

TEMA 32

La Fecundación

32.1.- Concepto.

El proceso de fecundación supone la unión del gameto masculino (espermatozoide) con el gameto femenino (óvulo). Con esa fusión se produce una nueva célula, llamada cigoto. Al unirse las dos dotaciones haploides (n) de los gametos se restaura el estado diploide ($2n$) en el cigoto, que es una célula muy especial porque a través de una gran cantidad de mitosis dará lugar a un nuevo individuo.

Con la fecundación se logra no solo una célula diploide, sino una célula que posee un genoma procedente de 2 individuos diferentes, lo que genera un aumento de la variabilidad.

Otra consecuencia de la fecundación es que en ese momento queda establecido el sexo del nuevo individuo. Esto se debe a que el espermatozoide aportará un cromosoma sexual (X ó Y), lo cual marcará que sea mujer u hombre, respectivamente.

El proceso de fecundación tiene lugar en el tercio externo de la trompa uterina, lugar donde es recogido el ovocito al salir del ovario. La fecundación se compone de 2 etapas principalmente:

- Penetración del espermatozoide en el óvulo.
- Anfimixia, que supone la reunión de los pronúcleos masculino y femenino formando la dotación cromosómica diploide.

32.2.- Características de los gametos.

Los gametos, en el caso de la especie humana, son de distinto tamaño (anisogamia) y además presentan características muy diferentes.

- Óvulo:
 - o Es muy grande –es la célula más grande del organismo–.
 - o Inmóvil.
- Espermatozoide:
 - o Muy pequeño.
 - o Móvil –presenta actividad flagelar–.

Características del óvulo:

Hacia la mitad del ciclo menstrual, el folículo aumenta mucho de tamaño y se aproxima a la superficie del ovario. En esos momentos termina la meiosis I, comienza la meiosis II, que se detiene en metafase II.

Durante la ovulación, el folículo se rompe y el ovocito es expulsado. Además, la pared del ovario se adelgaza hasta que se abre. Estos procesos están producidos por:

- o Aumento del líquido folicular, que se produce por acción de las hormonas gonadotropinas (LH [Hormona Luteinizante] y FSH [Hormona Folículoestimulante]).

TEMA 32: La Fecundación

- Actuación enzimática, principalmente de la colagenasa y la hialuronidasa, que son producidas por las células de la granulosa.
- Las contracciones de las fibras musculares lisas de las fimbrias de las trompas.

El ovocito expulsado será “absorbido” o captado por las trompas. A esta estructura, el ovocito, que es de tipo secundario por lo que se encuentra detenido en metafase II, le acompañan una serie de estructuras:

- Zona pelúcida.
- Corona radiada.
- Cúmulo oóforo.

Todas estas capas de células que protegen al ovocito de posibles daños mecánicos, tendrán que ser penetradas por el espermatozoide para que se produzca la fecundación.

¿Qué estructuras presenta el interior del ovocito? Una de las más importantes son las reservas nutricionales, que suponen un 5% del volumen celular. Además, presenta un aparato de Golgi rodeado de pequeñas mitocondrias, que son muy importantes ya que son las que formarán parte del citoplasma del nuevo individuo, ya que las mitocondrias paternas no son incorporadas al cigoto. Respecto a los gránulos corticales, hay que decir que permanecen periféricamente situados justo por debajo de la membrana plasmática. El núcleo del ovocito es vesiculoso y se sitúa excéntricamente.

Cuando el ovocito sale del ovario va a ser fecundable durante las 24 horas siguientes. Posteriormente, si no ha tenido lugar la fecundación se degradará el gameto. En este punto hay que matizar que no podemos decir que las mujeres son fértiles durante 24 horas, ya que el espermatozoide puede estar esperando la expulsión del ovocito secundario.

Cuando se produce la ovulación, ya se ha expulsado el primer corpúsculo polar, y solo si se fecunda el ovocito secundario, se producirá la expulsión del segundo corpúsculo polar. En caso de ser así, se formará además del segundo corpúsculo polar, el cigoto, por lo que en realidad, el paso de ovocito secundario a óvulo, es irreal, y se produce de ovocito secundario a cigoto directamente, ya que el momento en el que concluye la maduración del ovocito secundario ya encontramos una dotación cromosómica de $2n$ (ya ha habido fecundación).

