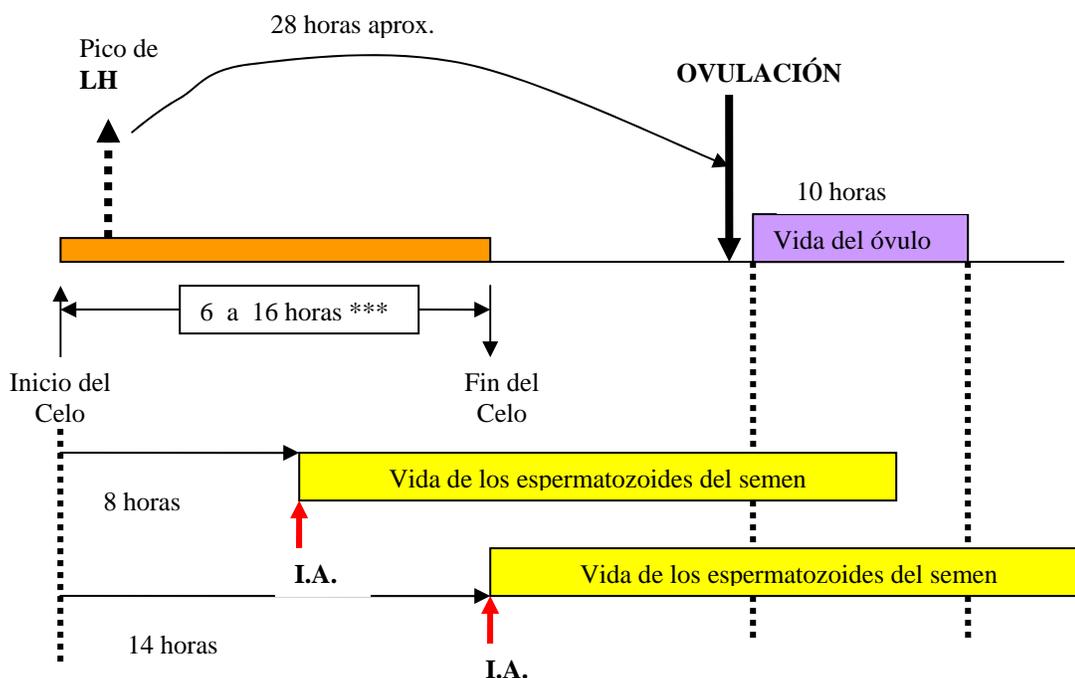


¿CÓMO ES QUE ENVEJECEN LOS ÓVULOS?

Adaptación y traducción:
MVZ. Fernando Cavazos G.
Veterinario de Servicio Técnico
ABS MÉXICO S.A. DE C.V.

Tratándose de Inseminación Artificial, siempre que se habla del tema relativo al tiempo óptimo para depositar el semen en la vaca en celo, se hace mención que es importante que los espermatozoides se encuentren en el tracto reproductivo de la vaca por lo menos unas 6 u 8 horas antes de la hora estimada en que ovulará dicha vaca y se hace énfasis en que, aunque el lapso de vida de los espermatozoides dentro del tracto reproductivo de la vaca es de aproximadamente 22 a 24 horas, la vida del óvulo (oocito), por el contrario, solo es de unas 10 horas aproximadamente y que lo ideal es que el óvulo (oocito) sea fecundado en las primeras horas siguientes al momento en que ha sido liberado del folículo por medio del proceso de la ovulación. (Debido a que, conforme va envejeciendo, va perdiendo la capacidad de generar embriones con suficiente habilidad para sobrevivir, aún cuando la fecundación sigue siendo posible en embriones ya “avejentados”).

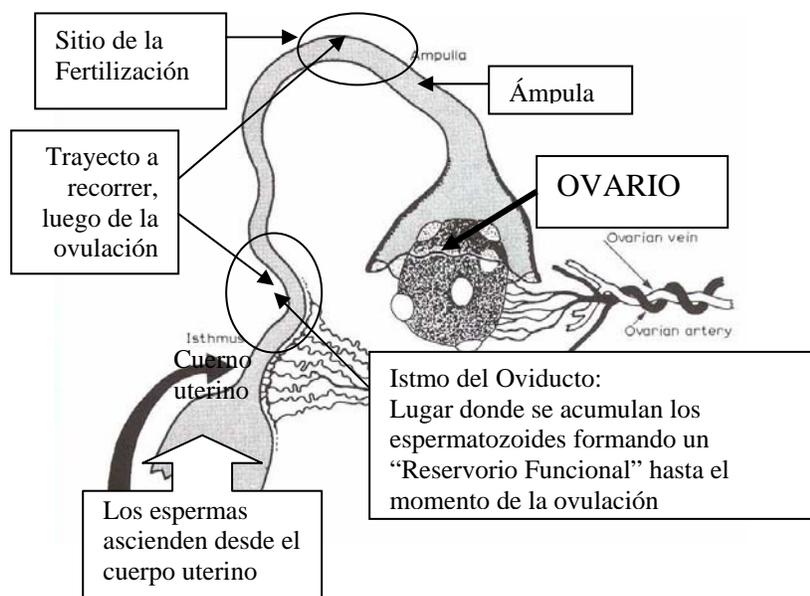
El esquema siguiente tiene la intención de refrescar en nuestra mente los detalles de tiempo relacionados con este tema:



