

La ciencia de la espermatozoides: del origen de la disciplina al paradigma actual

Marc Yeste Oliveras



Reial Acadèmia Europea de Doctors
Real Academia Europea de Doctores
Royal European Academy of Doctors

BARCELONA - 1914



MARC YESTE OLIVERAS es Licenciado en Biología por la Universidad de Girona, *Doctor Europaeus cum laude* en Biología Celular, y Licenciado en Ciencias Políticas y Sociología por la Universidad Nacional de Educación a Distancia (premio extraordinario fin de carrera al mejor expediente). Fue investigador visitante en el *Institute of Zoology* de Londres, investigador Juan de la Cierva en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad Autónoma de Barcelona, investigador Marie Curie en el *Nuffield Department of Women's and Reproductive Health* de la Universidad de Oxford, e investigador Ramón y Cajal en el Departamento de Biología de la Universidad de Girona. Actualmente, es Investigador ICREA Academia y profesor en las Facultades de Medicina y Enfermería de esta universidad, además de profesor del máster en Embriología Clínica de la Universidad de Oxford.

Su investigación se ha centrado en la biología de la reproducción de distintas especies de mamíferos, incluyendo la humana. Ha publicado más de 240 artículos y 17 capítulos de libro, y participado en más de 100 proyectos de investigación y contratos con empresas (IP en más de 40), algunos financiados por la Comisión Europea. Coordina el grupo consolidado de investigación UAB-UdG en biotecnología de la reproducción de la Generalitat de Catalunya. Ha dirigido 16 tesis doctorales, y supervisado ocho investigadores postdoctorales y 27 trabajos de fin de Master.

Es Editor-in-Chief de *Animal Reproduction Science*, Editor Senior de *Scientific Reports*, y Editor Asociado de *BMC Biology, Reproduction, Fertility and Development*, y *Frontiers in Endocrinology*. Es, además, Fellow de la *Higher Education Academy*, la *Royal Society of Biology*, y la *Young Academy of Europe*, de la que también es secretario.

La ciencia de la espermatozoides: del origen de la disciplina al paradigma actual

Excmo Sr. Dr. D. Marc Yeste Oliveras

La ciencia de la espermatología: del origen de la disciplina al paradigma actual

Discurso de ingreso en la Real Academia Europea de Doctores, como
Académico Correspondiente, en el acto de su recepción
el 21 de diciembre de 2023

por

Excmo Sr. Dr. D. Marc Yeste Oliveras
Doctor en Biología Celular

Y contestación de la Académica Numeraria

Excma. Sra. Dra. D^a. M. Àngels Calvo Torras
Doctora en Veterinaria y en Farmacia

COLECCIÓN REAL ACADEMIA EUROPEA DE DOCTORES



Reial Acadèmia Europea de Doctors
Real Academia Europea de Doctores
Royal European Academy of Doctors
BARCELONA - 1914
www.raed.academy

© Marc Yeste Oliveras
© Real Academia Europea de Doctores

La Real Academia Europea de Doctores, respetando como criterio de autor las opiniones expuestas en sus publicaciones, no se hace ni responsable ni solidaria.

Quedan rigurosamente prohibidas, sin la autorización escrita de los titulares del “Copyright”, bajo las sanciones establecidas en las leyes, la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático y la distribución de ejemplares de ella mediante cualquier medio o préstamo público.

Producción Gráfica: Ediciones Gráficas Rey, S.L.

Impreso en papel offset blanco Superior por la Real Academia Europea de Doctores.

ISBN: 978-84-09-57280-9

D.L: B 22201-2023

Impreso en España –Printed in Spain- Barcelona

Fecha de publicación: diciembre 2023

❖ PRESENTACIÓN

Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia Europea de Doctores,

Excelentísima Sra. Vicepresidenta de la Real Academia Europea de Doctores,

Excmos. Sres. Académicos presentes en la sala y que nos acompañan de forma telemática,

Compañeros de la Universidad de Girona y de la Universidad Autónoma de Barcelona, que me habéis dado la satisfacción de acompañarme en un día tan importante como éste,

Familia, amigos y amigas, señoras y señores,

Es para mí un gran honor y un gran orgullo ingresar hoy en la Real Academia Europea de Doctores como Académico Correspondiente de la Sección de Ciencias. Y es que formar parte de una academia, y particularmente de una academia consolidada y centenaria como ésta que cuenta entre sus miembros a científicos distinguidos con el Premio Nobel, es acaso uno de los más grandes honores que un investigador y profesor universitario puede recibir.

Quiero agradecer a la Junta Directiva de la Real Academia Europea de Doctores y en especial a su Presidente, Excmo. Sr. Dr. D. Alfredo Rocafort Nicolau, el haberme elegido para tan honroso cometido, y a la Vicepresidenta, académica de número y antigua compañera en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona, Excma. Sra. Dra. Dña. María Àngels Calvo Torras, por haber aceptado dar respuesta a este discurso en nombre de esta real e ilustre corporación.

En las secciones que siguen se van abordar - después de hacer una breve referencia a la importancia de las academias en el desarrollo del saber -, las cuestiones epistemológicas más elementales para la definición de la espermatología como ciencia, incluyendo la aplicación del concepto de paradigma; los orígenes y el desarrollo histórico de esta disciplina, a medio camino entre la biología celular, la andrología y la fisiología de la reproducción; y las evidencias más recientes que sugieren que el espermatozoide tiene un papel más complejo que el de simple transmisor de la información genética paterna al oocito.



ÍNDICE

| | |
|--|------------|
| PRESENTACIÓN | 7 |
| DISCURSO DE INGRESO | 11 |
| 1. Las academias y el saber | 11 |
| 2. Saber y ciencia | 21 |
| 3. Epistemología de la espermatología | 25 |
| 4. Los orígenes de la espermatología como ciencia biológica | 35 |
| 5. La contribución del factor masculino a la fecundación y a la embriogénesis | 101 |
| 6. Conclusión: ¿hacia un cambio de paradigma? | 153 |
| REFERENCIAS | 155 |
| DISCURSO DE CONTESTACIÓN | 225 |
| Publicaciones de la Real Academia Europea de Doctores | 235 |



❖ 1. LAS ACADEMIAS Y EL SABER

Las academias nacieron durante la segunda mitad del siglo XVII, cuando las universidades estaban centradas en la actividad docente y era preciso encontrar un refugio para las labores investigadoras (Solís y Sellés, 2022). Entre los años 1660 y 1727, asistió Europa a la creación de importantes sociedades científicas tanto públicas como privadas (Gribbin, 2003). Entre otras sociedades creadas, cabe destacar la *Accademia del Cimento*, fundada en 1657 por seguidores de Galileo y financiada por Leopoldo de Médici; la *Royal Society* de Londres (Fig. 1), de naturaleza privada, fundada en 1660 por un grupo de investigadores que sufragaron su creación pagando las correspondientes cuotas; y la *Académie Royale des Sciences* de París (Fig. 2), fundada en 1666 y de carácter público que actuaba de cuerpo consultivo del Estado (McClellan III, 1981; Bereta et al., 2009; Andrade, 2010; Greffe y Griset, 2016). La *Académie Royale des Sciences* tenía la capacidad de contratar investigadores y proporcionarles laboratorios para que llevaran a cabo sus trabajos, además de organizar expediciones y convocar concursos científicos (Solís y Sellés, 2022). El modelo de la Academia francesa inspiró el de otras academias, como las de Berlín, fundada en 1700, y San Petersburgo, establecida en 1724. El nacimiento de estas academias se explica, en parte, por la necesidad de reunir los conocimientos científicos y técnicos, y por el interés de algunos estados, como el francés, de tener a su disposición un cuerpo consultivo especializado, que hiciera efectivo el nexo entre la teoría y la práctica - aún poco consolidado - (Stewart Saunders, 1984; Gribbin, 2003).

