

TEMA R-5: LA FECUNDACIÓN Y LA IMPLANTACIÓN EN LA ESPECIE HUMANA.

RESEÑA HISTÓRICA:

La fecundación es la unión de los gametos masculino y femenino para dar lugar a la formación del huevo fecundado o cigoto.

Ya en la Grecia antigua se consideraba la teoría binaria, de modo que el proceso precisaba la existencia de un semen masculino y otro femenino. Aristóteles (S. I a.J.) preconizaba que era un semen de los deferentes el que se uniría a la sangre menstrual.

En el S. XVII de Graaf (1672) describe los folículos y Hamm y Leeuwenhoek (1677) los espermatozoides, naciendo dos posiciones respecto a la reproducción:

Ovulistas: En el óvulo habría un ser en miniatura que los espermatozoides alimentarían.

Homunculistas: El pequeño ser viajaría en el interior del espermatozoide, que se desarrollaría en el interior de la mujer.

Ya en el S. XVIII Spallanzani es el que formula el criterio actual sobre la fecundación, en cuanto al resultado de la fusión de un óvulo con un espermatozoide.

SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO:

El sistema reproductor masculino está formado por sus gónadas (testículos), los conductos excretores (epidídimo, conductos deferentes, conducto eyaculador y uretra) y las estructuras accesorias (próstata, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales de Cowper y Tysson y pene).

Los testículos, albergados en la bolsa escrotal, tienen un parénquima rodeado por una cápsula o túnica **albugínea**, que penetra en dicho parénquima dividiéndolo en unos 250 **lóbulos**, cada uno de los cuales con unos tres **tubos seminíferos**. Estos túbulos forman un sistema de conductos con una longitud global de 2 a 2.5 m. En su interior se desarrolla el proceso de espermatogénesis.

El epitelio germinal testicular esta formado por las células germinales, las células de Sertoli, y las células de Leydig. Las células de Sertoli son las que forman, junto con las germinales, el “epitelio” de los conductos citados, mientras que las células de Leydig se encuentran en el estroma.

Los túbulos confluyen hacia una zona central donde se condensa la albugínea (*cuero de Higmoro*), allí forman una red (*rete testis*), desde la que parten de 8 a 15 **conductos eferentes** que desembocan en el **epidídimo**. Éste es una formación situada en un lado del testículo y en la que se distinguen una porción cefálica o cabeza y una caudal.

Del epidídimo caudal, los **conductos deferentes**, atravesando el conducto inguinal, llegan al **conducto eyaculador**, que, iniciándose en la unión de los deferentes con las **vesículas seminales** (*verum montanum*), atraviesa la **próstata** y

desemboca en la **uretra**. La longitud total del sistema de conductos alcanza los 180 metros. Las glándulas adyacentes le proporcionan al eyaculado el volumen líquido más importante. De tal suerte en el eyaculado por término medio hay:

10% de espermatozoides.

60% de secreción alcalina, rica en fructosa, de las vesículas seminales.

30% de secreción ácida prostática, rica en ácido cítrico.

La diferenciación hasta el espermatozoide maduro y funcional requiere unos 70-75 días. Se almacenan por unos 50 días en la luz tubular y viajan al epidídimo donde permanecen unas 3 semanas más.

REGULACIÓN ENDOCRINA DE LA FUNCIÓN TESTICULAR:

A) CITOLOGÍA TESTICULAR:

1. Células germinales:

En los tubos seminíferos, formados por un epitelio poliestratificado con una luz central, se produce la espermatogénesis. El epitelio posee células germinales en los distintos estadios madurativos. Las células germinales maduras, los espermatozoides, son liberadas a la luz junto a una sustancia acuosa segregada por los túbulos, hasta su transporte al epidídimo.

