

# CAPÍTULO I

## FISIOLOGÍA DE GAMETOS

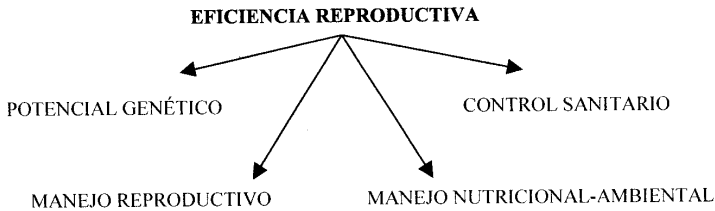
- I. INTRODUCCIÓN
- II. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES
- III. CAMBIOS FUNCIONALES DEL ESPERMATOZOIDE
- IV. APORTE DE LAS GLANDULAS ANEXAS
- V. ALGUNAS PATOLOGÍAS PRESENTES A NIVEL DE ORGANOS MASCULINOS
- VI. CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA
- VII. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE LA HEMBRA
- VIII. PERSPECTIVAS TECNOLÓGICAS APLICANDO LOS AVANCES EN EL MANEJO DE GAMETOS DE BOVINOS
- IX. CONCLUSIONES
- X. LITERATURA CITADA



## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los programas de mejora productiva en las explotaciones de ganado bovino pueden utilizar los avances científicos y técnicos para optimizar sus resultados. Esto significa que los conocimientos de la fisiología reproductiva y por lo tanto de la fisiología de gametos hacen posible su manipulación adecuada, lo cual asegura la fecundación y el buen manejo de la hembra, como también garantiza la gestación y el desarrollo. Al mismo tiempo, se abren nuevas perspectivas de selección tanto de animales reproductores como de gametos, para mejorar el patrimonio genético de los animales obtenidos en los programas de producción.

La eficiencia reproductiva depende no sólo de la calidad y potencial del animal reproductor sino también de factores ambientales, de recursos nutritivos, del control sanitario y del manejo acertado del ganado, esto último requiere de la aplicación de conceptos claros y definidos, tomando en consideración la raza y el mestizaje.

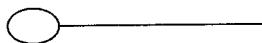


El propósito de este Capítulo es conocer la fisiología de los gametos femenino y masculino, con el fin de fundamentar y optimizar el manejo de la hembra y del macho, basándose en su fisiología reproductiva.

## II. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES

Se ha reportado que en la zona tropical los sementales *Bos taurus x-Bos indicus* crecen lentamente en el trópico y alcanzan la pubertad tardíamente [5]. La producción diaria de espermatozoides y las reservas espermáticas gonadales reportadas para los toros *Bos taurus* al año, no son alcanzadas por los toretes *Bos taurus x Bos indicus* a los 30 meses de edad., habiéndose señalado que el comportamiento productivo y reproductivo del mestizo de doble propósito, es intermedio entre las razas puras [3].

La espermatogénesis ha sido debidamente descrita y por no presentar diferencias relevantes entre las razas puras y los cruces *Bos taurus x Bos indicus*, no se insistirá en ello en este caso. El espermatozoide liberado del testículo podría ser ilustrado bajo un esquema sencillo:



En cambio, se hará hincapié en las características de los distintos compartimentos y ambientes en que se irán encontrando los espermatozoides, a medida que se trasladan por las vías genitales masculinas y femeninas. Los espermatozoides formados en el testículo, no son fecundantes sino después de su paso por el epidídimo. Tanto su paso a través de este órgano como por las vías espermáticas producirán cambios que conciernen a la membrana del espermatozoide, a su movilidad y a su metabolismo [2].

El epidídimo es un órgano compuesto por cabeza, cuerpo y cola. Los espermatozoides de toro permanecen en cada uno de estos compartimentos, 2, 2 y 10 días respectivamente; en consecuencia la cola viene a ser el compartimiento en donde los espermatozoides permanecen el mayor tiempo en su recorrido por el epidídimo.