El fomento de la actividad científica por parte de las academias llevó aparejado la publicación de las primeras revistas científicas, incluyendo las *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, editadas por Henry Oldenburg desde 1665 y aún en activo; y el *Journal des Scavans* (después *Journal des Savants*), la revista literaria más antigua de Europa, fundada por Colbert e impulsada por la *Académie Royale des Sciences* de París en 1665 (Vittu, 2005). De modo privado, también se empezaron a publicar las *Nouvelles de la république des lettres* (1684) de Pierre Bayle y las *Acta eruditorum* (1682) (Labrousse, 1985; Solís y Sellés, 2022). El fomento de la actividad científica también supuso la fabricación, por parte de personas vinculadas de un u otro modo a las academias, de instrumentos científicos ligados a la navegación, la astronomía y la topografía, tales como la bomba de vacío, los cronómetros, el barómetro, el termómetro, el telescopio y el microscopio, que hicieron más exacta la recogida de datos y abrieron nuevos campos de investigación (Boorstin, 2000; Gribbin, 2003).

Figura 1. Acta constitutiva de la Royal Society (1662).

<https://www.historytoday.com/archive/royal-societys-first-charter>.



Figura 2. Establecimiento de la Academia de las Ciencias de París y fundación del Observatorio, de Henri Testelin (1666). <https://histoire-image.org/etudes/colbert-presente-louis-xiv-membres-academie-royale-sciences>.



En este desarrollo científico, algunos autores han visto en la novela utópica “La Nueva Atlántida” de Francis Bacon, publicada en 1627, un modelo inspirador para sociedades como la *Royal Society* de Londres (Lucas, 2018). Otros han considerado que la obra de Bacon fue el germen de la *Encyclopédie*, nombre que se le dio a la primera recopilación de la “historia natural de las artes y oficios” (Solís y Sellés, 2022). Aunque las academias científicas se crearan en el siglo XVII, cabe señalar que casi un siglo antes, en 1582, fundó Felipe II la Academia de Matemáticas de Madrid (Fig. 3). Su promotor, Juan de Herrera, estaba convencido de la utilidad de las matemáticas para la navegación y la defensa (Piñeiro, 2002; García Novo, 2020). El Rey consideraba, sin embargo, que éste era un saber secreto que debía mantenerse oculto para que no contaminara a sus súbditos. Así, mientras que comprobaba instrumentos y contrataba alquimistas y técnicos de cualquier parte de Europa, Felipe II les prohibía a los españoles salir a las universidades europeas y leer libros potencialmente peligrosos (Solís y Sellés, 2022). En este ambiente, y dado que tampoco las actividades

de la agricultura y de la industria eran demasiado significativas, se produjo un declive de la Academia que se disolvió en 1625. La Academia fue sustituida por el Colegio Imperial, que regentaron los jesuitas y que abordó las cuestiones científicas de modo más superficial, dirigiéndose a las curiosidades más que al núcleo fundamental de los problemas (Miguel Alonso, 2022). Como embrión de las academias puede también destacarse la sociedad napolitana *Accademia Segreta* de Giralomo Ruscelli, de carácter privado y una de las más antiguas (fundada en 1541). Tanto esta sociedad como la *Accademia Secretorum Natura*, también establecida en Nápoles a mediados del siglo XVI, estuvieron, no obstante, muy influenciadas por el estudio experimental de los secretos ocultos de las medicinas y las explicaciones racionales de la magia (Eamon y Paheau, 1984).

Figura 3. Institución de la Real Academia de Matemáticas por Felipe II (Juan de Herrera, 1584). <https://fuenteshda.hypotheses.org/381>.

INSTITUCION

DE LA ACADEMIA
REAL MATHEMATICA
en Castellano, que la Magestad
del Rey Don Philippe. II.
N.S. mando fundar
en su Corte.

DIRECIONADA
S. C. R. M. del Rey Don
Philippe nuestro
Señor.

IMPRESO EN MADRID,
en casa de Guillermo Dr. y H.
previsor de Libros. Año de
1584.

Durante el siglo XVII, las academias, más flexibles que las universidades, acogieron con suma facilidad a los investigadores y mostraron interés por sus trabajos. A pesar de ello - y con la excepción de la Academia de París -, los científicos que lleva-

ban a cabo estas labores no tenían ningún apoyo económico por parte de dichas instituciones (Solís y Sellés, 2022). Posteriormente, y ya en el siglo XVIII, las academias continuaron contribuyendo de modo decisivo al desarrollo de las ciencias naturales, pues, como sucedía en siglos precedentes, las universidades aún mostraban escaso apoyo a las nuevas ciencias. De hecho, todavía se mantenía la división entre las facultades llamadas mayores (teología, derecho y medicina, por orden de importancia) y menores denominadas “de artes”, cuyos estudios servían de introducción a las otras (Solís y Sellés, 2022). Aunque las funciones de la universidad eran docentes y no investigadoras, algunas disciplinas científicas encontraron acomodo en ciertos estudios. Este fue el caso de las matemáticas y de la física que se impartían en algunas facultades de artes, si bien la física que se enseñaba tenía aún un claro influjo escolástico y especulativo, y no se convertiría en física experimental hasta más adelante. La química y la botánica también se empezaron a impartir en las facultades de medicina. Esta tímida penetración de las ciencias naturales en las universidades contrastaba con la creciente importancia que iban adquiriendo las academias y sociedades científicas durante el siglo XVIII. Así, y siguiendo el camino iniciado por la *Royal Society* de Londres y la *Académie Royale des Sciences* de París, se crearían y reconocerían oficialmente durante todo este siglo numerosas academias tanto en Europa como en América (Bolonia (1714), Estocolmo (1739), Gotinga (1751), Boston (1780) y Edimburgo (1783), entre otras; Solís y Sellés, 2022). El francés fue el modelo más imitado por los países con monarquías absolutas, mientras que el inglés de la *Royal Society*, más democrático y abierto, fue el adoptado por Holanda y los países anglosajones (Dunyach, 2020). De acuerdo con la Constitución de 1716, la Academia francesa contaba con 44 miembros divididos en seis clases, tres del ámbito matemático (geometría, astronomía y mecánica) y tres del campo de la física (química, anatomía y botánica). Los

miembros se distribuían en tres categorías, en orden creciente de importancia: en cada clase había dos adjuntos, dos asociados y tres pensionarios. El número se completaba con el secretario perpetuo y el tesorero, ambos pensionarios (McClellan III, 1981; Solís y Sellés, 2022). Además, existían algunos miembros extranjeros y un número indefinido de miembros correspondientes, que estaban en comunicación con la Academia, de aquí su nombre. Hay que señalar, con todo, que las academias y sociedades científicas eran solo una parte de las instituciones que contribuyeron a la organización de la cultura durante este siglo, y que hubo otras academias (p.ej., de lengua y pintura) así como otras sociedades de carácter profesional (medicina o farmacia) que también jugaron un papel muy importante (García Novo, 2020).

La pertenencia a academias y sociedades científicas fue, por lo general, el único medio de acreditar la condición de filósofo natural - el término “científico” no se empezó a utilizar hasta 1840 - en un momento en que la investigación apenas estaba profesionalizada (Solís y Sellés, 2022). La situación no era mejor desde un punto de vista económico pues solo aquellos que ocupaban puestos universitarios o eran académicos nombrados recibían un pequeño estipendio. Tampoco era muy numeroso el número de académicos que, entre 1699 y 1793, pertenecieron en algún momento a la *Royal Society* de Londres o a la *Académie Royale des Sciences* de París, un total de 174. En todo caso, poco a poco, empezó a incrementar el número de investigadores en los distintos países, lo que dio paso a una comunidad internacional cosmopolita en constante crecimiento. Por otra parte, y si bien los gobiernos no destinaron muchos recursos a la ciencia, asumieron los logros de sus científicos como méritos nacionales. Además, el latín se fue abandonando como medio de expresión, siendo sustituido por los idiomas vernáculos. En otro orden de cosas, hay que referirse al momento crisis que vivió la Academia francesa en las postrime-

rías del siglo XVIII, cuando la Revolución se radicalizó y se suprimieron las instituciones heredadas del Antiguo Régimen. A pesar de ello, no se prescindió de las ciencias: poco antes de la supresión de las academias, los científicos fueron llamados a colaborar en la defensa nacional y algunos de ellos trabajaron en aspectos como la mejora de las técnicas de fundición, la producción de salitre para la fabricación de pólvora o la puesta a punto de un método para la producción a gran escala de hidrógeno con el fin de abastecer a los globos aerostáticos empleados como observatorios militares (Solís y Sellés, 2022). Así pues, aunque sin duda la abolición de las academias en 1793 supuso una ruptura, el vacío institucional que se produjo duró poco y no tardaron en fundarse nuevos organismos. Así, la Academia de Ciencias resurgiría en 1795 como parte de un nuevo organismo: el *Institut National des Sciences et des Arts* (el título de *Académie*, volvería a ser utilizado de nuevo en 1816, con la restauración monárquica).

