

ACTIVIDAD SECRETORA DEL OVIDUCTO DE MAMIFEROS DOMÉSTICOS DURANTE LA FERTILIZACIÓN Y EL DESARROLLO EMBRIONARIOTEMPRANO

SANTIAGO RENE ANZALDÚA ARCE
MARIO PÉREZ MARTÍNEZ
MARCO ANTONIO CERBÓN CERVANTES
IGNACIO CAMACHO-ARROYO

I. Introducción	230
II. Procesos celulares y tisulares en el oviducto	232
III. Interacción funcional entre los espermatozoides y el oviducto	233

Agradecimiento: Los primeros dos autores agradecen a la D.G.A.P.A. de la UNAM. el apoyo brindado para la realización de este trabajo dentro del proyecto de PAPIIT (IN 212101).

IV. Desarrollo embrionario temprano y moléculas de secreción del oviducto	237
1. Oviductina	238
2. Uteroglobina	239
3. Proteína asociada a estrógenos (EGP)	240
4. Factores de crecimiento	241
5. Prostaglandinas	246
6. Catecolaminas	246
7. Iones	247
V. Discusión	248
VI. Conclusiones	249
Abstract	251
Referencias	251

I. Introducción

En los mamíferos domésticos los oviductos (o tubas uterinas) son órganos pares del tracto reproductor femenino en los que se llevan a cabo funciones esenciales para la reproducción como son: el transporte de los gametos, la capacitación espermática, la segmentación embrionaria y el transporte sincronizado del embrión hacia el útero para su posterior anidación. Todos estos eventos son posibles debido a que el oviducto provee condiciones microambientales favorables para que éstos ocurran, sin embargo, se sabe poco acerca de los mecanismos de regulación de la secreción del oviducto, en particular durante los procesos de fertilización y el desarrollo embrionario temprano,

igualmente se conoce poco acerca de las interacciones celulares y moleculares entre este órgano y el producto.

Anatómicamente el oviducto presenta 4 regiones conocidas como: fimbria, infundíbulo, ámpula e istmo. La fimbria tiene forma de embudo y consta de prolongaciones digitiformes adyacentes al ovario que permiten la captación del óvulo. Esta porción también brinda una comunicación con la cavidad peritoneal (1). El infundíbulo es la continuación tubular de la fimbria y constituye el tercio distal del órgano. Este componente del oviducto tiene como finalidad el transporte de los gametos e histológicamente no puede distinguirse del ámpula. El ámpula es la porción media del oviducto, se extiende desde la unión istmo-ampular hasta el infundíbulo, en ella ocurre preferentemente la fecundación, en particular en la unión istmo ampular. Se ha postulado que la región del ámpula tenga un mayor grado de secreción (en relación con el istmo) debido a que presenta un mayor número de pliegues y mayor superficie epitelial lo que favorece los procesos de extravasación de sustancias a partir del plasma sanguíneo. El endosalpinx (epitelio de revestimiento) del ámpula es altamente plegado por lo que prácticamente ocluye la luz del órgano.

El istmo forma el tercio proximal del oviducto y está adyacente al útero. El sitio de unión con el útero se llama unión utero-tubárica, en la que se incluye una porción intramural llamada región intersticial. Histológicamente el istmo se caracteriza por un mayor grosor del órgano, debido particularmente a que la porción muscular (miosalpinx) presenta un mayor número de capas; la mucosa presenta pocos pliegues y el epitelio es secretor predominantemente. La unión istmo-ampular actúa como un esfínter funcional, que controla el transporte del óvulo hacia el útero. En el caso de la coneja, el incremento en el grosor de la

pared y la menor distensibilidad del istmo en comparación con el ámpula, explican por sí mismos la retención pasiva del embrión y no sólo de manera específica en la unión istmo-ampular, por lo que en esta especie, aparentemente la acción de esfínter no es un mecanismo activo sino que corresponde a razones anatómicas (2). En el istmo también ocurre la capacitación de los espermatozoides. En los equinos únicamente los óvulos fertilizados podrán pasar al interior de los cuernos uterinos, y en otras especies como la coneja la unión útero-tubárica se abre de manera exclusiva los días 3, 4 de la gestación (3), que corresponde con el paso del huevo hacia el útero.

II. Procesos celulares y tisulares en el oviducto

El epitelio de revestimiento del oviducto es un epitelio cilíndrico simple ciliado que consta de dos tipos celulares principales: las células secretoras no ciliadas y las células ciliadas.

La población celular del oviducto varía a lo largo del ciclo estral debido a la influencia de las hormonas esteroides de origen ovárico (estrógenos y progesterona); las células ciliadas son mayoritarias en las etapas foliculares o estrogénicas, mientras que las células secretoras (no ciliadas generalmente) predominan en las etapas luteínicas; el primer proceso se conoce con el nombre de ciliogénesis (4, 5). El estudio del predominio de estas dos poblaciones celulares así como la determinación de las variaciones en la altura del epitelio, permite inferir algunos efectos hormonales sobre este órgano. En los primates los estrógenos ocasionan hipertrofia, ciliogénesis y secreción en las células epiteliales, mientras que la atrofia celular es evidente durante la fase luteínica (o progestacional) del ciclo (6). El proceso de ciliogénesis ha sido estudiado en diversas especies de animales domésticos como la coneja (7), la cerda (8), la perra (9) y la gata

(10). Durante la gestación temprana de la gata se observa deciliación y atrofia (entre los días 2 y 4), así como disminución en la altura del epitelio entre los días 8 y 40 de la gestación (11). También se han estudiado la altura del epitelio del ámpula y el istmo del oviducto de la oveja (12), se observó que es mayor en los 3 primeros días de la gestación en relación con hembras ovariectomizadas, y disminuye a partir del día 4, sin embargo a diferencia de otras especies, el tipo celular predominante en ambas porciones corresponde a las células ciliadas, mientras que las no ciliadas producen una proteína dependiente de la acción estrogénica (13, 14, 15). Durante el puerperio las modificaciones celulares en los oviductos de ovinos son mínimas (16).

Las secreciones del oviducto presentan dos componentes principales; el primero es un trasudado de moléculas extravasadas del plasma sanguíneo, siendo las más relevantes de este grupo la albúmina, transferrina e inmunoglobulinas. El segundo es un componente secretor propia mente dicho, sintetizado y liberado activamente hacia la luz del órgano por las células epiteliales (secretoras). Este componente es en general heterogéneo, sin embargo algunas moléculas presentes en el fluido parecen ser comunes para diversas especies de mamíferos domésticos, como son: las proteínas dependientes de estrógenos, los factores de crecimiento, las mucinas específicas del oviducto, las prostaglandinas, entre otras. Algunas de estas moléculas interactúan con los gametos o bien con los cigotos o embriones (17).

III. Interacción funcional entre los espermatozoides y el oviducto

Una vez que los espermatozoides entran en el oviducto, permanecen en su mayor parte en el istmo hasta momentos antes

de la ovulación, esta congregación de espermatozoides se ha observado en ovinos (18, 19), bovinos (20) y cerdos (21, 22). En los ovinos y bovinos se requiere de un mínimo de 6 a 8 horas para que exista acumulación suficiente de espermatozoides para que se lleve a cabo la fertilización (23), por lo que aparentemente el istmo actúa como un reservorio de espermatozoides; en los ovinos esta acumulación ocurre en el oviducto ipsilateral del ovario en el cual se presenta la ovulación (24). En opinión de algunos investigadores, el istmo actúa como un filtro que selecciona los espermatozoides más aptos para permitirles el paso hacia el sitio de la fertilización. Actualmente se ha postulado que la presencia del moco oviductal y en particular los carbohidratos de las glucoproteínas son los mediadores de la formación del reservorio de espermatozoides en mamíferos (25, 26).

Análisis bioquímicos efectuados en las secreciones oviductales de cerdas (27) y vacas (28) muestran diversas bandas mayores de polipéptidos que se unen a los espermatozoides (29). En el caso de los bovinos ocurre en el istmo y se ha postulado que esta unión aparentemente contribuye a evitar la polispermia debido a que permite la retención efectiva de gametos masculinos en esta región y evita un exceso de espermatozoides en el ampulla y unión istmo-ampular, que son los sitios de la fertilización. Estudios realizados *in vitro* con glucoproteínas específicas del oviducto de cerdas han demostrado efectos sobre los procesos de fertilización, incrementando la penetración de los espermatozoides, en la inhibición de la polispermia y favoreciendo el desarrollo embrionario temprano en esta especie (30, 31).

