

# El Espermatozoide en su Recorrido a Través del Tracto Reproductor Femenino

## Sperm Transport Through the Female Reproductive Tract

Pilar Vigil<sup>\*,\*\*</sup>; Ismael Valdés-Undurraga<sup>\*</sup>; Juan Pablo del Río<sup>\*,\*\*\*</sup> & Manuel E. Cortés<sup>\*,\*\*\*\*</sup>

---

**VIGIL, P.; VALDÉS-UNDURRAGA, I.; DEL RÍO, J. P. & CORTÉS, M. E.** El espermatozoide en su recorrido a través del tracto reproductor femenino. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(4):643-662, 2015.

**RESUMEN:** Los espermatozoides de mamíferos son células especializadas y altamente complejas que sobreviven a un largo y fascinante viaje desde el lugar de la inseminación hasta el tercio superior del oviducto, donde ocurre la fecundación. Durante este viaje tienen que atravesar diferentes microambientes, los cuales proporcionan las condiciones adecuadas para la ocurrencia de la capacitación espermática y de la reacción acrosómica (RA) en el momento y lugar necesarios. Estos eventos deben ocurrir en una secuencia muy sincronizada con el fin de asegurar que tenga lugar la fecundación. El objetivo de este artículo de revisión es describir y analizar los diversos cambios que los espermatozoides experimentan durante su viaje a través del tracto genital femenino y la forma en que se ven influenciados por el epitelio y las secreciones presentes en el cuello uterino, endometrio y oviducto. Estos microambientes evitarán que la RA se produzca antes de tiempo, e.g., la función retardante del moco cervical estrogénico, o estimularán su desencadenamiento, como en el caso de la progesterona presente en el fluido oviductal durante la ovulación. En todos los casos, el tracto reproductor femenino proveerá las condiciones necesarias para garantizar la supervivencia, la capacitación, la RA y la migración de los espermatozoides para llegar a fusionarse posteriormente con el ovocito. Estos microambientes contienen varias hormonas, neurotransmisores y otros metabolitos para los cuales los espermatozoides poseen receptores específicos a través de los que estas sustancias pueden modular su potencial fecundante. El estudio y la comprensión de las condiciones fisiológicas necesarias para la fusión de las membranas gaméticas es un aspecto importante a considerar tanto en investigación básica y aplicada en biología reproductiva.

**PALABRAS CLAVE:** Aparato genital femenino; Capacitación; Fecundación; Hormonas; Migración espermática; Reacción acrosómica.

---

## INTRODUCCIÓN

El recorrido de los espermatozoides a través del tracto genital femenino se inicia cuando, al ser depositados en el tercio superior de la vagina, deben migrar hacia el cérvix para luego ascender por la cavidad endometrial hacia el oviducto con el fin de alcanzar el sitio de la fecundación. Esta ocurrirá en el tercio distal del oviducto después de un largo recorrido espermático que puede tardar desde escasos 5 a 10 minutos hasta unos 5 a 7 días. Durante este recorrido, el espermatozoide va tomando

contacto con las diferentes estructuras y secreciones del tracto genital femenino, ambos altamente influenciados por las hormonas esteroidales sexuales. El contacto con estos y otros compuestos le permitirá al espermatozoide experimentar una serie ordenada de cambios que le capacitarán para una fecundación exitosa.

Las concentraciones de hormonas en el tracto reproductor femenino varían considera-

\* Reproductive Health Research Institute, Biomedical Division, Santiago, Chile.

\*\* Pontificia Universidad Católica de Chile, Vicerrectoría de Comunicaciones y Educación Continua, Santiago, Chile.

\*\*\* Universidad de los Andes, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Santiago, Chile.

\*\*\*\* Universidad Bernardo OHiggins, Facultad de Salud, Deporte y Recreación, Departamento de Ciencias Químicas y Biológicas, Santiago, Chile.

blemente según la localización anatómica y la fase del ciclo menstrual en que se encuentre la mujer. Resulta interesante notar que los estrógenos (e.g., el estradiol), la progesterona y la testosterona tendrán acciones diferentes, pudiendo ser incluso antagónicas, sobre los cambios que experimenta el espermatozoide. Para el éxito de la fecundación es imprescindible que estos cambios ocurran tanto en una secuencia ordenada como en el momento indicado.

Los diferentes procesos que experimentará el espermatozoide desde el momento de la eyaculación se denominan capacitación espermática y en ellos se consideran todos los cambios que ocurren antes de (y que preparan al espermatozoide para) la reacción acrosómica (RA).

Durante la capacitación espermática también suceden cambios en la actividad del flagelo del espermatozoide. Estos cambios se conocen con el nombre de hiperactivación, que se caracteriza por cambios en el ángulo de la cabeza del espermatozoide y variaciones en la motilidad de su cola, que pasa de realizar movimientos de baja amplitud y alta frecuencia, los que permiten un rápido avance por el tracto femenino, a otros de alta amplitud y bajafrecuencia, que dan la posibilidad de aumentar el radio de barrido de la cabeza, facilitando así el encuentro con el ovocito. Si, por ejemplo, la hiperactivación ocurriese mucho antes de que el espermatozoide se aproxime al ovocito y, por ende, hubiese un disturbio en la secuencia de los cambios, el movimiento flagelar no le permitiría avanzar hasta la zona de la fecundación.

Una vez finalizada la capacitación, el espermatozoide experimenta la RA, que consiste en la fusión de la membrana plasmática espermática con la membrana acrosómica externa. Durante la RA se da salida al contenido de la vesícula acrosómica, que esta constituida por enzimas, tales como proacrosina, acrosina, hialuronidasa y tripsina, que ayudan al espermatozoide en el paso por las cubiertas ovocitarias.

La fusión gamética ocurre entre el segmento ecuatorial de la membrana plasmática del espermatozoide con la membrana plasmática del ovocito. La RA es necesaria para que ocu-

rran cambios a nivel del segmento ecuatorial y post-ecuatorial de la membrana plasmática del espermatozoide, que le permitirán esta unión. Por lo tanto, si un espermatozoide no ha experimentado la RA, no podrá adquirir las condiciones necesarias para la fusión gamética.

Los fenómenos mencionados son altamente influenciados por el medio en donde se encuentra el espermatozoide, en donde las hormonas esteroidales sexuales y las sustancias secretadas por los diferentes tipos celulares que componen el tracto reproductor femenino, juegan un rol crucial para la activación o inhibición de los cambios mencionados. El objetivo de este artículo es describir y analizar los diversos cambios que experimentará el espermatozoide en su recorrido por el tracto genital femenino y cómo estos son condicionados por el medio en el cual el gameto se encuentre.

### **Función del moco cervical en el paso de los espermatozoides a través del cuello uterino**

La primera barrera que atraviesan los espermatozoides en su recorrido por el tracto genital femenino es la del moco (o secreción) cervical. Esta sustancia, fundamental para el proceso reproductivo, corresponde a un hidrogel altamente hidratado que además contiene mucinas (glicoproteínas viscoelásticas) y algunos compuestos minoritarios, e.g., hormonas (Vigil *et al.*, 2014). El moco cervical es producido en el cuello del útero de conejos, rumiantes como bovinos y ovinos, y primates, como el caso de los humanos (Cortés, 2012). Se ha descrito (Hafez, 1976) la existencia de dos formas de transporte a través del moco cervical: una rápida, en la cual los espermatozoides, tan pronto como a los 5 a 10 minutos después de ser depositados en el tercio superior de la vagina, ya se encontrarían en las tubas uterinas y una forma lenta, en la cual los espermatozoides serían almacenados en las criptas cervicales. El período de almacenamiento en estas criptas es variable, pudiendo transcurrir desde horas hasta incluso 5 a 7 días cuando hay presencia de moco estrógeno.

El paso o permanencia del espermatozoide en el cuello del útero reviste una gran im-

portancia en el humano, ya que el moco ejerce una serie de funciones biológicas sobre el gameto masculino, tales como: 1) la selección de espermatozoides morfológicamente anormales; 2) la conservación del acrosoma para mantener su capacidad de fecundar; 3) la acción antimicrobiana de algunos metabolitos presentes en el moco cervical; y 4) brindar un medio nutricio adecuado. Tal como se ha mencionado, no todas las especies de mamíferos producen secreción cervical. La presencia de este hidrogel podría deberse, en el caso humano, a la necesidad evolutiva de contar con una barrera selectiva que actúe como filtro para los espermatozoides anormales, que en el humano pueden alcanzar desde el 40 % hasta el 60 % en un eyaculado. Esto contrasta con roedores donde la tasa de formas anormales no supera el 5 a 10 % (Vigil & Bustos-Obregon 1985).

El moco cervical es un hidrogel, compuesto de una fase acuosa en la cual se encuentran proteínas de baja masa molecular, azúcares, enzimas y iones inorgánicos; y otra fase gel, en la cual están presentes las mucinas. Estas son una familia heterogénea de glicoproteínas de alta masa molecular, formadas por un segmento cubierto de oligosacáridos y un segmento desnudo, en el cual se encuentran los aminoácidos funcionales desde el punto de vista estructural (Sheehan & Carlstedt, 1990).

En la actualidad, la familia de las mucinas humanas (MUC) consiste de, por lo menos, 21 miembros, designados desde MUC1 a MUC21. Las mucinas han sido subclasificadas en secretadas o de transmembrana. Las secretadas tienen características bioquímicas únicas: presentan dominios ricos en cisteínas y otros dominios glicosilados que favorecen la homo-agrupación. Esta característica daría la capacidad a estas mucinas de formar un gel mucoso, generando así una barrera física importante, tanto en el transporte espermático como en la protección del tracto reproductivo a microorganismos y noxas medioambientales (Kufe, 2009).

En el epitelio del cuello uterino, se han identificado 7 mucinas: MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6 y MUC8, cuatro de las cuales corresponden a mucinas formadoras de geles. Mediante el uso de anticuerpos

monoclonales, se ha demostrado que las mucinas 4 y 5B son las que se expresan mayoritariamente a nivel del epitelio endocervical (Gipson *et al.*, 1997, 1999).

Las mucinas son muy importantes para explicar la variación en los cambios que ocurren en la naturaleza física y bioquímica del moco cervical durante el ciclo menstrual. Es decir, las variaciones en las propiedades reológicas del moco, e.g., la viscoelasticidad, dependen principalmente de los cambios en las mucinas. Sin embargo, la importancia de las mismas en relación a posibles cambios que puedan ocasionar en el espermatozoide aún se desconoce (Vigil *et al.*, 1991; Katz *et al.*, 1997).