En el siglo XIX la Academia, sin perder su carácter emblemático como institución y foro privilegiado para la presentación de nuevos resultados y experimentos, pasó a desempeñar un papel complementario al de otras instituciones. Junto a la *Royal Society*, la *Académie Royale des Sciences* francesa o las diversas academias creadas a imagen y semejanza de la Academia de París durante el siglo XVIII - y que aún subsisten -, aparecieron dos nuevos modelos de asociacionismo científico. Uno fue el de las sociedades establecidas a nivel nacional, formadas para apoyar una unidad de intereses y objetivos, definiendo comunidades científicas nacionales y defendiendo la práctica de la ciencia y los intereses de los investigadores. El otro modelo reunió a científicos y curiosos con intereses afines en una disciplina concreta, si bien todavía se estaba lejos del nivel de especialización actual (Solís y Sellés, 2022). Así, durante el siglo XIX aún resultaba deseable compartir la ocupación en una rama de la ciencia más o menos concreta con un buen conocimiento de las otras ramas y una notable cul-

tura humanística. A finales de siglo, se empezó a intensificar el tránsito hacia la especialización y se buscó captar la atención de los estudiantes para que recibieran un amplio elenco de conocimientos particulares. De hecho, la especialización resultaba inevitable, promovida, en términos generales, por la cada vez más variada índole de conocimientos y metodología requeridos en la práctica de cada disciplina, unida a la búsqueda de una condición profesional - o cuanto menos diferenciada - reconocida en cada una de estas disciplinas. Algunas de las sociedades más importantes fueron la *Geological Society* de Londres (1807), la *Zoological Society* de Londres (1826) (Fig. 4), la *Royal Astronomical Society* (1831) y la *Chemical Society* de Londres (1841); la fundación de la *Physical Society* se demoró hasta 1874, mientras que la francesa se fundó el año anterior. También en el siglo XIX se configuraron y comenzaron a adquirir peso académico las ciencias sociales (psicología, sociología y antropología), si bien las dos primeras únicamente fueron consideradas disciplinas diferenciadas a finales de siglo (Solís y Sellés, 2022).

Figura 4. Sede principal de la Zoological Society en el Regent's Park de Londres. <https://londonist.com/london/history/a-brief-history-of-london-zoo>.



Algunas academias fueron, poco a poco, ampliando el número de ámbitos de especialización, de modo que fueron tornándose más transversales; en este modelo se situaría la Real Academia Europa de Doctores, que tiene la virtud de reunir todas las disciplinas. Se puede decir, en fin, que el objetivo de estas academias transversales es abarcar todo el conocimiento, sin limitarse exclusivamente a las denominadas ciencias experimentales. Estas academias se ocupan pues de la ciencia *lato sensu*, en su acepción de saber y conocimiento, lo que incluye las ciencias formales - como la matemática y la lógica -, las ciencias naturales, las ciencias sociales, las técnicas y las artes y humanidades. De lo que hay que entender por “conocimiento” y “saber”, que es de lo que se ocupan las academias, de la definición de “ciencia” - imprescindible para comprender qué es la espermatología -, y de cómo se ha originado esta disciplina y cuál es su principal objeto de estudio se ocupan las dos secciones siguientes.



❖ 2. SABER Y CIENCIA

Habiendo hecho referencia a la fundación de las primeras academias en la Europa moderna, es momento ahora de hablar del objeto de su misión: el saber, y dentro de éste de un tipo particular de saber: el saber científico. La organización de los saberes debe efectuarse de conformidad con dos criterios de inteligibilidad (Goméz-Adanero et al., 2020). Uno de estos criterios se refiere al hecho, esencial, de que el saber está asociado a cierto comportamiento humano y que cualquier tipo de comportamiento humano implica una responsabilidad para quien lo ejerce. Así pues, en la búsqueda de la excelencia del conocimiento científico, el académico no puede - ni debe - olvidar de que además de una dimensión teórica, su actividad no es separable de la ética profesional que la informa. Tampoco puede deslindarse el académico, aunque debe hacer un esfuerzo por la máxima objetividad, de sus propios valores y visión del mundo, pues la condición humana lleva intrínsecamente aparejada una verdad hermenéutica que es previa a la científica y que, amén de radicar en la experiencia estética, es esencialmente retórica y enraíza en el *lebenswelt* husserliano (San Martín, 2013). El segundo criterio asume el realismo ontológico de que todo saber científico se refiere a la existencia de un mundo que existe con independencia del observador (sujeto) y de las teorías que pretenden explicarlo (Diéguez Lucena, 1998). Ahora bien, aunque todo saber debe dirigirse hacia un objeto, el conocimiento del mismo no puede reducirse al método utilizado para entenderlo, pues éste no es sino un instrumento para acercarse a la realidad. Esta cuestión debe admitir, por supuesto, la po-

sibilidad de que las herramientas de las que se dispone, especialmente en el caso de las ciencias naturales, y los paradigmas desde los que el sujeto se enfrenta al objeto, no sean los mejores por insuficientes o inadecuados. Cualquier tipo de ciencia, en la acepción más amplia del término, debe asumir esta limitación cuando intenta acercarse a la verdad. Huelga añadir que la teoría del conocimiento y la epistemología, esto es, las ramas de la filosofía que dicen cómo hay que hacer ciencia para que sea válida y verdadera, no la hacen los científicos sino más bien los filósofos, sobre todo los analíticos. De este modo, se puede decir que no es lo mismo hablar *desde* el conocimiento científico que *sobre* el conocimiento científico, pues lo primero es lo que hacen los científicos y de lo segundo es de lo que se ocupan los filósofos (Goméz-Adanero et al., 2020). Ambos son saberes, saber científico (de primer orden) y saber filosófico (de segundo orden), y ambos tienen cabida en las academias y deben estar en permanente diálogo. Como saber de segundo orden, la filosofía reflexiona sobre los propios fundamentos de la realidad, de modo que su objeto - la verdad -, aun partiendo de las cosas particulares, es universal. Por lo tanto, la epistemología, donde se vincula lo científico con lo filosófico, es la filosofía del conocimiento científico y es fundamental a la hora de hablar de qué son y cómo operan (método y paradigmas) las ciencias.

