



Fotografía cortesía: Ganadería Puerta Parra AP

# Determinantes *paternos* del desarrollo embrionario temprano

Kelsey N. Lockhart <sup>1</sup>, Lindsey C. Fallon <sup>1</sup>, M. Sofia Ortega <sup>2</sup>.

<sup>1</sup>. División de Ciencias Animales, Universidad de Missouri

<sup>2</sup>. Departamento de Ciencias Animales y Lácteas, Universidad de Wisconsin-Madison

Departamento de Ciencias Animales y Lácteas, R-758

sofia.ortega@wisc.edu

Ponencia presentada en el 15° Simposio Internacional de Reproducción Bovina

Organizado por el Instituto de Reproducción Animal Córdoba. –IRAC–

Córdoba, Argentina. Agosto 2024.

La pérdida de gestaciones es una de las principales causas de detrimento económico en la industria del ganado lechero (Maurer y Chenault 1983; Diskin y Morris 2008; Cerri et al. 2009; Wiltbank et al. 2016). La pérdida del embarazo se puede clasificar en dos tipos principales: la *pérdida temprana* del embarazo, que ocurre dentro de los primeros 27 días, y la *pérdida tardía* del embarazo, que ocurre a partir del día 28 de la gestación (Wiltbank et al. 2016). A medida que avanza el período de gestación, disminuye la probabilidad de mortalidad embrionaria o fetal.

La *pérdida temprana* del embarazo se puede dividir en dos subcategorías: pérdida dentro de los días 1 a 7 y pérdida dentro de los días 8 a 27 de desarrollo.

Aproximadamente el 50 % de la mortalidad embrionaria se produce en el día 7 de desarrollo y aproximadamente el 36 % entre los días 8 y 27 de desarrollo (Wiltbank et al. 2016).

Completar la primera semana de desarrollo embrionario es un hito crucial para la supervivencia del embrión. Durante este período, el embrión sufre cambios rápidos en el desarrollo que determinan su destino durante todo el embarazo. Eventos esenciales como la escisión, la eliminación de las mitocondrias paternas, la activación del genoma embrionario, la polarización

y compactación celular, así como las especificaciones del linaje celular, son todos pasos críticos para la supervivencia del embrión (van Soom et al. 1997; Memili y First 1999; Graf et al. 2014). Si un embrión no logra cumplir alguno de estos pasos, su desarrollo se detendrá.

La mayor parte de las investigaciones se han centrado en dilucidar los efectos que tiene el entorno materno (García- Ispuerto et al. 2006; Gernand et al. 2019), fenotipo de fertilidad femenina (Inskeep 2004; López- Gatiús et al. 2004) y la genética (Pryce et al. 2004; Bamber et al. 2009; Cummins et al. 2012) influyen en la pérdida del embarazo. Aunque el entorno materno desempeña un papel importante en el apoyo al embarazo, también se pueden detectar *efectos paternos en el desarrollo embrionario*. De hecho, se han detectado efectos del padre que afectan las tasas de fertilización, la producción de blastocistos y las tasas de preñez (Ledoux et al. 2015; Ortega et al. 2018; Gross et al. 2019; Wu et al. 2020). Estos estudios han demostrado que el padre afecta la pérdida temprana del embarazo.

Sin embargo, los mecanismos específicos por los cuales los toros influyen en el establecimiento y mantenimiento de la preñez aún no están claros. Como los rebaños, especialmente en la industria láctea, tienden a utilizar un número limitado de toros, conocer

mejor los efectos paternos en el desarrollo embrionario podría mejorar significativamente las tasas de preñez y los resultados generales de fertilidad.

## Determinación de la fertilidad del toro

Actualmente, las evaluaciones de semen evalúan la concentración, la motilidad y la morfología de los espermatozoides de una muestra. Aunque ningún ensayo por sí solo se correlaciona con la fertilidad del toro, una combinación de múltiples evaluaciones proporciona una correlación con la capacidad de un toro para fertilizar exitosamente un ovocito y conducir a un embarazo viable (Attia et al. 2016; Harstine et al. 2018). En los últimos años, el uso de técnicas como el análisis de espermatozoides asistido por computadora (CASA) y la citometría de flujo han proporcionado una cuantificación más precisa de la calidad del semen (Harstine et al. 2018).