A nivel microscópico, la ultraestructura del moco cervical se observa con una disposición similar a un entramado. (Barros *et al.*, 1985). En base a esto, se han descrito dos modelos diferentes para explicar el arreglo molecular del moco cervical: uno en forma de túneles con espacios vacíos entre ellos, los cuales tendrían mayor diámetro en el período estrogénico, facilitando así la migración espermática. Durante el período progestativo el diámetro de estos túneles disminuiría, impidiendo la migración espermática. Otro arreglo molecular describe al moco como una red, la cual cambiaría de una estructura laxa, durante la fase estrogénica, a una densa durante la fase progestativa (Daunter *et al.*, 1976; Vigil *et al.*, 1991). Para formar esta red, las moléculas de mucina estarían interconectadas probablemente a través de sus segmentos desnudos. En este modelo los espermatozoides también podrían migrar a través de esta red sólo durante el período estrogénico del ciclo menstrual. Es importante recalcar que la evidencia ultraestructural obtenida mediante microscopía electrónica de barrido muestra que durante el paso de los espermatozoides a través del moco cervical, estos están en estrecho contacto con las fibras glicoproteicas que lo componen, dispuestas paralelamente unas respecto a otras (Chrétien, 2003; Barros *et al.*, 1985). Este contacto permite suponer un importante intercambio de moléculas que podría jugar un rol en la capacitación espermática.

Otro mecanismo que facilitaría o impediría el transporte espermático, es el porcentaje

de hidratación del moco cervical. Este muestra su máximo grado de hidratación, de un 98 a 99%, durante el período periovulatorio, en el cual los niveles estrógenicos se encuentran elevados. Este moco estrógeno es altamente permeable a los espermatozoides. Por otra parte, en la fase lútea del ciclo menstrual, donde hay altos niveles de progesterona, el porcentaje de hidratación desciende a un 94 a 95 %, haciéndolo impenetrable por los espermatozoides. En otras etapas, como la lactancia materna, donde estrógenos y progesterona se encuentran en bajas concentraciones, el porcentaje de hidratación es de un 95 a 96 % (Morales *et al.*, 1993), siendo también impenetrable por los espermatozoides. Es notable el hecho de que variaciones de un 4 a 5% en el porcentaje de hidratación provoquen en este hidrogel un cambio tan importante en su permeabilidad hacia los espermatozoides. Junto a esto, se ha determinado también que proteínas de baja masa molecular, presentes entre la red de mucina, disminuyen en el período periovulatorio, facilitando así la migración espermática (Vigil *et al.*, 1991).

Estudios han demostrado que la principal mucina formadora de geles presente en el moco cervical es MUC5B, que se ha descrito como la más hidrofílica de la familia de las mucinas. Los niveles de MUC5B son altos durante la etapa preovulatoria del ciclo menstrual y existe una importante alza acotada al momento de la ovulación. Uno de los mecanismos propuestos para los cambios de hidratación del moco cervical estaría dado por la capacidad única de las mucinas de llenar espacios con agua, pues su extrema hidrofiliidad les permite unir gran cantidad de agua en su superficie (Gerken, 1993). De esta manera, el aumento en los niveles de mucinas en el moco cervical, particularmente MUC5B, podría explicar el aumento en el contenido de agua presente en este en ciertas etapas del ciclo menstrual, facilitando así el paso de los espermatozoides durante el período periovulatorio.

El moco cervical también tiene la habilidad de seleccionar espermatozoides normales, impidiendo el paso de los morfológicamente anormales o de aquellos con trastornos en su motilidad (Barros *et al.*, 1984). Reforzando este hecho, otros autores han confirmado que

espermatozoides con anomalías morfológicas de cabeza presentan una inadecuada penetración en el moco (Eggert-Kruse *et al.*, 1995; Fredricsson & Bjork, 1977; Hanson & Overstreet, 1981).

Junto con la selección en base a morfología y motilidad del espermatozoide, la selectividad del moco cervical actuaría también sobre anomalías genómicas y de ADN. Esto es relevante ya que se sabe que las anomalías en la estructura de la cromatina afectan negativamente la fertilidad masculina, alterando la fecundación, el desarrollo embrionario, y el embarazo (Qiu *et al.*, 1995a, 1995b; Lopes *et al.*, 1998; Sakkas *et al.*, 1996; Bianchi *et al.*, 2004).

Por otro lado, las variaciones en los niveles de hormonas esteroideas sexuales durante el ciclo menstrual, además de controlar las características físicas y bioquímicas del moco (Vigil *et al.*, 1991, 1995, 2009; Ceric *et al.*, 2005; Morales *et al.*) ejercen un efecto directo sobre los espermatozoides. Un ejemplo de esto lo constituyen las altas concentraciones de estradiol presentes en el moco cervical durante el período fértil de la mujer, que se ha probado, inhiben la RA de los espermatozoides. Esto sería muy importante para facilitar una fecundación exitosa, ya que los espermatozoides pueden sobrevivir durante varios días en las criptas cervicales. El hecho de que durante este período de permanencia se encuentren con un alto contenido estrogénico aseguraría la no ocurrencia de una RA prematura, ya que de realizarse, el espermatozoide no podría tener la RA en la cercanía del ovocito, impendiéndose así una fecundación exitosa. En el caso del espermatozoide, el estradiol estaría actuando a través de la llamada "vía no canónica" (i.e., ruta no genómica). Esta vía se caracteriza por la unión del estradiol a receptores de membrana, lo cual genera un influjo de calcio y fosforilaciones de tirosina de proteínas que mediarían efectos no genómicos (Luconi *et al.*, 2004; Aquila *et al.*, 2004; Vigil *et al.*, 2007).

La presencia de testosterona también ha sido documentada en el moco cervical (Adamopoulos *et al.*, 2000). Estudios *in vitro* han demostrado que la testosterona inhibe la RA. Se sabe que la RA involucra mecanismos

que modifican la fluidez de la membrana plasmática del espermatozoide y que lleva a un incremento de la concentración intracelular de calcio. Dentro de este contexto, se ha reportado que la testosterona genera perturbaciones menores en la fluidez de las membranas externa y plasmática del acrosoma, viéndose impedida la fusión de membranas (Shivaji & Jagannadham, 1992). Lo anterior está de acuerdo con nuestros estudios (Vigil *et al.*, 2012a), en los cuales se ha observado que concentraciones fisiológicas de testosterona ejercen un efecto inhibitorio sobre la exocitosis acrosomal del espermatozoide humano.

Lo anterior demuestra, de forma sorprendente, que las variaciones hormonales durante el ciclo menstrual de la mujer no solo estarían orientadas a una ovulación exitosa, sino que además cooperan con la secuencia ordenada e indispensable de eventos que requiere el espermatozoide para lograr la fecundación.

El moco cervical brinda un medio nutricio adecuado para los espermatozoides, ya que en su fase acuosa existen nutrientes que permiten una sobrevivencia de 5 a 7 días en el cuello del útero. Esto es importante, ya que al considerar la fertilidad de la pareja humana se debe recordar que los espermatozoides pueden permanecer almacenados en las criptas del cuello uterino por períodos prolongados, siendo sucesivamente liberados a la cavidad endometrial. La consecuencia de lo anterior es que la fecundación puede ser exitosa sin que necesariamente exista una coordinación temporal entre inseminación y ovulación (Vigil, 2013).

En conclusión, el moco cervical juega un rol importante como puerta de entrada al tracto reproductor femenino y además en la naturaleza es de gran relevancia para que el espermatozoide pueda llegar al lugar de la fecundación en condiciones óptimas para penetrar las cubiertas ovocitarias y así lograr la fusión de las membranas plasmáticas.

### **El endometrio en el recorrido espermático**

Después de su paso por el canal cervical, el espermatozoide se ubicará en la cavidad uterina y tomará contacto con las células endometriales y sus secreciones, en donde po-

dría estar por un tiempo de 2 a 2,5 días. Ciertos estudios han descrito que las células del endometrio podrían participar en la capacitación espermática (Fusi *et al.*, 1994; Lai *et al.*, 1996; Laflamme *et al.*, 2005; Lachance *et al.*, 2007). Durante este proceso, aumenta la fluidez de membrana y ocurren fosforilaciones de diversas proteínas en sus residuos de tirosina.

Las células endometriales secretan una variedad de citoquinas, de las cuales la más estudiada es interleuquina-6 (IL-6). Se ha visto que IL-6 tiene la capacidad de inducir la RA. Sin embargo, en altas concentraciones tendría un efecto deletéreo sobre el espermatozoide, disminuyendo su motilidad y viabilidad (Naz & Kaplan, 1994a, 1994b). Durante la fase proliferativa del ciclo menstrual, las células endometriales epiteliales facilitarían la capacitación espermática a través de la secreción de IL-6. Luego, durante la fase lútea, se produciría un aumento en la producción de IL-6 endometrial, lo cual podría afectar negativamente la capacidad fecundante del espermatozoide (Tabibzadeh *et al.*, 1995; Vandermolen & Gu, 1996; von Wolff *et al.*, 2002).

En el endometrio, también se ha encontrado la presencia de dos proteínas chaperonas: Hsp60 (Heat Shock Protein 60) y GRP78 (glucose-regulated protein 78 kDa), las cuales también estarían participando en el proceso de capacitación espermática. Se ha demostrado que el aumento de calcio inducido por progesterona es mayor en espermatozoides tratados previamente con estas chaperonas (Lachance *et al.*, 2007), lo cual puede plantear el hecho de que estas proteínas estarían sensibilizando al gameto masculino para experimentar la reacción acrosómica en el momento en que se encuentre en el tercio distal del oviducto, donde se sabe que las concentraciones de progesterona son mayores al momento de la ovulación. Otros estudios han demostrado que Hsp60 previene parcialmente la fosforilación en tirosina de proteínas, durante el proceso de capacitación espermática, lo cual haría suponer una modulación altamente selectiva de los procesos moleculares que estarían ocurriendo en el espermatozoide.

De esta manera, el endometrio estaría participando en el proceso de capacitación

espermática, modulando la fosforilación en tirosina de proteínas, respuestas de calcio, RA, motilidad y viabilidad. Sin embargo, el paso del espermatozoide por el endometrio aún permanece como una de las áreas que requiere de mayor investigación para comprender el proceso reproductivo.

### **Recorrido del espermatozoide a través del oviducto e interacción con sus células**

En humanos, después del paso por la cavidad endometrial, unos pocos miles de espermatozoides ascenderán hacia el oviducto en su viaje hacia el encuentro con el ovocito. Es en este sitio donde el espermatozoide concluye su capacitación, y se gatilla la RA. Estudios *in vitro* utilizando fragmentos de oviducto mostraron que existe una estrecha relación entre espermatozoides y las células oviductales (Suarez *et al.*, 1991; Vigil *et al.*, 2012b). Luego, nuestro grupo de investigación, pudo demostrar una activa participación del oviducto en la capacitación del espermatozoide humano, al comprobar que espermatozoides que migraban a través del oviducto presentaban una mayor tasa de RA que los incubados en medio de cultivo (Vigil *et al.*, 1994).