Como se ha mencionado previamente, dado que la Real Academia Europea de Doctores es una academia de corte transversal, que tiene la pretensión de abarcar todos los saberes, no puede sino contemplar el conocimiento científico (la “ciencia”) desde un sentido amplio y extenso. De acuerdo con Gustavo Bueno, se pueden distinguir cuatro acepciones del término ciencia. En primer lugar, ciencia como “saber hacer”, es decir, como arte o técnica. Sería el caso de la ciencia practicada por el médico, el arquitecto, el abogado o el artesano. En segundo lugar, ciencia como “sistema de proposiciones derivadas de

principios”. A él se adecúan la geometría, la lógica, la filosofía e, incluso, la teología. En tercer lugar, ciencia en el sentido moderno (o propio): las “ciencias positivas”, esto es, las ciencias experimentales como las ciencias naturales. Sería el caso de la ciencia practicada por los científicos de laboratorio, es decir, la biología y, más específicamente, la espermatología. En cuarto y último lugar, ciencia en el sentido contemporáneo (o impropio): las ciencias humanas, ciencias sociales o “ciencias positivas culturales”. Aquí encajarían las ciencias sociales y las ciencias económicas, y sería una extensión de la acepción anterior (Bueno, 1995). Se puede decir que detrás de cada una de estas acepciones del término “ciencia” hay un modelo gnoseológico, que determina qué es lo que hace que un conocimiento pueda ser calificado como “científico”. Aunque las cuatro acepciones se refieren a las ciencias, la tercera acepción, que incluye las ciencias positivas, es la más fuerte y la que toma como referencia la Teoría del Cierre Categorial de Bueno (Bueno, 1992). La proyección de esta tercera acepción al ámbito general del saber erigió a las ciencias físico-matemáticas como modelo universal de conocimiento.

La corriente positivista, nacida en siglo XIX, tomó como referencia el modelo epistemológico de las modernas ciencias físicas o naturales, y algunos positivistas como Auguste Comte lo extendieron a las ciencias sociales (“ciencias positivas culturales” en la nomenclatura utilizada previamente). El común denominador de este enfoque es considerar que el auténtico saber científico tiene que basarse en los hechos, en lo que se puede demostrar empíricamente, lo que implica negar validez a cualquier otro tipo de planteamiento que, como en el caso de la metafísica, ultrapasa el ámbito de la demarcación científica. En su evolución posterior, ya en el siglo XX, el neopositivismo adoptó las posiciones del empirismo lógico del Círculo de Viena (Chalmers, 2000). En esta renovada versión del po-

sitivismo, la filosofía del lenguaje y la lógica formal o proposicional tuvieron gran influencia pues se afirmaba que el lenguaje de la ciencia era un lenguaje ideal, en el que las palabras se correspondían con las cosas. Esta reducción de tipo lógico conjeturaba el lenguaje como realidad absoluta, independiente de las cosas reales (Goméz-Adanero et al., 2020). Construir un discurso lógico-formal tal y como sostenían los neopositivistas tiene la ventaja de eliminar cualquier tipo de perjuicio, limitándose a explicar más que a comprender - en el sentido que Schleiermacher y Dilthey hacen del término (Ricoeur, 1977; Revilla, 2004) - la realidad. A la explicación de la realidad del espermatozoide sin ningún atisbo de sesgo es a lo que se dedica la espermatología, y de ello versa la sección siguiente.



❖ 3. EPISTEMOLOGÍA DE LA ESPERMATOLOGÍA

3.1. Características de las ciencias positivas

Una vez explicitada la naturaleza de la espermatología como ciencia positiva, procede abordar su objeto formal pues, aunque se diga que la ciencia es lo que hacen los científicos, no se puede rehuir - y acaso es éste uno de los errores que cometan a menudo quienes aceptan los fundamentos de una disciplina casi en términos axiomáticos y sin espíritu crítico - ni a su delimitación, ni a la definición de sus conceptos y paradigmas. Relacionado con esto último y en lo que concierne a la espermatología, es necesario discutir, como se hará más adelante, qué nuevas evidencias sugieren una deriva (*shift*) - quizá aún es pronto para hablar de crisis - hacia un nuevo paradigma que le concede al factor masculino más relevancia de la que tradicionalmente se le ha adjudicado. Con todo, no cabe enfrentarse a estas definiciones - y menos ante una academia transversal como ésta que tiene el valor de contar con reputados especialistas de todas las ramas del conocimiento - sin hacer, aunque sea someramente, una incursión en los conceptos epistemológicos más elementales.

De forma genérica, las ciencias positivas se definen como un sistema de conocimientos obtenidos mediante el método científico y tienen un componente eminentemente factual y empírico (Chalmers, 2000). En efecto, el objetivo de la investigación científica es comprender cómo son de hecho las cosas. Cualquier conocimiento científico debe basarse en la eviden-

cia disponible obtenida mediante la investigación. Ante una pregunta o problema científico, se proponen hipótesis que son sometidas a comprobación empírica, esto es, a prueba y error (Okasha, 2002). Las hipótesis que son incompatibles con la evidencia empírica son descartadas. La observación y la experimentación permiten revisar y refinar las hipótesis propuestas durante el proceso de investigación, desecharlo aquellas que quedan refutadas por los datos obtenidos (Cunningham, 2013). De este modo, para que una hipótesis sea científica debe poder ser verificada/refutada a partir de la evidencia empírica. Aquí cabe traer a colación al racionalismo crítico popperiano, pues su criterio fundamental para que una hipótesis sea considerada científica es que pueda ser falsada empíricamente (Lewens, 2015).

La investigación científica es un proceso recursivo que tiende a desarrollarse de acuerdo con un método, el método científico, de naturaleza hipotético-deductiva y que consta de distintas etapas (Chalmers, 2000; Pritchard, 2017). La primera consiste en la formulación de una pregunta de investigación acerca de un problema no resuelto. Este problema puede consistir tanto en un fenómeno que no haya sido explicado previamente, cuanto fundarse en los datos empíricos que hayan refutado una hipótesis previa. Posteriormente, se proponen hipótesis, que no son sino conjeturas formuladas como posibles respuestas a la pregunta de investigación. A partir de estas hipótesis propuestas, se infieren predicciones e implicaciones empíricas (Okasha, 2002). Seguidamente, se procede a la comprobación empírica de las implicaciones y predicciones de estas hipótesis. Dicha comprobación se desarrolla mediante observaciones y experimentos diseñados con tal fin (Díez y Ulises Moulines, 1997). A partir de los resultados obtenidos en estos experimentos se descartan o revisan las hipótesis refutadas, de modo que la nueva evidencia empírica obtenida puede dar lugar a la propuesta

de nuevas hipótesis o a la formulación de nuevas preguntas, haciendo que el proceso sea recursivo (Cunningham, 2013). Como se ha dicho este método es hipotético-deductivo, pues consiste en formular hipótesis, deducir sus implicaciones y comprobarlas empíricamente.

3.2. La espermatología como ciencia biológica

Considerada en su acepción más amplia, la biología es una ciencia cuyo objeto de estudio son los seres vivos. Obviamente, tanto la enorme diversidad de éstos cuanto la variedad de enfoques bajo los que pueden ser abordados hacen que la biología resulte de la fusión de numerosas ciencias (Schnek y Massarini, 2008). De ahí, que más que hablar de biología quepa hablar de ciencias biológicas. En el caso concreto de la espermatología, ésta se encuadra dentro de las ciencias biológicas y su propósito específico es el estudio de un tipo muy particular de células: los espermatozoides. Obviamente, como célula que es el espermatozoide, hay que buscar en el estudio de las células como unidad fundamental de los seres vivos - lo que incluye su composición, características morfológicas y funcionales, interacciones y alteraciones - los primeros pasos de desarrollo de esta disciplina (Sekeres y Zarsky, 2018).