En el *ganado lechero*, la fertilidad del toro se expresa como *tasa de concepción del toro* (SCR, que se define como la probabilidad de que una determinada unidad de semen de un toro específico resulte en una preñez viable en comparación con el promedio) (Norman et al. 2011). El SCR se determina mediante embarazos confirmados entre los días 70 y 75 de gestación, y el modelo tiene en



Fotografía cortesía: Ganadería La Ceibita

cuenta los efectos fijos del rebaño, año, estado, mes, estado de registro, paridad, número de servicio, producción de leche, edades de machos y hembras e intervalos de reproducción. (Kuhn *et al.* 2008). Por el momento, el SCR no puede establecerse hasta que se hayan realizado 300 servicios, en un plazo de cuatro años (Norman *et al.* 2011). Por lo tanto, aunque el SCR puede ser beneficioso, confiar únicamente en él para indicar fertilidad genera tres problemas principales: el primero es que el SCR deja espacio para variaciones de fuentes desconocidas, ya que no es en sí mismo una medida directa de la fertilidad del toro por sí sola. La segunda es que se asigna después de que un toro ya haya sido utilizado comercialmente en la industria, y la tercera es que se desconoce el período anterior al día 75 de gestación en el que el embrión o feto sufre la mortalidad.

Para comprender cómo y cuándo el padre puede afectar el desarrollo embrionario, es importante comprender qué procesos en este momento se ven afectados por el padre.

## Eventos durante la fertilización y el desarrollo preimplantacional afectados por el toro.

### Fertilización y activación de ovocitos

Para fertilizar un ovocito, el espermatozoide primero debe atravesar la capa interna de células del cúmulo, denominada corona radiada, y unirse a la membrana externa del ovocito, la zona pelúcida. En el bovino, la zona pelúcida está formada por tres glicoproteínas: zona pelúcida A (ZPA), zona pelúcida B (ZPB) y zona pelúcida C (ZPC), que se denominan ZP1, ZP2 y ZP3, respectivamente, en el ser humano y en el ratón (Rankin y Dean 1996; Sutovsky 2018b). Las tres proteínas de la zona pelúcida son importantes para que los espermatozoides se unan a la zona pelúcida. Específicamente, ZPA mantiene la unión sostenida entre el espermatozoide y la zona, mientras que ZPB y ZPC crean un heterocomplejo para permitir la unión completa

del espermatozoide intacto en el acrosoma a la zona pelúcida (Yonezawa 2014).

Una vez unidos, los espermatozoides comienzan el proceso de exocitosis acrosómica (Gadella 2010). Después de la exocitosis acrosómica, las proteínas de unión al oolema de la cabeza del espermatozoide quedan expuestas, lo que facilita su unión al oolema del ovocito (Cuasnicú. *et al.* 2016). Los defectos en las proteínas de unión al oolema de los espermatozoides afectarán la capacidad de los espermatozoides para fertilizar el ovocito. En una asociación reciente de todo el genoma en toros Fleckvieh, se encontró que una mutación en la proteína transmembrana 95 (TMEM95) era responsable del rendimiento reproductivo deficiente (Pausch *et al.* 2014). TMEM95 se encuentra en la región acrosómica del espermatozoide y forma parte de un complejo multiproteico necesario para que los espermatozoides se unan al oolema, por lo tanto, los espermatozoides que carecen de TMEM95 dieron como resultado tasas de escisión más bajas y casi ningún desarrollo embrionario hasta la etapa de blastocisto (Fernández-Fuertes *et al.* 2017).

A medida que el ovocito engulle un espermatozoide, la vaina postacrosomal en la cara caudal de la cabeza del espermatozoide se disuelve, liberando el contenido de la teca perinuclear en el citoplasma del ovocito. La integración de la teca perinuclear en el ovocito permite que los factores activadores de ovocitos (SOAF) transmitidos por espermatozoides comiencen la activación del ovocito, o mecanismo de defensa antipolispermia, y la reanudación de la meiosis II. Los SOAF son moléculas de señalización que inducen picos de  $Ca^{2+}$  y conducen a la exocitosis de los gránulos corticales y al desarrollo pronuclear en el ovocito (Nomikos *et al.* 2013; Sutovsky 2018a).