Observaciones más recientes han revelado que el rol del oviducto previo a la fecundación es más complejo que la sola ocurrencia de la capacitación. Se ha demostrado que células epiteliales de oviducto co-incubadas con espermatozoides, responden con síntesis de novo de nuevas proteínas (Ellington *et al.*, 1993). Estudios posteriores apoyan estos descubrimientos, mostrando que en roedores la interacción oviducto-espermatozoide genera cambios de expresión de 214 genes presentes en el "array" (Fazeli *et al.*, 2004). En cerdo se observó algo similar, comparando el efecto de la co-incubación de células oviductales con espermatozoides u ovocitos. En ambos casos se observó un aumento en la expresión de proteínas por parte de las células del oviducto al ser co-incubadas con gametos. Sin embargo, el aumento en la síntesis proteica fue considerablemente mayor en el caso de la co-incubación con espermatozoides (Georgiou *et al.*, 2007). Estos estudios demuestran que los gametos tienen la habilidad de perturbar y modificar su ambiente, a través de cambios en la expresión de proteínas.

En conejos, los espermatozoides tienden a permanecer en una estrecha asociación con las células ciliadas del oviducto (Motta & Van Blerkom, 1975). En cerdos, también ha sido descrito que los espermatozoides establecen contacto con las células ciliadas (Flechon & Hunter, 1981), lo cual se replicó en estudios realizados en jabalí, donde se observó que espermatozoides vivos se pueden unir a la superficie apical del epitelio del oviducto (Suarez *et al.*). Lo anterior concuerda con los datos obtenidos en humanos, donde se ha demostrado que durante el paso del espermatozoide a través del oviducto, este no nada libremente por el lumen, sino que establece una interacción con la secreción mucosa del oviducto (Vigil *et al.*, 1994), además de tener una estrecha relación física con las células ciliadas del epitelio oviductal (Vigil *et al.*, 2012b). Estudios realizados en bovino, sugieren que esta interacción entre el espermatozoide y el epitelio del oviducto podría aumentar la vida fértil del gameto masculino (Pollard *et al.*, 1991). Se ha propuesto que las células epiteliales oviductales participarían en una selección espermática, asegurando la disponibilidad de gametos viables, posiblemente por una unión dependiente de la integridad de su membrana. También existe la posibilidad de que actúen liberando paulatinamente una población seleccionada, hiperactivada, con una alta capacidad fecundante (Pollard *et al.*).

Una vez en el oviducto, el espermatozoide puede permanecer en contacto con sus secreciones por horas e incluso días (Zumoffen *et al.*, 2010). El oviducto no solo mantiene la viabilidad de los gametos, sino que también ofrece un medio adecuado para que ocurra la fecundación y el desarrollo embrionario. En caso de ocurrir la fecundación, el oviducto juega un importante rol en el transporte del embrión a la cavidad endometrial. Este transporte requiere de una temporalidad precisa que garantice su correcto desarrollo. Esto hace del oviducto una estructura fundamental dentro del proceso reproductivo (Croxatto *et al.*, 2011; Hunter, 1988).

Se han descrito diversas moléculas que están presentes en los fluidos del oviducto y que actúan directamente sobre el espermatozoide. Dentro de estas se encuentran el péptido atrial natriurético, catecolaminas y el ácido gamma-aminobutírico (GABA).

El péptido natriurético atrial (PNA), también conocido como hormona atrial natriurética, es un poderoso vasodilatador producido por las células musculares del corazón (Potter *et al.*, 2009), pero también se ha encontrado en oviducto y fluido folicular de mamíferos (Zhang, 2006; Anderson *et al.*, 1994). Existe evidencia que el espermatozoide posee receptores de PNA (Rotem *et al.*, 1998; Zhang, 2006), a través de los cuales este induciría la RA (Anderson *et al.*, 1995; Zhang; Rotem *et al.*, 1998).

Adrenalina y noradrenalina, hormonas catecolaminas ampliamente conocidas por su efecto sobre el sistema nervioso autónomo, estarían presentes en altas concentraciones en el fluido oviductal de ciertos mamíferos (Way *et al.*, 2001), incluyendo el humano (Helm *et al.*, 1982). La noradrenalina tendría un efecto inductor de la RA en espermatozoides de bovinos como el toro (Way & Killian, 2002). Si bien la adrenalina tendría efectos similares a los de noradrenalina, estos son más discretos en magnitud (Way & Killian). Los mayores niveles de noradrenalina dentro del oviducto se encuentran en la región ístmica y fimbria, durante el período de la ovulación (Helm *et al.*). Ello sugiere que las catecolaminas favorecerían la RA en una ventana temporal y regionalmente acotada, para así asegurar una fecundación exitosa. Otra hormona catecolamina es la dopamina, la cual estaría en todo el recorrido que el espermatozoide debe recorrer por el tracto reproductor femenino. Recientes estudios (Urre *et al.*, 2014) muestran que los espermatozoides equinos poseen receptores de dopamina. Altas concentraciones dopaminérgicas afectan significativamente la motilidad espermática sin alterar su viabilidad, pero sí su capacitación. Se ha propuesto que la dopamina ejerce un efecto inmovilizante de espermatozoides en los reservorios oviductales, con el fin de seleccionar los mejores gametos antes de la ovulación (Urre *et al.*).

El GABA es otra de las biomoléculas que ejerce efectos sobre la RA. GABA es conocido clásicamente como el neurotransmisor inhibitorio por excelencia en el sistema nervioso central, y participa en la mayoría de las sinapsis inhibitorias disminuyendo la excitabilidad de los circuitos cerebrales. Además de su rol inhibitorio a nivel de SNC, esta molécula ha sido involucrada en una variedad de eventos celulares en tejidos

periféricos no neuronales, sugiriendo que podría ser un factor trófico y una hormona (Ong & Kerr, 1990; Gladkevich *et al.*, 2006). GABA está también presente en tejidos humanos como el útero, oviductos, y ovarios (Erdo *et al.*, 1989), así como también en ciertos fluidos, como el plasma seminal humano (Leader *et al.*, 1992). En relación a la fisiología reproductiva, se ha demostrado que GABA es un potente inductor de la RA en espermatozoides humanos (Shi *et al.*, 1997). Este efecto estaría mediado por un receptor de membrana que, induciendo la entrada de calcio, aumentaría la concentración de calcio intracelular (Shi *et al.*). GABA actúa principalmente a nivel del receptor GABAA, activándolo y generando un eflujo de cloruro, lo que despolariza la membrana plasmática del espermatozoide, activando canales de calcio dependientes de voltaje de membrana. Al abrirse estos, se genera el influjo de calcio necesario para gatillar la RA (Turner & Meizel, 1995).

El oviducto podría presentar una doble función en relación a la RA. Mientras los espermatozoides están adheridos o en estrecho contacto con las células ciliadas del oviducto, o bien con la secreción mucosa de las células secretoras presentes en el epitelio, la RA se vería retardada, mostrándose así como un microambiente apropiado para preservar las competencias fecundantes del gameto masculino, previo a la ovulación (Zumoffen *et al.*, 2010). Por otra parte, al ser liberados los espermatozoides hacia el lumen del oviducto, evento promovido por moléculas como progesterona y catecolaminas (Harper, 1994), encontrarían en el líquido oviductal moléculas inductoras de la RA, como GABA, catecolaminas y progesterona. Esta hipótesis se ve respaldada por estudios que han demostrado que la interacción espermatozoide-oviducto podría prolongar la vida fértil del gameto masculino, retardando la capacitación (Zumoffen *et al.*; Murray & Smith, 1997), y otros en donde se ha visto que la adición de medio condicionado oviductal humano a espermatozoides incubados *in vitro* inhibió la fosforilación de tirosinas de proteínas y disminuyó el porcentaje de RA de manera dosis dependiente. Por otro lado, nuestro grupo demostró que la población de espermatozoides recogidos en un medio de cultivo, luego de atravesar un trozo de epitelio oviductal, presentó un porcentaje de RA mayor que aquellos incubados

en medio de cultivo por el mismo período de tiempo sin haber atravesado el epitelio (Vigil *et al.*, 1994). Por lo tanto, mientras los espermatozoides están adheridos al epitelio oviductal, o en estrecho contacto con las células oviductales y sus secreciones, existirían factores que activamente retardan la RA. Una vez que los espermatozoides son liberados de esta influencia podrían responder al estímulo de compuestos inductores de la RA.

Durante el proceso de capacitación, el espermatozoide se hiperactiva. Los espermatozoides hiperactivados muestran un aumento del barrido flagelar (Suarez & Ho, 2003). El aumento en la fuerza del barrido flagelar, puede proveer la fuerza necesaria para superar la atracción entre el espermatozoide y el epitelio oviductal (Suarez, 2008). En estudios realizados en trozos de oviductos obtenidos de ratas recién cruzadas, se ha observado que los espermatozoides hiperactivados son capaces de liberarse de la unión con el epitelio, mientras que la población no hiperactivada se mantiene unida a éste (Demott & Suarez, 1992).

Se ha visto que, tanto en la juntura uterotubaria como en el istmo, hay presencia de moco que dificulta el paso del espermatozoide a través de esta zona (Jansen, 1980). La hiperactivación se ha propuesto como un evento necesario para facilitar el nado del espermatozoide a través de esta zona (Suarez), lograr ascender en su trayecto hacia el ovocito y permitir el encuentro con el mismo.

De este modo, el oviducto estaría cumpliendo tres importantes funciones en el recorrido del espermatozoide: 1) ser un reservorio espermático; 2) actuar como agente selector y 3) inducir la RA en el momento adecuado.

### **Rol del líquido folicular en el encuentro de los gametos**

El fluido extracelular que se acumula en la cavidad antral de un folículo ovárico terciario (folículo de Graff), que convencionalmente se ha llamado líquido folicular, participa significativamente en diversos eventos reproductivos tanto localmente, a nivel del ovario, como también en ambientes menos inmediatos, tales como el tracto genital.

Acumulándose entre las células de la granulosa del folículo en crecimiento, este fluido ovárico es una mezcla de secreciones, especialmente de hormonas sexuales esteroideas como progesterona, estrógenos; y en ciertos casos testosterona, péptidos y glicosaminoglicanos. A pesar que gran parte de su contenido es aportado por células de la granulosa, productos moleculares del ovocito y secreciones de la teca interna también están presentes en el fluido folicular (Hunter).

Luego de la ovulación, el líquido folicular, junto con el complejo cumulo-ovocito, es captado por el oviducto. Se ha demostrado *in vitro* que el líquido folicular es capaz de atraer espermatozoides. Los espermatozoides con mayor capacidad fecundante son los que, aparentemente, tendrían mejor respuesta a la actividad quimiotáctica del fluido folicular (Ralt *et al.*, 1991).