La **espermatogénesis** en el hombre se inicia en la pubertad y se mantiene toda la vida. Consta de las siguientes fases:

a) Primera fase: Las espermatogonias, células germinales primitivas diploides situadas sobre la lámina basal del túbulo y sobre el soporte de las células de Sertoli, proliferan por mitosis dando los espermatocitos primarios y manteniendo constante su número de espermatogonias.

b) Segunda fase: Los espermatocitos primarios (diploides) por meiosis dan dos espermatocitos secundarios (haploides, uno con el cromosoma X y el otro con el Y). Se dividen éstos rápidamente por mitosis dando las preespermátides y espermátides cerca de la luz tubular. Los espermatocitos mantienen comunicados sus citoplasmas durante toda la espermatogénesis, desapareciendo la comunicación sólo al final de la misma. Esto acontece para subsanarse entre ellos los posibles déficits enzimáticos secundarios a su conversión en haploides perdiendo la mitad de su dotación genética, pudiendo llegar así un mayor número a su maduración final; pero también por lo mismo se favorece el desarrollo de espermatocitos formal y funcionalmente defectuosos.

c) Tercera fase: Conocida por *espermiogénesis*, en ella no se producen más divisiones, sino unos cambios nucleares y citoplasmáticos que, desde la espermátide con una forma redondeada, dan lugar a los espermatozoides diferenciados, de forma alargada y con estructura flagelar. La forma elongada puede capacitarse *in vitro* y con ella conseguir fecundaciones.

2. Células de Sertoli: Son las equivalentes a las células de la granulosa del ovario y se encuentran en el epitelio de los túbulos seminíferos. Son sensibles a la FSH y productoras de inhibina. Establecen íntimas uniones intercelulares y sellan el túbulo seminífero, constituyendo la membrana hematotesticular.

3. Células de Leydig: Equivalentes a las células tecales, se localizan en el

mesénquima testicular. Tienen receptores para la LH y responden con la producción de andrógenos, sobre todo testosterona.

B) ENDOCRINOLOGÍA TESTICULAR:

La regulación hormonal depende del eje hipotálamo-hipofisario. El hipotálamo segrega la hormona liberadora de gonadotropinas (**GnRH**), un decapeptido que realizará su función en el lóbulo anterior de la hipófisis dando lugar a la secreción de LH y FSH. La **FSH** es la principal activadora de las células de Sertoli, que en el conducto seminífero constituyen el soporte sobre el que se sitúan las células germinales con su progresiva maduración hasta espermatozoides, así mismo segregan inhibina B y la ABP (*androgen binding protein*).

La **testosterona** producida por las células de Leydig, activadas por la secreción de **LH**, pasa sin problemas la barrera hematotesticular por su liposolubilidad. Pero también se necesita en el interior del tubo seminífero para el desarrollo de los espermatozoides. Para ello la testosterona, que posee una alta afinidad por la proteína ABP (*androgen binding protein*), se une a la misma y pasa al interior del tubo seminífero, aumentando así localmente su concentración.

La **prolactina** actúa a nivel testicular potenciando la acción de la LH si sus valores son normales, pero una hiperprolactinemia conduciría a una inhibición de las gonadotrofinas.

CARACTERÍSTICAS DEL EYACULADO NORMAL:

La valoración del eyaculado se realiza en estudios de fertilidad, para evaluar su posibilidad de fecundar un óvulo maduro. Las características del eyaculado para poseer dicha capacidad fecundante son:

1) Volumen: 2-6 cc, tras una abstinencia mínima de 2 días. El volumen reducido se conoce como parviseemia y el excesivo debe hacer pensar en un proceso infeccioso del tracto urogenital.

2) Concentración (Espermiograma): El análisis del eyaculado requiere su licuación, que se produce espontáneamente en la primera media hora. En la actualidad el valor mínimo aceptado para que un esperma sea fecundante es de 20 millones/cc. Estas concentraciones se ven reducidas cada vez en mayor número de individuos. Valores inferiores a 20 millones se conocen como oligospermia y la ausencia de espermatozoides azoospermia.

3) pH: Alcalino, alrededor de 7.5-7.8.

4) Motilidad: Al menos el 50% de los espermatozoides deben poseer motilidad progresiva (hacia delante: A+B) en la primera hora. La motilidad no progresiva, con movimientos circulares, no se considera:

A ó I rectilínea.

B ó II progresiva haciendo curvas.