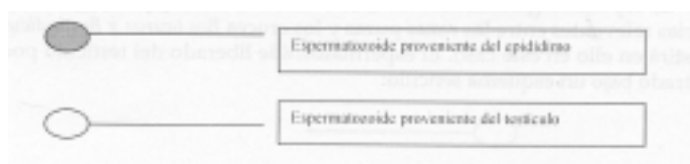
El líquido epididimario posee una presión osmótica elevada y en su composición destacan iones  $\text{Cl}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{HPO}_4^-$ , así como también sustancias que favorecen su metabolismo (acetyl-carnitina e inositol), contribuyendo a su inmovilidad. Se ha determinado que la temperatura del epidídimo es hasta  $5^\circ\text{C}$  menor que la temperatura corporal, lo cual también contribuye a reducir la movilidad espermática.

La síntesis de proteínas epididimarias específicas que son excretadas por las células epiteliales es testosterona-dependiente; dichas proteínas se fijan en la cabeza y en el flagelo del espermatozoide. Por otra parte, la condensación del núcleo progresa en los espermatozoides desde que son liberados del testículo hasta que se encuentran en la cola del epidídimo., lo que se interpreta como una protección del espermatozoide, hasta que llegue el momento de la fecundación..

El acrosoma sufre cambios de forma que no tienen relación con la maduración de las enzimas acrosomales. Por su parte la membrana plasmática experimenta un reacondicionamiento preparatorio de la fecundación, que le permitirán el reconocimiento y la interacción con los gametos femeninos. Los rearrreglos más importantes son:

- Cambios de la composición lipídica que favorecen la estabilidad de la membrana plasmática del espermatozoide.
- Unión de glicoproteínas secretadas por el epidídimo a la cabeza del espermatozoide.

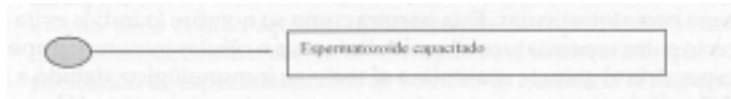
Todos estos cambios a nivel de las membranas contribuyen a dar al espermatozoide la capacidad fecundante y la resistencia para soportar el transporte y supervivencia durante el largo viaje a través de las vías genitales masculinas y femeninas, hasta llegar al sitio de la fecundación. Estos cambios podrían esquematizarse en forma sencilla durante su permanencia en el epidídimo.



### III. CAMBIOS FUNCIONALES DEL ESPERMATOZOIDE

La adquisición del movimiento lineal del espermatozoide es indispensable para la fecundación, también es necesario que adquiera la capacidad de fijarse a la zona pelúcida, lo que ocurre durante su permanencia en el epidídimo. Un cambio esencial que ocurre en las vías femeninas o durante su procesamiento *in vitro* en los espermatozoides eyaculados de toro es la capacitación, proceso que se analizará más adelante.

De nuevo el cambio de color del esquema indica que la superficie de un espermatozoide capacitado será distinta a la de un espermatozoide recién eyaculado.



La adquisición del movimiento lineal del espermatozoide es indispensable para la fecundación, también es necesario que adquiera la capacidad de fijarse a la zona pelúcida, lo que ocurre durante su permanencia en el epidídimo.

### IV. APOORTE DE LAS GLÁNDULAS ANEXAS

Las secreciones de las glándulas anexas constituyen alrededor de tres cuartas partes del eyaculado y forman el medio esencial en el cual se encuentran suspendidos los espermatozoides al producirse la eyaculación. Su actividad secretora es andrógeno-dependiente:

Las Vesículas Seminales secretan principalmente fructosa, hormonas peptídicas y también prostaglandina, esta última en mayor cantidad que la próstata.

En la próstata el epitelio se renueva regularmente a partir de células madres. La característica más notable de la secreción prostática es la elevada concentración de  $Zn^{++}$ , también contiene  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  y  $K^+$  y espermina. El  $Zn^{++}$  le confiere a la secreción un poder bactericida y contribuye a estabilizar las nucleoproteínas del ADN de los espermatozoides. Las glándulas de Cowper y prepuciales o de Tyson también contribuyen a l plasma seminal.

Ante la complejidad del plasma seminal, cuyo origen es muy variado, no es fácil atribuirle un rol específico a cada componente. Por otra parte la tasa de fecundación no varía entre espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo y aquellos eyaculados. Es de hacer notar que para obtener éxito en la fecundación *in vitro*, es indispensable eliminar el plasma seminal.