La espermatología es una ciencia relativamente joven que ha ido evolucionando en paralelo al desarrollo de otras ciencias de la vida, gracias al perfeccionamiento de los recursos técnicos necesarios para su estudio (Scott y Logan, 2004). En efecto, cuando se abordan los orígenes y el desarrollo de la espermatología se hace evidente su estrecha relación con otras disciplinas, como la biología celular, la embriología, la fisiología, la bioquímica, la biología molecular, la genética... (Galperin et al., 1999; Cohen, 2013; Dröscher, 2014). Por lo tanto, la espermatología no puede ser contemplada sin tener en cuenta

las estrechas relaciones entre ésta y las demás disciplinas. Del mismo modo, no hay que olvidar la relación de la espermatoología con las ciencias de la salud, pues es estrecho el contacto de aquélla con la andrología, la urología y la patología, entre otras. En definitiva, el estudio del espermatozoide en la actualidad no puede ser abordado sino bajo una perspectiva en la que se incluyen conceptos de biología celular y molecular, bioquímica, fisiología, andrología, patología..., con el fin de que éste alcance un verdadero sentido dinámico e integrador. Hay que destacar, de manera particular, la influencia de la biología celular pues ésta se centra en el estudio de la célula eucariota como unidad fundamental de la vida, viajando desde la comprensión básica de la estructura, composición y funcionamiento de la misma hasta su interrelación con el entorno (con otras células y la matriz extracelular), lo que en último término permite comprender el funcionamiento básico de tejidos y órganos (Bisceglia. 2017). Hay organismos eucariotas unicelulares y otros multicelulares, con una complejidad variable que se intensifica con el aumento del número de células y con el incremento de su especialización y de las relaciones que éstas establecen entre sí (Schnek y Massarini, 2008). Precisamente, un ámbito muy relevante se refiere al estudio de la especialización celular, de modo que la disciplina se ocupa tanto de las características principales y compartidas de las células eucariotas como de sus especializaciones y del desarrollo en los tejidos, y el espermatozoide no es sino una de las células más especializadas (Mendelson, 2003).

3.3. Una reflexión epistemológica de la espermatoología

Una vez esbozadas las características comunes de las ciencias positivas, hay que referirse de modo más concreto a la espermatoología como ciencia particular, pues se trata de un saber parcial y específico que precisa, por ello, de la definición de

los conceptos y la delimitación de su objeto formal de estudio (Díez y Ulises Moulines, 1997). Aunque la reflexión epistemológica acerca de la espermatología puede parecer *a priori*añeja y sin utilidad alguna, lo cierto es que también ocupa un lugar en el desarrollo histórico-conceptual de la disciplina. Se puede decir, de modo general, que las ciencias biológicas - entre las que se encuentra la espermatología - han sido impulsadas durante las últimas décadas por dos enfoques extraordinariamente exitosos e íntimamente relacionados: el modelo del investigador inspirado y el modelo reduccionista (Weissman, 2010). En el modelo del investigador inspirado, un individuo o un pequeño grupo de personas identifican un proceso biológico clave y un paradigma experimental para examinar este proceso. En la estrategia reduccionista, el investigador comienza con un proceso complejo, identifica a los actores clave en este proceso y descubre cómo funcionan juntos en las células y los tejidos. El inconveniente de este enfoque reduccionista es que la mayor especialización tiene el riesgo de perder la perspectiva del contexto. De igual forma, hay que destacar los límites y sesgos inherentes del enfoque orientado al modelo del investigador inspirado. En un pasado reciente, este modelo tenía sentido cuando había un exceso de procesos interesantes e inmediatamente accesibles, de modo que el desafío era encontrar la estrategia concreta para estudiarlos. Ahora, sin embargo, ocurre todo lo contrario, pues existe un abundante conocimiento de genes, ARN codificantes y no codificantes, y proteínas, y el reto, también en el caso del espermatozoide, es saber lo que hacen realmente. Pero más allá de resolver este problema práctico, los enfoques sistemáticos orientados a los factores mantienen la promesa de equilibrar algunas de las limitaciones intrínsecas de los métodos de descubrimiento predominantes. Por ejemplo, y siguiendo a Weissman (2010), por muy estético que sea el enfoque inspirado del investigador, éste puede conducir a distorsiones injustificables en la forma

en que se asignan los recursos y la energía creativa. Un laboratorio exitoso - a través de sus investigadores y del director que les inspira - conduce a un grupo altamente motivado de científicos enérgicos dedicados al estudio de un proceso. Sin embargo, el centrarse en un proceso puede conducir a campos estrechos y superpoblados. De la misma forma, una vez que se ha demostrado convincentemente que una proteína tiene un papel específico en el espermatozoide, puede convertirse en un impedimento *de facto* para descubrir otras funciones que tiene también esta proteína, pues persistirá la sospecha de que cualquier fenotipo adicional es una consecuencia de su función inicialmente caracterizada. Con todo, las investigaciones actuales se están llevando a cabo en un momento en el que abundan las herramientas con un elevado poder de resolución (*high throughput*) y de análisis de datos (bioinformática, *big data*). Por lo tanto, un objetivo colectivo de los científicos dedicados a la espermatología es pensar qué nuevos tipos de datos, enfoques y paradigmas pueden ser más transformadores, así como explotar el poder de la tecnología, no solo para hacer mejor y más rápido lo que se sabe hacer, sino para repensar las estrategias que se utilizan para abordar los problemas en este campo (Weissman, 2010).

3.4. El concepto de paradigma

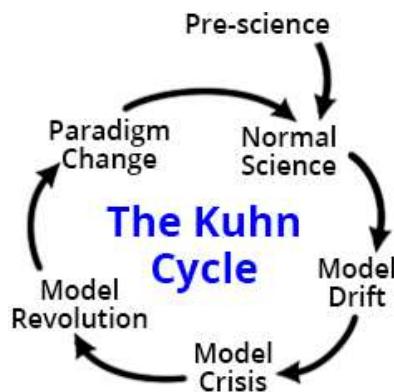
En este escenario de desafío colectivo que se menciona en el apartado anterior, el concepto de paradigma cobra un enorme significado. En el debate epistemológico que se produce después de la Segunda Guerra Mundial hay que destacar las aportaciones, entre otros, de dos filósofos de la ciencia: Thomas Samuel Kuhn (1922-1996) e Imre Lakatos (1922-1974) (Chalmers, 2000). Haciendo un análisis de la historia de las ciencias, Kuhn reparó en que no siempre sus avances se producían gracias a una aplicación ortodoxa del método

científico, sino que, más bien, las ciencias operaban mediante paradigmas (Lewens, 2015). El término *paradigma* puede tener dos acepciones. En el primer caso, *paradigma* significaría modelo o ejemplo de alguna cosa. En la segunda acepción, que es la utilizada por Kuhn, el *paradigma* sería el conjunto de supuestos teóricos generales, regulaciones y técnicas que adoptan los miembros de una determinada comunidad científica (Kuhn, 1988). Este conjunto de nociones, regulaciones y técnicas son lo que Kuhn denomina “matrices disciplinares”. Durante los denominados por Kuhn “periodos de ciencia normal”, los científicos desarrollan su actividad en el marco y las reglas de un *paradigma* (p.ej., la física clásica o la biología evolutiva) (Fig. 5). Para Kuhn, la diferencia entre la ciencia y la “*preciencia*” es que en la ciencia hay un *paradigma* que apoya una tradición y sobre el que hay un acuerdo general, de modo que el conocimiento que se transmite puede ser tácito (Kuhn, 1988). Se pueden producir evidencias que vayan en contra del *paradigma*, pero ello no supone rechazarlo de plano; en efecto, estas evidencias contrarias son considerarlas como anomalías (de mayor o menor importancia), pues los científicos no pueden escapar fácilmente del *paradigma* en el que se encuentran inmersos. Sin embargo, la ciencia experimenta cambios y a lo largo de la historia de la ciencia se ha producido una sustitución de los *paradigmas* (p.ej., se ha pasado de una astronomía aristotélica a una de copernicana, y de una física clásica a una de relativista).

El reemplazo de un *paradigma* por otro se da, según Kuhn, de forma revolucionaria y permite un avance significativo en el conocimiento científico. Además, la existencia de *paradigmas* rivales puede provocar la crisis o deriva (*shift*) en el *paradigma* predominante (Fig. 5). Si un *paradigma* entra en crisis y un *paradigma* rival se convierte en el más importante entre los científicos, se producirá una “revolución científica” pues

el cambio en la ciencia es un proceso similar a un cambio revolucionario político o cultural. Conviene aclarar, en todo caso, que deben darse un cúmulo de circunstancias para que un paradigma entre en crisis y en lucha contra otros paradigmas rivales. Además, para que se produzca una revolución científica, el paradigma rival debe conseguir más adeptos que el anterior, con independencia de si este nuevo paradigma es mejor epistémicamente (Kuhn, 1988; Chalmers, 2000).