C ó III móviles pero sin ninguna dirección de progresión.

D ó IV inmóviles.

El déficit de motilidad es la astenospermia. La ausencia de movilidad (muerte de espermatozoides) se conoce como necrospermia.

5) Morfología: La tinción con colorante debe mostrar un mínimo de un 60-

85% de gametos morfológicamente normales. Las anomalías en más de un 40% de espermatozoides se conocen con teratospermia.

6) Otras células: Debe existir <1 millón de leucocitos/cc.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS GAMETOS:

1. OVOCITO: Su pluripotencialidad es enorme, pues tras la inyección en el mismo del contenido genético del espermatozoide, es capaz de desarrollar un individuo completo.

Se trata de una célula grande, de 0.1 mm, con un núcleo voluminoso e importante citoplasma. Junto a la membrana celular aparece una capa protectora de mucopolisacáridos (*zona pelúcida* o *capa vitelina*) y unos gránulos subcorticales con de gran contenido en enzimas proteolíticos, con una función importante en la fecundación. Rodeando todo el ovocito se encuentra una matriz extracelular de glicoproteínas que le proporciona una protección adicional.

2. ESPERMATOZOIDE: Es una célula muy pequeña en comparación con el ovocito, pero con la capacidad de descargar su juego haploide de genes para recombinarlo con los del óvulo y activar el programa de desarrollo ovular. Posee cuatro zonas bien diferenciadas:

a) Cabeza: Posee su material genético englobado en el **núcleo** condensado, que ocupa casi toda esta porción, rodeado por un saco que contiene enzimas proteolíticos y se denomina **vesícula acrosómica**. Todo ello a su vez es rodeado por la membrana citoplásmica.

b) Cuello: Porción vecina a la cabeza donde se encuentra el centriolo proximal.

c) Fragmento intermedio: Contiene principalmente mitocondrias (carece de Golgi y RER) dispuestas en espiral alrededor del axonema, que proporcionarán a modo de turbina la energía necesaria para el movimiento del flagelo. En la porción vecina a la cola se encuentra el centriolo distal.

d) Cola: Es la estructura flagelar con nueve pares o dobletes de microtúbulos (alternando uno completo y otro incompleto) que recorren todo el flagelo y un par central (*estructura 9x2+2*). Estos microtúbulos están formados por la proteína denominada tubulina (con dos cadenas α y β) y unidos entre sí por dos proteínas: nexina y dineína, que actúan como los radios que, uniendo los microtúbulos, al contraerse éstos hacen que suban y bajen proporcionando un movimiento lateral (movimientos helicoidal y en latigazo). Utilizan la energía de las mitocondrias del cuello.

CAMBIOS EN EL ESPERMATOZOIDE PREVIOS A LA FECUNDACIÓN:

1) Modificaciones en el epidídimo: Los espermatozoides llegan al epidídimo caudal aproximadamente a los 72 días de iniciarse la espermatogénesis, con la estructura ya conocida de espermatozoide maduro, adquiriendo la movilidad progresivamente a medida que llegan al epidídimo. La porción caudal del epidídimo los almacena, lo que permite eyaculaciones fértiles repetidas, requiriéndose, para que se mantenga en condiciones óptimas, niveles circulantes normales de testosterona y una temperatura normal en el escroto.

A su nivel, los espermatozoides permanecen 20-25 días y sufren unas reacciones bioquímicas en las que están implicadas una serie de proteínas:

Proteína FMP: Proteína de la motilidad progresiva; permite la coordinación de los flagelos para que el movimiento sea hacia delante.

Proteína AEG: Glicoproteína epididimaria ácida, que contribuye al movimiento progresivo.

En el epidídimo tiene también lugar la **decapitación**, que inicialmente le impide al espermatozoide la capacidad de fecundar, estabilizando sus membranas e inhibiendo los enzimas acrosómicos, lo que le permite conservar la vida más tiempo.

2) Transporte del espermatozoide: Los espermatozoides se transportan por varios mecanismos:

Activo: Movimiento de los flagelos, orientándose contra corriente de los flujos del aparato genital femenino, no por quimiotaxis.