Hay dos candidatos principales para SOAF. Una es la proteína de unión al dominio WW de la vaina postacrosomal (PAWP), que se encuentra exclusivamente en la teca perinuclear de los espermatozoides (Wu *et al.* 2007; Sutovsky 2018a). Esta

proteína se transcribe, traduce e incorpora a la teca perinuclear durante el alargamiento de las espermátidas. Los experimentos han demostrado que la inyección de PAWP recombinante en ovocitos detenidos en la metafase II provoca la reanudación del desarrollo pronuclear en varias especies, incluidos porcinos, bovinos y macacos (Wu *et al.* 2007). Además, la inyección de PAWP anti-recombinante en los ovocitos impidió la reanudación del desarrollo pronuclear, deteniendo así la fertilización (Wu *et al.* 2007). El segundo candidato a SOAF es una isoforma específica de fosfolipasa-C, denominada PLC $\zeta$  o PLCZ1 (Nomikos *et al.* 2013). La introducción de PLC $\zeta$  recombinante en un ovocito conduce a la escisión del fosfolípido unido a la membrana, fosfatidilinositol 4,5 bisfosfato (PIP 2), en diacilglicerol unido a la membrana (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato soluble (IP 3). Luego,

IP 3 se une a receptores en el retículo endoplásmico y provoca la liberación de Ca<sup>2+</sup>, lo que da como resultado las oscilaciones de Ca<sup>2+</sup> que son necesarias para la activación de los ovocitos (Nomikos *et al.* 2013). También se ha demostrado que los espermatozoides de hombres infértiles a menudo tienen niveles bajos de PLC $\zeta$ , o tienen mutaciones genéticas que resultan en proteínas PLC $\zeta$  disfuncional (Nomikos *et al.* 2013).

El aumento de Ca<sup>2+</sup> e intracelular en el ovocito regula la reanudación de la meiosis II controlando la eliminación del factor citostático (LCR) a través del complejo promotor de la anafase (APC). Antes de ser activado por los espermatozoides, el ovocito se detiene en la etapa de metafase II debido a los altos niveles de AMPc, lo que lleva a la inactivación del heterodímero del factor promotor de la maduración (MPF). El MPF consta

de quinasa 1 dependiente de ciclina (CDK1) y ciclina B, y en su estado inactivo mantiene la detención meiótica. Una vez que Ca<sup>2+</sup> desencadena la activación de APC, utiliza la subunidad de ciclina B del MPF y recluta el sistema ubiquitina-proteosoma (UPS) para degradar la ciclina B. Esta activación del MPF da como resultado la transición de la metafase II a la anafase II, lo que lleva al desarrollo maternal pronuclear (Pan y Li 2019).

### Remodelación de la cromatina paterna

En las células somáticas y el ovocito, los cromosomas están compuestos de cromatina, que es ADN envuelto alrededor de cuatro proteínas histonas centrales para formar un nucleosoma. Sin embargo, el ADN del esperma pasa por un proceso de varios pasos para eliminar las histonas y reemplazarlas con protaminas durante

**PROTEJA SU INVERSIÓN**  
BRINDAMOS REPUESTOS ORIGINALES Y SERVICIO TÉCNICO ESPECIALIZADO

Sede	Almacén	Servicio Técnico
1. Chia	310 302 7843	324 279 9381
2. Barranquilla	310 302 5839	310 392 2540
3. Bucaramanga	317 661 3071	310 391 0464
4. Espinal	310 774 4559	324 641 0184
5. Medellín	301 680 3110	324 641 2978
6. Palmira	310 303 0586	324 640 9411
7. Villavicencio	310 392 0014	302 243 3825



Para una atención ágil y confiable, comuníquese únicamente por nuestras líneas oficiales de Repuestos y Servicio Técnico en todo el país.

