo) permitiría una notable reducción de la motilidad, para facilitar los mecanismos dentro del reservorio espermático (Hunter, 2011; Hunter, 2012). La magnitud del gradiente de temperatura dependería del ciclo estral, pero se vería más acentuado cerca del momento de la ovulación (Hunter, 2012).

En un nuevo estudio se encontró un gradiente de temperatura entre la vagina, el cervix y el útero en vacas para carne, además los cambios en las concentraciones de los niveles de P4 se asociaron con las variaciones de la temperatura en cada una de estos segmentos del tracto genital (El- Sheikh Ali et al., 2013).

2.4 Composición del fluido oviductal bovino (FOB)

El fluido del oviducto bovino (FOB) es una mezcla de sustancias que provienen del suero, más las secreciones del epitelio oviductal. Contiene numerosas sustancias metabólicas entre ellas, glucosa, lactato, piruvato, y aminoácidos, las cuales difieren en su concentración de la que presenta el fluido uterino y el plasma. Los componentes del FOB se han clasificado en diferentes grupos así: i) factores de crecimiento, citoquinas y receptores, ii) hormonas y receptores, iii) proteasas e inhibidores, iv) agentes protectores antioxidantes, v) agentes de defensa, vi) glicosidasas y glicosiltransferasas, vii) otras enzimas, viii) proteínas chaperonas y de choque calórico, ix) otras proteínas, x) proteoglicanos y glicosaminoglicanos, y xi) otros componentes (Avilés et al., 2010). Adicional a las sustancias descritas se reporta la presencia de una proteína de fase aguda llamada “glicoproteína ácida alfa 1” (AGP), que se encarga de proteger a los espermatozoides del ataque de los polimorfonucleares que se encuentran allí (Liu et al., 2014). El factor de crecimiento nervioso (NGF) y su receptor fue identificado recientemente en el oviducto y se cree que actúa a través de las gonadotropinas, ya que se identificaron receptores para LH y FSH. El NGF es esencial en el desarrollo motor y sensorial del tracto reproductivo (Li et al., 2014).

El volumen del FOB está regulado hormonalmente, bajo acción del E2 aumenta en cantidad y disminuye bajo la influencia de la P4. Cerca de la ovulación, el FOB se orienta hacia el peritoneo por 3 tres días, luego cambia en sentido opuesto, en el momento de la entrada del embrión al útero (Menezo y Guerin 1997).

La osmolaridad es 290 mOsm/kg, valor que se mantiene constante a pesar de los cambios hormonales, la viscosidad es similar a la del suero (1,8mPa/sec), la estrecha relación del sistema bicarbonato/CO₂/anhidrasa carbónica favorece el mantenimiento de un pH alcalino. La tensión de O₂ es de 60 mmHg. El conocimiento en detalle del contenido del FOB ha hecho posible simular las condiciones in vivo mediante el cultivo *in vitro* de las células del oviducto que permiten en la actualidad soportar los procesos de maduración y fertilización *in vitro*. Figura 3.

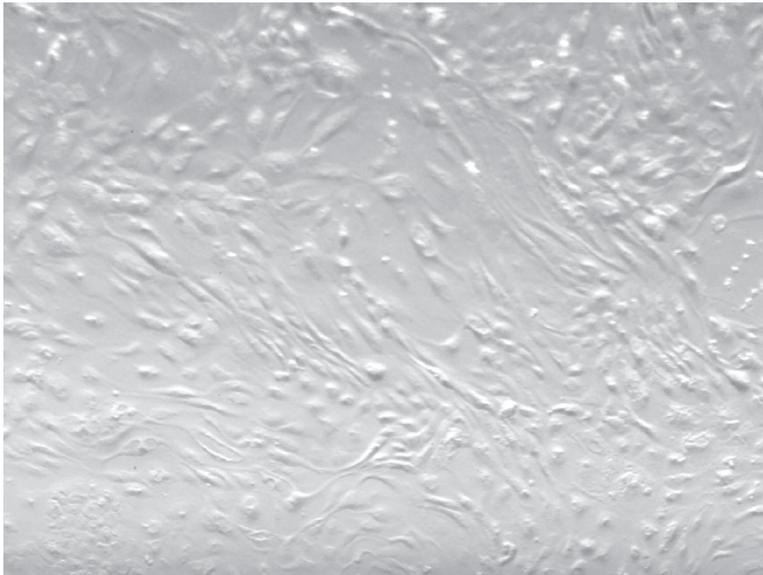


Figura 3. Cultivo *in vitro* de células oviductales (cortesía Dr. Richard Lopera).