Se ha demostrado que los espermatozoides de bovinos pueden mantener su capacidad fertilizante por más de 48 horas (*in vitro*) siempre y cuando permanezcan unidos por su porción rostral del acrosoma al endosalpinx, lo que no ocurre si se unen a otros

epitelios ciliados como el de la tráquea o bien en ausencia de células (32).

Se ha estudiado la motilidad de espermatozoides de conejo en el ámpula e istmo y se ha observado que se adhieren con los cilios de las células epiteliales; esta asociación está relacionada con la presencia de moco oviductal (33, 34, 35). En el hamster los espermatozoides también permanecen unidos firmemente a las células epiteliales del oviducto y se liberan alrededor del momento de la ovulación (36). Tales mecanismos pueden ser importantes en el mantenimiento de la capacidad fertilizante durante el periodo de almacenamiento del esperma en el istmo (37).

Los espermatozoides de mamíferos maduran en el epidídimo, sin embargo una vez que son eyaculados no son capaces de fertilizar el óvulo, los espermatozoides requieren cambios funcionales que se realizan en el tracto reproductor femenino, estos cambios que permiten la capacidad fertilizante del espermatozoide son denominados colectivamente como capacitación espermática. La capacitación involucra procesos en los que se remueven o alteran sustancias que son adsorbidas o integradas por la membrana plasmática de los espermatozoides durante su maduración en el epidídimo, la remoción o alteración de la cubierta protectora sensibiliza a la membrana espermática para poder llevar a cabo la fertilización (38). La capacitación espermática involucra una desestabilización de la membrana plasmática de la cabeza del espermatozoide sin cambios morfológicos visibles (39); se sabe que en las etapas iniciales de la capacitación existe una salida de colesterol proveniente de la bicapa lipídica de la membrana plasmática de los espermatozoides de los mamíferos. Se sabe que en las vacas durante el estro existe un incremento en la concentración de lipoproteínas de alta densidad en el fluido del oviducto y se ha

propuesto que sirva como un posible aceptor del colesterol proveniente del esperma para promover de esta manera la capacitación y la reacción acrosomal (40). En el conejo aparentemente la capacitación espermática es un proceso que en condiciones óptimas requiere del paso secuencial por el útero y del oviducto (41).

Experimentos realizados *in vitro* en caninos muestran que la capacitación espermática es posible en presencia de células de revestimiento del oviducto (42) y que el fluido del oviducto proveniente de hembras en estro mantiene la motilidad espermática e induce la capacitación espermática (43).

La reacción acrosomal es un proceso posterior a la capacitación espermática que involucra la fusión de la membrana acrosomal del espermatozoide y su membrana plasmática, para formar poros que permiten la salida de enzimas involucradas con la fertilización como son principalmente, la hialuronidasa y la acrosina. Los espermatozoides no capacitados son incapaces de unirse a la zona pelúcida y mucho menos penetran la capa celular del *cumulus ooforus*; en contraste los espermatozoides capacitados pero sin reacción acrosomal, penetran la capa del *cumulus* pero no así al interior de la corona radiada (44). Existen evidencias de que la reacción acrosomal ocurre en la vecindad de la zona pelúcida y frecuentemente en el ámpula del oviducto en diversas especies de mamíferos.

En experimentos efectuados en porcinos (45) y lagomorfos (46) en los que se eliminó el istmo, la fertilización y las divisiones tempranas del huevo ocurren normalmente, sin embargo se observó un incremento en la polispermia, ocasionada presumiblemente por la pérdida de la función de filtro que lleva a cabo esta región anatómica.

IV. Desarrollo embrionario temprano y moléculas de secreción del oviducto

Las secreciones de la mucosa del oviducto juegan un papel trascendente en el desarrollo embrionario. En la coneja se añade al ovocito una cubierta albuminoide externa, mientras que en los monotremas y marsupiales se forma una especie de cáscara alrededor de la cubierta albuminoide, como rasgos filogenéticos de la función del oviducto en las aves (37). La importancia de estas secreciones se ha evaluado en diversos experimentos *in vitro* en la que los embriones se colocan en cultivos de células epiteliales del oviducto y se determina su efecto sobre la viabilidad de los primeros (47, 48, 49).

Existen evidencias que sugieren que algunos factores secretados por el oviducto pueden estimular el crecimiento embrionario. Así, por ejemplo la fertilización puede ocurrir en el útero de la coneja, sin embargo, si el producto no es transferido al oviducto en las 6 primeras horas sufre de procesos detrimentales (50). Se sabe que en diversas especies los ovocitos y posteriormente el cigoto toman diversas sustancias del fluido del oviducto; en el ratón por ejemplo, una glucoproteína es secuestrada a partir del fluido del ánfula y se almacena posteriormente en el espacio perivitelino, mientras que otros compuestos derivados de la extravasación del plasma, como la albúmina sérica no es secuestrada (51). En el cerdo también se han identificado dos glucoproteínas secretadas inicialmente en el fluido oviductal que posteriormente se detectan en la zona pelúcida de los ovocitos. En la oveja durante el estado de 2 a 4 blastómeros se pueden identificar 4 glucoproteínas más en la zona pelúcida y en la membrana de los blastómeros, pero no en su interior (52). En mandriles (53) y en ovinos (52) diversos

antígenos del oviducto se observan no sólo dentro de la zona pelúcida, sino en asociación con el espacio perivitelino, la membrana vitelina e incluso en el citoplasma del embrión.

La función de todas estas proteínas no se conoce completamente, pero el hecho de provenir de las secreciones oviductales y de ser selectivamente incorporadas a regiones específicas del producto, puede indicar un papel importante en el desarrollo y crecimiento del embrión.

En ovinos y bovinos los productos de secreción del oviducto tienen una actividad mito génica importante sobre el embrión. Esta actividad sinergiza con la insulina, ya que esta hormona y otras moléculas relacionadas como el factor decrecimiento derivado de la insulina (IGF), tiene aparentemente un papel relevante en el desarrollo embrionario previo ala implantación.

Entre las moléculas de secreción específicas del oviducto que han sido bien estudiadas se encuentran: la oviductina, la uteroglobina, la proteína asociada a estrógenos (EGP), los factores de crecimiento, prostaglandinas, catecolaminas y los iones.

1. Oviductina

Las mucosas de diversos órganos sintetizan y se encuentran íntimamente asociadas con un grupo de proteínas con una gran cantidad de oligosacáridos unidos a -O de residuos de treoninas y serinas, estas glucoproteínas se denominan mucinas; entre las múltiples funciones que se han sugerido para este grupo de moléculas están: la lubricación e hidratación tisular, la protección de proteínas y células contra la proteólisis, la inhibición de la adherencia celular, o bien la promoción de dicha adherencia, según el caso, y la inhibición de la inmunidad celular (54).

En el hámster existe una mucina específica de la mucosa del oviducto, denominada oviductina, es una glucoproteína de secreción que se une a la zona pelúcida (55); la oviductina es una molécula con residuos de N-acetil C galactosamina que forman parte de las secreciones oviductales en el istmo y posteriormente se asocian a la matriz de la zona pelúcida durante el transporte del óvulo (56, 57, 58). La oviductina también está presente en el oviducto de diversas especies de mamíferos además del hámster, como son: el ratón, el mandril y los humanos, esta glucoproteína se expresa de manera exclusiva en el epitelio del oviducto a diferencia de otros genes de mucinas que son expresados en diversos tejidos (59, 54). La función específica de esta molécula aún está en estudio.