### V. ALGUNAS PATOLOGÍAS PRESENTES A NIVEL DE ÓRGANOS MASCULINOS

Es de hacer notar que las funciones del epidídimo y glándulas anexas se cumplen normalmente si se encuentran es buen estado, pero debido a infecciones, procesos inflamatorios provocados por agentes físicos o químicos como el calor, el

frío, metales pesados, traumatismos, radiaciones etc., se alteran las características de sus secreciones, provocando variaciones tanto en cantidad como en calidad. La calidad del semen y de los espermatozoides puede ser afectada, ocasionando por ejemplo, disminución de la movilidad, alteraciones de su morfología, aglutinación espermática o alta viscosidad del líquido seminal la cual dificulta la movilidad espermática. Es decir, la calidad seminal no sólo depende de la espermatogénesis sino también del plasma seminal que producen los órganos anexos.

En el ganado hay que considerar que los toros pueden estar sometidos a traumatismos que al ocasionar procesos inflamatorios del testículo pueden afectar a los mecanismos de protección de la respuesta autoinmune, uno de los cuales es la barrera hematotesticular. Esta barrera como su nombre lo indica evita el contacto directo entre espermatozoides y los linfocitos o células inmuno competentes, lo cual expondría al gameto masculino al rechazo inmunológico, debido a la activación de los linfocitos, que generarían una respuesta autoinmune [6].

## VI. CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA

En 1951 se definió la capacitación espermática como los cambios que debe sufrir el espermatozoide para adquirir la capacidad de fecundar a un ovocito [2]. Esta definición se debió a las observaciones de que los espermatozoides provenientes de la cola del epidídimo o eyaculados no son capaces de fecundar sino después de permanecer algunas horas en las vías genitales femeninas. Después de la inseminación los espermatozoides se acumulan en la unión útero tubárica por lo que se ha postulado que los espermatozoides que tienen la probabilidad de fecundar son los que se capacitan justo antes de la fecundación, en las cercanías del ovocito. Las condiciones óptimas para que ocurra este evento se dan durante la fase metaestral del ciclo, es decir alrededor de la ovulación.

Son todos los espermatozoides susceptibles de capacitarse? Es posible pensar que se opera una selección entre los espermatozoides que llegan hasta la ampulla o lugar de la fecundación, los cuales no son más de 10 o 12; es esta selección la que no se sabe con precisión de que manera reproducir en la fecundación *in vitro*, en la cual la concentración de espermatozoides es del orden de 1 millón. Pero en teoría la mayoría de los espermatozoides eyaculados deberían estar en condiciones de capacitarse.

¿Cuáles son los cambios que se producen durante la Capacitación? La eliminación del plasma seminal, con sus propiedades protectoras del espermatozoide no resulta suficiente para que este adquiera la capacidad fecundante. Es preciso que los componentes que están adheridos a la membrana plasmática se liberen, mediante unos cambios que se enumeran a continuación:

- pérdida de proteínas o disminución de su peso molecular
- transformación de los fosfolípidos
- reducción de la relación esterol/fosfolípidos

- cambios en los radicales glucídicos de las glicoproteínas o de los glucolípidos
- pérdida de glúcidos complejos

Estos cambios tienen como consecuencia buscar que el espermatozoide manifieste su

- hiper-movilidad, fenómeno calcio-dependiente
- su capacidad de fijarse a la zona pelúcida, para lo cual se han descrito receptores que deben ser expuestos en la superficie del espermatozoide y
- su capacidad de fusionarse con la membrana plasmática del ovocito, este evento tiene como requisito indispensable la ruptura del acrosoma, lo que se conoce como reacción acrosómica. Está demostrado que para la capacitación de espermatozoides de bovinos es necesaria la presencia de heparina en el medio; la heparina estimula la capacitación. Ello puede explicarse debido a que la heparina se encuentra en las secreciones uterinas y tubáricas de la vaca, siendo conocido que este compuesto favorece el influjo de  $Ca^{++}$ .