Comuníquese vía WhatsApp  
**321 498 6030**  
ingrese a [www.motomart.com.co](http://www.motomart.com.co)



la espermatogénesis (Wouters- Tyrou *et al.* 1998). El primer paso para reemplazar las histonas con protaminas es la relajación de la estructura del nucleosoma mediante la acetilación de H4 y la ubiquitinación de H2B y H3 en espermatozoide de ratón y espermatozoide de rata, respectivamente (Meistrich *et al.* 1992; Jason *y col.* 2002). En segundo lugar, las histonas son reemplazadas por proteínas de transición TP1-4, durante el alargamiento de las espermátidas y la condensación nuclear (Yelick *et al.* 1987). Por último, las proteínas de transición son reemplazadas por protaminas, aunque la cromatina espermática puede retener hasta un 15% de sus histonas originales (Gatewood *et al.* 1987).

El intercambio incompleto de histonas por protamina se ha relacionado con la infertilidad en ratones (Arévalo *et al.* 2022). En el ganado bovino, el bajo contenido de protamina se ha asociado con un mayor daño al ADN del espermatozoide (Fortes *et al.* 2014). Curiosamente, los embriones de cuatro células producidos a partir de toros con baja fertilidad tenían una mayor expresión de genes asociados con las proteínas del núcleo de las histonas y pueden tener un problema en la retención de histonas nucleares en comparación con los toros con alta fertilidad (Lockhart *et al.* 2023).

## Centríolos

Los centriolos son estructuras citoplasmáticas esenciales involucradas en la división celular y la creación de cilios y flagelos. Los centriolos del espermatozoide juegan un papel crucial en el ovocito fecundado, formando el áster y el centrosoma del espermatozoide, que unen los pronúcleos femenino y masculino y promueven la singamia, facilitando el correcto desarrollo embrionario. La formación de un áster de espermatozoide bien organizado también es un factor crítico relacionado con la fertilidad masculina. Los espermatozoides que dan lugar a formaciones de áster grandes y bien organizadas tienden a correlacionarse con una mayor fertilidad en comparación

con los espermatozoides que dan lugar a formaciones pequeñas y desorganizadas (Alves *et al.* 2020). En los espermatozoides, los centriolos están dispuestos en la región del cuello, mientras que los ovocitos maduros carecen de centriolos (Avidor-Reiss *et al.* 2020).

El centriolo es una subunidad del centrosoma. El centrosoma es un centro organizador de microtúbulos (MTOC) compuesto por dos centriolos y material pericentriolar y es el principal responsable de organizar la división celular durante la mitosis y la meiosis (Avidor-Reiss *et al.* 2020). Los espermatozoides bovinos maduros contienen dos centriolos, mientras que el ovocito maduro contiene solo material pericentriolar, estos contribuirán a la formación de centrosomas en un cigoto recién formado (Avidor-Reiss *et al.* 2020). Curiosamente, la función y posición anormal del centriolo dentro del espermatozoide se han asociado con un obstáculo en el desarrollo embrionario previo a la implantación (Fishman *et al.* 2018; Ressaissi *et al.* 2021). De hecho, la expresión de genes implicados en centriolos, centrosomas y formación de husos aumenta en embriones de toros con alta fertilidad, lo que sugiere una mayor competencia para la segregación cromosómica y la división mitótica (Lockhart *et al.* 2023).

## Degradación de las mitocondrias paternas

Todos los mamíferos heredan sus mitocondrias de su madre, lo que significa que las mitocondrias derivadas del padre se eliminan durante el desarrollo embrionario temprano. Esto es crucial para prevenir la heteroplasmia mitocondrial y generalmente se completa con la tercera división de escisión (Sutovsky *et al.* 1999, 2000). Este proceso está mediado por dos vías principales: UPS y autofagia (Sato & Sato, 2013; Song *et al.*, 2016; Sutovsky *et al.*, 2000). UPS trabaja para eliminar las proteínas que han sido marcadas para su degradación mediante el etiquetado con ubiquitina y la autofagia funciona con el mismo fin mediante

la absorción por el autofagosoma temporal.