2. Uteroglobina

La uteroglobina es la principal proteína de secreción uterina de la coneja durante el inicio de la gestación, sin embargo también se ha identificado en diversos órganos entre los cuales se encuentra el oviducto. Actualmente se conoce su estructura y la del gen que la codifica (60). Esta proteína es dependiente de la progesterona, por lo que se ha utilizado como un marcador de acción prostestacional; además se ha estudiado su relación con la expresión de los receptores a progesterona en el endometrio de conejas adultas durante la gestación temprana (61) y en conejas prepúberes (62, 63) y adultas (64, 65) tratadas con compuestos con actividad antiprostestacional, en particular durante el periodo de peri-implantación. Debido a que la máxima secreción endometrial coincide con el momento de la implantación, la uteroglobina se ha involucrado con diversos efectos tróficos sobre el embrión (66), en el enmascaramiento de antígenos de los espermatozoides (67). Esta proteína también se ha identificado en las células epiteliales y en el fluido del

oviducto, se ha postulado que se sintetiza de manera constitutiva en el oviducto a diferencia del útero donde es regulado hormonalmente, en particular por la progesterona.

En un estudio previo (68) sobre la uteroglobina, se ha encontrado diferencia en su patrón de secreción y su capacidad de almacenamiento en las células de revestimiento del útero y del oviducto en conejas pseudogestantes. En el útero esta proteína es secretada hacia la luz del órgano casi en su totalidad, mientras que en el oviducto presenta una gran capacidad de almacenamiento y un menor rango de secreción (68). Existen estudios histológicos y ultraestructurales que sugieren una secreción activa de uteroglobina en el día 5 de la gestación (69) o pseudogestación (68). En estudios inmunohistoquímicos y bioquímicos de conejas en estro, se ha observado que el número de células inmunomarcadas y la cantidad de RNAm para uteroglobina es similar en la región distal y media del oviducto, mientras que en la región proximal (istmo) el número de células es menor y presenta de 3 a 4 veces menor cantidad de RNAm (70).

La uteroglobina no es exclusiva del tracto genital femenino de la coneja, también se ha identificado en otros tejidos como el pulmón, próstata y sistema digestivo (71, 72). Se han descrito la contraparte de uteroglobina o su gen en diversas especies como son: ratón, rata, hamster, cerdo, equino y humano (73), por lo que aun no se han determinado los papeles fisiológicos de esta molécula.

3. Proteína asociada a estrógenos (EGP)

En general existe un grupo de proteínas sintetizadas en el oviducto de diversas especies de mamíferos que se incrementan bajo condiciones estrogénicas, esta mayor actividad secretora

se ha demostrado en cerdas, hámsters, ratonas, ovejas (74) y vacas (17,75). En estas especies existe aparentemente un gradiente de actividad secretora dependiendo de la porción anatómica, siendo la mayor en el ámpula, seguido del infundíbulo y por ultimo en el istmo. Estas moléculas son glucoproteínas secretadas por el ámpula de los ovinos (76, 77) y bovinos (76) y se vierten hacia la luz del órgano en su mayoría en el día 3 del ciclo estral. En ovinos la proteína asociada a estrógenos se conoce con las siglas oEGP y en bovinos bEGP, los genes de donde provienen estas proteínas tienen 95% de homología en estas especies y consisten en 1560 pares de bases que codifican a 519 aminoácidos que se distinguen bioquímicamente por los glucósidos terminales en las dos especies mencionadas.

Experimentos realizados *in vitro*, en los que se agregó EGP al medio de cultivo de cigotos de ovinos, se observaron que estas moléculas se unen a la zona pelúcida y a la membrana plasmática de los blastómeros, por lo que aparentemente contribuyen a regular la división celular en las primeras etapas del embrión y a la formación del blastocisto (78).

Los mecanismos de síntesis y secreción de las EGP en el oviducto y sus posibles efectos sobre la fertilización y el desarrollo embrionario son importantes para poder comprender las interacciones moleculares que tienen lugar en la gestación temprana (78).

4. Factores de crecimiento

En el oviducto existen claras evidencias de que diversos factores de crecimiento están involucrados en la embriogénesis. Las moléculas que participan en estas delicadas interacciones

se han dividido. en tres grupos (80): factores autocrinos, la mayoría de ellos generados por el embrión, para sustentar su propio. desarrollo.; factores paracrinos en los que se incluyen a los factores de crecimiento. y proteínas específicas producidas por el oviducto. y por ultimo., los factores ambientales del oviducto. entre los que destacan los substratos energéticos, vitaminas, iones y aminoácidos.

En una revisión llevada a cabo. por Simmen y Simmen (79), se destaca el papel potencial de los factores de crecimiento. y los protoncogenes en el desarrollo. embrionario. temprano. de los mamíferos y durante la implantación.

Entre los factores de crecimiento. se encuentran: el factor de crecimiento. unido. a la heparina, factor de crecimiento. transformante (TGF) α y β , factor de crecimiento. semejante ala insulina (IGF) I y II, factor de crecimiento. derivado. de las plaquetas (PAF) y el factor de crecimiento. epidérmico. (EGF). Diversos procesos celulares importantes se han involucrado. con los factores de crecimiento., como. son: la proliferación celular, diferenciación, invasividad, angiogénesis, inducción del mesodermo. en embriones tempranos de anfibios, entre otros (81).

En estudios realizados *in vitro*. se ha encontrado. que el EGF favorece la transformación del embrión hasta el estadio. de blastocisto. y que el factor de crecimiento. similar a la insulina I (IGF-1) causa un incremento. en el número. de células de la masa celular interna, no. así del trofoectodermo. (82, 83, 84) y además estimula el metabolismo. embrionario. (85). Al respecto se ha propuesto que la insulina estimula el metabolismo. y crecimiento. de los embriones que en estas etapas aun no. han llegado. al útero. (86, 87, 88). En los embriones del cerdo. también

se han descrito receptores para el IGF-I en el día 12 de la gestación, este hallazgo coincide con altas concentraciones de IGF-I en el fluido uterino (89), así mismo se identifican receptores para el IGF-I en el endometrio y miometrio (90) por lo que es probable que estas moléculas puedan tener efectos paracrinos para mediar diversos cambios uterinos relacionadas con la implantación. En los embriones porcinos el IGF-I se ha involucrado en modificaciones metabólicas, pues incrementa la actividad aromataasa de P-450 (91) sino también diversos efectos sobre el útero materno, como la proliferación dependiente de estrógenos (92). El IGF-I estimula el disco embrionario de cerdos y sintetiza diversas proteínas involucradas posiblemente con el reconocimiento materno de la gestación o en actividades inmunosupresoras (93). En embriones de conejas hay un incremento del IGF-I el día 3 de la gestación y se ha identificado en la cubierta del producto en esta especie y promueve la transformación de mórula a blastocisto (94).

En bovinos el factor inhibidor de leucemia humana (hLIF) adicionada a un fluido sintético de oviducto *in vitro*, aparentemente tiene un efecto significativo sobre el desarrollo del estadio de mórula al de blastocisto (95, 96).

En el oviducto de la coneja se ha descrito un incremento de los receptores al factor activador de plaquetas (PAF) durante los días 3 y 6 de la gestación, cuando los embriones se pueden localizar en el oviducto y el útero, respectivamente (97), el PAF es capaz de modificar la permeabilidad vascular y causar la contracción de la musculatura lisa (98, 99), por lo que el PAF posiblemente pueda regular algunas funciones del oviducto, sin embargo no hay informes sobre su efecto en el transporte oviductal de cigotos.

El embrión de ratón sintetiza EPAF, el cual se ha involucrado con el establecimiento de la implantación ya que el bloqueo de EPAF a través de antagonistas evita la implantación de los embriones (100).

Existen hallazgos que indican que en el ratón y en el conejo el PAF tiene funciones autocrinas sobre el desarrollo embrionario (101, 102). El PAF parece ser una señal molecular temprana, necesaria para inducir la primer a señal materna denominada factor de gestación temprana (EPF), en todas las especies de mamíferos examinados incluyendo la vaca (76), el ratón (103), la cerda (104), la coneja (105), la rata (106), la oveja (107) y el humano (108). El PAF puede identificarse en el suero y orina de las hembras gestantes hasta la mitad de la gestación; esta constituido por una glucoproteína que puede ser separada en dos componentes; una fracción activa y otra inactiva, la primera a su vez contiene dos partes el EPF-A y el EPF-B, las cuales estando en forma aislada pierden muchas de sus actividades, las que se restauran al unirse nuevamente. El EPFA es secretada por el oviducto, mientras que el ovario produce el EPF-B en presencia de prolactina y en respuesta del EPAF. En el ratón cerca del día 7 es producido por el embrión (109), se ha postulado que la función del EPF es la de regular el sistema inmune materno en la gestación aunque ha sido cuestionado por diversos investigadores (110, 111), sin embargo queda claro que el sistema EPAF / EPF representa la interacción molecular inicial mas caracterizada entre el embrión y la madre y es activa antes de que la transcripción embrionaria comience.