Pasivo: Más importante que el anterior:

Contracciones del aparato genital femenino por la oxitocina (orgasmo) y acción local de las prostaglandinas del plasma seminal. Estas contracciones pueden ser importantes para la entrada de los espermatozoides, pero no imprescindibles.

Células ciliadas del aparato genital femenino.

Casi inmediatamente después de la eyaculación el semen forma un gel, que a los 20-30 minutos se licúa por la acción de enzimas de producción prostática. El pH alcalino del semen protege a los espermatozoides del pH ácido vaginal, esta protección es transitoria, pues a las 2 horas los espermatozoides remanentes en la vagina quedan inmovilizados.

Hay unas estructuras que debe salvar de forma especial:

Cuello uterino: Los espermatozoides que han progresado y alcanzado el moco endocervical, con pH alcalino, son los que sobreviven y entrarán en el útero, quedando el plasma seminal en la vagina.

A los 30 segundos del eyaculado hay ya espermatozoides en el orificio cervical interno, a partir de ahí hay dos formas de ascender:

+Rápida: En 90 segundos se encuentran espermatozoides en la mucosa uterina. A la media hora hay espermatozoides en el fondo del útero.

+Lenta: Los espermatozoides se resguardan en las glándulas cervicales y endometriales permaneciendo como reservorio algunos días.

Los espermatozoides nadan a través del moco cervical que sólo podrán atravesarlo si el moco tiene la microestructura determinada por una correcta estimulación estrogénica, actuando de todas formas a modo de filtro de tal forma que espermatozoides anormales y menos capaces son retenidos.

El orgasmo ayudaría el ascenso de estos espermatozoides, pues, por la contracción uterina se exprime el moco hacia la vagina donde se impregna de espermatozoides y luego es aspirado con ellos hacia arriba.

El cuello uterino actúa también como reservorio de espermatozoides pudiendo observarse espermatozoides normales móviles hasta 72 horas después del coito, aunque pasadas 48 horas ya quedan pocos.

Ostium tubárico: Las contracciones uterinas junto con la movilidad espermática impulsan a los espermatozoides hacia arriba de tal forma que a los 5 minutos de la inseminación se pueden observar en las trompas, con permanencias de hasta 80 horas.

Entre la vagina y la trompa existe una merma sustancial de espermatozoides, de una media de 200-300 millones depositados en la vagina a penas unos cientos, y con frecuencia menos, llegan a las cercanías del óvulo, adquiriendo los que alcanzan la ampolla tubárica una hiperactividad.

El ostium tubárico dificulta el paso a la trompa, pareciendo que regula el número de espermatozoides (alrededor de unos 200 vivos) que deban encontrarse en la misma donde el ovocito será fecundado.

3) Capacitación: Proceso de lavado mecánico y enzimático que sufre el espermatozoide en el interior del útero y trompa, si bien puede provocarse artificialmente, por el cual se va dotando su membrana acrosomial de la inestabilidad necesaria para su posterior rotura. Por un mecanismo de hidrólisis lipídica se va eliminando sustancia de la membrana de la cabeza del espermatozoide, aumenta su metabolismo y el rendimiento energético y se hincha la vesícula acrosómica, que así facilita su rotura para eliminar su contenido enzimático reactivado al exterior.

4) Reacción acrosómica: Se produce al contactar el espermatozoide con el ovocito. Supone el vertido del contenido enzimático de la vesícula acrosómica digiriéndolo a la superficie del ovocito.

FECUNDACIÓN:

La liberación del ovocito y los espermatozoides representa su muerte en pocas horas en caso de no producirse la fecundación.

El ovocito expulsado en la **ovulación** junto a su corona radiata (zona pelúcida + células de la granulosa) puede ser captado directamente por la trompa homolateral o sufrir procesos de migración:

Externa: Cae al peritoneo si no es captado por la trompa adyacente o no existe ésta y de allí es captado por la trompa contralateral, donde se produciría en su caso la fecundación.

Interna: El ovocito, captado inicialmente por la trompa homolateral, pasa a la contralateral donde es fecundado.