La ubiquitinación de las mitocondrias de los espermatozoides comienza en el tracto reproductivo masculino, pero la ubiquitina queda enmascarada por enlaces disulfuro mientras atraviesa el epidídimo. Esto evita que se inicie la respuesta de degradación hasta después de la fertilización y la reducción del enlace disulfuro en el citoplasma del ovocito (Sutovsky *et al.* 1999). Inmediatamente después de la fertilización, los autofagosomas comienzan a fagocitar las mitocondrias de los espermatozoides y llevarlas a los lisosomas (Sato *y Sato* 2013). Estos dos procesos pueden trabajar juntos para lograr la degradación de las mitocondrias de los espermatozoides. Los embriones de toros de baja fertilidad también mostraron una mayor expresión de prohibitina (PHB), una proteína de la membrana mitocondrial presente en las mitocondrias de los espermatozoides, que es reconocida por el sistema de degradación de la proteína ubiquitina en el embrión (Thompson *et al.* 2003). La degradación mitocondrial de los espermatozoides es crucial para el desarrollo embrionario exitoso porque la retención de mitocondrias paternas da como resultado heteroplasmia y malos resultados en la producción de embriones *in vitro* (Lledo *et al.* 2018).

## Regulación de la expresión genética en el embrión

### MicroARN

Los microARN (miARN) son moléculas cortas de ARN no codificantes, que normalmente constan de 19 a 23 nucleótidos. Si bien se encuentran principalmente en los testículos, el espermatozoide también contiene varias clases de miARN. El perfil de miARN en los espermatozoides no es fijo sino dinámico y está influenciado por factores relacionados con la espermatogénesis y la maduración del epidídimo (Selvaraju *et al.* 2018). Se cree que los cambios en estos

# Sincrogest Inyectable

Progesterona en alta  
concentración.

- Progesterona inyectable de larga acción;
- 150 mg/mL de progesterona;
- Utilizado en los protocolos:
  - Inducción de ciclicidad de novillas;
  - Pre-synch en vacas en anestro;
  - Protocolo de resincronización súper precoz (Ressinc14);
  - Protocolo P4-14 en vacas lecheras (vacas en desafío).



Innovación pionera  
en el mercado

procesos afectan la composición de los miARN en los espermatozoides. Se ha observado que los miARN desempeñan un papel regulador en la espermatogénesis y el desarrollo embrionario temprano. Se ha detectado que los miARN paternos persisten más allá de la etapa pronuclear en los embriones, y el agotamiento parcial de estos miARN conduce a un menor desarrollo embrionario y a una expresión genética irregular en el embrión (Yuan et al. 2016). Más recientemente, se ha descubierto que los miARN transmitidos por el espermatozoide se dirigen a embriones de dos células, con posibles influencias en la competencia de desarrollo del embrión, así como en el metabolismo de los blastocistos y la síntesis de proteínas (Wu et al. 2020).

Se han identificado diferentes miARN en toros de diferente fertilidad, donde 13 miARN (bta-miR-100, 30d, 21-5p, 99a-5p, 34c, 191, 27a-3p, 2284x, 186, 148a, 125b, 22-3p, 27b, 3432a, 375, 128, 16b, 7, 449a y 204) muestran una mayor expresión en las vías dirigidas a los toros de baja fertilidad relacionadas con el desarrollo embrionario y la regulación de la expresión genética (Donnellan et al. 2022). Otro estudio, que utilizó SCR como clasificador de fertilidad, encontró que 10 miARN (bta-miR-2450-3p, 2311-5p, 2274-5p, 409a-3p y 543) se expresaban diferencialmente en toros de alta y baja fertilidad, siendo esos miARN se dirige a genes implicados en la motilidad de los espermatozoides y el desarrollo embrionario (Werry et al. 2022). Por lo tanto, los miARN transmitidos por los espermatozoides pueden regular el desarrollo embrionario previo a la implantación. Curiosamente, no hubo superposición en el miARN expresado diferencialmente en los eventos de estos dos estudios cuando compararon toros de alta y baja fertilidad.

Esto señala que el fenotipo de fertilidad de los toros no es uniforme y dificulta las comparaciones entre estudios.