Características del espermatozoide:

Es una célula de tamaño muy pequeño, que presenta la característica de la movilidad. En su cabeza aparecen varias estructuras, entre las que encontramos el núcleo, que es:

- Plano.
- Piriforme (con forma de pera).
- No lleva histonas, sino protamina para condensar más la cromatina.

Los centriolos se sitúan en la parte posterior del núcleo, y el centriolo distal formará el flagelo. En la parte anterior de la cabeza, el espermatozoide presenta la vesícula acrosómica, que contiene enzimas que va a necesitar para atravesar las capas protectoras del óvulo.

Además, el espermatozoide es *pas* positivo, es decir, presenta azúcares en su membrana.

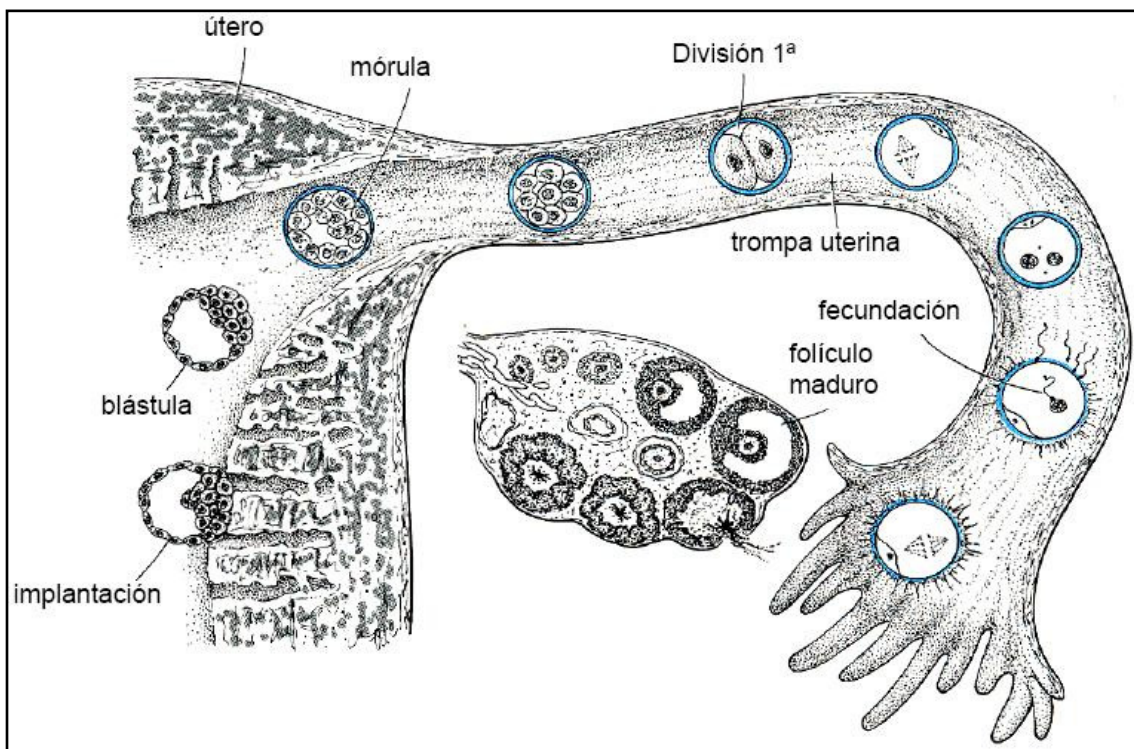
TEMA 32: La Fecundación

32.3.- Transporte del ovocito.

Cuando el ovocito sale del ovario, tiene que ser recogido por las fimbrias de las trompas. En ese momento las células epiteliales de las trompas van a aumentar el número de cilios y también las contracciones del músculo liso de la trompa y de los ligamentos suspensorios de la misma.

En la ovulación, la trompa se acerca al ovario y la corriente ciliar ayuda a capturar al óvulo.

Ya en la trompa, el ovocito se encuentra inmerso en un líquido tubárico, segregado por las células epiteliales de la trompa. A través de las trompas se va dirigiendo hacia el útero, en el que debería de implantarse. Los primeros movimientos del tercio externo de la trompa se producen por las contracciones musculares, principalmente. Se ha visto que mujeres que presentan el *Síndrome de cilios inmóviles* son fértiles, por lo que podemos entender la importancia de las contracciones musculares en el fenómeno del transporte del ovocito.