Se han descrito diversas moléculas que están presentes en el fluido folicular y que actúan directamente sobre la fisiología del espermatozoide. Dentro de estas se encuentran: progesterona, estrógenos, testosterona, PNA, angiotensina II y GnRH.

Como describimos anteriormente, la progesterona y el PNA son estimuladores de la RA, y el estradiol y la testosterona serían inhibidores o retardantes de la misma. En particular, la progesterona, que se produce en el ovario y se acumula en el líquido folicular, es uno de los más potentes inductores de la RA. Resulta interesante que en humanos, existe un aumento de progesterona previo a la ovulación (Blackwell *et al.*, 2013). En el folículo, esto tiene como consecuencia un aumento en la cantidad de progesterona presente. Esta alta concentración de progesterona en el líquido folicular, que acompaña al ovocito en el momento de la ovulación, favorecería una correcta interacción ovocito-espermatozoide, promoviendo una RA temporal y espacialmente adecuada dentro del proceso de fecundación.

En el caso de mujeres con síndrome de ovario poliquístico, con niveles de andrógenos elevados, el efecto de la testosterona podría presentar cierta relevancia. Se ha demostrado que el nivel de testosterona en líquido folicular



en este grupo es mayor que en mujeres normales (Teissier *et al.*, 2000). En este escenario, la ovulación generaría la liberación de un complejo cumulo-ovocito acompañado de un líquido folicular rico en testosterona, que en el momento del encuentro con el espermatozoide podría retardar la RA, afectando así la fecundación del ovocito.

Angiotensina II es una hormona que posee un amplio rango de funciones fisiológicas, a través de las cuales controla la presión arterial y el volumen de plasma sanguíneo. Angiotensina II genera sus efectos a través de la activación de dos receptores de membrana, AT1 y AT2 (Griendling *et al.*, 1996). El receptor AT1, previo a la capacitación del espermatozoide, ha sido encontrado principalmente en la cola de los espermatozoides. Sin embargo, estudios en espermatozoides de bovino capacitados han mostrado que este receptor se encuentra mayoritariamente en la cabeza (Gur *et al.*, 1998), aunque los estudios mencionados son en especies diferentes, esto sugiere que en mamíferos ocurre un cambio de localización del receptor luego de la capacitación. Estudios realizados en bovino, equino y humano, han mostrado que esta hormona actúa como inductor de la RA, a través de la activación de su receptor AT1 (Sabeur *et al.*, 2000; Kohn *et al.*, 1998; Gur *et al.*). Estos efectos son mediados por calcio extracelular, y pueden ser bloqueados suministrando Losartán, un inhibidor selectivo del receptor AT1 (Gur *et al.*). Estos antecedentes llevan a la hipótesis de que esta hormona podría tener un rol fisiológico en la inducción de la RA *in vivo*, pero aún no hay claridad con respecto a los mecanismos que gobiernan este proceso.

El líquido folicular, además de presentar componentes que ejercen efectos directos sobre la RA, como los anteriormente mostrados, también tiene componentes que modulan la actividad espermática. Dentro de este grupo se encuentra la hormona liberadora de gonadotrofinas o GnRH. La GnRH, también conocida como hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), es una hormona peptídica responsable de la liberación de la hormona estimulante de los folículos (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) desde la pituitaria anterior. GnRH es sintetizada y liberada desde las neuronas GnRH presentes en el hipotálamo. En fluido

folicular se ha demostrado la presencia de un péptido similar a GnRH. *In vivo* e *in vitro*, este péptido tiene la habilidad de inducir la liberación de FSH y LH estimulando la pituitaria (Ying *et al.*, 1981). Estudios más recientes en humano muestran que GnRH aumenta la capacidad del espermatozoide de unirse a la zona pelúcida (Morales, 1998). Lo anterior se explicaría mediante un aumento en la expresión de receptores de superficie o un cambio en la afinidad de receptores de la zona pelúcida presentes en la membrana plasmática del espermatozoide.

### **El paso del espermatozoide a través de las células del cúmulo**

Una vez que el espermatozoide se encuentra en las proximidades del ovocito, debe atravesar dos capas que lo rodean: las células del cúmulo y luego la zona pelúcida.

El cúmulo está definido como un grupo de células estrechamente asociadas, llamadas células granulares, que rodean al ovocito en el folículo ovárico terciario. En respuesta al alza de gonadotrofinas preovulatorias, el cúmulo comienza a producir ácido hialurónico, el cual es depositado en los espacios intercelulares y estabilizado por proteínas accesorias. Este fenómeno se define como expansión del cúmulo (Mattioli, 1994; Ball *et al.*, 1982).

El cúmulo completamente desarrollado ejerce tres importantes funciones biológicas: antes de la ovulación, promueve la maduración ovocitaria (Wassarman, 1988), durante la ovulación, conduce el ovocito hacia el oviducto (Mahi-Brown & Yanagimachi, 1983), y luego de la ovulación, participa en el complejo mecanismo que controla el acceso del espermatozoide al ovocito (Tesarik *et al.*, 1990).

Para fecundar al ovocito, los espermatozoides capacitados necesitan encontrar un camino a través de la matriz extracelular del cúmulo. Esto lo hacen perturbando la estructura macromolecular de la matriz (Yudin *et al.*, 1988), desplegando la actividad hialuronidasa de la proteína PH-20, presente en su membrana plasmática (Lin *et al.*, 1994). En la mayoría de los mamíferos el cúmulo sigue presente en el oviducto al momento de la fecundación (Yanagimachi, 1994).

El cúmulo no solo es una barrera que debe ser atravesada por los espermatozoides, sino que además sus células podrían secretar factores solubles que afectarían la fisiología del espermatozoide. Esto se sugiere ya que medio de cultivo, condicionado con cúmulo, provoca una alteración en la motilidad del espermatozoide, generando un patrón de movimiento direccionado hacia delante (Bradley & Garbers, 1983; Westphal *et al.*, 1993; Fetterolf *et al.*, 1994). Basado en esta evidencia, se ha intentado identificar las moléculas presentes en este medio que podrían ejercer una modulación en los espermatozoides. Dentro de los posibles factores se encuentran las prostaglandinas PGE1, PGE2 y PGE2? (Viggiano *et al.*, 1995; Gurevich *et al.*, 1993). Estudios *in vitro* realizados en ratón, demostraron que el bloqueo de la biosíntesis de prostaglandinas resulta en una disminución en la tasa de fecundación, y que este efecto era mediado por PGE1 y 2, ya que las tasas de fecundación se recuperaban cuando estas se adicionaban de manera exógena (Viggiano *et al.*, 1995). La progesterona ha sido identificada como otro candidato, ya que se ha descrito su efecto inductor de la hiperactivación flagelar y, como se mencionó anteriormente, también como promotor de la RA (Jaiswal *et al.*, 1999; Shi *et al.*, 1997). Además, estudios más recientes demostraron que quimioquinas secretadas desde las células del cúmulo facilitan la migración del espermatozoide hacia el ovocito (Tamba *et al.*, 2008).

### El encuentro con la zona pelúcida

Luego de atravesar las células del cúmulo, el espermatozoide se enfrenta a la zona pelúcida (ZP), cubierta acelular de entre 7 a 20  $\mu\text{m}$  de espesor que rodea completamente al ovocito. La presencia de la vesícula acrosomal, con su contenido enzimático, es de vital importancia para el paso del espermatozoide por la ZP. En humanos se ha demostrado que espermatozoides de cabeza redonda, que carecen de vesícula acrosómica, no son capaces de adherirse ni de penetrar la ZP (von Bernhardt *et al.*, 1990).

La ZP protege al ovocito, regula la reacción acrosómica y juega un papel fundamental evitando la poliespermia (Wassarman & Litscher, 2008). Posterior a la fecundación juega un im-

portante rol en la protección del embrión hasta la etapa de blastocisto, en la que, 6 días después de la fecundación, ocurrirá la eclosión del embrión desde la ZP.

La ZP de ovocitos de ratón y de humano está conformada por una red de delgados filamentos interconectados que forman una malla porosa (Familiari *et al.*, 2006). Los poros están formados por filamentos que dejan un espacio entre sí, rodeados de otros ordenados de manera muy compacta (Jimenez-Movilla, 2004). Los poros son de vital importancia, ya que a través de estos el espermatozoide atraviesa la ZP y se localiza en el espacio perivitelino, en donde tomará contacto con la membrana plasmática ovocitaria. En especies como conejo, hamster y humano el espermatozoide sigue una trayectoria oblicua al atravesar por la ZP. Este hecho es muy relevante, ya que permite que, una vez que el espermatozoide está presente en el espacio perivitelino, la membrana plasmática del segmento ecuatorial o post ecuatorial, quede en contacto con la membrana plasmática ovocitaria. Debemos recordar que la fusión gamética ocurre entre las membranas plasmáticas de ambos gametos. Si el espermatozoide siguiera una trayectoria perpendicular al atravesar la ZP, una vez en el espacio perivitelino quedaría la membrana acrosómica interna en contacto con la membrana plasmática ovocitaria, lo cual no permitiría la ocurrencia de la fecundación.

La ZP de mamíferos está compuesta por tres o cuatro glicoproteínas designadas como ZP1, ZP2, ZP3 y ZP4. Sin embargo, solo el humano, algunos primates y la rata presentan las cuatro glicoproteínas (Wassarman *et al.*; Chiu *et al.*, 2008a; Gupta & Bhandari, 2011; Claw & Swanson, 2012) .

La participación y la función precisa de las varias glicoproteínas que constituyen la matriz de la ZP durante la fecundación, ha sido un tema de gran interés. Los primeros estudios en ratón revelaron que los espermatozoides capacitados con acrosoma intacto se unían en su primer contacto con el ovocito a ZP3 y que, ésta inducía la RA (Beebe *et al.*, 1992; Bleil & Wassarman, 1980). Luego, se demostró en murinos que ZP2 unía a los espermatozoides con acrosoma reaccionado, por lo que se propuso a ZP2 como re-

ceptor secundario (Bleil *et al.*, 1988). Sin embargo, en humanos, trabajos realizados durante la última década con proteínas nativas y recombinantes de ZPs, han mostrado que ZP4 también une a espermatozoides capacitados con acrosoma intacto e induce la RA (Chakravarty *et al.*, 2008; Caballero-Campo, 2006; Chiu *et al.*, 2008a). Adicionalmente, y del mismo modo que en murinos, ZP2 humana se une principalmente a espermatozoides con acrosoma reaccionado (Chakravarty *et al.*, 2008; Chiu *et al.*, 2008a).

La mayoría de los estudios han asumido que el receptor ZP del espermatozoide es una sola molécula. Sin embargo, analizando la gran cantidad de moléculas del espermatozoide que se unen a la ZP, junto con imposibilidad de generar un fenotipo infértil con modelos de animales knockout, se ha propuesto que más que un solo receptor de ZP, existiría una estructura compuesta. Esta requeriría de acciones coordinadas de múltiples moléculas de reconocimiento, las que se podrían ir ensamblando en un complejo funcional durante la maduración y capacitación del espermatozoide (Chiu *et al.*, 2014).