## Daño al ADN espermático y estrés embrionario

El daño al ADN es un importante contribuyente a la infertilidad masculina tanto en toros como en humanos (Sadeghi et al. 2009; Mukhopadhyay et al. 2011; Simões et al. 2013; Kumaresan et al. 2017). El análisis del proteoma del espermatozoide de toros de alta y baja fertilidad sugiere que la fertilidad reducida observada en los espermatozoides con integridad del ADN comprometida podría deberse a una desregulación significativa en la vía de señalización del punto de control del daño del ADN G2/M del ciclo celular (Peddinti et al. 2008).

El daño al ADN también puede ocurrir a través del estrés oxidativo, ya que el espermatozoide es altamente sensible a niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (ROS) debido a su limitado sistema antioxidante. Varias enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD), las glutatión peroxidasa (GPX), las peroxiredoxinas (PRDX), las tioredoxinas y las glutatión-S-transferasas, son cruciales para mantener la motilidad, la capacitación y la integridad del ADN de los espermatozoides. Es necesario un delicado equilibrio entre la producción de ROS y las enzimas antioxidantes para la capacitación de los espermatozoides dependientes de ROS (revisado por O'Flaherty y Scarlata 2022). GPX4 se encuentra en la vaina mitocondrial de los espermatozoides de los mamíferos y GPX5, una defensa antioxidante vital en el epidídimo del ratón, son componentes importantes en la protección del genoma del espermatozoide durante la maduración. En el espermatozoide humano, la producción de superóxido mitocondrial está regulada por SOD2, que es neutralizada principalmente por los PRDX. Los PRDX también controlan la señalización redox, crucial para la motilidad y la capacitación de los espermatozoides, mientras que el PRDX6 previene la peroxidación lipídica y daño al ADN al eliminar el peróxido de hidrógeno y el peroxinitrito. (O'Flaherty 2015).

Además, los productos finales de glicosilación avanzada (AGE), que son productos de glicosilación no enzimática de proteínas endógenas y exógenas, pueden acumularse y conducir a la activación de vías al unirse al receptor de productos finales de glicosilación avanzada (RAGE). En hombres infértiles, hay una mayor expresión del ligando RAGE S100A12 (Bagheri et al. 2016), una mayor producción de especies reactivas de oxígeno en las células de Leydig (Chen et al. 2016) y una disminución de la morfología del espermatozoide (Chen et al. 2019). Relacionando estos productos con la reducción de la fertilidad y la infertilidad en los hombres.

En los espermatozoides humanos, se han identificado alrededor de 9000 regiones genómicas como vulnerables al daño oxidativo, con mayor sensibilidad en el cromosoma 15. Estas regiones han mostrado un mayor daño en el ADN en hombres sometidos a una evaluación de infertilidad (Xavier et al. 2019). Las proporciones de las dos protaminas, P1 y P2, que reemplazan a las histonas durante la remodelación de la cromatina en el espermatozoide, pueden ser indicativas de daño en el ADN si difieren significativamente de la proporción normal 1:1 (García-Peiró et al. 2011). Es de destacar que las regiones genómicas vulnerables al daño oxidativo del ADN se encuentran fuera de los dominios del paquete de protamina e histonas (Xavier et al. 2019).

En el ganado bovino, también se ha informado que el daño al ADN es dos veces mayor en toros con fertilidad inferior al promedio en comparación con aquellos con fertilidad superior al promedio (Kumaresan et al. 2017). El aumento del daño en el ADN en eyaculados de toros de baja fertilidad se ha relacionado con la presencia de espermatogonias inmaduras, gotitas citoplasmáticas y malformaciones de la cabeza del espermatozoide, además de proporciones aberrantes de protamina y un aumento del estrés oxidativo (González-Marín et al. 2012; Boe-Hansen et al. 2018). Sin embargo, en el caso de toros comerciales que se

# FerAppease

Lo que aplicas en el manejo,  
vuelve en resultados.

En la práctica, FerAppease impulsa el desempeño, porque reduce el estrés, estimula la inmunidad y aumenta el consumo de materia seca.

¿Que significa esto?

- ✓ Más retorno
- ✓ Más productividad
- ✓ Menos pérdidas



FerAppease. Fácil de usar.  
Difícil es no ver resultados.

APLIQUE RESULTADOS  
EN SU HATO

ourofino.co

ourofino  
salud animal

someten a exámenes morfológicos de rutina, es poco probable que se produzca una alta incidencia de errores de maduración de las espermátidas, caracterizados por cabezas de espermatozoides redondas, en las pajitas de semen vendidas para su uso.