Unos 60 espermatozoides alcanzan el ovocito. En cualquier caso el primer suceso previo a la fecundación es la **toma de contacto y unión de espermatozoide y ovocito** a nivel de la ampolla tubárica. Esta unión será:

a) Receptordependiente: El contacto inicial entre el espermatozoide y el ovocito es un proceso mediado por receptores. El glicocálix del espermatozoide se une a receptores de membrana del óvulo, las glicoproteínas de la zona pelúcida segregadas por el ovocito, llamadas ZP1, ZP2, ZP3, siendo esta última la más abundante y el principal fijador para el espermatozoide.

La unión de los receptores de la cabeza del espermatozoide a los fijadores de la zona genera unos complejos enzimáticos que inducen la reacción acrosómica, esencial para la fusión de las membranas del espermatozoide y el ovocito.

La unión a ZP2 se produce después de la reacción acrosómica e interviene en la reacción de la zona para prevenir la poliespermia (degranulación subcortical).

b) Por despolarización: Las membranas de óvulo y espermatozoide se

despolarizan ante el contacto físico de ambos; tras ello se abren los canales del Ca^{2+} , modificándose el pH, lo que provoca la fusión de membranas y establecimiento de poros y canales. Es una fase corta, tras la cual el potencial se restablece evitando la entrada de nuevos espermatozoides.

Esto lleva también a la rotura de la vesícula acrosómica del espermatozoide y el vertido de su contenido sobre la superficie del óvulo a través de los canales.

La **penetración del espermatozoide en el ovocito** requiere de una combinación de elementos tales como la movilidad del espermatozoide, una proteinasa acrosómica y la unión a los receptores de la cabeza del espermatozoide a los receptores de la zona pelúcida. La rotura de las membranas envolventes, pues, se realiza por tres mecanismos:

1.- Enzimático: La salida de las proteasas abre camino por digestión a través de las células de la granulosa de la corona radiata. La cabeza del espermatozoide entra así en contacto con el ovocito.

2. Perforatorio (o proceso acrosómico): La actina de la vesícula acrosómica se polimeriza por aumento del pH, adquiriendo rigidez y el aspecto de una probóscide o *perforatorium* o filamento acrosómico, actuando como lanza para abrirse camino por la zona pelúcida y membrana del ovocito.

3. Bindina: La punta del perforatorio contiene adheridas las proteínas de este nombre, que actúan como receptores específicos de las glicoproteínas de la membrana del ovocito, que anteriormente comentamos. Este sistema es el que hace que la reproducción sea especie-específica, merced a la especificidad de unión receptor-glicoproteína.

La entrada del contenido genético del espermatozoide manda una señal (segundos mensajeros, Ca^{2+} , etc.) que produce la apertura de los gránulos subcorticales, es decir, las organelas situadas justo debajo de la membrana citoplásmica del ovocito hacia la zona pelúcida (**degranulación del ovocito**), que vierten enzimas proteolíticas, las cuales, rompiendo las glicoproteínas de la membrana y alterando los receptores de bindina, impermeabilizan el óvulo para evitar la entrada de otro espermatozoide, al provocar una reacción con refuerzo de la zona y la desactivación de los fijadores para los receptores del espermatozoide, que impide la poliespermia.

Tras la fusión de los gametos hay una **activación metabólica** que permitirá la viabilidad del cigoto, activación de ácidos nucleicos, síntesis proteica, etc., requiriendo dos estímulos:

a) Rápido y corto: Aumento brusco del Ca^{2+} en el interior del ovocito por despolarización de su membrana y apertura de los canales. Aumenta el pH intracelular con activación metabólica transitoria.

b) Tardío y duradero: Se mantiene el flujo continuo de Ca^{2+} a través de la membrana, manteniendo elevado el pH y activándose las enzimas de membrana que mantendrán elevado el metabolismo.

La entrada del espermatozoide lleva también a completarse la segunda mitosis de la meiosis del ovocito y **expulsión del segundo corpúsculo polar**, formándose dos pronúcleos que contienen los cromosomas maternos y paternos. La aproximación de ambos pronúcleos con la fusión de las membranas limitantes, formación de un huso y predistribución de los cromosomas, se sigue de la **primera**

división del cigoto, formándose dos blastómeras a las 24-36 horas postfecundación, hecho éste que es reconocido como el último estadio de la fecundación.