El transporte del ovocito al principio es lento; aproximadamente se tardan unas 72 horas en atravesar el tercio externo de las trompas. Posteriormente el transporte es más rápido, ya que en alrededor de 8 horas el ovocito recorre el resto de las trompas. Por tanto, aproximadamente 80 horas después de la ovulación el ovocito se asoma al útero.

32.4.- Transporte de los espermatozoides.

Primeramente los espermatozoides sufren un transporte pasivo en el líquido testicular. Los espermatozoides son transportados pasivamente desde los túbulos seminíferos al epidídimo, donde los espermatozoides permanecerán entre 4 y 12 días para poder sufrir una maduración bioquímica, que consiste en el cambio de una serie de

TEMA 32: La Fecundación

glicoproteínas de su membrana, que dota al gameto masculino de capacidad fertilizante (penetrante).

Posteriormente, con la eyaculación los espermatozoides atraviesan rápidamente el resto del aparato genital masculino y se mezclan con secreciones de la vesícula seminal y de la próstata. De la vesícula seminal se libera al líquido seminal fructosa, y de la próstata ácido cítrico, zinc, magnesio y fosfatasas ácidas.

El pH del líquido seminal es básico; oscila entre 7 y 8,3. En cada eyaculado se vierten entre 2 y 6 mL de semen. La riqueza en espermatozoides es al final de unos 300 millones por eyaculado, por con unos 40 millones de riqueza espermática ya se considera al varón fértil.

Los espermatozoides se depositan en la parte alta de la vagina, donde el pH es ácido. Este hecho es negativo para los espermatozoides ya que trabajan a pH básico, pero positivo y necesario para las mujeres para evitar infecciones. Para solucionar este problema, el líquido seminal actúa de tampón durante un tiempo, momento que tiene que ser aprovechado por los espermatozoides para atravesar el canal cervical.

Otro problema para la llegada de los espermatozoides hasta el ovocito es la presencia de mucina, que se encuentra muy densa por lo que a los espermatozoides les cuesta mucho atravesarla. La solución a este problema se da durante la ovulación, etapa en la que la mucina va captando agua con lo que se hace más fluida para que así los espermatozoides puedan atravesarla más fácilmente.

Lo cierto es que algunos espermatozoides cruzan todas las estructuras más rápidamente y otros tardan días. Además, solo miles de ellos llegan a las trompas.

Una vez los espermatozoides atraviesan el útero, llegan a las trompas, sitio en el que hay un medio fluido. Se sabe que los espermatozoides son atraídos por o hacia el ovocito por sustancias segregadas por las células foliculares (atracción química). Varios centenares de espermatozoides se encaminan hacia el final de las trompas pero solo unos 200 llegan al tercio externo de la trompa.

Para que se produzca la fusión de los gametos, el espermatozoide tiene que sufrir la reacción de capacitación. Este proceso tarda entre 5 y 6 horas y ocurre en el aparato genital femenino. Estos cambios suponen un aumento del metabolismo del espermatozoide y de su movilidad, así como una alteración de su potencial de membrana. Se sabe que este proceso se inicia con la entrada de iones bicarbonato (HCO_3^-) que se encuentran en la vagina. Cuando este ion se encuentra dentro del gameto masculino activa una Adenil ciclasa.

Uno de los mecanismos de lucha contra la infertilidad está encaminado a realizar la capacitación de los espermatozoides en el laboratorio, de forma artificial, e introducirlos en la vagina de la mujer, para que así solo tengan que penetrar las capas protectoras del óvulo.

32.5.- Fusión de los gametos.

Para que se produzca la fusión de los gametos, los espermatozoides tienen que atravesar las cubiertas oocitarias.

El espermatozoide atraviesa la corona radiada únicamente mediante el movimiento flagelar, llegando a la zona pelúcida, que es una estructura constituida por 3 proteínas fundamentalmente, que son, ZP1, ZP2 y ZP3. Estas proteínas se unen de la siguiente manera: ZP2 y ZP3 permanecen unidas mediante puentes de proteína ZP1.