Por otro lado, en humanos, se ha descrito que diversos residuos oligosacáridos, como N-acetil glucosamina, fucosa y manosa, están involucrados en la unión del espermatozoide a la zona pelúcida del ovocito (Miranda *et al.*, 1997; Oehninger *et al.*, 1998; Lucas *et al.*, 1994; Mori *et al.*). También se ha demostrado la importancia de las diferentes glicosilaciones en la interacción espermatozoide-ZP, analizando la actividad de distintas isoformas de la glicoproteína Glicodelina. Isoformas de glicodelina aisladas de líquido amniótico y folicular, presentan una potente actividad inhibitoria de la unión espermatozoide-ZP en humano (Chiu *et al.*, 2006; Yeung *et al.*, 2009). En contraste, otra isoforma de glicodelina con el mismo núcleo proteico, pero con distintas glicosilaciones, promueven esta unión (Chiu *et al.*, 2006; Yeung *et al.*). La relevancia biológica de las glicosilaciones en ZP humana es apoyada por estudios donde se observa una disminución en la actividad de unión de espermatozoides a ZP3 y ZP4 y en la inducción de la RA, luego de la remoción parcial de sus glicanos (Chiu *et al.*, 2008a, 2008b). Esta evidencia muestra que gran parte de la especificidad de estas glicoproteínas

está dada por sus patrones de glicosilación, y que la fina regulación de la unión espermatozoide-ZP está fuertemente influenciada por ello.

### **Fusión de membranas plasmáticas gaméticas**

La unión del espermatozoide a la zona pelúcida conlleva la RA; lo cual le permite atravesarla y acceder al espacio perivitelino, región extracelular adyacente a la membrana plasmática del ovocito. Es aquí donde ocurre el último proceso de adhesión dentro del camino hacia la fecundación: la unión de la membrana plasmática del espermatozoide con la del ovocito (Gaddum-Rosse, 1985). Una unión (adhesión) adecuada precede, y es requerida, para la fusión de membranas plasmáticas gaméticas.

La mayoría de las observaciones de los eventos de adhesión y fusión de membranas se han realizado en ovocitos sin zona. Como se mencionó anteriormente, los estudios realizados con microscopía electrónica de transmisión en ovocitos con zona han mostrado que los espermatozoides siguen una trayectoria oblicua al atravesarla, lo cual le lleva a posicionarse de manera lateral entre un lado del espermatozoide y la membrana plasmática ovocitaria. Se ha demostrado que la fusión de membrana ocurre a nivel de la región central de la membrana plasmática del espermatozoide, la llamada zona ecuatorial. La región ecuatorial del acrosoma permanece luego de la reacción del segmento principal del acrosoma. Posteriormente, también en este segmento, ocurrirá la fusión entre la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa. Después de ello, la membrana plasmática del segmento postecuatorial adquiere la capacidad fusogénica (Vigil, 1989).

A nivel molecular, se han descrito por lo menos dos familias de proteínas de adhesión involucradas en la fusión de las membranas espermatozoide-ovocito. En mamíferos, CD9 y CD81, proteínas de la familia de las tetraspaninas, que están presentes en la membrana del ovocito, son fundamentales para la función del ovocito. Estudios realizados en ratones mutantes para CD9 (Naour *et al.*, 2000) y doble knockout para CD9 y CD81, muestran una infertilidad parcial y una infertilidad total respectivamente (Rubinstein *et al.*, 2006).

Otro grupo de proteínas de superficie presentes en el ovocito, que están implicadas en el proceso de fusión, son las proteínas ancladas por glicosilfosfatidilinositol o GPI-APs. Las GPI-APs son un grupo de proteínas funcionalmente muy diversas que se han descrito como componentes de adhesión celular, receptores, enzimas y de señalización celular. Se ha demostrado que la remoción enzimática de dos de estas GPI-APs, causa una alteración en la unión espermatozoide-ovocito, junto con un potente bloqueo de la fusión de las membranas plasmáticas (Coonrod *et al.*, 1999).

Además, se ha descrito que proteínas de la familia ADAM (proteína con dominios metaloproteasa y desintegrina), presentes en la membrana plasmática del espermatozoide, son necesarias para la fecundación. Estudios realizados en ratones knockout para 2 proteínas de esta familia, fertilina  $\beta$  y ciritestina, mostraron que la unión de sus espermatozoides a ovocitos sin zona disminuye en un 90 % (Cho *et al.*, 1998; Nishimura *et al.*, 2001).

La fusión de las membranas plasmáticas gaméticas marca el fin del trayecto del espermatozoide, ya que en este momento la fusión de los gametos origina el cigoto. En este momento, el ovocito elimina el segundo corpúsculo polar, con lo cual el cigoto tendrá la carga genética correspondiente a la especie a la cual pertenece. El cigoto es un organismo vivo que tiene coordinación, continuidad y gradualidad.

## DISCUSIÓN

La fisiología del espermatozoide es modulada por una serie de metabolitos, moléculas no solubles y hormonas, dentro de su trayecto por el tracto reproductor femenino. Se han estudiado los efectos de las hormonas y moléculas solubles presentes en el tracto reproductor femenino sobre la RA, pero existe poca evidencia sobre la influencia de proteínas de membrana y componentes de la matriz extracelular en la fisiología espermática. En la presente revisión se integró las interacciones del espermatozoide con los diversos componentes de los microambientes que atraviesa,

desde que es depositado en el tercio superior de la vagina hasta el encuentro con el ovocito en el oviducto.

Los cambios en los niveles hormonales que ocurren in vivo en el tracto reproductor femenino durante el ciclo, modulan finamente la RA, así como la sobrevida del espermatozoide, promoviendo una RA sincrónica que asegure la fecundación. De esta manera, es importante mencionar el papel que juegan las hormonas esteroidales, no solo modificando la estructura del moco cervical, generado por los cambios en los niveles de la mucina MUC5B, sino que también ejerciendo un efecto directo sobre la RA. Resulta particularmente importante el estradiol presente en el moco cervical periovulatorio, ya que ejerce un efecto inhibitorio de la RA, previniendo así la liberación de la vesícula acrosómica en regiones del tracto femenino donde la fecundación no sería posible. Por el contrario, en el tercio distal del oviducto, luego de la ovulación, hay altos niveles de progesterona provenientes del líquido folicular, lo que promueve la RA precisamente cuando el espermatozoide se encuentra con el ovocito, favoreciendo la fecundación. Las variaciones de los niveles de hormonas esteroidales regulan la composición del moco cervical, haciéndolo permeable a los espermatozoides en el periodo periovulatorio. El moco cervical representa un filtro que selecciona espermatozoides morfológica y cromosómicamente adecuados, maximizando así las probabilidades de fecundación y desarrollo embrionario.

Durante su paso por el endometrio, el espermatozoide interactúa con diversas moléculas que participan en su proceso de capacitación. Dentro de éstas se encuentran dos chaperonas, Hsp60 y GRP78, que proponemos como sensibilizadoras para la RA inducida por progesterona. Estas moléculas probablemente estarían influyendo en la fisiología espermática durante la permanencia del gameto masculino en el endometrio. Sin embargo, debemos recordar que estas dos chaperonas se asocian clásicamente a la función que ejercen en la regulación de la homeostasis celular. Ellas participan activamente en la mantención de la integridad de proteínas y actividad mitocondrial ante situaciones de estrés. Resulta desafiante el investigar si normalmente in vivo ejercen un rol fisiológico en el proceso reproductivo.

El oviducto es el lugar donde ocurre la fecundación. Hoy en día existe evidencia que demuestra que más allá de ser un simple elemento pasivo en este proceso, participa activamente interactuando con los gametos, como por ejemplo en la inducción de la RA. También es reconocido como un importante reservorio de espermatozoides dentro del tracto reproductor femenino, hecho que ocurre a través de una unión física de los espermatozoides a su epitelio. La interacción entre el epitelio oviductal y los espermatozoides no solamente tendría implicancia sobre la viabilidad y sobrevivencia de los mismos, sino que también induciría cambios a nivel de expresión de proteínas en el epitelio oviductal, probablemente modulando programas completos de expresión génica. La relevancia fisiológica de las proteínas producidas a través de esta inducción aún se desconoce. El fluido folicular, que acompaña al ovocito, contiene múltiples hormonas, metabolitos y moléculas que influyen en la fisiología del espermatozoide. Dentro de estos compuestos podemos clasificar como inductores de la RA, a la progesterona, el péptido natriurético atrial y la angiotensina II; y como inhibidores o retardantes, el estradiol y la testosterona. Si bien, los efectos de la mayoría de estas moléculas han sido ampliamente descritos de manera independiente *in vitro*, faltan estudios que integren los efectos de toda esta variedad de moléculas, muchas de ellas con acción aparentemente antagónica, en la fisiología del espermatozoide dentro del tracto reproductor femenino. Adicionalmente, es necesario analizar cómo cambian los niveles de estas moléculas en el fluido folicular durante el ciclo reproductivo, en condiciones fisiológicas y patológicas, y la repercusión que tendrían sobre la función del espermatozoide.

La interacción que ocurre entre el espermatozoide y el complejo conformado por el cúmulo, zona pelúcida y ovocito constituye la etapa final del trayecto del espermatozoide hacia el sitio de la fecundación. En este proceso, resulta fundamental un correcto "reconocimiento" y posterior adhesión celular. De esta forma, moléculas presentes en este complejo y en la membrana plasmática del espermatozoide, son necesarias para concretar la fecundación. Dentro de este grupo de moléculas se encuentran, la proteína PH-20, las tetraspaninas CD9 y CD81,

las proteínas de la familia ADAM presentes en la membrana plasmática del espermatozoide, las glicoproteínas ZPs presentes en la matriz extracelular de la ZP, y las GPI-APs presentes en la membrana plasmática del ovocito. Analizando la evidencia disponible, resulta evidente que los procesos de reconocimiento, adhesión y fusión celular dependen de una compleja red de interacciones moleculares. Variaciones en alguno de estos componentes, fundamentales para la especificidad en el reconocimiento inter e intraespecie de los gametos, llevaría a una falla en el proceso de fecundación.

Nuestra comprensión de la fisiología espermática ha aumentado gracias a las nuevas tecnologías, pero aun así este es solo el comienzo del estudio de las múltiples interacciones que mantienen al espermatozoide viable y con capacidad fecundante dentro del tracto reproductor femenino en su camino hacia la fecundación.

## DEDICATORIA

Dedicamos este artículo a la memoria del Profesor Dr. Juan Eduardo Bustos Obregón (1937-2014), destacado científico, andrólogo, académico y amigo, quien dedicó su vida al estudio de la biología de la reproducción. Él ha dejado una huella indeleble entre nosotros, la cual esperamos poder transmitir a las nuevas generaciones.