En otras especies como los bovinos y porcinos se han identificado diversos transcritos de RNAm maternos y embrionarios para el TGF β 2 y IGF-2, en la vaca (112) estos transcritos se producen durante diversas etapas del desarrollo

embrionario, sin embargo no se tienen suficientes evidencias sobre su papel fisiológico.

Estudios bioquímicos en cerdas señalan que tanto el RNAm y la proteína denominada: activador-inhibidor del plasminógeno-1 (PAI1) están en altas concentraciones en las células epiteliales del oviducto durante el día 2 de la gestación, esta secreción es mayor en el istmo que en el ampulla y se ha propuesto que tenga como finalidad proteger al embrión de la posible degradación enzimática o bien de la remodelación de la matriz extracelular (113,114).

Al parecer diversas proteínas secretadas por el oviducto, como las mencionadas en párrafos anteriores, tienen efectos benéficos sobre las primeras etapas del desarrollo embrionario en las diversas especies de mamíferos domésticos, sin embargo, es bien conocido que en las especies de mamíferos no primates las gestaciones ectópicas y en particular las tubáricas son muy poco comunes, estudios realizados con injertos del endosalpinx colocados en el útero de la coneja han permitido postular la existencia de factor (es) inhibidores de la gestación ectópica en el oviducto, ya que disminuyeron el número de sitios de implantación en los cuernos uterinos y ningún sitio de implantación coincidió con las porciones con los injertos de endosalpinx entre otras observaciones (115).

En embriones de diversas edades y especies se ha demostrado la liberación de diversos compuestos como hormonas esteroides, histamina, prostaglandinas las cuales pueden tener efectos sobre el miosalpinx; los estrógenos en embriones de conejo (116), caballos (117), vacas (118) y cerdos (119). Todas estas observaciones se han llevado a cabo en embriones en estadios de mórula y blastocisto, etapas en la que *in vivo* el producto se encuentra en el oviducto y en el útero.

5. *Prostaglandinas*

Los embriones de diversas especies de mamíferos como bovinos, ovinos, conejos y porcinos son capaces de sintetizar prostaglandinas de las series E y F; estas sustancias se han involucrado en señales paracrinas para inducir modificaciones del endometrio necesarias para la implantación; en el caso del oviducto, el estudio de las prostaglandinas tiene como finalidad conocer la regulación del transporte del cigoto, ya que estos compuestos tienen efectos sobre la contracción del miosalpinx.

En equinos las prostaglandinas de tipo E han sido consideradas como la señal bioquímica que en esta especie es capaz de reconocer la gestación temprana, ya que la secreción de prostaglandina E se ha involucrado en el transporte selectivo del producto hacia el útero, debido a que únicamente los embriones pasarán a la cavidad uterina 5 días después de la fertilización, ya que durante los días 5 y 6 de la gestación el embrión produce grandes cantidades de E. Los óvulos no fertilizados permanecen en el oviducto hasta que se degradan tiempo después (120, 121, 122). Si se administra parenteralmente prostaglandina E₂ también activa el transporte oviductal de embriones equinos (123).

6. *Catecolaminas*

La noradrenalina es el mediador químico de las terminaciones de las fibras simpáticas, que inervan el oviducto favoreciendo la relajación de la musculatura lisa del órgano. En la coneja no gestante, las concentraciones de noradrenalina son elevadas en el ámpula en relación con el istmo (124), en la porción distal del istmo (unión istmo-ampular) mostró una disminución 17 horas

después de la inyección de un compuesto quelante. Un tratamiento con estrógenos en conejos causa la retención de los cigotos en la unión istmo-ampular, con un incremento de concentraciones de noradrenalina en el istmo distal, mientras que la progesterona aumenta el transporte y disminuye significativamente la concentración de noradrenalina en esta misma región (124). Estudios realizados en el fluido oviductal mostraron que la concentración de noradrenalina fue siempre menor en el ámpula que en el fluido del istmo (125), lo cual no corresponde con las concentraciones tisulares (124). En la coneja las concentraciones de las aminas biógenas como noradrenalina, dopamina y adrenalina disminuyen en el fluido del oviducto entre el estro y la ovulación (125).

7. Iones

Diversos iones se han identificado en el fluido del oviducto, así como algunas enzimas involucradas en el transporte de los mismos como la KATPasa, que se ha identificado en las células epiteliales del oviducto de los roedores (126).

En el caso del calcio la concentración es máxima en el fluido del istmo de bovinos y ovinos en el momento del estro (127, 128).

El magnesio varía a lo largo del ciclo estral de los bovinos, sin embargo aparentemente no hay variaciones en las diversas regiones del oviducto, mientras que el potasio y el sodio no muestran variaciones tanto en el ciclo estral como en las distintas regiones del oviducto, resulta interesante el hecho que la concentración de potasio en el fluido es mayor que la del suero (128).

En conejas pseudogestantes existen variaciones en las proporciones de sodio/potasio y calcio/magnesio 48 horas

posteriores a la inyección (129). En esta especie se ha identificado el factor natriurético atrial (130) el cual probablemente tenga algún efecto sobre el flujo sanguíneo y la extravasación de ciertos iones en el oviducto.

En bovinos los espermatozoides sometidos a diversos medios del tracto genital femenino, entre ellos el fluido del oviducto, puede afectar el secuestro del calcio por parte del espermatozoide sin afectar su capacidad de fertilización (131).

V. Discusión

En la actualidad, se conoce un creciente número de moléculas e interacciones moleculares presentes en el oviducto de los diversos mamíferos domésticos durante la gestación temprana y durante el transporte de los gametos, a pesar de ello múltiples procedimientos de reproducción asistida en el campo veterinario, no logran tener la eficiencia deseada porque se desconocen muchos de los factores que determinan una alta pérdida embrionaria durante esta etapa; en dos estudios realizados sobre este tema, uno realizado en la década de los 50 por Casida (132) y otro 40 años después (133) el porcentaje de muertes embrionarias en bovinos y porcinos se encontraba en la misma proporción (alrededor del 23%), lo cual implica que en esos 40 años no se logró conocer a fondo las causas de la baja eficiencia reproductiva en este rubro, por lo que tampoco se logró incidir de manera positiva en este problema. En muchos casos no sólo se desconocen las causas reales de las pérdidas embrionarias, sino que ni siquiera se sabe el momento preciso en el que ocurren, aunque se tiene documentado que es en los primeros días de la gestación, por lo que indudablemente el oviducto está involucrado de manera importante en la sobrevivencia de los embriones.

En la actualidad existe interés por conocer la participación de las citocinas del oviducto en el desarrollo embrionario. En los rumiantes existen moléculas que participan en los mecanismos de reconocimiento de la gestación y dentro de ellas se cita al interferón tau que tiene efectos antiluteolíticos y metabólicos que contribuyen a la disminución de la mortalidad embrionaria. Por lo anterior en estas especies se ha planteado el uso de algunas citocinas y de proteínas séricas específicas de la gestación, como un medio para indicar la supervivencia embrionaria (134).

Un aspecto relevante en la investigación de las interacciones moleculares durante la gestación temprana en el oviducto, es el conocer los efectos de diversos progestágenos sintéticos y productos hormonales, utilizados frecuentemente por el médico veterinario en la práctica cotidiana, ya que se ha observado que sus efectos histológicos pueden variar de manera significativa aun en el útero y en el oviducto del mismo animal (135).

Otro aspecto de gran importancia para ser analizado es la regulación local, endocrina, paracrina y autocrina de los sistemas inmunológicos locales del oviducto durante la gestación temprana y bajo la influencia de procesos infecciosos y patológicos.

VI. Conclusiones

- Los oviductos de los mamíferos domésticos constan de cuatro regiones anatómicas y cada una de ellas participan en funciones específicas en los procesos reproductivos esenciales que realiza este órgano como son: el transporte de los gametos, la capacitación espermática, la reacción

acrosomal, la fertilización y la dirección de las primeras multiplicaciones mitóticas del embrión, así como el transporte regulado de este hacia el útero para su posterior implantación.