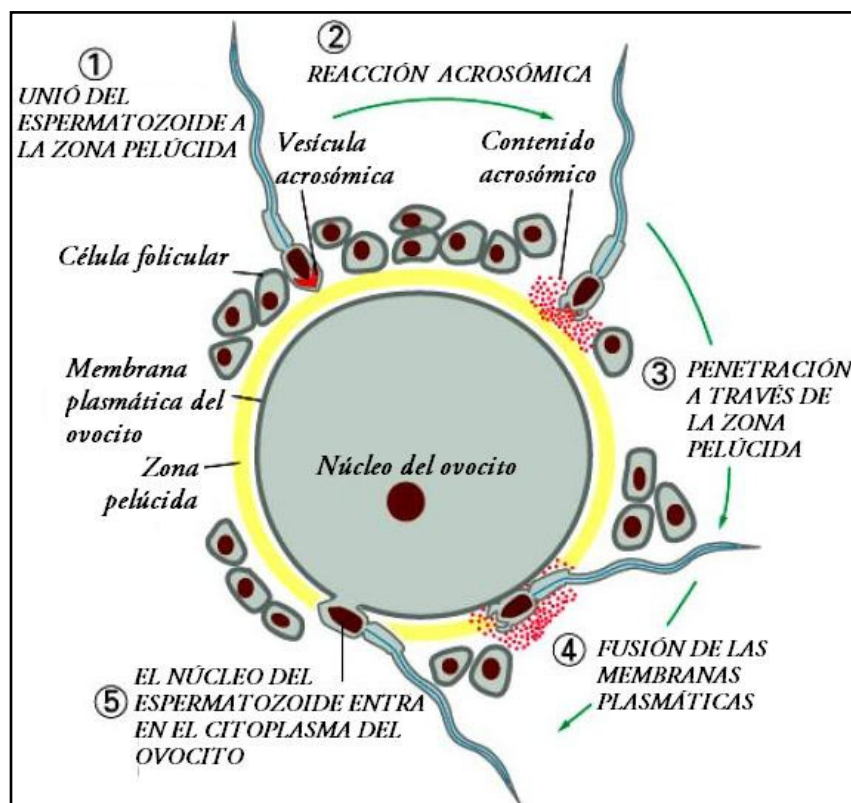
Al llegar el espermatozoide a la zona pelúcida se une a ZP3, produciéndose pues, la reacción acrosómica. En esta reacción, el contenido del acrosoma se vierte al

TEMA 32: La Fecundación

exterior, es decir, se liberan una serie de enzimas (proteasas, hialuronidasa, etc.), ya demás, quedan expuestas hacia el exterior otras proteínas, desde la membrana del espermatozoide, que se unirán a ZP2. Esta unión hace que el espermatozoide permanezca fuertemente unido a la zona pelúcida mientras la atraviesa.

Tras la rotura del acrosoma se expone una proteína esencial para la unión del espermatozoide y del óvulo, así como para la fusión de sus membranas. Esta proteína se conoce en el ratón (con el nombre de fertilina) y en el hámster (con el nombre de PH30). En el hombre no se conoce muy bien esta proteína.

Una vez el espermatozoide cruce la zona pelúcida contactará con la membrana plasmática y se fusionará con ella. Una vez se produzca este fenómeno, tendrán que tener lugar una serie de procesos que eviten el fenómeno de la polispermia. Si se produjeran estos fenómenos, seguramente el cigoto no seguiría adelante, o de ser así, presentaría grandes anomalías cromosómicas.



Mecanismos para evitar la polispermia:

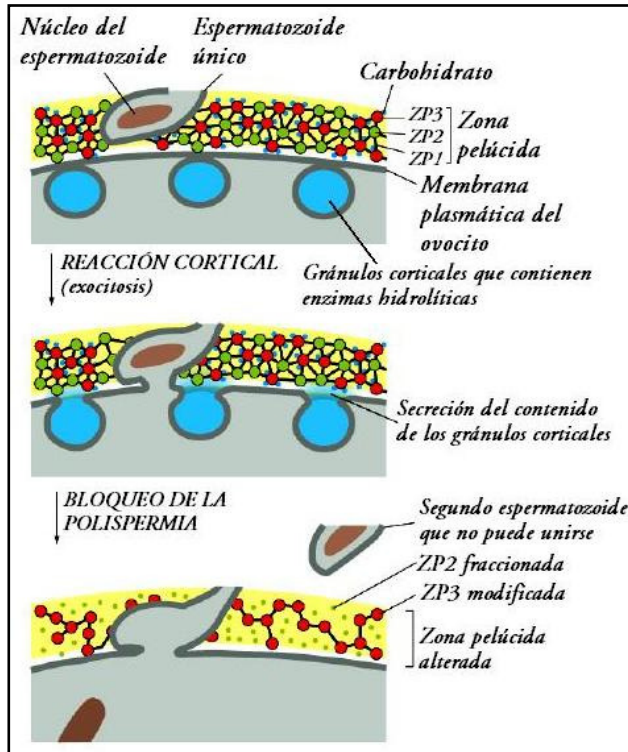
Para evitar el fenómeno de la polispermia existen 2 mecanismos principalmente. En primer lugar, al contactar el primer espermatozoide se produce un bloqueo, llamado bloqueo primario, que consiste en que se produce una despolarización de la membrana del óvulo, causada por la unión del espermatozoide. El potencial propio de la membrana se recupera pronto, pero entonces actúa un segundo mecanismo.