*** Muy variable, sobre todo en vacas lecheras de alta producción.

En el esquema podemos apreciar que si realizamos la inseminación dentro del lapso de 8 a 14 horas después del inicio del celo, logramos con facilidad los dos objetivos que buscamos:

1. Que los espermatozoides estén ya en el tracto reproductivo de la vaca por lo menos 8 horas antes de la liberación del óvulo (tiempo requerido no solo para el **transporte** de los mismos hasta el istmo del oviducto - y posteriormente hasta el ampulla del mismo - sino también para su **capacitación** dentro del tracto reproductivo.)
2. Que exista ya un “reservorio” de espermias viables en el istmo del oviducto en el momento de la ovulación para que de ahí sean liberados los espermatozoides y sigan su curso ascendente por el oviducto para llegar al sitio de fecundación y lograr que el oocito (óvulo) sea fecundado en **las primeras horas de su vida libre**, fuera ya del folículo.



Quizá valga la pena enfatizar que hoy en día se tienen **dos opciones** importantes para inseminar:

1. En base a la **detección del celo**: En este caso, como ya se indicó más arriba, la inseminación se basará en la hora estimada de inicio del celo. Por ello es tan importante la **precisión en la detección de los celos**, la cuál nos permitirá inseminar vacas que, por un lado, realmente están en celo y por otro, que en ellas se ha podido hacer una estimación más o menos exacta de la hora en que pudieron haber iniciado su celo. (Esto último depende de la frecuencia con que se hacen las observaciones del ganado para la detección de los celos, o de los métodos auxiliares de detección con que se cuente, como es el caso de los podómetros)
2. En base a la **sincronización de la ovulación**: En protocolos de sincronización como el "Ovsynch", la última inyección en el protocolo (o sea la 2ª. inyección de GnRH) va a desencadenar el llamado "Pico de LH" (Elevación súbita de la Hormona Luteinizante) y por lo tanto la vaca estará ovulando unas 28 o 30 horas después de dicha inyección, por lo que el tiempo ideal para inseminar en ese caso es 14 a 16 horas después de la inyección, lo cuál no siempre se hace en lecherías muy grandes porque no se acomoda bien al manejo del ganado y se insemina a otra hora más cómoda (sacrificando un poco las concepciones). En el caso de la sincronización de la ovulación, la detección del celo no es necesaria ya que vamos a inducir una ovulación a una hora determinada; pero sí es muy importante seguir fielmente el tratamiento (y en la fase correcta del ciclo) para que de resultado y la ovulación realmente se efectúe.

Pues bien, todo lo anterior está relacionado con la vida efímera del óvulo u oocito, que es de alrededor de 10 horas, en las cuáles va envejeciendo de tal forma que, conforme transcurre el tiempo, van deteriorándose algunas de sus características y eso da como resultado que, aunque el oocito aún conserve la capacidad de ser fertilizado y de iniciar la división celular para ir formando una mórula, los embriones así generados a partir de oocitos envejecidos, no tienen la habilidad de sobrevivir o bien de emitir señales bioquímicas adecuadas y de suficiente intensidad para que el útero de su madre los reconozca. Por ende, mueren en los primeros días de vida o bien no son reconocidos por el útero de la madre alrededor del día 17 después del celo y esa hembra experimenta regresión del Cuerpo Lúteo, desarrolla rápidamente un nuevo folículo dominante y presenta nuevamente celo (repite) como si no hubiese habido ninguna fecundación en la ovulación previa. En otras ocasiones, el oocito está suficientemente envejecido como para no ser capaz de controlar cuántos espermatozoides entran a su citoplasma, dándose el fenómeno llamado "Polispermia" durante la fertilización, que consiste en que más de un espermatozoide penetra al oocito ocasionando que haya material genético de más, lo cuál es incompatible con la vida del nuevo ser.

Pero, **¿Cómo es que envejece el óvulo?** ¿Qué es lo que le va sucediendo realmente y le impide poder generar embriones viables? El **Dr. Ron H.F. Hunter** en su fascinante libro publicado en el año 2003 por **Cambridge University Press** sobre la Fisiología del Folículo de Graaf y la Ovulación y cuyo título es "**Physiology of the Graafian Follicle and Ovulation**"; ha incluido un párrafo muy interesante sobre el

envejecimiento del oocito después de la ovulación, dentro del Capítulo IX, que trata del destino post-ovulatorio tanto del folículo como del oocito.