La capacitación en bovinos es un fenómeno fácil de reproducir *in vitro*, lo que hace posible la manipulación de semen tanto fresco como congelado. De nuestra experiencia con semen de toros doble propósito, los espermatozoides congelados experimentan la capacitación y reacción acrosómica todavía con mayor facilidad.

Actualmente la tecnología ofrece numerosas posibilidades de utilización de espermatozoides debidamente seleccionados y congelados. La inseminación artificial cuenta entonces con espermatozoides de excelente calidad, gracias al conocimiento y el desarrollo tecnológico. Así mismo se ha avanzado mucho en el conocimiento de la fisiología tanto de la hembra como de los gametos femeninos. Es interesante entonces revisar los aspectos más relevantes que se refieren a la maduración folicular, ovulación e interacción gamética durante la fecundación.

## VII. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE LA HEMBRA

### 1. Ovogénesis

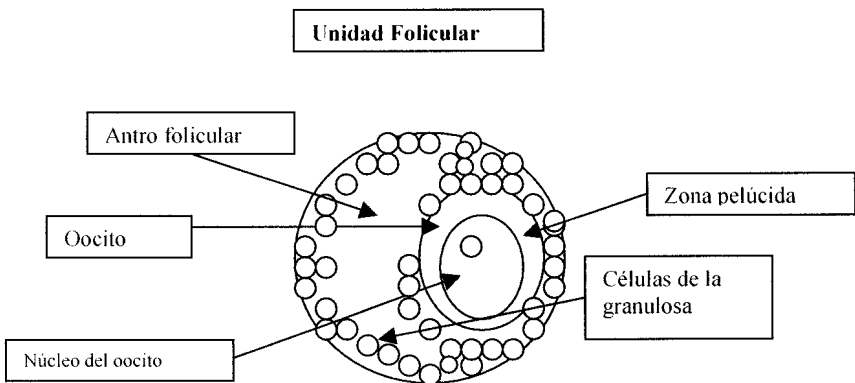
En el complicado proceso de formación del gameto femenino se distinguen:

a. Maduración folicular se refiere a la unidad morfofuncional constituida por la célula germinal y las células somáticas. La maduración nuclear del ovocito corresponde a las divisiones del proceso llamado meiosis, el cual culmina con la reducción a la mitad del número de cromosomas de la especie (número haploide). En las diferentes especies de mamíferos entre ellos bovinos, alrededor de la séptima semana de vida embrionaria aumentan las divisiones mitóticas y se inicia la meiosis, sin embargo, este proceso no continúa sino hasta la etapa previa a la primera división meiótica y no se reanuda hasta que se produzca el pico de hormona luteotrófica (LH), liberada por la hipófisis, en relación con la pubertad.



En la etapa prenatal la meiosis alcanza sólo hasta la I<sup>ra</sup> Profase meiótica y se realiza en el momento previo a la ovulación, una vez alcanzada la madurez sexual, cuando se completa la primera división meiótica y se elimina el primer corpúsculo polar. Una vez fecundado el oocito se realiza la segunda división meiótica y se elimina el segundo corpúsculo polar. Así se completa la maduración nuclear del gameto femenino, que ha reducido la dotación cromosómica a la mitad de la especie, en caso de bovinos a 30 cromosomas haploides.

Desde hace más de 60 años, en 1935 Pincus y Enzmann [7], demostraron que los oocitos de los mamíferos removidos de su ambiente folicular y cultivados *in vitro* en medio estandar, reanudan espontáneamente la primera división meiótica, en ausencia de estimulación hormonal. Esta observación sugiere que dentro del foliculo, el oocito está bajo el efecto inhibidor de un factor que se ha identificado como inhibidor de la maduración del oocito; este sería una proteína que se origina probablemente en las células de la granulosa.



La unidad denominada foliculo está compuesta por el oocito rodeado de la zona pelúcida, la cual por su parte está rodeada por células de la granulosa, que mediante finas prolongaciones que entran en contacto con el oocito a través de la zona pelúcida. Durante la maduración las microvellosidades de las células de la granulosa se retraen. El comienzo de la maduración nuclear del oocito se manifiesta por la ruptura del núcleo de la oogonia o célula precursora. A medida que el foliculo madura se va esbozando el antro folicular, en cuyo interior se encuentra el liquido folicular.