En segundo lugar, se produce un bloqueo secundario, también llamado **reacción cortical**, que consiste en que en el momento en que el espermatozoide entra en el óvulo, se produce un aumento de la concentración local de ion Ca^{++} , que se extiende como una ola, y recorre todo el ovocito. Parece ser que la concentración de calcio sufre una serie de oscilaciones que vienen provocadas por una proteína que ha sido introducida en el óvulo por el espermatozoide.

TEMA 32: La Fecundación

Este ion calcio hace que se dirijan los gránulos corticales hacia la membrana plasmática, es decir, desencadena fenómenos de exocitosis regulada. Se producirá por tanto, la liberación de una serie de enzimas que cambian la zona pelúcida haciéndola impermeable a más espermatozoides, en definitiva la endurece. Estos cambios son:

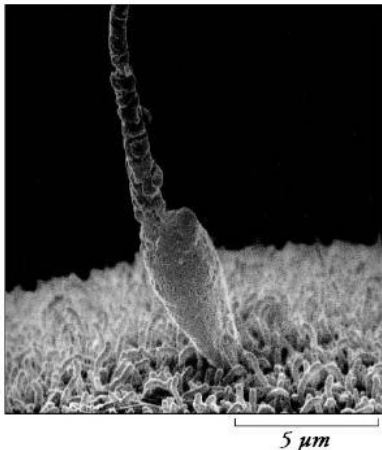
- Rotura de las proteínas ZP2.
- Hidrólisis de los grupos azúcares de las proteínas ZP3.



La consecuencia de todo este fenómeno es la alteración de la zona pelúcida, que será impermeable a los siguientes espermatozoides que la alcancen.

=====

Cuando el espermatozoide ha penetrado a través de la corona radiada y de la zona pelúcida, interactúa con la membrana plasmática del ovocito, recubriendo los extremos de las microvellosidades. La entrada del espermatozoide a través del espacio periovariano (espacio entre la zona pelúcida y la membrana del ovocito) se realiza de forma lateral. Rápidamente las microvellosidades vecinas se alargan y rodean al espermatozoide, asegurando que permanezca fuertemente unido, de forma que pueda fusionarse con el ovocito. Tras la fusión, el espermatozoide entero es atrapado por la cabeza y las microvellosidades del oocito se reabsorben.



◀ Micrografía electrónica de barrido de un espermatozoide humano en contacto con un ovocito de hámster. Se ha eliminado la zona pelúcida del ovocito, quedando al descubierto la membrana plasmática, que presenta numerosas microvellosidades. La capacidad de un espermatozoide para penetrar en un ovocito de hámster se utiliza como prueba de fertilidad; una penetración del 10 al 25% de los ovocitos se considera un valor normal.

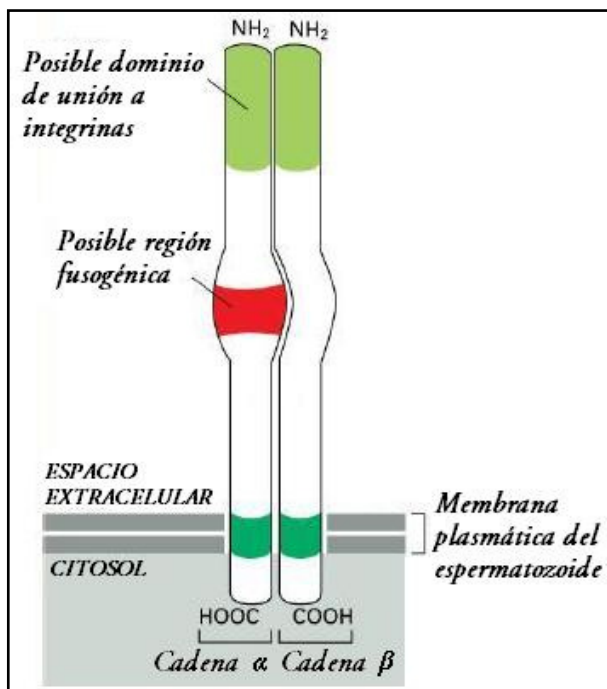
TEMA 32: La Fecundación

Como decíamos, en los espermatozoides de ratón, una proteína transmembrana llamada *fertilina*, queda al descubierto en la superficie del espermatozoide durante la reacción acrosómica, e interviene en la unión del espermatozoide con la membrana plasmática del ovocito así como en la fusión de ambas membranas plasmáticas.