Como considero que dicho párrafo aporta información valiosa al tema que estamos tratando y resume de manera muy adecuada lo que sucede en el envejecimiento de los oocitos, me he permitido traducirlo literalmente para que el lector disponga de la información en forma directa:

“Envejecimiento Post-Ovulatorio de los Oocitos”

Dr. R.H.F. Hunter

A la luz de los párrafos que precedieron, es apropiado hacer algunos breves comentarios acerca del envejecimiento de los oocitos de los mamíferos. Asumiendo la posibilidad del hecho de que la introducción de una suspensión de espermatozoides a la hembra en el coito, no se lleve a cabo dentro del tiempo adecuado antes de la ovulación para una secuencia normal de eventos en la fertilización; surge entonces la importante pregunta acerca del “tiempo de vida” de los oocitos de los mamíferos. Por “tiempo de vida” se entiende en este caso, el período de tiempo dentro de la Trompa de Falopio durante el cuál el oocito permanece con la capacidad, **no** solamente de poder ser penetrado y activado por un espermatozoide fertilizante sino también de convertirse en un embrión viable. Es ampliamente aceptado que el oocito ya ovulado permanece fertilizable por mucho más tiempo del que él conserva la capacidad de dar origen a un embrión normal. En algunas especies, oocitos envejecidos e incluso con visibles degeneraciones todavía pueden ser penetrables por los espermatozoides. Desafortunadamente, una distinción clara entre lo que es un período de vida “funcional” y un período de vida “penetrable” en un oocito ya ovulado, no ha existido en los trabajos publicados.

Cada vez se acumulan más evidencias de que el período de vida “funcional” o viabilidad del oocito en el tracto reproductivo de la hembra, no es una figura constante para una determinada especie, sino que varía de acuerdo al grado de madurez del oocito en el momento en que es ovulado y de acuerdo a la composición de los fluidos dentro de la Trompa de Falopio. Estos últimos son influenciados especialmente por las hormonas esteroides de las gónadas. De hecho, la calidad de los oocitos liberados en una serie de ciclos ováricos espontáneos en la misma hembra, puede ser demostrablemente diferente. Aún así, una estimación de un período de vida funcional de un poco más de 6 a 8 horas sería una estimación prudente para la mayoría de los mamíferos hasta ahora examinados. Se han publicado estimaciones de 10 a 12 horas, e incluso de 12 a 18 horas para el “período de vida” de un oocito ovulado, en algunas especies como la vaca y la oveja, pero no se ha ofrecido en dichos casos, una rigurosa distinción entre lo que es el período de vida “funcional” y el simple período de vida “penetrable”. Aparte del grado de madurez del oocito en el momento de la ovulación, los otros factores que tendrían influencia sobre la vida funcional del oocito serían de tipo ambiental (estación del año, temperaturas ambientales, consideraciones nutricionales, diversos factores de estrés), la raza o linaje del animal dentro de una especie, y modificaciones al ambiente hormonal que da culminación a la ovulación, como es la sincronización del ciclo estral (o la regulación del ciclo menstrual en la mujer).

Por lo que se refiere a la degeneración post-ovulatoria de un oocito, se tiene que dar consideración a la superficie del oocito, a los organelos citoplasmáticos y finalmente a las estructuras del núcleo. La superficie de la Zona Pelúcida del oocito contiene receptores o sitios de unión para los espermatozoides, considerados como parte del sistema de glicoproteínas llamado ZP3 / ZP2, tal como fueron clasificadas en el modelo en ratones de Wassarman (1988, 1991) y por Wassarman, Liu & Litscher (1997). Estos receptores se van perdiendo gradualmente con el tiempo, aunque depende de la especie si esa pérdida es principalmente por un deslavado o bien por un recubrimiento con otras moléculas. Como se sugirió anteriormente, ciertas secreciones se van adhiriendo a la superficie de la Zona Pelúcida durante el pasaje del oocito por la Trompa de Falopio al ir siendo desnudado éste de las células que lo rodean (Cumulus ooforus) y de las células de la Corona Radiada. Esas secreciones del Ámpula del oviducto irán enmascarando gradualmente los receptores del oocito y eso conduce eventualmente a la pérdida total de la capacidad para ser fertilizado.