2.5 Capacitación espermática

El espermatozoide necesita recorrer un largo camino para lograr el encuentro con el oocito, durante este trayecto, se ve expuesto a diferentes microambientes ya sea el cérvix o el útero, dependiendo del sitio de su deposición en las diferentes especies. Los espermatozoides que alcanzan el oviducto de los millones depositados, logran sobrevivir más tiempo que el oocito. El proceso de capacitación es un prerrequisito para que la fertilización ocurra y comprende una serie de procesos bioquímicos, biofísicos y metabólicos que resultan finalmente en cambios de la arquitectura y permeabilidad de la membrana plasmática (Rodríguez-Martínez, 2007). Una vez el espermatozoide se encuentra en el útero asciende progresivamente hasta el reservorio espermático en donde se une al epitelio oviductal y sufre una serie de complejos procesos que le permiten adquirir la capacidad

fertilizante. La liberación del espermatozoide del reservorio ocurre como resultado de los cambios endocrinos asociados con el momento de la ovulación. Los mecanismos que intervienen en la capacitación se relacionan con un aumento en la fluidez y composición de la membrana espermática (Gadella et al., 2008), fosforilación de la tirosina (Chanverland et al., 2001) y un aumento en los niveles de calcio intracelular (Handrow et al., 1989), lo que aumenta la motilidad del espermatozoide. En la vaca, la heparina, un glicosaminoglicano que se secreta en grandes cantidades alrededor de la ovulación, es una de las sustancias que ha sido mejor caracterizada, que interviene en la capacitación espermática (Parrish et al., 1988; Gualtier et al., 2005). Respecto a la fertilización se conoce que es un evento complejo que involucra múltiples etapas entre ellas, el reconocimiento de gametos, la unión y fusión en un proceso dependiente del calcio. El espermatozoide entra en contacto con las células del complejo oocito-cumulus (COCs) y con las glicoproteínas de la zona pelúcida y la matrix extracelular que rodea el oocito; producto de esta interacción el acrosoma del espermatozoide sufre un proceso de exocitosis que envuelve la fusión de la membrana acrosomal externa, la liberación del contenido enzimático del acrosoma y la exposición a la membrana acrosomal interna (Gadella, 2008). El descubrimiento del proceso de capacitación espermática fue un paso fundamental para el desarrollo de la técnica de fertilización *in vitro* (FIV). La capacitación *in vitro* se obtiene a través de la incubación del esperma con un medio simple que simula el fluido oviductal y requiere bicarbonato, calcio, seroalbumina, fuentes de energía y sustancias unidas al colesterol.

Bibliografía

Avilés M, Gutiérrez-Adan M, Coy P. Oviductal secretions: will they be key factors for the future ARTs?. *Mol Hum Reprod*, 2010; 16, 12:896–906.

Besenfelder U, Havlicek V, Brem G. Role of the Oviduct in Early Embryo Development *Reprod Dom Anim* 2012; 47 (Suppl. 4), 156–163.

Boni R, Gualtieri R, Talevi R, Tosti E. Calcium and other ion dynamics during gamete maturation and fertilization. *Theriogenology* 2007; 68S: S156–S164.

Chamberland A, Fournier V, Tardif S, Sirard MA, Sullivan R, Bailey JL. The effect of heparin on motility parameters and protein phosphorylation during bovine sperm capacitation. *Theriogenology* 2001;55:823–35.

Coy P, García Vazquez FA, Visconti PE, Avilés M. Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *Reproduction* 2012; 144: 649–660.

Croxatto HB. Physiology of gamete and embryo transport through the fallopian tube. *Reprod Biomed Online* 2002; 4: 1160-1169.

DeMott RP, Lefebvre R, Suarez SS. Carbohydrates mediate the adherence of hamster sperm to oviductal epithelium. *Biol Reprod*. 1995; 52: 1395–1403.

Dobrinski I, Ignatz GG, Thomas PG, Ball BA. Role of carbohydrates in the attachment of equine spermatozoa to uterine tubal (oviductal) epithelial cells in vitro. *Am J Vet Res* 1996; 57: 1635–1639.

El-Sheikh Ali H, Kitahara Go, Tamura Y, Kobayashi I, Hemmi K, Torisu S, Hiroshi Sameshima H, Horii Y, Zaabel S, Kamimura S. Presence of a Temperature Gradient Among Genital Tract Portions and the Thermal Changes Within These Portions Over the Estrous Cycle in Beef Cows. *J Reprod Dev*. 2013; 59: 59–65.

Gadella BM, Tsai PS, Boerke A, Brewis IA. Sperm head membrane reorganisation during capacitation. *Int J Dev Biol* 2008;52:473–80.

Gamete Interaction, and Effects of the Early Embryo in the Oviduct: Ex Vivo Analyses Using a New Digital Videomicroscopic System in the Cow. *Biol Reprod*. 2009; 81, 267–274.

Gervasi MG, Marczylo TH, Lam PM, Rana S, Franchi AM, et al. Anandamide Levels Fluctuate in the Bovine Oviduct during the Oestrous Cycle. *PLoS ONE*. 2013; 8(8): e72521.

Gualtieri R, Boni R, Tosti E, Zagami M, Talevi R. Intracellular calcium and protein tyrosine phosphorylation during the release of bovine sperm adhering to the fallopian tube epithelium in vitro. *Reproduction* 2005;129:51–60.

Gualtieri R, Mollo V, Duma G, Talevi R. Redox control of surface protein sulphydryls in bovine spermatozoa reversibly modulates sperm adhesion to the oviductal epithelium and capacitation. *Reproduction* 2009;138:33– 43.