FASES DE LA IMPLANTACIÓN:

El óvulo fecundado se encuentra en la ampolla tubárica desde donde va progresando hacia la cavidad uterina, inicialmente de forma lenta y luego más rápidamente hasta alcanzar la cavidad uterina en 3-3.5 días. Su división al 2º día ya dará lugar a 2-3 células, al tercer día 6-8, alcanzando al 4º día la fase de mórula, que progresará a mórula compacta, formada por blastómeras pluripotenciales capaces de formar por separado un ser completo cada una de ellas.

El aumento del número de células, no se acompaña prácticamente de aumento del tamaño global del huevo, que deberá atravesar el ostium tubárico, aún envuelto en la zona pelúcida.

Al llegar a la cavidad uterina tardará unos 4 días en implantarse, cosa que hará entre los 7-7.5 días postfecundación. Esta implantación se realiza en las siguientes fases:

1. Fase miometrial o de preadhesión o de aposición: La mórula vaga inicialmente libre, flotando en el líquido endometrial y situándose cerca de la salida de una glándula endometrial, sobre un área capilar.

La mórula se cavita centralmente (blastocelo) convirtiéndose en blastocisto. Una vez que alcance el útero en fase de blastocisto, tendrá que implantarse para sobrevivir, pasando por unas fases:

- Blastocisto precoz
- Blastocisto cavitado
- Blastocisto expandido
- Blastocisto “eclosionante”, en el que se pierde la zona pelúcida

y el cigoto crece rápidamente en tamaño.

El blastocisto se sitúa en la zona adecuada para su implantación, existiendo dos factores que determinarán la ventana de implantación o momento del ciclo en que las condiciones para el asentamiento del embrión en el endometrio son idóneas:

Materno: La decidualización prepara el endometrio para la implantación. Las células del estroma proliferan y se diferencian, existiendo además cambios vasculares que aumentan el aporte sanguíneo a la zona. También se modifica la síntesis proteica. El útero parece contraerse (*fenómeno de Knaus* en conejas) empujando la blástula hacia arriba, hacia la zona de implantación en donde las contracciones son menores.

Embrionario: Al contactar con el endometrio se produce una interdigitación de sus microvillis con los de las células endometriales, que parecen englobar el blastocisto (*deciduoma de Loeb*), si bien se trata de una unión de escasa firmeza.

El blastocisto se orienta con el botón embrionario hacia el endometrio.

Se sitúa exactamente sobre un capilar, en una zona de la cavidad uterina sobre el istmo y bajo los cuernos tubáricos, generalmente hacia el fondo y línea media, cara posterior (nidación eutópica).

2. Fase de adhesión: La unión entre las dos estructuras es ya mayor, con los siguientes fenómenos:

El glicocálix se erosiona y desaparece progresivamente, produciéndose cambios eléctricos en la superficie de la membrana, lo que aumenta la fuerza de unión.

Se acentúan las uniones por microvillis y desmosomas.

El trofoblasto se diferencia en cito y sincitiotrofoblasto.

Intervienen ciertas sustancias como bicarbonatos, el FII (factor iniciador de la implantación), integrinas y selectinas de origen endometrial.

3. Fase de penetración o invasión: Los fenómenos que acontecen son:

Fagocitosis del trofoblasto y fusión endometrio/trofoblasto: El embrión lanza proyecciones del sincitiotrofoblasto que, por fagocitosis, llegan a romper la membrana basal del epitelio decidual con fusión de sus citoplasmas.

La invasión del trofoblasto se produce también por degradación de la matriz extracelular mediante proteinasas. Pero esta invasión está limitada por la acción de inhibidores de las proteinasas, en especial *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) y *tissue inhibitor metaloproteinases* (TIMP).

Se forman yemas de crecimiento y penetración del estroma.

En el blastocisto se diferencian ectodermo, endodermo y cavidad amniótica.