## Declaración de conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés respecto a la información publicada en este artículo.

---

**VIGIL, P.; VALDÉS-UNDURRAGA, I.; DEL RÍO, J. P. & CORTÉS, M. E.** Sperm transport through the female reproductive tract. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(4):643-662, 2015.

**SUMMARY:** Mammalian spermatozoa are highly complex specialized cells that survive a long and fascinating journey from the site of insemination to the upper third of the oviduct, where fertilization occurs. During this journey, these cells have to go through different microenvironments, which provide appropriate conditions for the occurrence of sperm

capacitation and acrosome reaction (AR) in the time and place needed. These events need to occur in an extremely synchronized sequence in order to assure that fertilization takes place. The objective of this review article is to describe and analyze the various changes that spermatozoa will experience during their journey through the female genital tract and how they are influenced by the epithelium and secretions present in the cervix, endometrium and oviduct. These microenvironments will prevent the AR from occurring ahead of time as in the case of estrogenic cervical mucus or will stimulate its occurrence as in the case of progesterone, present during ovulation in oviductal fluid. In all cases the female reproductive tract will supply the conditions needed to guarantee survival, capacitation, AR and migration of spermatozoa for subsequent fusion with the oocyte. These microenvironments contain various hormones, neurotransmitters and other metabolites for which spermatozoa have specific receptors through which these substances can modulate their fertilizing potential. The study and understanding of the physiological conditions needed for gamete membrane fusion to occur is an important aspect to be considered both in basic and applied research in reproductive biology.

**KEY WORDS: Acrosome reaction; Capacitation; Female genital tract; Fertilization; Hormones, Microenvironment; Sperm migration.**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamopoulos, D. A.; Kapolla, N.; Abrahamian, A.; Dessypris, A.; Nicopoulou, S. & Giannacodemos, G. Sex steroids in cervical mucus of spontaneous or induced ovulatory cycles. *Steroids*, 65(1):1-7, 2000.
- Anderson, R. A.; Feathergill, K. A.; Drisdell, R. C.; Rawlins, R. G.; Mack, S. R. & Zaneveld, L. J. Atrial natriuretic peptide (ANP) as a stimulus of the human acrosome reaction and a component of ovarian follicular fluid: correlation of follicular ANP content with *in vitro* fertilization outcome. *J. Androl.*, 15(1):61-70, 1994.
- Anderson, R. A. Jr.; Feathergill, K. A.; Rawlins, R. G.; Mack, S. R. & Zaneveld, L. J. Atrial natriuretic peptide: a chemoattractant of human spermatozoa by a guanylate cyclase-dependent pathway. *Mol. Reprod. Dev.*, 40(3):371-8, 1995.
- Aquila, S.; Sisci, D.; Gentile, M.; Middea, E.; Catalano, S.; Carpino, A.; Rago, V. & Andò, S. Estrogen receptor (ER)alpha and ER beta are both expressed in human ejaculated spermatozoa: evidence of their direct interaction with phosphatidylinositol-3-OH kinase/Akt pathway. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 89(3):1443-51, 2004.
- Ball, G. D.; Bellin, M. E.; Ax, R. L. & First, N. L. Glycosaminoglycans in bovine cumulus-oocyte complexes: morphology and chemistry. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 28(1):113-22, 1982.
- Barros, C.; Argüello, B.; Jedlicki, A.; Vigil, P. & Herrera, E. Scanning electron microscope study of human cervical mucus. *Gamete Res.*, 12(1):85-9, 1985.
- Barros, C.; Vigil, P.; Herrera, E.; Arguello, B. & Walker, R., Selection of morphologically abnormal sperm by human cervical mucus. *Arch. Androl.*, 12 Suppl:95-107, 1984.
- Beebe, S. J.; Leyton, L.; Burks, D.; Ishikawa, M.; Fuerst, T.; Dean, J. & Saling, P. Recombinant mouse ZP3 inhibits sperm binding and induces the acrosome reaction. *Dev. Biol.*, 151(1):48-54, 1992.
- von Bernhardt, R.; de Ioannes, A. E.; Blanco, L. P.; Herrera, E.; Bustos-Obregón, E. & Vigil, P. Round-headed spermatozoa: a model to study the role of the acrosome in early events of gamete interaction. *Andrologia*, 22(1):12-20, 1990.
- Bianchi, P. G.; De Agostini, A.; Fournier, J.; Guidetti, C.; Tarozzi, N.; Bizzaro, D. & Manicardi, G. C. Human cervical mucus can act *in vitro* as a selective barrier against spermatozoa carrying fragmented DNA and chromatin structural abnormalities. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 21(4):97-102, 2004.
- Blackwell, L. F.; Vigil, P.; Cooke, D. G.; d'Arcangues, C. & Brown, J. B. Monitoring of ovarian activity by daily measurement of urinary excretion rates of oestrone glucuronide and pregnanediol glucuronide using the Ovarian Monitor, Part III: variability of normal menstrual cycle profiles. *Hum. Reprod.*, 28(12):3306-15, 2013.
- Bleil, J. D.; Greve, J. M. & Wassarman, P. M. Identification of a secondary sperm receptor in the mouse egg zona pellucida: role in maintenance of binding of acrosome-reacted sperm to eggs. *Dev. Biol.*, 128(2):376-85, 1988.
- Bleil, J. D. & Wassarman, P. M. Mammalian sperm-egg interaction: identification of a glycoprotein in mouse egg zonae pellucidae possessing receptor activity for sperm. *Cell*, 20(3):873-82, 1980.

- Bradley, M. P. & Garbers, D. L. The stimulation of bovine caudal epididymal sperm forward motility by bovine cumulus-egg complexes *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 115(3):777-87, 1983.
- Caballero-Campo, P.; Chirinos, M.; Fan, X. J.; González-González, M. E.; Galicia-Chavarría, M.; Larrea, F. & Gerton, G. L. Biological effects of recombinant human zona pellucida proteins on sperm function. *Biol. Reprod.*, 74(4):760-8, 2006.
- Ceric, F.; Silva, D. & Vigil, P. Ultrastructure of the human periovarian cervical mucus. *J. Electron Microsc. (Tokyo)*, 54(5):479-84, 2005.
- Chakravarty, S.; Kadunganattil, S.; Bansal, P.; Sharma, R. K. & Gupta, S. K. Relevance of glycosylation of human zona pellucida glycoproteins for their binding to capacitated human spermatozoa and subsequent induction of acrosomal exocytosis. *Mol. Reprod. Dev.*, 75(1):75-88, 2008.
- Chiu, P. C.; Chung, M. K.; Koistinen, R.; Koistinen, H.; Seppala, M.; Ho, P. C.; Ng, E. H.; Lee, K. F. & Yeung, W. S. Glycodelin-A interacts with fucosyltransferase on human sperm plasma membrane to inhibit spermatozoa-zona pellucida binding. *J. Cell Sci.*, 120(Pt. 1):33-44, 2006.
- Chiu, P. C.; Lam, K. K.; Wong, R. C. & Yeung, W. S. The identity of zona pellucida receptor on spermatozoa: an unresolved issue in developmental biology. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 30:86-95, 2014.
- Chiu, P. C.; Wong, B. S.; Lee, C. L.; Pang, R. T.; Lee, K. F.; Sumitro, S. B.; Gupta, S. K. & Yeung, W. S. Native human zona pellucida glycoproteins: purification and binding properties. *Hum. Reprod.*, 23(6):1385-93, 2008a.
- Chiu, P. C.; Wong, B. S.; Chung, M. K.; Lam, K. K.; Pang, R. T.; Lee, K. F.; Sumitro, S. B.; Gupta, S. K. & Yeung, W. S. Effects of native human zona pellucida glycoproteins 3 and 4 on acrosome reaction and zona pellucida binding of human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 79(5):869-77, 2008b.
- Cho, C.; Bunch, D. O.; Faure, J. E.; Goulding, E. H.; Eddy, E. M.; Primakoff, P. & Myles, D. G. Fertilization defects in sperm from mice lacking fertilin beta. *Science*, 281(5384):1857-9, 1998.
- Chrétien, F. C. Involvement of the glycoproteic meshwork of cervical mucus in the mechanism of sperm orientation. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 82(5):449-61, 2003.
- Claw, K. G. & Swanson, W. J. Evolution of the egg: new findings and challenges. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 13:109-25, 2012.
- Coonrod, S.; Naaby-Hansen, S.; Shetty, J. & Herr, J. PI-PLC releases a 25-40 kDa protein cluster from the hamster oolemma and affects the sperm penetration assay. *Mol. Hum. Reprod.*, 5(11):1027-33, 1999.
- Cortés, M. E. *Morphological and ultrastructural characterization of different types of bovine cervical mucus using light and scanning electron microscopy*. Tesis de Doctorado en Ciencias de la Agricultura, Area Fisiología y Nutrición Animal. Santiago de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, 2012.
- Croxatto, H. B.; Ortiz, M. E. & Morales, P. *Transporte ovular, migración espermática, fecundación, desarrollo preimplantacional y nidación*. In: Pérez, A. & Donoso, E. (Eds.). *Obstetricia*. Santiago de Chile, Mediterráneo, 2011. pp.89-107.
- Daunter, B.; Chantler, E. N. & Elstein, M. The scanning electronmicroscopy of human cervical mucus in the non-pregnant and pregnant states. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 83(9):738-43, 1976.
- Demott, R. P. & Suarez, S. S. Hyperactivated sperm progress in the mouse oviduct. *Biol. Reprod.*, 46(5):779-85, 1992.
- Eggert-Kruse, W.; Reimann-Andersen, J.; Rohr, G.; Pohl, S.; Tilgen, W. & Runnebaum, B. Clinical relevance of sperm morphology assessment using strict criteria and relationship with sperm-mucus interaction in vivo and *in vitro*. *Fertil. Steril.*, 63(3):612-24, 1995.
- Ellington, J. E.; Ignatz, G. G.; Ball, B. A.; Meyers-Wallen, V. N. & Currie, W. B. De novo protein synthesis by bovine uterine tube (oviduct) epithelial cells changes during co-culture with bull spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 48(4):851-6, 1993.
- Erdő, S. L.; Villányi, P. & László, A. Gestational changes of GABA levels and GABA binding in the human uterus. *Life Sci.*, 44(26):2009-14, 1989.
- Familiari, G.; Relucenti, M.; Heyn, R.; Micara, G. & Correr, S. Three-dimensional structure of the zona pellucida at ovulation. *Microsc. Res. Tech.*, 69(6):415-26, 2006.
- Fazeli, A.; Affara, N. A.; Hubank, M. & Holt, W. V. Sperm-induced modification of the oviductal gene