- La composición del fluido oviductal consta de dos componentes principales: a) un trasudado selectivo de moléculas y de iones provenientes del suero; b) síntesis y secreción activa de un complejo de moléculas específicas, que aparentemente varían en proporción y composición de acuerdo a la región anatómica donde se lleve a cabo.
- Las moléculas crean un microambiente específico que contribuyen, según la región, alas diversas funciones específicas del órgano, mediante interacciones celulares y moleculares ya sea con los gametos, o con el embrión en sus primeros estadios para regular su numero, su transporte y su funcionamiento.
- En el caso de los espermatozoides las interacciones celulares y moleculares con el endosalpinx favorecen su almacenamiento en el istmo, para evitar la polispermia; además contribuyen a la capacitación espermática, la reacción acrosomal y finalmente la fertilización.
- Las diversas moléculas sintetizadas en el oviducto tienen efectos tróficos sobre los embriones y favorecen su crecimiento y multiplicación inicial, sin embargo los mecanismos de regulación endocrinos, paracrinos y autocrinos aun no se conocen con detalle, así como tampoco se conocen los efectos de los fármacos reguladores de la fertilidad utilizados en medicina veterinaria.

El estudio de la regulación endocrina y molecular de la histofisiología del oviducto, abre un campo de investigación muy amplio que requiere ser abordado por grupos multidisciplinarios de las ciencias biológicas y de la salud, para que de esta manera se puedan resolver problemas que afectan la capacidad reproductiva de diferentes especies. Uno de estos campos es la llamada reproducción asistida aplicado a especies que están en peligro de extinción.

Abstract

In the present review we analyzed various molecular and cellular interactions in the oviduct during fertilization and early embryonic development. Several molecules involved in the spermatogenic process, fertilizing capacity of the sperms, the interaction between the sperms and the epithelial cells of coating of the oviduct, as well as their possible implications in their initial development of the embryo in models *in vivo* and *in vitro* are described. It is emphasized the relevance of the study of the molecular interactions routed to optimize various attended reproduction procedures, in order to know and to reduce embryonic mortality during early pregnancy. Basic investigation accomplishment during the employment of synthetic progestins of routine veterinary use and the study of immunologic system interactions in physiological conditions (as the early pregnancy) and pathological events are also reviewed.

Referencias

1. **Mc Donald, L.E.:** Reproducción y Endocrinología Veterinarias. Segunda Edición , *Nueva Editorial Interamericana*. México D.F. 1986.

2. Halbert, S.A., Szal, S.E., Broderson, S.H.: Anatomical basis of a passive mechanism for ovum retention at the ampulloisthmic junction. *Anat. Rec.* 221: 841-845, 1988.
3. Hafez, E.S, Tsutsumi T.: Changes in the endometrial vascularity during implantation and pregnancy in the rabbit. *Am. J. Anat.* 118: 249-282, 1966.
4. Brenner, R.M., West, N.B.: Hormonal regulation of the reproductive tract in female mammals. *Annual Review of Physiology* 37: 273-303, 1975.
5. Fawcett, D.W.: Tratado de Histología. Bloom-Fawcett. 11a. edición. *Interamericana McGraw-Hill*. México D.F. 1989.
6. Brenner, R.M., Maslar, L.A.: The primate oviduct and endometrium. *Physiol. Reprod.* 1: 303-329, 1988.
7. Rumery, R.E., Eddy E.M.: Scanning electron microscopy of the fimbriae and ampullae of rabbit oviducts. *Anat. Rec.* 178: 83-103, 1974.
8. Nayat R.K., Kassira W.N., Albert E.N.: Light and electron microscopic studies of the porcine fetal uterine tube (oviduct). *Am. J. Vet. Res.* 38: 775-786, 1977.
9. Verhage, H.G., Abel, J.H., Tietz, W.J., Barau, M.D.: Development and maintenance of the oviductalepithelium during estrous cycle in the bitch. *Biol. Reprod.* 9: 460-474, 1973.
10. Verhage, H.G., Brenner, R.M.: Suppression of the oviduct and uterus of the cat. *Endocrinology* 99: 101-116, 1976.

11. **West, N.B., Verhage, H.G., Brenner, R.M.:** Changes in nuclear estradiol and cell structure during estrous cycles and pregnancy in the oviduct and uterus of cats. *Biol. Reprod.* 17: 138-143, 1977.
12. **Murray, M.K.:** Changes in secretory status, cell height and percentage ciliation of epithelial lining of sheep fimbria oviduct during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 106: 173-183, 1996.
13. **Murray, M.K.:** An estrogen-dependent glycoprotein is synthesized and released from the oviduct in a temporal- and region-specific manner during early pregnancy in the ewe. *Biol. Reprod.* 48: 446-453, 1993.
14. **Murray, M.K.:** Epithelial lining of the sheep ampulla oviduct undergoes pregnancy-associated morphological changes in secretory status and cell height. *Biol. Reprod.* 53: 653-663, 1995.
15. **Murray, M.K.:** Morphological features of epithelial cells in the sheep isthmus oviduct during early pregnancy. *Anatomical Record* 247: 368-378, 1997.
16. **Krajnicakova, M., Bekeova, E., Lenhardt, L., Maracek, I., Cigankova, V.:** Evaluation of selected parameters in the oviduct and uterus during puerperal period of ewes. *Slovensky Veterinarsky Casopis.* 24: 148-151, 1999.
17. **Buhi, W.C., Alvarez, I.M., Kouba, A.J.:** Secreted proteins of the oviduct. *Cell. Tiss. Org.* 166: 165-179, 2000.
18. **Hunter, R.H.F., Barwise, L., King, R.:** Sperm transport, storage and release in the sheep oviduct in relation to the time of ovulation. *Br. Vet. J.* 138: 225-232, 1982.

19. **Hunter, R.H.F., Nichol, R.:** Transport of spermatozoa in the sheep oviduct: preovulatory sequestering of cells in the cauda isthmus. *J. Exp. Zool.* 228: 121-128, 1983.
20. **Hunter, R.H.F., Wilmut, I.:** The rate of functional sperm transport into the oviducts of mated cows. *Anim. Reprod. Sci.* 5: 167-173, 1983.
21. **Hunter, R.H.F.:** Physiological aspects of sperm transport in the domestic pigs, *Sus scrofa* L. Regulation, survival and fate of cells. *Br. Vet. J.* 131: 681-690, 1975.
22. **Hunter, R.H.F.:** Pre-ovulatory arrest and pre-ovulatory redistribution of component spermatozoa in the isthmus of the pig oviduct. *J. Reprod. Fertil.* 72: 203-221, 1984.
23. **Katz, D.F., Drobnis E.Z., Overstreet, J.W.:** Factors regulating mammalian sperm migration through the female reproductive tract and oocyte vestments. *Gamete Res.* 22: 443-469, 1989.
24. **Marinov, M.F., Petrov, Z.:** Sperm forward movement in female genital tract of sheep. *Vet Med. Nauki.* 20: 28-33, 1988.
25. **Suarez, S.S., Brockman, K., Lefebvre, R.:** Distribution of mucus and sperm in bovine oviducts after artificial insemination: the physical environment of the oviductal sperm reservoir. *Biol. Reprod.* 56: 447-453, 1997.
26. **Suarez, S.S.:** Carbohydrate-mediated formation of the oviductal sperm reservoir in mammals. *Cell. Tiss. Org.* 168: 105-111, 2001.
27. **Nagai, T., Moor R.M.:** Effect of oviduct cells on the incidence of polyspermy in pig eggs fertilized *in vitro*. *Mol. Reprod. Dev.* 26: 377-382, 1990.