Figura 5. Diagrama que representa el progreso de las ciencias a través de cambios en los paradigmas y revoluciones científicas (ciclo de Kuhn; <https://www.thwink.org/sustain/glossary/KuhnCycle.htm>).



Salvando las distancias, y sin que quepa hablar de revolución científica en sentido estricto, la tesis que se sostiene en este disertación es que la biología reproductiva y el estudio de la infertilidad se adentran en un nuevo paradigma, pues se acumulan notables evidencias de que el espermatozoide tiene más importancia de la atribuida inicialmente. Es necesario explicar el porqué de la infravaloración de los factores paternos, así como el hecho de que la relevancia del elemento masculino - o, dicho de mejor modo, de los distintos componentes a los que se puede hacer referencia de modo analítico - depende de

si se utilizan las técnicas de reproducción asistida; incluso existen diferencias entre las distintas técnicas. Además, la importancia del factor masculino también depende del femenino, de modo que se puede producir una interacción entre ambos cuando los efectos de uno se supeditan al otro. Por otra parte, los estudios llevados a cabo en modelos animales son solo una aproximación a la especie humana, y ello por los sistemas de selección que se utilizan en los animales de producción y por las peculiaridades de los animales de laboratorio, pues existen diferencias en cuanto a la función de algunos componentes del espermatozoide y respecto a la estrategia reproductiva de las distintas especies.



❖ 4. LOS ORÍGENES DE LA ESPERMATOLOGÍA COMO CIENCIA BIOLÓGICA

De acuerdo con Kuhn, la historia de la ciencia es la historia de las revoluciones científicas y de los cambios de paradigma (Kuhn, 1988). Dado que la tesis sostenida en este ensayo es que la espermatología se enfrenta a un nuevo paradigma, se hace necesario abordar el desarrollo histórico-conceptual de esta disciplina de la mano de la biología y la fisiología de la reproducción.

La fecundación y la procreación han sido uno de los principales focos de preocupación de la especie humana desde su aparición. Los primeros signos de dicha inquietud datan de hace más de 35.000 años, durante el inicio del periodo auríñaciense (paleolítico superior), después de que se produjera la migración del hombre de Cromañón a Europa (Fig. 6). A pesar de esta aparición tan temprana, la mayor constancia y registro de esta preocupación se produce a partir del nacimiento de la escritura en Mesopotamia (~3300 a.C.) y Egipto (~3200 a.C) (Cohen, 2013).

Figura 6. Venus de Willendorf (aprox. 28.000 a.C.-25.000 a.C.). Además de ser una obra que se inserta en los orígenes mismos de la historia del arte, hay que destacar los atributos enormemente exagerados de fertilidad, algo presente en obras de la misma época paleolítica (<https://arte.laguia2000.com/escultura/venus-de-willendorf>).



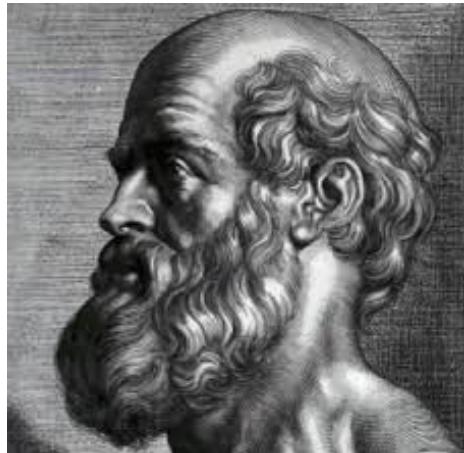
4.1. Los orígenes de la filosofía y las ciencias en la antigua Grecia

El nacimiento del pensamiento filosófico y científico en Occidente se produjo en la época presocrática griega, concretamente, con los milesios y los pitagóricos (Díez y Ulises Moulines, 1997). Así, alrededor de los siglos VII y VI a.C. ocurrió un cambio de mentalidad que dio comienzo al desarrollo racional de la filosofía y de las ciencias, que estarían indisolublemente unidas a aquélla hasta los inicios de la Edad Moderna. También fue en la antigüedad cuando médicos y filósofos se recrearon en este ámbito, a través de los conceptos de las generaciones

y la embriología. Los filósofos griegos, aunque no exentos de influjos mágicos y místicos, se afanaron en encontrar una explicación racional sobre las causas (*arkhē*) y la existencia de las cosas (naturaleza, *physis*). Fue en este contexto cuando surgió la necesidad de conocer el cuerpo humano de un modo racional y se formularon las primeras hipótesis acerca de la constitución de los seres vivos. Pensadores como Tales de Mileto, Anaximandro, Anaxímenes, Diógenes de Apolonia, Heráclito, Empédocles y Demócrito esbozaron los fundamentos de la ciencia natural y formularon las primeras teorías de los elementos sobre la composición de la materia (Reale y Antiseri, 2010).

El primer estudioso de las ciencias de la vida fue Hipócrates de Cos (460 a.C.-380 a.C.; Fig. 7). En su *Corpus Hippocraticum* este pensador formuló por primera vez la Teoría Humoral, que estableció un paralelismo conceptual entre la constitución del cuerpo humano y la hipótesis de los cuatro elementos integrantes de la materia propuesta por Empédocles. De esta manera, a los cuatro elementos (fuego, aire, tierra y agua) les correspondían los cuatro humores hipocráticos (sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra). Hipócrates consideraba al humor como un fluido más o menos viscoso que permanecía inmutable en todas las transformaciones normales de la *physis* y a la enfermedad como una alteración de los humores (Reale y Antiseri, 2010; Solís y Sellés; 2022). Hay que destacar también a otro filósofo y matemático, Pitágoras (570 a.C.-495 a.C.) que introdujo la teoría del “espermismo”; de acuerdo con esta teoría solo los padres proporcionaban las características esenciales a la descendencia, mientras que las madres suministraban el sustrato sólido (Cohen, 2013). Otra hipótesis era la de la “preformación” que fue formulada por Demócrito de Abdera (460 a.C.- c. 370 a.C.) y Leucipo de Mileto (siglo V a.C.), y que sostenía que el embrión - que estaba bien dentro del óvulo materno, bien en el semen paterno - empezaba a crecer cuando era estimulado (Solís y Sellés, 2022).

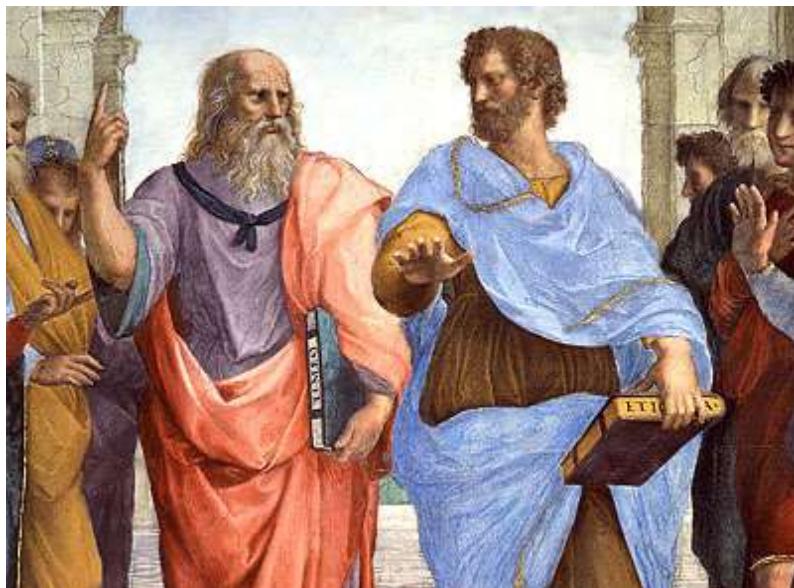
Figura 7. Hipócrates de Cos (460 a.C.-380 a.C.),
quien formula por primera vez la Teoría Humoral
(<http://www.facmed.unam.mx/Libro-NeuroFisio/Personas/Hipocrates>).