Los efectos dañinos del estrés oxidativo también se han relacionado con fallas en el desarrollo en embriones tempranos. En embriones humanos, se ha descubierto que los niveles de peróxido de hidrógeno son significativamente mayores en aquellos que sufren fragmentación y apoptosis que en aquellos que no, lo que sugiere una correlación directa entre la concentración de peróxido de hidrógeno y muerte celular (Yang *et al.* 1998). En ratones, se ha demostrado que hay un aumento en la producción de ROS alrededor de la etapa de 2 células, lo que coincidió con la detención del embrión en esos estudios (Nasr-Esfahani y Johnson, 1991). En el bovino, una reducción en los ovocitos que se desarrollaron hasta la etapa de blastocisto se correlacionó con un aumento de ROS y una disminución de los niveles de glutatión (Hashimoto *et al.* 2000). Además, los niveles de ROS fluctúan en los ovocitos bovinos fertilizados, con picos significativos a las 7, 19 y 24 horas después de la fertilización (Morado *et al.* 2013). En otro estudio, curiosamente, los embriones de toros de baja fertilidad tenían una mayor expresión de genes asociados con el daño del ADN y la autofagia, lo que sugiere que el daño proveniente del espermatozoide u otro producto transportado por el espermatozoide produce daño en el ADN y desencadena vías de autofagia en el embrión. (Lockhart *et al.* 2023). Sin embargo, con los controles de calidad actuales en los sementales, es posible que en toros subfértiles el daño al ADN sea lo suficientemente sutil como para pasar desapercibido o que un proceso posterior a la fertilización, como la falla en la degradación de las mitocondrias del espermatozoide, pueda resultar en daño al ADN del embrión mismo. De hecho, los genes asociados con las

mitocondrias de los espermatozoides aumentan su expresión en embriones de 4 células de toros de baja fertilidad (Lockhart *et al.* 2023).

## Genética del toro para la fertilidad

Los toros de baja fertilidad producen menos embriones viables y menos embarazos (Ortega *et al.* 2018; O'Callaghan *et al.* 2021). Sin embargo, aún no se ha desarrollado un predictor genético que pueda explicar estas diferencias en la fertilidad. Curiosamente, los esfuerzos recientes han dilucidado regiones candidatas y variantes asociadas con ROS, pero la mayoría de los genes candidatos están relacionados con la biología y el desarrollo del espermatozoide (Han y Peñagaricano 2016; Nani y Peñagaricano 2020; Abdollahi-Arpanahi *et al.* 2021) o están en genes expresados específicamente en el testículo (Nani y Peñagaricano 2020). Sin embargo, algunas variantes candidatas están asociadas con la fertilización y la activación de ovocitos, como *CC-T6A* y *RIMS1*, respectivamente (Han y Peñagaricano 2016). También se han identificado mutaciones candidatas en la familia de genes que contienen

el dominio de la Adisintegrina y la metaloproteasa (ADAM) (Abdollahi - Arpanahi *et al.* 2021). Los genes ADAM son glicoproteínas transmembrana que se expresan en diferentes tejidos, estando 17 genes de esta familia implicados en la reproducción ya que se expresan en testículos o epidídimos (Edwards *et al.* 2008). Además, la inactivación de *ADAM6* da como resultado una reducción de la fertilidad masculina, debido a la disminución de la capacidad de los espermatozoides para acceder a la unión útero-tubárica (Voronina *et al.* 2019).

Esto está en línea con la producción de embriones *in vivo*, donde los toros con SCR bajo produjeron más ovocitos no fertilizados después de la superovulación y el lavado (Ortega *et al.* 2018). El fenotipo de subfertilidad explicado parcialmente por la SCR puede estar relacionado con la fertilización misma. Sin embargo, *in vitro*, estas diferencias desaparecen, probablemente debido a la naturaleza del propio sistema *in vitro*, donde se proporcionan agentes capacitadores en condiciones de cultivo y no se requiere la capacidad de los espermatozoides para viajar a través del tracto reproductivo. 6