La fertilina está formada por dos subunidades transmembrana glucosiladas llamadas α y β , que se mantienen unidas entre sí por enlaces no covalentes. El dominio extracelular N-terminal de las subunidades de la fertilina se une a las integrinas de la membrana plasmática del ovocito, facilitando la adhesión de las membranas de las dos células y preparando su fusión. El dominio extracelular de la subunidad α de la fertilina contiene una región altamente hidrofóbica parecida a la región fusogénica de las proteínas de fusión vírica que median la fusión de la envoltura vírica con las células que van a ser infectadas. Por este motivo se dice que el dominio extracelular de la subunidad α de la fertilina favorece la unión de los dos gametos. Este hecho todavía no se ha demostrado del todo. Se piensa también, que la subunidad β colabora en el proceso (ya que si por ejemplo fallan algunos aminoácidos de esta subunidad se producen errores en la fusión de los gametos).

Por tanto, para que se lleve a cabo la fusión del espermatozoide con el óvulo, encontramos varios mecanismos de ayuda:

- Proteínas como la fertilina, que se une a las integrinas del ovocito.
- Ayuda mecánica de las microvellosidades del ovocito.

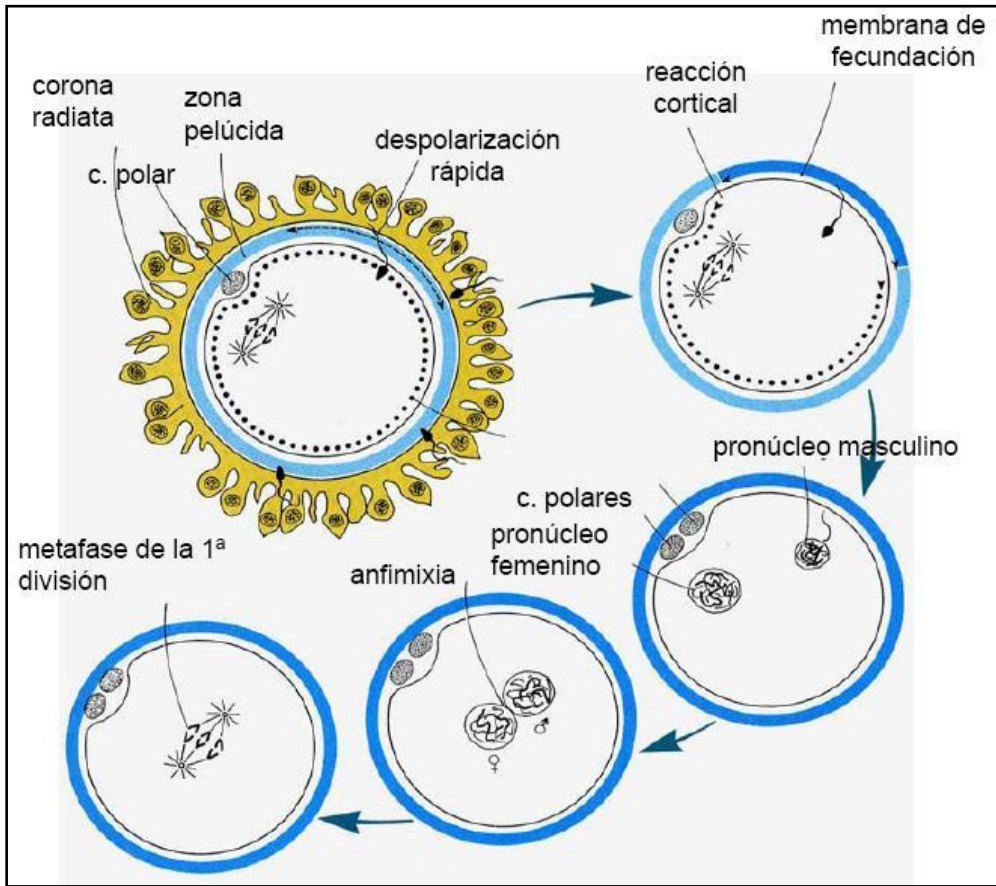


◀ Proteína fertilina de la membrana plasmática del espermatozoide. Las subunidades α y β , ambas glucosiladas (aquí no se representan), están asociadas de manera no covalente.