Aunque se caracterizó por su pensamiento idealista, Platón (427 a.C.-347 a.C.) también merece una breve referencia, pues dedicó buena parte de sus estudios a las ciencias exactas, y formuló teorías propias sobre el origen del universo y las funciones del cuerpo humano (Fig. 8). Amén de sugerir en su “Timeo” que la semilla es una parte de la médula cervical (Wilberding, 2015), sus ideas acerca de la sistematización contribuyeron a la clasificación posterior de los seres vivos, Sin embargo, lo más significativo aquí es la influencia que su teoría de las ideas ejerció en otros filósofos, sobre todo, en Aristóteles (Copleston, 2012a). Se puede afirmar, sin lugar a dudas, que Aristóteles (Estagira, 384 a.C.-324 a.C.) es uno de los más grandes pensadores occidentales y el filósofo griego naturalista más importante (Fig. 8). Desde su perspectiva realista, trató de explicar científicamente la naturaleza siguiendo un proceso lógico. Escribió sus observaciones e intentó generalizar y sistematizar los resultados, formulando categorías que

pretendían comprender la naturaleza. En lo que concierne a su actividad como naturalista, Aristóteles definió los campos de estudio de la biología, la botánica, la embriología y la fisiología (Zagris, 2022). La visión aristotélica de la naturaleza guardaba un importante paralelismo con los conocimientos actuales. Así, el estagirita distingüía varios niveles de composición de los seres vivos. Un primer nivel era el formado por los cuatro elementos (agua, tierra, aire y fuego; perspectiva química). El segundo nivel lo constitúan los elementos homogéneos del organismo, es decir, aquellos que conformaban las estructuras tisulares (perspectiva histológica). El tercer nivel estaba integrado por las partes heterogéneas o disimilares (perspectiva anatómica). Por otra parte, Aristóteles estudió también el desarrollo embrionario de los animales, siendo ésta su aportación más importante a la investigación biológica. Además de la teoría de la generación espontánea, se ha sostenido que Aristóteles formuló la “teoría de la epigénesis” que consideraba que los órganos del individuo no son heredados de sus progenitores, sino que surgen *de novo* del germen mismo (Reale y Antiseri, 2010; Cohen, 2013). Esta hipótesis se oponía - en principio - al preformismo, pues asumía que el embrión era originariamente una masa indiferenciada a la que se le iban incorporando partes durante su desarrollo. Así, la contribución materna se limitaba al material no organizado del embrión, de modo que, sobre la base de esta concepción centrada en el componente masculino, concluyó que era el semen paterno el que proporcionaba la materia y la forma. A pesar de lo dicho, y precisamente porque consideraba que se producía una “actualización” de las partes “potenciales” del embrión - lo que vendría a ser una suerte de preformacionismo -, algunas autoras, como Ina Goy (2018), sostienen que no se puede afirmar que Aristóteles fuera el padre de la teoría de la epigénesis.

Figura 8. Platón (izquierda) y Aristóteles (derecha)
en *La escuela de Atenas* por Rafael (1511;
<https://www.biografiasyvidas.com/monografia/aristoteles>).



Finalmente, hay que destacar a Galeno de Pérgamo (130-210), considerado el primer anatomo-fisiólogo experimental, que aportó excelentes descripciones de la anatomía y la fisiología humanas basadas en disecciones de animales (Fig. 9). Estudió las funciones de los nervios y tuvo un conocimiento casi completo de la anatomía del corazón. La morfología griega fragmentaria e incompleta alcanzaría con la obra de Galeno su culminación, perdurando durante toda la Edad Media y parte de la Moderna (Solís y Sellés, 2022).

Figura 9. Galeno de Pérgamo (130-210) fue el primer fisiólogo experimental (https://historiadelamedicina.org/Fundamentos/1_6.html).



4.2. Las ciencias biológicas en la Edad Media y el Renacimiento

En la Edad Media, época de grandes cambios sociales y fuertes movimientos migratorios, una mezcla de fe religiosa y superstición impregnó las creencias populares y los textos académicos. No existía, pues, un terreno abonado para la experimentación o las aportaciones inductivas surgidas de la observación. Por el contrario, la ciencia medieval tenía un elevado componente especulativo y estaba influenciada tanto por la patrística agustiniana cuanto por la escolástica tomística, que situaban el idealismo platónico y el realismo aristotélico por encima del empirismo (Copleston, 2012b).

Tras el medioevo, surgió en Europa el Renacimiento cultural. La invención de la imprenta convirtió el libro en instrumento

y vehículo de este resurgir y del intercambio de ideas (Boorstin, 2000; Gribbin, 2003). De este modo, la sociedad se liberaba de las creencias sobrenaturales que habían frenado su desarrollo intelectual y la ciencia pasaba a manos de seglares, que abordaban con espíritu crítico los fenómenos naturales. En este ambiente, se produjeron aportaciones importantes en el campo de las ciencias biológicas, como las de Vesalio (1514-1564; Fig. 10) a la anatomía y las de Leonardo da Vinci (1452-1519) a la embriología (Gribbin, 2003).

Figura 10. Vesalio (1514-1564;
[**https://www.historiadelamedicina.org/vesalio.html\).**](https://www.historiadelamedicina.org/vesalio.html)



Junto a este desarrollo científico, tuvo lugar tanto una reactivación de las bases genéticas y vitalistas, cuanto un impulso en los métodos analíticos y lógicos, lo que desembocó en la formulación de las teorías mecanicistas de la vida (Geison, 1969). Una de las aportaciones más destacables de las ideas mecanicistas al campo de las ciencias biológicas provino de la formulación de la teoría fibrilar, propuesta por los anatomistas Jean Fernel (1497-1558) y Gabrielle Falloppio (1523-1562; Fig. 11). Esta

teoría consideraba a la fibra como elemento estructural del organismo (Duchesneau, 1987). Desde esta perspectiva, las fibras elementales, que eran aquellas que no podían descomponerse en otras más finas, estaban unidas longitudinalmente dando lugar a fibras visibles o cordones que se cruzaban formando unas masas sólidas tridimensionales que se denominaron tejidos. De aquí procede, precisamente, la referencia textil a los tejidos biológicos. La teoría fibrilar fue sostenida durante los siglos XVII y XVIII gracias a otras observaciones macroscópicas como las efectuadas por Von Haller (1708-1777), quien afirmaría en 1757 que “la fibra es para la fisiología lo que la línea es para la geometría” (Karsenti, 2008).

Figura 11. Gabrielle Falloppio (1523-1562) formuló la teoría fibrilar y fue uno de los principales anatómistas del siglo XVI (<https://www.historiadelamedicina.org/falopio.html>).



La consolidación del mecanismo vino por vía de la experimentación y con ayuda, por primera vez, de instrumentos complejos en los ámbitos de la biología y la medicina. Fue durante esta época que Galileo Galilei (1564-1642) sentó las bases de la dinámica, uniendo la evidencia empírica con la

deducción matemática (Fig. 12). Aparte de instaurar un método experimental para la física, Galileo proporcionó nuevos y revolucionarios medios para su estudio, de modo que se le considera como uno de los precursores de la ampliación óptica, no solo por el hecho de que inventó el anteojos ocular divergente, sino también porque para alguno de sus estudios utilizó lentes a las que llamó microscopio (“un instrumento para ver de cerca las cosas mínimas” y que “sirve para contemplar infinitamente la grandeza de la naturaleza y cuan suavemente trabaja esta y con cuánta inefable diligencia”). No se trataba únicamente de la observación de detalles estructurales, sino de la solución de problemas funcionales a través del descubrimiento de la estructura adaptada a la función. Quizá más importante que las primeras descripciones de las estructuras microscópicas fue la conclusión - por parte de los autores de la época - de que, si con el microscopio se discernían algunos elementos, probablemente existían otras estructuras que escapaban a su poder de resolución (Hughes, 1959).