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; 75: 501-507.

HandrowRR,FirstNL,ParrishJJ.Calcium requirement and increased association with bovine sperm during capacitation by heparin. *J Exp Zool* 1989;252:174–82.

Holt WV. Is semen analysis useful to predict the odds that the sperm will meet the egg? *Reprod Domest Anim* 2009; 44:31–38.

Holt WV, Fazeli A. The Oviduct as a Complex Mediator of Mammalian Sperm. *Function and Selection Mol Reprod Dev* 2010; 7:934–943.

Hunter RHF. Temperature gradients in female reproductive tissues and their potential significance. *Anim Reprod*; 2009; 6: 7–15.

Hunter RHF. Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biol Rev*. 2011. doi:10.1111/j.1467-185X.2011.00196.

Hunter RHF. Temperature gradients in female reproductive tissues. *Reproductive BioMedicine Online* 2012; 24: 377– 380.

Ishitsuka R, Kojima K, Utsumi H, Ogawa H, Matsumoto I. Glycosaminoglycan binding properties of annexin IV, V, and VI. *J Biol Chem* 1998; 273(16):9935–9941.

Kobayashi Y, Wakamiya K, Kohka M, Yamamoto Y, Okuda M. Summer heat stress affect prostaglandin synthesis in the bovine oviduct. *Reproduction* 2013; 146:103-110.
Kölle S, Dubielzig S, Reese S, Wehrend A, König P, Kummer W. Ciliary Transport.

Laszlo A, Nadasy GL, Monos E, Zsolnai B. Effect of pharmacological agents on the activity of the circular and longitudinal smooth muscle layers of human fallopian tube ampullar segments. *Acta Physiol Hung* 1988; 72:123–133.

Lindblom B, Hamberger L. Cyclic AMP and contractility of the human oviduct. *Biol Reprod* 1980; 22:173–178.

Lindblom B, Hamberger L, Wiqvist N. Differentiated contractile effects of prostaglandins E and F on the circular and longitudinal smooth muscle of the human oviduct. *Fertil Steril* 1978; 30:553–559.

Li C, Ma Y, Yi K, Wang C, Li W, Liu Z, et al. The interactions between nerve growth factor and gonadotrophins in bovine oviduct. *Anim Reprod Sci* 2014; 149: 117–123.

Liu J, Marey MA, Kowsar R, Hambruch N, Shimizu T, Haneda S, et al. An Acute-phase Protein as a Regulator of Sperm Survival in the Bovine Oviduct: Alpha 1-acid-glycoprotein Impairs Neutrophil Phagocytosis of Sperm In Vitro. *J Reprod Dev.* 2014; 60: 342–348.

Marey MA, Liu J, Kowsar R, Haneda S, Matsui M, Sasaki M, et al. Bovine oviduct epithelial cells down-regulate phagocytosis of sperm by neutrophils: prostaglandin E2 as a major physiological regulator. *Reproduction*; 2014; 147: 211–219.

Menezo Y, Guerin P. The mammalian oviduct: *Biochemistry and Physiology.* *Euro J Obst Gyn Reprod Biol.* 1997; 73:99-104.

Parrish JJ, Susko-Parrish J, Winer MA, First NL. Capacitation of bovine sperm by heparin. *Biol Reprod* 1988;38:1171–80.

Paton DM, Widdicombe JH, Rheaume DE, Hohns A. The role of the adrenergic innervation of the oviduct in the regulation of mammalian ovum transport. *Pharmacol Rev* 1977; 29:67–102.

Rodriguez-Martinez H. Role of the oviduct in sperm capacitation. *Theriogenology*. 2007; 68S: S138–S146.

Sostaric E, Dieleman SJ, van de Lest CH, Colenbrander B, Vos PL, Garcia- Gil N, et al. Sperm binding properties and secretory activity of the bovine oviduct immediately before and after ovulation. *Mol Reprod Dev*. 2008; 75: 60–74.

Suarez SS. Formation of a reservoir of sperm in the oviduct. *Reprod Dom Anim*. 2002; 37 140–143.

Suarez, SS. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int J Dev Biol*. 2008; 52: 455-462.

Talevi R, Gualtieri R. Sulfated glycoconjugates are powerful modulators of bovine sperm adhesion and release from the oviductal epithelium in vitro. *Biol Reprod*. 2001; 64(2):491–498.

Talevi R, Zagami M, Castaldo M, Gualtieri R. Redox regulation of sperm surface thiols modulates adhesion to the fallopian tube epithelium. *Biol Reprod*. 2007; 76(4):728–735.

Talevi R, Gualtieri R. Molecules involved in sperm-oviduct adhesion and release. *Theriogenology*. 2010; 73:796–801.

Weber JA, Freeman DA, Vanderwall DK, Woods GL. Prostaglandin E2 hastens oviductal transport of equine embryos. *Biol Reprod*. 1991; 45:544–546.

Yamamoto Y, Kobayashi Y, Okuda K. Purified culture system for bovine oviductal stromal cells. *J Reprod Dev*. 2014; 60:73-77.