28. **Voplglamyr, J.K., Sawyer, R.F.Jr.:** Surface transformation of ram spermatozoa in uterine, oviduct and cauda epididymal fluids *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.* 78: 315-325, 1986.
29. **Hunter, R.H.F., Fléchon, J.E.:** Distribution, morphology and epithelial interactions of bovine spermatozoa in the oviduct, before and after their ovulation: a scanning electron microscope study. *Tissue Cell.* 23: 641-656, 1991.
30. **Kouba, A.J., Abeydeera, L.R., Alvarez, I.M., Day B.N., Buhi, W.c.:** Effects of porcine oviduct-specific glycoprotein (pOSP) on fertilization and polyspermy (abstract). *Bioi. Reprod. (Suppl. 1)* 60: 434,1999.
31. **Kouba, A.J., Abeydeera, L.R., Alvarez, I.M., Day, B.N., Buhi, W.C.:** Effect of the porcine oviduct-specific glycoprotein on fertilization, polyspermy and embryonic development *in vitro*. *Bioi. Reprod.* 63: 242-250, 2000a.
32. **Pollard, J.W., Plante, C., King, W.A., Hansen, P.J., Betteridge, K.J., Suarez, S.:** Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial cells. *Biol. Reprod.* 44: 102-107, 1991.
33. **Cooper, G.W., Overstreet, J.W., Kats, D.F.:** The motility rabbit spermatozoa recovered from the female reproductive tract. *Gamete Res.* 2: 35-42, 1979.
34. **Jansen, R.P.S.:** Fallopian tube isthmic mucus and ovum transport. *Science* 201: 349-351, 1978.
35. **Jansen, R.P.S., Bajpai, V.K.:** Oviduct acid mucus glycoproteins in the estrous rabbit: ultrastructure and histochemistry. *Bioi. Reprod.* 26: 155-168, 1982.

36. **Smith, T.T., Yanagimachi, R.:** Attachmen and release of spermatozoa from the caudal isthmun of the hamster oviduct. *J. Reprod. Fertil.* 91: 567-572, 1991.
37. **Harper MJK.:** Gamete and zygote transport. In *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. E. Knobill and J.D. Nell editors. Raven Press N.Y. 1994.
38. **Yanagimachi R.:** Mammalian fertilization. In *The Physiology of Reproduction*. First edition. E. Knobill and J.D. Nell editors. Raven Press N.Y. 1988.
39. **Chang, M.C., Austin, C.R., Bedford, J.M., Brackett, B.G., Hunter, R.H.F., Yanagimachi, R.:** Capacitation of spermatozoa and fertilization in mammals. En: *Frontiers in Reproduction and Fertility Control*. Greep RO, Koblinski MA, eds .. A Review of the Reproductive Sciences and Contraceptive Development. Cambridge MA. MIT Press pp. 434-451, 1977.
40. **Enherwald, E., Foote, R.H., Parks, J.E.:** Bovine oviductal fluid components and their potential role in sperm cholesterol efflux. *Mol. Reprod. Dev.* 25: 195-204, 1990.
41. **Harper, M.J.K, Chang, M.C.:** Some aspects of the biology of mammalian eggs and spermatozoa. *Adv. Reprod. Physiol.* 5: 167-218, 1971.
42. **Ellington, J.E., Meyers-Wallen, V.N., Ball, B.A.:** Establishment of a coculture system for canine sperm and uterine tube epithelial cells. *Veterinary Record* 136: 542-543, 1995.
43. **Kawakami, E., Hori, T., Tsutsumi, T.:** Induction of dog sperm capacitation by oviductal fluid *J. Vet. Med. Sci.* 60: 197-202, 1998.

44. **Corselli, J., Talbot, P.:** *In Vitro* penetration of hamster oocyte cumulus complex using physiological numbers of sperm. *Dev. Biol.* 122: 227-242, 1987.
45. **Hunter, R.H.F., Léglise, P.C.:** Polyspermic fertilization following tubal surgery in pigs, with particular reference to the role of the isthmus. *J. Reprod. Fertil.* 24: 233-246, 1971a.
46. **Hunter, F.H.F., Léglise, P.C.:** Tubal surgery in the rabbit: fertilization and polyspermy after resection of the isthmus. *Am. J. Anat.* 132: 145-152, 1971b.
47. **Gandolfi, F., Moor, R.M.:** Stimulation of early embryonic development in the sheep by coculture with oviduct epithelial cells. *J. Reprod. Fertil.* 81: 23-28, 1987.
48. **Gandolfi, F., Brevini, T.A., Modina, S., Passoni, L.:** Early embryonic signals embryo-maternal interactions before implantation. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 269-276, 1992.
49. **Swanson, W.F., Roth, T.L., Godke, R.A.:** Persistence of the developmental block of *in vitro* fertilized domestic cat embryos to temporal variations in culture conditions. *Mol. Reprod. Dev.* 43: 298-305, 1996.
50. **Glass, R.H.:** Fate of rabbit eggs fertilized in the uterus. *J. Reprod. Fertil.* 31: 139-141, 1972.
51. **Kapur, R.P., Johnson, L.V.:** Selective sequestration of an oviductal fluid glycoprotein in the perivitelline space of mouse oocytes and embryos. *J. Exp. Zool.* 238: 249-260, 1986.
52. **Gandolfi, F., Modina, S., Brevini, T.A., Galli, C., Moor, R.M., Lauria, A.:** Oviduct ampullary epithelium contributes a

- glycoprotein to the zona pellucida perivitelline space and blastomeres membrane of sheep embryos. *Eu. J. Basic. Appl. Histochem.* 35: 383-392, 1991.
53. **Boice, M.L., McCarthy, T.J., Mavrogianis, P.A., Fazleabas, A.T., Verhage, H.G.:** Localization of oviductal glycoproteins within the zona pellucida and perivitelline space of ovulated ova and early embryos in baboons (*Papio anubia*). *Biol. Reprod.* 43: 340-346, 1990.
54. **Lagow, E., DeSouza, M. M., Carson, D.D.:** Mammalian reproductive mucins. *Hum. Reprod. Up.* ~5: 280-292, 1999.
55. **Kan, F.W.K., St-Joques, S., Blew, G.:** Immunocytochemical evidence for the transfer of an oviductal antigen to the zona pellucida of hamster ova after ovulation. *Biol. Reprod.* 40: 585-598, 1989.
56. **Leveille, M.C., Roberts, K.D., Chevalier, S., Chapdelaine, A., Bleau, G.:** Uptake of an oviductal antigen by the hamster zona pellucida. *Biol. Reprod.* 36: 227-238, 1987.
57. **Kan, F.W., Roux, E., St-Jacques, Bleau, G.:** Demonstration by lectin-gold cytochemistry of transfer of glycoconjugates of oviductal origin to the zona pellucida of oocytes after ovulation in the hamster. *Anat. Rec.* 226: 37-47, 1990.
58. **Abe, H., Oikawa, T.:** Immunocytochemical localization of an oviductal zona pellucida glycoprotein in the oviductal epithelium of the golden hamster. *Anat. Rec.* 229: 305-314, 1991.
59. **Malette, B., Paquette, Y., Bleau, G.:** Oviductins possess chitinase and mucin-like domains: a lead in the search for the

biological function of these oviduct-specific ZP-associating glycoproteins. *Mol. Reprod. Dev.* 41: 384-397, 1995.

60. **Bailly, A., Atger, M., Atger, P., Cerbón, M.A., Alizon, M., Vu Hai, M.T., Logeat, F., Milgrom, E.:** The rabbit uteroglobin gene. Structure and interaction with the progesterone receptor. *J. Biol. Chem.* 258: 10384-10389, 1983.
61. **GutierrezSagal, R., Perez-Palacios, G., Langley, E., Pasapera, A.M., Castro, I., Cerbón, M.A.:** Endometrial expression of progesterone receptor and uteroglobin genes during early pregnancy in the rabbit. *Mol. Reprod. Dev.* 34: 244-249, 1993.
62. **Cerbón, M.A., Pasapera, A.M., Gutierrez-Sagal, R., García, G.A., Perez-Palacios, G.:** Variable expression of the uteroglobin gene following the administration of norethisterone and its A ring reduced metabolites. *J. Ster. Biochem.* 36: 1-6, 1990.
63. **Pasapera, A.M., Cerbón, M.A., Castro, I., Gutiérrez R., Camacho-Arroyo, I., García, G.A., Pérez-Palacios, G.:** Norethisterone metabolites modulate the uteroglobin and progesterone receptor gene expression in prepubertal rabbits. *Biol. Reprod.* 52: 426-32, 1995.
64. **Perez-Palacios, G., Cerbon, M.A., Pasapera, A.M., Castro, J.I., Enriquez, J., Vilchis, F., Garcia, G.A., Morali, G., Lemus, A.E.:** Mechanisms of hormonal and anti hormonal action of contraceptive progestins at the molecular level. *J. Ster. Biochem. Mol. Biol.* 41: 479-85, 1992.
65. **Castro, I., Cerbon, M.A., Pasapera, A.M., Gutiérrez-Sagal, R., García, G.A., Orozco, C., Camacho-Arroyo, I., Anzaldúa, R., Pérez-Palacios, G.:** Molecular mechanisms of the

antihormonal and antiimplantation effects of norethisterone and its A-ring reduced metabolites. *Mol. Reprod. Dev.* 40: 157-163, 1995.