- expression profile after natural insemination in mice. *Biol. Reprod.*, 71(1):60-5, 2004.
- Fetterolf, P. M.; Jurisicova, A.; Tyson, J. E. & Casper, R. F. Conditioned medium from human cumulus oophorus cells stimulates human sperm velocity. *Biol. Reprod.*, 51(2):184-92, 1994.
- Fléchon, J. E. & Hunter, R. H. Distribution of spermatozoa in the utero-tubal junction and isthmus of pigs, and their relationship with the luminal epithelium after mating: a scanning electron microscope study. *Tissue Cell*, 13(1):127-39, 1981.
- Fredricsson, B. & Björk, G. Morphology of postcoital spermatozoa in the cervical secretion and its clinical significance. *Fertil. Steril.*, 28(8):841-5, 1977.
- Fusi, F. M.; Viganò, P.; Daverio, R.; Busacca, M. & Vignali, M. Effects of the coculture with human endometrial cells on the function of spermatozoa from subfertile men. *Fertil. Steril.*, 61(1):160-7, 1994.
- Gaddum-Rosse, P. Mammalian gamete interactions: what can be gained from observations on living eggs? *Am. J. Anat.*, 174(3):347-56, 1985.
- Georgiou, A. S.; Snijders, A. P.; Sostaric, E.; Aflatoonian, R.; Vazquez, J. L.; Vazquez, J. M.; Roca, J.; Martinez, E. A.; Wright, P. C. & Fazeli, A. Modulation of the oviductal environment by gametes. *J. Proteome Res.*, 6(12):4656-66, 2007.
- Gerken, T. A. Biophysical approaches to salivary mucin structure, conformation and dynamics. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 4(3-4):261-70, 1993.
- Gipson, I. K.; Ho, S. B.; Spurr-Michaud, S. J.; Tisdale, A. S.; Zhan, Q.; Torlakovic, E.; Pudney, J.; Anderson, D. J.; Toribara, N. W. & Hill, J. A. 3rd. Mucin genes expressed by human female reproductive tract epithelia. *Biol. Reprod.*, 56(4):999-1011, 1997.
- Gipson, I. K.; Spurr-Michaud, S.; Moccia, R.; Zhan, Q.; Toribara, N.; Ho, S.B.; Gargiulo, A R. & Hill, J. A. 3rd. MUC4 and MUC5B transcripts are the prevalent mucin messenger ribonucleic acids of the human endocervix. *Biol. Reprod.*, 60(1):58-64, 1999.
- Gladkevich, A.; Korf, J.; Hakobyan, V. P. & Melkonyan, K. V. The peripheral GABAergic system as a target in endocrine disorders. *Auton. Neurosci.*, 124(1-2):1-8, 2006.
- Griendling, K. K.; Lassègue, B. & Alexander, R. W., Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 36:281-306, 1996.
- Gupta, S. K. & Bhandari, B. Acrosome reaction: relevance of zona pellucida glycoproteins. *Asian J. Androl.*, 13(1):97-105, 2011.
- Gur, Y.; Breitbart, H.; Lax, Y.; Rubinstein, S. & Zamir, N. Angiotensin II induces acrosomal exocytosis in bovine spermatozoa. *Am. J. Physiol.*, 275(1 Pt. 1):E87-93, 1998.
- Gurevich, M.; Harel-Markowitz, E.; Marcus, S.; Shore, L. S. & Shemesh, M. Prostaglandin production by the oocyte cumulus complex around the time of fertilization and the effect of prostaglandin E on the development of the early bovine embryo. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5(3):281-3, 1993.
- Hafez, E. S. *Sperm Transport in the Human and Mammalian Cervix*. In: Jordan, J. & Singer, A. (Eds.). *The Cervix*. London, The Whitefriars, 1976. pp.164-75.
- Hanson, F. W. & Overstreet, J. W. The interaction of human spermatozoa with cervical mucus in vivo. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 140(2):173-8, 1981.
- Harper, M. J. K. *Gamete and Zygote Transport*. In: Knobil, E. & Neill, J. D. (Eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York, Raven Press, 1994. pp.123-87.
- Helm, G.; Owman, C.; Rosengren, E. & Sjöberg, N. O. Regional and cyclic variations in catecholamine concentration of the human fallopian tube. *Biol. Reprod.*, 26(4):553-8, 1982.
- Hunter, R. H. F. *Physiology of the Graafian Follicle and Ovulation*. Cambridge, Cambridge University Press, 2003.
- Hunter, R. H. F. *The Fallopian Tubes: Their Role in Fertility and Infertility*. Berlin, Springer-Verlag, 1988.
- Jaiswal, B. S.; Eisenbach, M. & Tur-Kaspa, I. Detection of partial and complete acrosome reaction in human spermatozoa: which inducers and probes to use? *Mol. Hum. Reprod.*, 5(3):214-9, 1999.
- Jansen, R. P. Cyclic changes in the human fallopian tube isthmus and their functional importance. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136(3):292-308, 1980.



- Jiménez-Movilla, M.; Avilés, M.; Gómez-Torres, M. J.; Fernández-Colom, P. J.; Castells, M. T.; de Juan, J. & Romeu, A.; Ballesta, J. Carbohydrate analysis of the zona pellucida and cortical granules of human oocytes by means of ultrastructural cytochemistry. *Hum. Reprod.*, 19(8):1842-55, 2004.
- Katz, D. F.; Slade, D. A. & Nakajima, S. T. Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability. *Adv. Contracept.*, 13(2-3):143-51, 1997.
- Kohn, F. M.; Müller, C.; Drescher, D.; Neukamm, C.; el Mulla, K. F.; Henkel, R.; Hägele, W.; Hinsch, E.; Habenicht, U. F. & Schill, W. B., Effect of angiotensin converting enzyme (ACE) and angiotensins on human sperm functions. *Andrologia*, 30(4-5):207-15, 1998.
- Kufe, D. W. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 9(12):874-85, 2009.
- Lachance, C.; Bailey, J. L. & Leclerc, P. Expression of Hsp60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. *Hum. Reprod.*, 22(10):2606-14, 2007.
- Laflamme, J.; Akoum, A. & Leclerc, P. Induction of human sperm capacitation and protein tyrosine phosphorylation by endometrial cells and interleukin-6. *Mol. Hum. Reprod.*, 11(2):141-50, 2005.
- Lai, Y. M.; Chang, F. H.; Lee, C. L.; Lee, J. D.; Huang, H. Y.; Wang, M. L.; Chan, P. J.; Chang, M. Y. & Soong, Y. K. Coculture of human spermatozoa with reproductive tract cell monolayers can enhance sperm functions better than coculture with Vero cell monolayers. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 13(5):417-22, 1996.
- Le Naour, F.; Rubinstein, E.; Jasmin, C.; Prenant, M. & Boucheix, C. Severely reduced female fertility in CD9-deficient mice. *Science*, 287(5451):319-21, 2000.
- Leader, A.; Minuk, G.Y. & Mortimer, D. Seminal plasma gamma-aminobutyric acid (GABA) levels in normospermic men. *Clin. Invest. Med.*, 15(4):346-8, 1992.
- Lin, Y.; Mahan, K.; Lathrop, W. F.; Myles, D. G. & Primakoff, P. A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *J. Cell Biol.*, 125(5):1157-63, 1994.
- Lopes, S.; Sun, J. G.; Jurisicova, A.; Meriano, J. & Casper, R. F. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil. Steril.*, 69(3):528-32, 1998.
- Lucas, H.; Bercegeay, S.; Le Pendu, J.; Jean, M.; Mirallie, S. & Barriere, P. A fucose-containing epitope potentially involved in gamete interaction on the human zona pellucida. *Hum. Reprod.*, 9(8):1532-8, 1994.
- 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*, 69(8-9):553-9, 2004.
- Mahi-Brown, C. A. & Yanagimachi, R. Parameters influencing ovum pickup by oviductal fimbria in the golden hamster. *Gamete Res.*, 8(1):1-10, 1983.
- Mattioli, M. Transduction mechanisms for gonadotrophin-induced oocyte maturation in mammals. *Zygote*, 2(4):347-9, 1994.
- Miranda, P. V.; Gonzalez-Echeverría, F.; Marín-Briggilers, C. I.; Brandelli, A.; Blaquier, J. A. & Tezo, J. G. Glycosidic residues involved in human sperm-zona pellucida binding *in vitro*. *Mol. Hum. Reprod.*, 3(5):399-404, 1997.
- Morales, P. Gonadotropin-releasing hormone increases ability of the spermatozoa to bind to the human zona pellucida. *Biol. Reprod.*, 59(2):426-30, 1998.
- Morales, P.; Roco, M. & Vigil, P. Human cervical mucus: relationship between biochemical characteristics and ability to allow migration of spermatozoa. *Hum. Reprod.*, 8(1):78-83, 1993.
- Mori, K.; Daitoh, T.; Irahara, M.; Kamada, M. & Aono, T. Significance of D-mannose as a sperm receptor site on the zona pellucida in human fertilization. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161(1):207-11, 1989.
- Motta, P. & Van Blerkom, J. A scanning electron microscopic study of rabbit spermatozoa in the female reproductive tract following coitus. *Cell Tissue Res.*, 163(1):29-44, 1975.
- Murray, S. C. & Smith, T. T. Sperm interaction with fallopian tube apical membrane enhances sperm motility and delays capacitation. *Fertil. Steril.*, 68(2):351-7, 1997.