Por lo que atañe a los organelos del citoplasma, el enfoque principal usualmente es hacia los llamados “gránulos corticales” que son en realidad vesículas muy pequeñas, de una micra de diámetro y que contienen material enzimático en forma de gránulos. Poco antes de la ovulación, estos gránulos emigran hasta colocarse justo por debajo de la membrana citoplasmática, habiéndose formado en el aparato de Golgi que está más profundamente colocado en el citoplasma. El tener una gran proximidad con la membrana citoplasmática es esencial ya que éstos gránulos deberán fusionarse con dicha membrana justo encima de ellos para así liberar su contenido enzimático hacia el espacio perivitelino ocupado por fluidos. Esa fusión es provocada por la activación causada por el espermatozoide fecundante y la resultante oscilación de iones de Calcio ++ en el

citoplasma. Esa liberación de enzimas al espacio perivitelino conduce a un cambio en la naturaleza de la Zona Pelúcida y/o al establecimiento de un bloqueo a la “polispermia”. Un punto esencial en el envejecimiento del oocito es que los gránulos corticales comienzan a hincharse y a perder su colocación periférica - y por lo tanto pierden su habilidad para fusionarse con la membrana citoplasmática. Ellos se encontrarán de manera desorganizada en la corteza del oocito y de esa forma comprometen o impiden la formación de un bloqueo efectivo contra la polispermia. Aunque aparentemente al azar, ese movimiento centrípeto (hacia el interior) de los gránulos, es seguramente una expresión de modificaciones que está sufriendo el esqueleto celular. Esto deja al oocito abierto al riesgo de penetración por múltiples espermatozoides.

Cambiando ahora hacia el núcleo, un rasgo característico del envejecimiento post-ovulatorio es la progresiva desorganización de los microtúbulos que constituyen el husillo de la meiosis. Pares de esos microtúbulos se separan lateralmente en forma gradual del husillo, ya que pierden su adhesión polar a unos organelos llamados cinetacores (ver figura). La integridad estructural y genética de la placa de la metafase se rompe de esa manera, ya que la pérdida de elementos del husillo involucra la pérdida de los cromosomas asociados, del aparato divisorio celular. Aún cuando la activación por medio de un espermatozoide fertilizante fuese todavía posible y se reiniciara la segunda división meiótica, el complemento global cromosómico estaría incompleto y cualquier cigoto resultante sería aneuploide (le faltarían cromosomas). La muerte embrionaria temprana es la secuela más común a ese problema. Podrían ser descritos otros rasgos estructurales de degeneración tanto en el núcleo como en el citoplasma. En su conjunto, estos impedirían una fertilización normal y el establecimiento de un embrión viable.

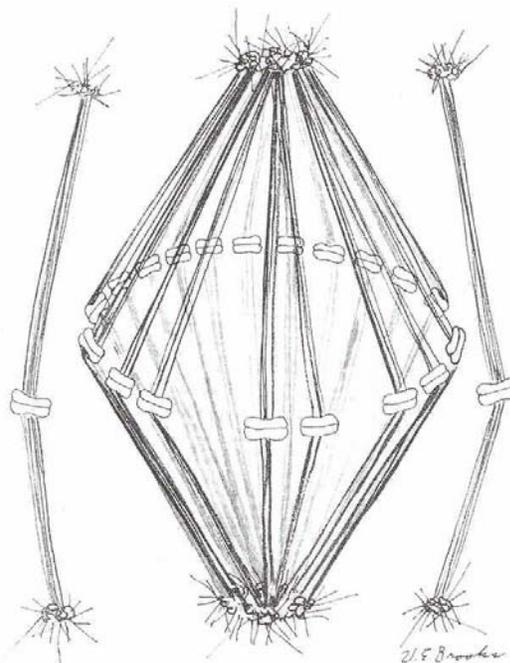


Figura 1 Representación diagramática para mostrar los estadios tempranos de degeneración del husillo de la segunda meiosis, con la pérdida lateral de microtúbulos y sus cromosomas asociados de todo el aparato del husillo.

Todavía está por resolverse, hasta qué punto el envejecimiento post-ovulatorio del oocito representa un proceso degenerativo distinto al proceso de “muerte celular programada” o apoptosis. Los mecanismos de la apoptosis muy seguramente entran en juego cuando el proceso de envejecimiento está avanzado. Sin embargo, los cambios superficiales en la Zona Pelúcida parecen no ser desencadenados de esa manera, ni debería esperarse que así sucediera, ya que la Zona Pelúcida es una estructura accesoria que envuelve al oocito en sí. Podría haber reservas también acerca de si la aparente dispersión al azar de los gránulos corticales hacia regiones interiores del citoplasma al envejecer el oocito luego de la ovulación, es principalmente desencadenada por una cascada de apoptosis y este mismo comentario podría ser aplicado también a otras modificaciones estructurales.



A pesar de que en los párrafos anteriores se ha dado un aparente énfasis a las influencias perjudiciales del envejecimiento post-ovulatorio del oocito, es sin embargo apropiado recordar que debe haber una corta pero muy importante fase de maduración post-ovulatoria del oocito durante el tránsito del mismo hacia el sitio de fertilización en el área donde el ámpula se continúa con el istmo de la Trompa de Falopio.