66. **Krishnan, R.S., Daniel, J.e.** : Blastokinin inducer and regulator of blastocyst development in the rabbit uterus. *Science* 158: 490-492, 1967.
67. **García, C., Regalado, F., López de Haro, M.S., Nieto, A.:** Ultrastructural localization of epididymal secretory proteins associated with the surface of spermatozoa from rabbit cause epididymis. *Histochem. J.* 20: 708-714, 1988.
68. **De la Torre, J., López Haro, M.S., Nieto, A.:** Ultrastructural and kinetic studies of uteroglobin secretion in the uterus and oviduct of the pseudopregnant rabbit. *Histochem. J.* 19: 572-578, 1987.
69. **Krischner, C.:** Uteroglobin in the rabbit. Intracellular localization in the oviduct, uterus and preimplantation blastocyst. *Cell. Tissue Res.* 170: 415-424, 1976.
70. **Gonzalez, M., Garcia, C., Nieto, A.:** Regional differences in uteroglobin biosynthesis along the rabbit oviduct: immunohistochemical and biochemical studies. *Histochem. J.* 28: 209-215, 1996.
71. **Miele, L., Cordella-Miele, E., Murkherjee.:** Structure, molecular biology and new perspectives on its function as a phospholipase A2 inhibitor. *Endocrinol. Rev.* 8: 474-490, 1987.
72. **Beier, H.M.:** The discovery of uteroglobin and its significance for reproductive biology and endocrinology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 923: 9-24, 2000.

73. **Muller-Schottle, F., Classen-Linke, I., Alfer, J., Krusche, C., Beier-Hellwig, K., Sterzik, K., Beier, H.M.:** Expression of uteroglobin in the human endometrium. *Mol. Hum.Reprod.* 5: 1155-1161, 1999.
74. **Sutton, R., Nancarrow, C.D., Wallace, A.L.C., Rigby, N.W.:** Identification of an Oestrus-associated glycoprotein in oviductal fluid of the sheep. *J. Reprod. Fertil.* 72: 415-422, 1984.
75. **Malayer, L.R., Hansen P.J., Buhi, W.C.:** Secretion of proteins by cultured bovine oviducts collected from estrus through early diestrus. *J. Exp. Zool.* 248: 345-353, 1988.
76. **Nancarrow, C.D., Wallace, A.L., Grewal, A.S.:** The early pregnancy factor of sheep and cattle . *J. Reprod. Fertil.* 30 Suppl.: 191-199, 1981.
77. **DeSouza-M.M., Murray-M.K.:** An estrogen-dependent secretory protein, which shares identity with chitinases, is expressed in a temporally and regionally specific manner in the sheep oviduct at the time of fertilization and embryo development. *Endocrinology-Philadelphia.* 136: 2485-2496, 1995. -
78. **Nancarrow, C.D., Hill J.L.:** Oviduct proteins in fertilization and early embryo development. *J. Reprod. Fertility Supp* 49: 3-13, 1995.
79. **Simmen, F.A., Simmen, R.C.M.:** Peptide growth factors protoncogenesis in mammalian conceptus development. *Biol. Reprod.* 44: 1-5, 1991.
80. **Gandolfi, F.:** Autocrine, paracrine and environmental factors influencing embryonic development from zygote to blastocyst. *Theriogenology* 41: 95-100, 1994.

81. **Werb, Z.:** Expression of EGF and TGF- α genes in early mammalian development. *Mol. Reprod. Dev.* 27: 10-15, 1990.
82. **Gardner, H.G., Kaye, P.L.:** Insuline increases cell number and morphological development in mouse pre-implantation embryos *in vitro* *Reprod. Fertil. Dev.* 3: 79-91, 1991.
83. **Harvey, M.B., Kaye, P.L.:** Mouse blastocysts respond metabolically to short-term stimulation by insulin and IGF-I through the insulin receptor. *Mol. Reprod. Dev.* 29: 253-258, 1991a.
84. **Harvey, M.B., Kaye, P.L.:** Insuline-like growth factor -1 stimulates of growth of mouse preimplantation embryos *in vitro*. *Mol. Reprod. Dev.* 31: 195-199, 1992.
85. **Rappole, D.A., Brenner, C.A., Schultz, R., Mark, D., Werb, Z.:** Developmental expression of PDGF, TGF- α and TGF- β genes in preimplantation mouse embryos. *Science* 241: 1823-1825, 1988.
86. **Harvey, M.B., y Kaye, P.L.:** Visualization of insulin receptors on mouse pre-embryos. *Reprod. Fertil. Dev.* 3: 9-15, 1991b.
87. **Harvey, M.B., Kaye, P.L.:** Insulin stimulates mitogenesis of the inner cell mass and morphological development of mouse blastocysts. *Development* 110: 963-967, 1990.
88. **Harvey, M.B., Kaye, P.L.:** IGF-2 receptors are first expressed a the tow-cells stage of mouse development. *Development* 111: 1057-1060, 1991c.
89. **Lechter, R., Simmen, R.C.M., Bazer, F.W., Simmen, F.A.:** Insuline -like growth factor I expression during early conceptus development in the pig. *Biol. Reprod.* 41: 1143-1151, 1989.

90. **Hofig, A., Michel, F .J., Simmen, R.C.M.:** Constitutive expression of uterine receptors of insuline-like growth factor I during preimplantation period in the pig. *Biol. Reprod.* 45: 533-539, 1991a.
91. **Hofig, A., Simmen, F.A., Bazer, F.W., Simmen, R.C.M.:** Effect of insuline-like growth factor -I on aromatase cytochrome P450 acti vity and estradiol biosynthesis in preimplantation pig conceptuses *in vitro*. *J. Endocrinol.* 130: 245-250, 1991b.
92. **Murphy, L.J., Ghahary, A.:** Uterine insuline-like growth factorI: regulation of expression and its role n estrogen-induced uterine proliferation. *Endocrine Rev.* 11: 443-453, 1990.
93. **Estrada, J.L., Jones, E.E., Johnson, B.H., Petters, R.M.:** Effect of insulin-like growth factor-I on protein synthesis in porcine embryonic discs cultured in vitro. *Biol. Reprod.* 93: 53-61, 1991.
94. **Herrler, A., Einspanier, R., Beier, H.M.:** Binding of IGF-1 to preimplantation rabbit embryos and their coats. *Theriogenology* 47: 1595-1607, 1997.
95. **Fukui, Y.; Saito, T.; Miyamoto, A.; Yamashina -H.; Okamoto, Y.:** Effect of human leukemia inhibitory factor on *in vitro* development of parthenogenetic bovine morulae. *Theriogenology* 42: 1133-1139, 1994.
96. **Han, Y.M., Lee, E.S., Mogoe, T., Lee, K.K., Fukui, Y. :** Effect of human leukemia inhibitory factor on *in vitro* development of IVF-derived bovine morulae and blastocysts. *Theriogenology.* 44: 507-516, 1995.
97. **Yang, Y.Q., Kudolo, G.B., Harper, M.J.K.:** Binding of platelet acti vating factor to oviductal membranes during early pregnancy in the rabbit. *J. Lipid. Med.* 5: 77-96, 1992.