- Naz, R. K. & Kaplan, P. Increased levels of interleukin-6 in seminal plasma of infertile men. *J. Androl.*, 15(3):220-7, 1994a.
- Naz, R. K. & Kaplan, P. Interleukin-6 enhances the fertilizing capacity of human sperm by increasing capacitation and acrosome reaction. *J. Androl.*, 15(3):228-33, 1994b.
- Nishimura, H.; Cho, C.; Branciforte, D. R.; Myles, D. G. & Primakoff, P. Analysis of loss of adhesive function in sperm lacking cyritestin or fertilin beta. *Dev. Biol.*, 233(1):204-13, 2001.
- Oehninger, S.; Patankar, M.; Seppala, M. & Clark, G. F. Involvement of selectin-like carbohydrate binding specificity in human gamete interaction. *Andrologia*, 30(4-5):269-74, 1998.
- Ong, J. & Kerr, D. I. GABA-receptors in peripheral tissues. *Life Sci.*, 46(21):1489-501, 1990.
- Pollard, J. W.; Plante, C.; King, W. A.; Hansen, P. J.; Betteridge, K. J. & Suarez, S. S. Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding of oviductal epithelial cells. *Biol. Reprod.*, 44(1):102-7, 1991.
- Potter, L. R.; Yoder, A. R.; Flora, D. R.; Antos, L. K. & Dickey, D. M. Natriuretic peptides: their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications. *Handb. Exp. Pharmacol.*, (191):341-66, 2009.
- Qiu, J.; Hales, B. F. & Robaire, B. Damage to rat spermatozoal DNA after chronic cyclophosphamide exposure. *Biol. Reprod.*, 53(6):1465-73, 1995a.
- Qiu, J.; Hales, B. F. & Robaire, B. Effects of chronic low-dose cyclophosphamide exposure on the nuclei of rat spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 52(1):33-40, 1995b.
- Ralt, D.; Goldenberg, M.; Fetterolf, P.; Thompson, D.; Dor, J.; Mashiach, S.; Garbers, D. L. & Eisenbach, M. Sperm attraction to a follicular factor(s) correlates with human egg fertilizability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 88(7):2840-4, 1991.
- Rotem, R.; Zamir, N.; Keynan, N.; Barkan, D.; Breitbart, H. & Naor, Z. Atrial natriuretic peptide induces acrosomal exocytosis of human spermatozoa. *Am. J. Physiol.*, 274(2 Pt. 1):E218-23, 1998.
- Rubinstein, E.; Ziyat, A.; Prenant, M.; Wrobel, E.; Wolf, J. P.; Levy, S.; Le Naour, F. & Boucheix, C. Reduced fertility of female mice lacking CD81. *Dev. Biol.*, 290(2):351-8, 2006.
- Sabeur, K.; Vo, A. T. & Ball, B. A. Effects of angiotensin II on the acrosome reaction in equine spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 120(1):135-42, 2000.
- Sakkas, D.; Urner, F.; Bianchi, P. G.; Bizzaro, D.; Wagner, I.; Jaquenoud, N.; Manicardi, G. & Campana, A. Sperm chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 11(4):837-43, 1996.
- Sheehan, J. K. & Carlstedt, I. Electron microscopy of cervical-mucus glycoproteins and fragments therefrom. The use of colloidal gold to make visible 'naked' protein regions. *Biochem. J.*, 265(1):169-77, 1990.
- Shi, Q. X.; Yuan, Y. Y. & Roldan, E. R. gamma-Aminobutyric acid (GABA) induces the acrosome reaction in human spermatozoa. *Mol. Hum. Reprod.*, 3(8):677-83, 1997.
- Shivaji, S. & Jagannadham, M. V. Steroid-induced perturbations of membranes and its relevance to sperm acrosome reaction. *Biochim. Biophys. Acta*, 1108(1):99-109, 1992.
- Suarez, S.; Redfern, K.; Raynor, P.; Martin, F. & Phillips, D. M. Attachment of boar sperm to mucosal explants of oviduct in vitro: possible role in formation of a sperm reservoir. *Biol. Reprod.*, 44(6):998-1004, 1991.
- Suarez, S. S. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int. J. Dev. Biol.*, 52(5-6):455-62, 2008.
- Tabibzadeh, S.; Kong, Q. F.; Babaknia, A. & May, L. T. Progressive rise in the expression of interleukin-6 in human endometrium during menstrual cycle is initiated during the implantation window. *Hum. Reprod.*, 10(10):2793-9, 1995.
- Tamba, S.; Yodoi, R.; Segi-Nishida, E.; Ichikawa, A.; Narumiya, S. & Sugimoto, Y. Timely interaction between prostaglandin and chemokine signaling is a prerequisite for successful fertilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105(38):14539-44, 2008.
- Teissier, M. P.; Chable, H.; Paulhac, S. & Aubard, Y. Comparison of follicle steroidogenesis from normal and polycystic ovaries in women undergoing IVF: relationship between steroid concentrations, follicle size, oocyte quality and fecundability. *Hum. Reprod.*, 15(12):2471-7, 2000.
- Tesarik, J.; Mendoza Oltras, C. & Testart, J. Effect of the human cumulus oophorus on movement characteristics of human capacitated

- spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 88(2):665-75, 1990.
- Turner, K. O. & Meizel, S. Progesterone-mediated efflux of cytosolic chloride during the human sperm acrosome reaction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 213(3):774-80, 1995.
- Urrea, J. A.; Villaroel-Espíndola, F.; Covarrubias, A. A.; Rodríguez-Gil, J. E.; Ramírez-Reveco, A. & Concha, I. I. Presence and function of dopamine transporter (DAT) in stallion sperm: dopamine modulates sperm motility and acrosomal integrity. *PLoS One*, 9(11):e112834, 2014.
- Vandermolen, D. T. & Gu, Y. Human endometrial interleukin-6 (IL-6): *in vivo* messenger ribonucleic acid expression, *in vitro* protein production, and stimulation thereof by IL-1 beta. *Fertil. Steril.*, 66(5):741-7, 1996.
- Viggiano, J. M.; Herrero, M. B.; Cebral, E.; Boquet, M. G. & de Gimeno, M. F. Prostaglandin synthesis by cumulus-oocyte complexes: effects on *in vitro* fertilization in mice. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 53(4):261-5, 1995.
- Vigil, P. Gamete membrane fusion in hamster spermatozoa with reacted equatorial segment. *Gamete Res.*, 23(2):203-13, 1989.
- Vigil, P.; Barrientos, V. M.; Vargas, G. G.; Machuca, D. A. & Cortés, M. E. Assessment of the effect of testosterone on the acrosome reaction of human spermatozoa. *Andrologia*, 44 Suppl. 1:627-33, 2012a.
- Vigil, P. & Bustos-Obregon, E. Alkylating agents and mouse spermatogenesis: effects of a single dose of cyclophosphamide. *Andrologia*, 17(3):276-82, 1985.
- Vigil, P.; Cortés, M. E.; Zúñiga, A.; Riquelme, J. & Ceric, F. Scanning electron and light microscopy study of the cervical mucus in women with polycystic ovary syndrome. *J. Electron. Microsc. (Tokyo)*, 58(1):21-7, 2009.
- Vigil, P.; Perez, A.; Neira, J. & Morales, P. Post-partum cervical mucus: biological and rheological properties. *Hum. Reprod.*, 6(4):475-9, 1991.
- Vigil, P.; Riquelme, R. & Morales, P. Sperm binding to the human zona pellucida after migration through human cervical mucus. *Int. J. Androl.*, 18 Suppl. 1:7-11, 1995.
- Vigil, P.; Rubio, V.; Prado, S.; Socías, T.; Salgado, A. M. & Morales, P. *Migration of human sperm through the Fallopian tube in vitro*. In: Rodríguez-Armas, O.; Baumgartner, W. & Burgos-Briceño, L. (Eds.). *Fertility and sterility progress in research and practice: The proceedings of the XIV World Congress on Fertility and Sterility*. Caracas, Parthenon Publication Group, 1994. Pp.19-30.
- Vigil, P.; Salgado, A. M. & Cortés, M. E. Ultrastructural interaction between spermatozoon and human oviductal cells *in vitro*. *J. Electron. Microsc. (Tokyo)*, 61(2):123-6, 2012b.
- Vigil, P.; Toro, A. & Godoy, A. Physiological action of oestradiol on the acrosome reaction in human spermatozoa. *Andrologia*, 40(3):146-51, 2008.
- Vigil P.; Cortés M. E.; Carrera B.; Hauyón R.; Aravena, C. *El moco cervical en la fisiología reproductiva*. In: Guzmán, E.; Croxatto, H. & Lalonde, A. (Eds.). *Selección en Temas de Ginecoobstetricia*. Tomo III. Santiago de Chile, Ediciones Publiimpacto, 2014. pp.325-34.
- Vigil, P. *La fertilidad de la pareja humana*. 4a ed. Santiago de Chile, Ediciones Universidad Católica, 2013. pp.76-7.
- Wassarman, P. M. *The mammalian ovum*. In: Knobil, E. & Neill, J. (Eds.). *The physiology of reproduction*. New York, Raven Press, 1988. pp.69-102.
- Wassarman, P. M.; Jovine, L. & Litscher, E. S. A profile of fertilization in mammals. *Nat. Cell. Biol.*, 3(2):E59-64, 2001.
- Wassarman, P. M. & Litscher, E. S. Mammalian fertilization: the egg's multifunctional zona pellucida. *Int. J. Dev. Biol.*, 52(5-6):665-76, 2008.
- Way, A. L.; Barbato, G. F. & Killian, G. J. Identification of norepinephrine in bovine oviductal fluid by high performance liquid chromatography. *Life Sci.*, 70(5):567-76, 2001.
- Way, A. L. & Killian, G. J. Capacitation and induction of the acrosome reaction in bull spermatozoa with norepinephrine. *J. Androl.*, 23(3):352-7, 2002.
- Westphal, L. M.; el Dansasouri, I.; Shimizu, S.; Tadir, Y. & Berns, M. W. Exposure of human spermatozoa to the cumulus oophorus results in increased relative force as measured by a 760 nm laser optical trap. *Hum. Reprod.*, 8(7):1083-6, 1993.

von Wolff, M.; Thaler, C. J.; Zepf, C.; Becker, V.; Beier, H. M. & Strowitzki, T. Endometrial expression and secretion of interleukin-6 throughout the menstrual cycle. *Gynecol. Endocrinol.*, 16(2):121-9, 2002.

Yanagimachi, R. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote*, 2(4):371-2, 1994.

Yeung, W. S.; Lee, K. F.; Koistinen, R.; Koistinen, H.; Seppälä, M. & Chiu, P. C. Effects of glycodepins on functional competence of spermatozoa. *J. Reprod. Immunol.*, 83(1-2):26-30, 2009.

Ying, S.; Ling, N.; Böhlen, P. & Guillemin, R. Gonadocrinins: peptides in ovarian follicular fluid stimulating the secretion of pituitary gonadotropins. *Endocrinology*, 108(4):1206-15, 1981.

Yudin, A. I.; Cherr, G. N. & Katz, D. F. Structure of the cumulus matrix and zona pellucida in the golden hamster: a new view of sperm interaction with oocyte-associated extracellular matrices. *Cell Tissue Res.*, 251(3):555-64, 1988.

Zhang, M.; Hong, H.; Zhou, B.; Jin, S.; Wang, C.; Fu, M.; Wang, S. & Xia, G. The expression of atrial natriuretic peptide in the oviduct and its functions in pig spermatozoa. *J. Endocrinol.*, 189(3):493-507, 2006.

Zumoffen, C. M.; Caille, A. M.; Munuce, M. J.; Cabada, M. O. & Ghersevich, S. A. Proteins from human oviductal tissue-conditioned medium modulate sperm capacitation. *Hum. Reprod.*, 25(6):1504-12, 2010.

Dirección para Correspondencia:  
Prof. Dra. Pilar Vigil / Prof. Dr. Manuel E. Cortés  
Reproductive Health Research Institute  
Lira 140, Oficina 201  
Santiago  
CHILE

Email: pvigil@bio.puc.cl  
manuel.cortes@ubo.cl

Recibido : 03-10-2015  
Aceptado: 26-11-2015