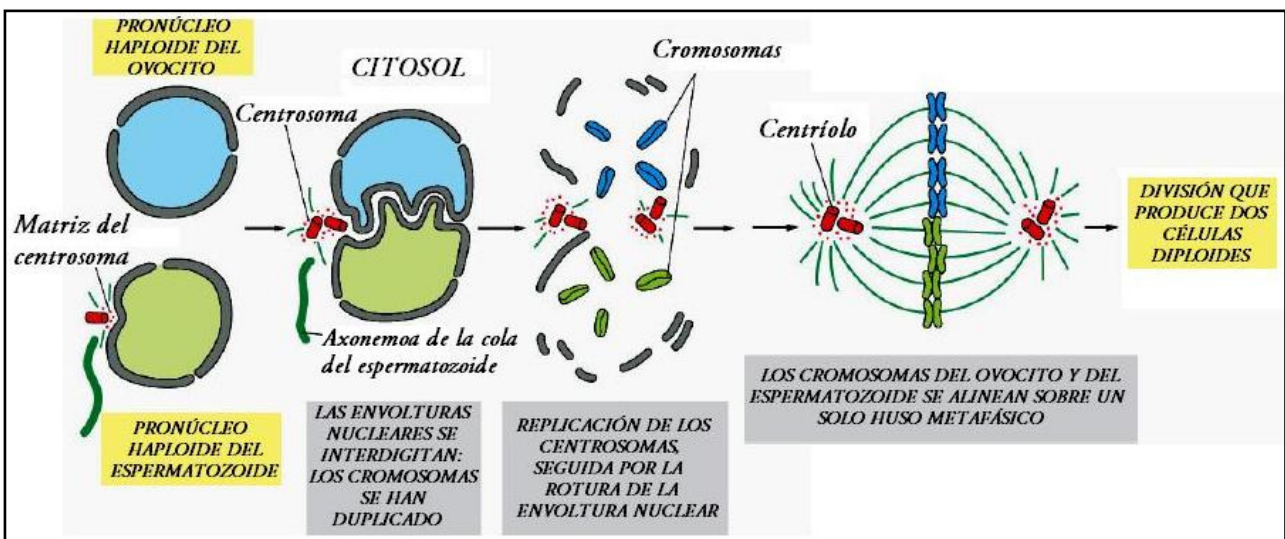
32.6.- Anfimixia.

El fenómeno de la anfimixia supone la reunión de los dos lotes de cromosomas para formar uno solo. Cuando entra el espermatozoide, el óvulo, que estaba detenido en metafase II acaba la meiosis II y expulsa el segundo corpúsculo polar. Entonces, los dos pronúcleos comienzan a moverse hacia el centro celular y mientras se aproximan se va produciendo la fase S.

TEMA 32: La Fecundación



Al llegar al centro de la célula los dos pronúcleos se interdigitan, pero sin romper las membranas nucleares. En este momento, los centríolos del espermatozoide se duplican y se colocan en los polos celulares. Se inicia pues, la primera división mitótica de este cigoto, en la que tiene mucha importancia la profase ya que al final de esta fase las membranas nucleares desaparecerán, quedando los cromosomas metafísicos unidos en un solo huso. La mitosis irá progresando hasta llegar a la citocinesis, etapa en la que el cigoto se dividirá en dos células hijas, que serán los primeros blastómeros.