98. **Braquet, P., Touqui, L., Shen, T.Y., Vargafig, B.B.:** Perspectives in platelet-activating research. *Pharmacol. Rev.* 39: 97-145, 1987.
99. **Pinekard, R.N., McManus, L.M., Hanahan, D.J.:** Chemistry and biology of acetyl glyceril ether phosphoryleholine (platelet activating factor). *Ad. Inflammation Res.* 4: 147-180, 1982.
100. **Spinks, N.R., Ryan, J.P., O'Neill, C.:** Antagonists of embryo-derived platelet-activating factor act by inhibiting the ability of the mouse embryo to implant. *J. Reprod. Fertil.* 88: 241-248, 1990.
101. **Orozco, C., Perkins, T., Clarke, F.M.:** Platelet-activating factor induces the expression of early pregnancy factor in female mice. *J. Reprod. Fertil.* 78: 549-555, 1986.
102. **Sueoka, K., Dharmarajan, A.M., Myazaki, T., Atlas, S.J., Wallach, E.E.:** Platelet activating factor induced early pregnancy factor activity from the perfused rabbit ovary and oviduct. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 159: 1580-1584, 1988a.
103. **Morton, H., Hegh, V., Clunie, G.J.A.:** Immunosuppression detected in pregnant mice by resette inhibition test. *Nature* 249: 459-460, 1974.
104. **Morton, H., Morton, D.J., Ellendorff, F.:** The appearance and characteristics of early pregnancy factor in the pig. *J. Reprod. Fertil.* 68: 437-446, 1983.
105. **Sueoka, K., Dharmarajan, A.M., Michael, E., Atlas, S.J., Wallach, E.E.:** Detection of early pregnancy factor (EPF) using the rabbit ovary and oviduct perfused *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.* 84: 325-331, 1988b.

106. **Koch, E., Morton, H., Ellendorf, F.:** Early pregnancy factor, biology and practical application *Br. Vet. J.* 139: 52-58, 1983.
107. **Clarke, F.M., Morton, H., Rolfe, B.E., Gidley,-Baird, A.A.:** Partial characterization of early pregnancy factor in the sheep. *J. Reprod. Immunol.* 2: 97-110, 1980.
108. **Rolfe, B.E., Cavanagh, A.C., Forde, C., Bastin, F., Chen, C., Morton, H.:** Modified rosette inhibition test with mouse lymphocytes for detection of early pregnancy factoring human pregnancy serum. *J. Immunol. Methods.* 70: 1-11, 1984.
109. **Clarke, F.M., Morton, H., Clunie, G.J.A.:** Detection and separation of tow serum factors responsible for depression of lymphocyte activity in pregnancy. *Clin. Exp. Immunol.* 32: 318-323,1978.
110. **Cooper, D.W., Atken, R.J.:** Failure to detect altered rosette inhibition titres in human pregnancy serum. *J. Reprod. Ferti!*. 61: 241-245, 1981.
111. **White, A., Heap, R.B.:** Early pregnancy factor. *Nature* 304: 121-122, 1983.
112. **Watson, A.J., Hogan, A., Hahnel, A., Wiemwr, K.E., Schultz, G.A.:** Expression of growth factor ligand and receptor genes in the preimplantation bovineembryo. *Mol. Reprod. Dev.* 31: 87-95, 1992.
113. **Kouba, A.J., Alvarez, I. M., Buhi, W.C.:** Identification and localization of plasminogen activator inhibitor-1 within the porcine oviduct. *Biol. Reprod.* 62: 501-510, 2000b.
114. **Kouba, A. J.A., Burkhardt, B. R., Alvarez, I. M., Goodenow, M. M., Buhi, W. C.:** Oviductal plasminogen activator inhibitor-

- 1 (PAI-I): mRNA, protein, and hormonal regulation during the estrous cycle and early pregnancy in the pig. *Mol. Reprod. Dev* 56: 378-386, 2000c.
115. **Pauerstein, C.J., Eddy, C.A., Koong, M.K., Moore, G.D.:** Rabbit endosalpinx suppresses ectopic implantation. *Fertil. Steril.* 54:522-526,1990.
116. **Tanaka, T., Fujimoto, S., Sakuragi, N., Ichinoe, K.:** Estrogen formation from cholesterol in the rabbit preimplantation blastocysts and corpora lutea *in vitro*. *Int. J. Fertil.* 33: 212-215, 1988.
117. **Heap, R.B., Hamon, M.H., Allen, W.R.:** Oestrogen production by the preimplantation donkey conceptus compared with that of the horse and effect of between-species embryo transfer. *J. Reprod. Fertil.* 93: 141-147, 1991.
118. **Wilson, J.M., Zalesky, D.D. Looney, C.R., Bondioli, K.R., Magnes, R.R.:** Hormone secretion by preimplantation embryos in dynamic *in vitro* culture system. *Bioi. Reprod.* 46: 295-300,1992.
119. **Chakraborti, C. Davis, D.L., Dey, S.K.:** Estradiol 15 a-hydroxylation a new avenue of estrogen metabolism in peri-implantation pig blastocysts. *J. Steroid. Biochem.* 35: 209-219, 1990.
120. **StetTeenhagen, W.P., Pineda, M.H., Gnther, O.J.:** Retention of unfertilized ova in uterine tubes of mares. *Am. J. Vet. Res.* 33.: 2391-2398, 1972.
121. **Betteridge, K.J., Mitchell, D.:** Direct evidence of retention of unfertilized ova in the oviduct of the mare. *J. Reprod. Fertil.* 39: 145-148, 1974.

122. **Flood, P.F., Jong, A., Betteridge, K.J.:** The location of eggs retained in the oviducts of mares. *J. Reprod. Fertil.* 57: 291-294, 1979.
123. **Weber, J.A., Freeman, D.A., Vanderwall, D.K., Woods, G.L.:** Prostaglandin E₂ hastens oviductal transport of equine embryos. *Biol. Reprod.* 45: 544-546, 1991b.
124. **Bodkne, R.R., Harper, M.J.K.:** Mechanism of egg transport: changes in amount of adrenergic transmitter in the genital tract of normal and hormone treated rabbits. En: *The Regulation of Mammalian Reproduction*. Segal, S.J., Crozier, R., Corfman, P.A., Condiffe, P.G. editores. NIH Symposium. Springfield, I.L. pp. 364-374, 1973.
125. **Khatchadourian, C., Menezo, Y., Gerard, M., Thibault, T.:** Catecholamines within the rabbit oviduct at fertilization time. *Hum. Reprod.* 2: 1-5, 1987.
126. **Ge, Z.H., Spicer, S.S.:** Immunocytochemistry of ion transport mediators in the genital tract of female rodents. *Biol. Reprod.* 38: 439-452, 1988.
127. **Ward, J.P., Watson, P.F., Noakes, D.E.:** Chronic *in situ* monitoring of the free calcium ion concentration in the uterine tubes and horns of the sheep. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*. 94: 765-769, 1989.
128. **Grippio, A.A., Henault, M.A., Anderson, S.H., Killian, G.J.:** Cation concentration in fluid from the oviduct ampulla and isthmus of cows during the estrous cycle. *J. Dairy. Sci.* 75: 5865, 1992.

129. **Ebihara, T., Yoshimura, M.:** Role of endosalpinx in the oviductal environment. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 4: 881-887, 1989.
130. **Kim, S.H., Cho, K.W., Kim, S.Z., Koh, G.Y.:** Characterization of the atrial natriuretic peptide system in the oviduct. *Endocrinology* 138: 2410-2416, 1997.
131. **Lapointe, S., Ahmad, I., Buhr, M.M., Lambert, R.D., Sirard, M.A.:** Modulation of postthaw motility, survival, calcium uptake, and fertility of bovine sperm by female genital products. *J. Dairy. Sci.* 79: 2155-2162, 1996.
132. **Casida, L.E.:** Fertilization failure and embryonic death in domestic animals. En: *Pregnancy Wastage*. Earle Eangle ed., Springfield IL., 1953.
133. **Roberts, M.R., Shalve-Francis, T., Francis, H., Keisler, D.:** Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 33: 175-183, 1990.
134. **Martal, J., Chene, N., Camous, S. Huynh, L., Lantier, F., Hermier, P. L., Haridon, R., Charpigny, G., Charlier, M., Chaouat-G.:** Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy. *Reprod. Fertil-Dev.* 9: 355-380, 1997.
135. **Anzaldúa, S.R., Camacho-Arroyo, I., Garcia, G.A., Cerbón, M.A.:** Differential effects of 5alpha-norethisterone on the histomorphology of the oviduct and uterus of the pregnant rabbit. *Contraception-Stoneham.* 57: 349-355, 1998.