## b. Recuperación de folículos y maduración *in vitro* en vacas mestizas

Lonergan et al. [4] demostraron en vacas mestizas (*Bos taurus x Bos Indicus*) que los folículos de tamaños mayores de 6 mm recuperados por aspiración transvaginal de vacas superovuladas, se desarrollaron hasta blastocisto en un número significativamente mayor que aquellos de 2 a 6 mm. El reducido porcentaje de fecundación y desarrollo obtenido de pequeños folículos recuperados del ovario y madurados *in vitro* indicaría que el medio de cultivo no es el más adecuado para asegurar la maduración nuclear y citoplasmática. Sin embargo la maduración folicular *in vitro*, deberá perfeccionarse porque ofrece la gran ventaja de evitar el uso de hormonas para superovular, las cuales se ha comprobado que ocasionan trastornos secundarios que pueden culminar en el denominado “síndrome de hiperestimulación ovárica”, uno de los más serios problemas que afectan a la inducción de la ovulación.

## 2. Factores que afectan la maduración del ovocito y el desarrollo embrionario

*In Vivo*, la llegada de la pubertad y el inicio de la ciclicidad, determina que la maduración folicular ocurra en el ovario con toda su complejidad. Son factores endocrinos (hormonas), paracrinós y autocrinós los que regulan este proceso, es decir mensajes químicos que van a actuar a distancia, en células vecinas o en la propia célula que las produce, factores dependientes del eje hipotálamo-hipofisiario e intra ovárico. Tomando en consideración las exigencias de este proceso, se comprende que el estado nutritivo de la hembra es condición fundamental para que la maduración ocurra normalmente. Un animal malnutrido o sometido a stress ambiental, retardará tanto el inicio de la pubertad como la calidad de los ovocitos liberados en cada ciclo. Naturalmente este es un ejemplo de la necesidad de considerar el costo beneficio. Un ganadero debe comprender que la inversión en una alimentación adecuada redundará en una mejor calidad de gametos, pero además en una gestación eficiente que permita que la cría tenga un buen peso al nacer. Un becerro nacido sano resistirá mejor las condiciones tropicales, especialmente cuando se trata de mestizos *Bos taurus x Bos indicus*. En este sentido, nuestra experiencia indica que la inversión en alimentación retribuye sin lugar a dudas, con la ventaja que significa aumentar la producción de un rebaño sano, con resistencia a parásitos e infecciones.

La mayoría de los variados factores que contribuyen a la maduración folicular ejercen su acción a través de las células del cúmulo o células que rodean al ovocito, las cuales en bovino lo acompañan en el momento de la ovulación. En bovinos se ha demostrado que las células del cúmulo son beneficiosas para la maduración del ovocito y también en el momento de la fecundación [1].

Al igual que el toro, la hembra puede padecer de infecciones subclínicas, lo que significa que existen patógenos que pueden mantenerse en el tracto genital durante mucho tiempo y establecer procesos inflamatorios menores, que si bien es cierto, no se manifiestan clínicamente, alteran las funciones propias de las mucosas y perturban el control inmunoendocrino que caracteriza al tracto genital tanto del toro como de la vaca. En diferentes especies animales y en la mujer se ha comprobado que la baja fertilidad, muerte embrionaria y aborto precoz pueden tener

su causa en infecciones tales como *Chlamydia psittaci*, la cual invade desde la vagina hacia los niveles superiores del tracto genital femenino, haciendo así más difícil su diagnóstico, porque generalmente se le diagnostica por inmunofluorescencia de células provenientes del raspado uretral. En el caso de una infección asintomática en 80 % de los casos, una técnica que pudiera ser más útil es el diagnóstico de anticuerpos anti-Chlamydia, que se puede realizar en el suero del animal y en las secreciones del tracto, como el plasma seminal o moco cervical.