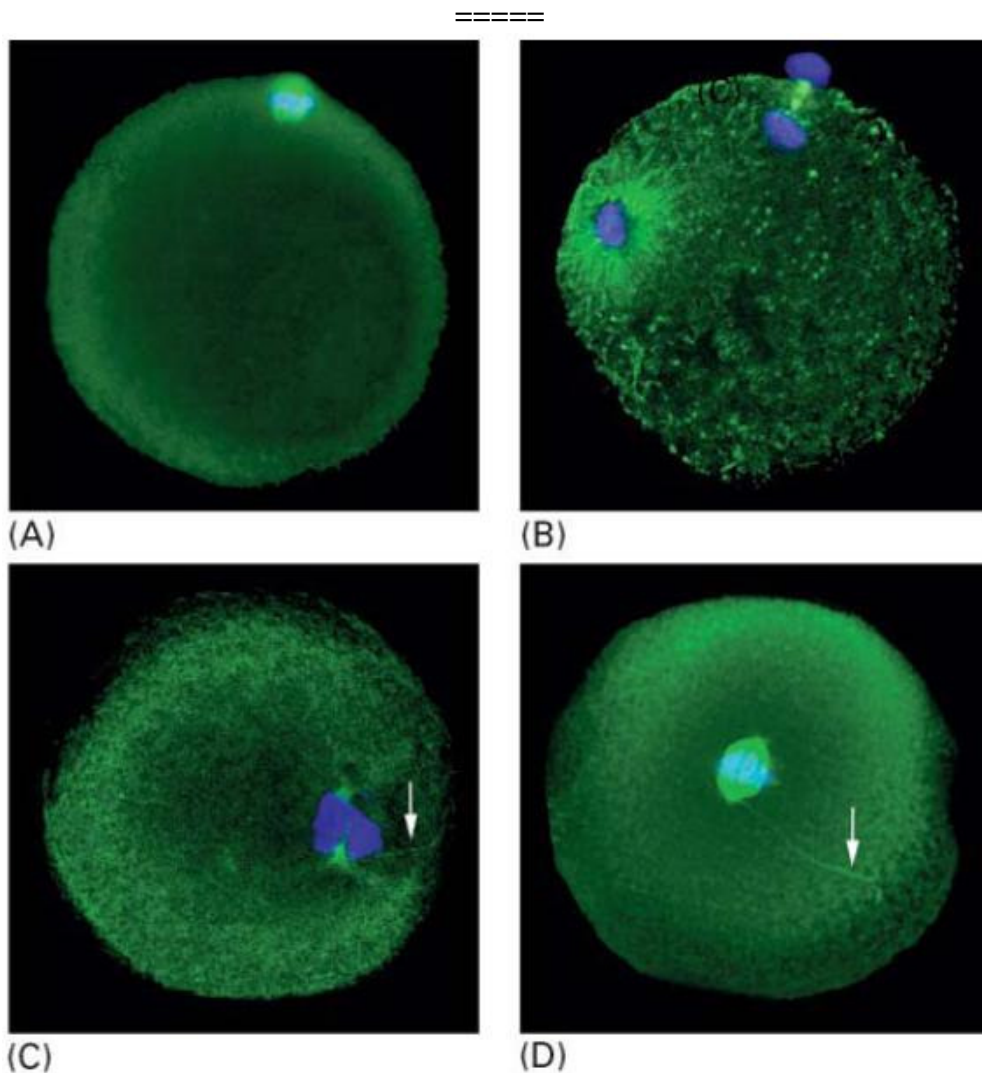
TEMA 32: La Fecundación

Como vemos, va a ser el centrómero del espermatozoide el que forme los microtúbulos y organice el huso. Por otra parte, como dijimos en otro punto, las mitocondrias de origen materno son las que pasan a las células hijas.

Cuando entre el espermatozoide en el óvulo, veremos como se introduce tanto la cabeza como la cola, aunque esta última degenera pero es visible durante bastante tiempo.

Por último, solo resaltar la importancia de la zona pelúcida, algo que ya hemos ido haciendo a lo largo de todos los procesos en los que intervenía:

- Resguarda al ovocito secundario de daños mecánicos.
- Interviene en los fenómenos de implantación.
- Compacta los blastómeros.



▲ **Micrografía de inmunofluorescencia de la fusión de un espermatozoide humano y el pronúcleo de un óvulo en un proceso de fecundación in vitro.** Los microtúbulos del huso se han teñido de color *verde* con anticuerpos antitubulina y el DNA está marcado en *azul* mediante un colorante específico. (A) Huso meiótico en un oocito maduro no fecundado. (B) Este óvulo fecundado expulsa su segundo corpúsculo polar aproximadamente a las 5 horas de la fusión con el espermatozoide. La cabeza del espermatozoide (*izquierda*) ha nucleado un conjunto de microtúbulos. (C) Los dos pronúcleos se encuentran. (D) A las 16 horas de la fusión, el centrosoma que ha entrado con el espermatozoide se ha duplicado y los centrosomas han organizado un huso mitótico bipolar. Los cromosomas de ambos pronúcleos se alinean en la placa metafásica del huso. Como indican las flechas en (C) y (D), la cola del espermatozoide se asocia con uno de los centrosomas.