## VIII. PERSPECTIVAS TECNOLÓGICAS APLICANDO LOS AVANCES EN EL MANEJO DE GAMETOS DE BOVINOS

La recuperación de ovarios de vacas mestizas *Bos taurus x Bos indicus* en mataderos, nos ha permitido ensayar diferentes medios de cultivo para madurar folículos recuperados post mortem y manipularlos en condiciones estériles. Los resultados obtenidos permitieron estandarizar la técnica de maduración folicular y fecundación *in vitro*, tanto en vacas mestizas como en razas puras, sin obtener diferencias estadísticamente significativas, por lo que se concluye que a este nivel el comportamiento de los gametos es comparable.

Por otra parte la disponibilidad de folículos a partir de tejido ovárico criopreservado y posteriormente madurado *in vitro*, también es una fuente que podría proporcionar un gran número de gametos femeninos.

Con respecto al gameto masculino el uso de semen congelado de excelente calidad y la selección genética de vacas mestizas ha permitido asegurar la calidad embrionaria. La fecundación *in vitro* y la transferencia embrionaria requiere de un adecuado manejo de la vaca receptora. Esta técnica ha abierto en el mundo desarrollado la posibilidad del sexaje de los embriones y de este modo transferir a solicitud embriones de un determinado sexo, lo que tiene una enorme importancia económica cuando se trata de aumentar la producción de leche o de carne de una finca.

## IX. CONCLUSIONES

Las posibilidades hacia el futuro son incalculables en términos de mejoramiento genético y optimización de la producción de ganado, porque existen tecnologías cada vez más avanzadas y conocimientos más completos del control y regulación de la gametogénesis y de la función gamética. Pero debemos ser realistas porque para aplicar con éxito una tecnología tan sencilla como la Inseminación Artificial se requiere de profesionales, técnicos y obreros bien entrenados y conscientes de la importancia de formar equipo. Ello significa participar con responsabilidad y verdadero interés por conseguir resultados exitosos, para lo cual se requiere motivación tanto de parte de los que coordinan un Programa de manejo animal y reproductivo, como de los que participan en él. De nada vale utilizar el mejor semen congelado si no se ha detectado el celo de la hembra con exactitud y se pierde el material y el tiempo empleado, además de generar un sentimiento de

fracaso y frustración. En Venezuela contando con toda clase de recursos aún no ha sido posible difundir, como en otros países el uso de la Inseminación Artificial.

Es el momento de reconocer que el mejoramiento de la producción del ganado mestizo no puede esperar, el futuro tenemos que empezar a construirlo hoy, porque no hay ninguna justificación para no implementar y poner en acción un plan de manejo y producción, bien diseñado especialmente con las ventajas que ofrece el ganado de doble propósito.

## X. LITERATURA CITADA

- [1] Canipari, R. 2000. Oocyte granulosa cell interactions. Human Reproduction Update Vol. 16 No. 3:279-289.
- [2] Fournier, D., y Thibault, Ch. 1992 Acquisition de la fecondance du spermatozoide. Maturation epididymaire, glandes annexes et capacitation. En Reproduction Animale chez les Mammiferes et l'Homme .Ed. Thibault et Levasseur. Chap. 14 pp: 251-271.
- [3] González Stagnaro, C. 1992. Fisiología Reproductiva en vacas mestizas de doble propósito. En Ganadería mestiza de doble propósito. C.González Stagnaro (ed.) Edic. Astro Data S.A. Cap:VIII153-587.
- [4] Lonergan, P., Monaghan, P., Rizos, D. et al. 1994 Effect of follicle size on bovine oocyte quality and development competence following maturation, fertilization and culture *in vitro*. Mol. Reprod. Dev.37: 48-53.
- [5] Madrid-Bury, N., Zambrano S., Bohda,E., González Stagnaro, C. y Chirinos, Z. 1997. Comportamiento reproductivo de toretes mestizos *Bos taurus x Bos indicus* en Venezuela. 1er Congreso Ibérico de Reproducción Animal. Lisboa Julio 2-7. Vol.II 17-23.
- [6] Muñoz, M.G. 1998. Efecto de la Infecciones sobre la fertilidad. Rev. Ven. Ginecología18: pp-10-20.
- [7] Pincus, G y Enzmann, E.V. 1935. The comparative behavior of mammalian eggs in vitro and in vivo. J. Exp. Med. 62:665-675.