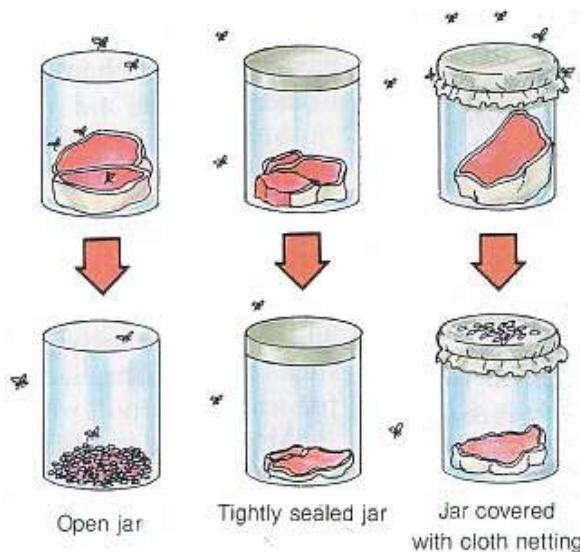
Figura 12. Galileo Galilei (1564-1642;
[**https://www.biografiasyvidas.com/monografia/galileo\).**](https://www.biografiasyvidas.com/monografia/galileo)



4.3. La embriología en la Edad Moderna

La embriología adquirió una enorme importancia en el siglo XVI. Por un lado, el médico y poeta Francesco Redi (1627-1697) realizó, en 1665, un experimento que desmentía experimentalmente la teoría de la generación espontánea de Aristóteles, pues demostraba que cuando un frasco que contenía carne en descomposición se tapaba con una gasa no se generaban larvas (Fig. 13).

Figura 13. Experimento de Francesco Redi (1665)
[\(\[https://www.mun.ca/biology/scarr/4270_Redì_experiment.html\]\(https://www.mun.ca/biology/scarr/4270_Redì_experiment.html\)\).](https://www.mun.ca/biology/scarr/4270_Redì_experiment.html)



Por otra parte, también en la Edad Moderna quedó en entredicho la teoría aristotélica del desarrollo epigenético, que sería predominante durante el mundo antiguo y medieval. Así, el médico inglés William Harvey (1568-1657; Fig. 14), descubridor de la circulación mayor de la sangre y alumno de Girolamo Fabrici (1537-1619), estableció los fundamentos de la embrio-

ología moderna gracias a una interesante descripción comparada del desarrollo embrionario. Dicho científico formuló el aforismo “*omnis vivo ex ovo*”, es decir, todo ser vivo se desarrolla a partir del huevo, que sería parafraseado en el siglo XIX por Virchow (Solís y Sellés, 2022). Fabrici escribió, entre otras obras, “Sobre la formación del feto” (1600), donde ya mostró reservas a las teorías antiguas aún preponderantes en aquel momento. Harvey continuó este camino y publicó “Sobre la generación de los Animales” (1651), con el objetivo de proporcionar datos experimentales en apoyo a la teoría aristotélica de la epigénesis. A pesar de ello, y aunque nunca abandonó por completo su convicción sobre la validez de la teoría de la epigénesis, Harvey demostró que muchos de sus aspectos eran falsos. En efecto, Aristóteles creía que el embrión se formaba por coagulación en el útero después de la cópula. Sin embargo, los experimentos que Harvey llevó a cabo con huevos de polluelo y ciervo demostraron que la generación resultaba de la acumulación de las partes durante el tiempo. Actualmente, el término epigénesis o epigenética se utiliza todavía en biología y su significado contemporáneo se refiere a aquellos aspectos morfogenéticos que no se encuentran codificados en los genes, sino que resultan del control de la expresión de éstos (Van Speybroeck et al., 2002).

Figura 14. William Harvey (1568-1657) que acuñó el aforismo “*omnis vivo ex ovo*” (<https://www.britannica.com/biography/William-Harvey>).



Muchos contemporáneos de Harvey rechazaban la teoría aristotélica de la epigénesis y consideraban que la teoría de la preformación era más acertada. Los naturalistas que aceptaban esta teoría preformacionista estaban inspirados por la - entonces reciente - aparición del microscopio, lo que se aborda en la siguiente sección.

4.4. La contribución de la microscopía

La invención del microscopio en 1590 se atribuye a Hans Lippershey (1570-1619) y a Zacharias Janssen (1585-1632; Fig. 15). Aunque su uso práctico no se iniciaría hasta bien entrado el siglo XVII, muchas de las cuestiones que permanecieron sin respuesta durante cientos de años salieron a la luz gracias a que el microscopio permitió adentrarse en el diminuto mundo vivo, invisible hasta la época. Comenzaba así el desarrollo de una nueva ciencia, la anatomía microscópica descriptiva, que iría asentando sus bases durante los siglos XVII y XVIII (Dröscher, 2014; Cvrčková, 2018). Como se ha mencionado previamente, Galileo Galilei (Fig. 12) mejoró la capacidad de enfoque de este utensilio.

Figura 15. Los inventores del microscopio (Z. Janssen, derecha, y H. Lippershey, izquierda), y el primer microscopio (<https://www.curiosfera.com/quien-invento-microscopio-historia>).

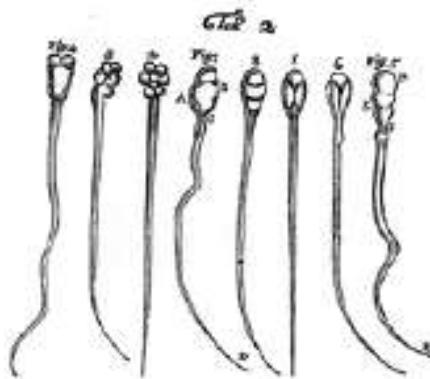


Las primeras observaciones microscópicas de células animales las llevó a cabo Jan Swammerdan (1637-1680), que dio a conocer interesantes descubrimientos como el de los glóbulos rojos de la sangre. El también holandés Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), diseñador y constructor habilísimo de microscopios simples con un alto grado de perfección, refinó la curvatura de las lentes, consiguiendo alcanzar, según la fuentte bibliográfica, entre 200 y 270 aumentos, con una resolución notablemente superior a la de los aberrantes microscopios compuestos de la época (Harris, 1999; Mendelson, 2003; Fig. 16). Este microscopista, maravillado por la ampliación óptica, aportó al mundo barroco la más amplia colección de observaciones microscópicas, siendo el primero en observar bacterias, levaduras, espermatozoides y células sanguíneas (Fig. 17). El estudio micrográfico de las plantas y los animales tuvo en el napolitano Marcello Malpighi (1600-1694) uno de sus mejores exponentes. Malpighi realizó las primeras descripciones de la microanatomía de los tejidos y, entre sus trabajos más importantes, sobresalió el dedicado a los capilares, complementando así la obra de Harvey sobre la circulación sanguínea. También se ocupó del estudio microscópico de los animales y del desarrollo embrionario, y a partir de la observación minuciosa de especímenes con el microscopio dio validez a la teoría preformacionista.

Figura 16. Antonie Van Leeuwenhoek (1632-1723) y su microscopio (<http://www.eoht.info/page/Antonie+Leeuwenhoek>).



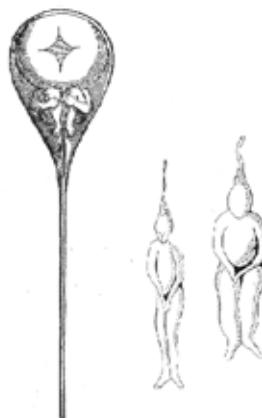
Figura 17. Ilustración original de Leeuwenhoek describiendo sus observaciones sobre los espermatozoides (animáculos; Cohen, 2013).



A partir de los estudios de insectos y anfibios que llevó a cabo Swammerdam, los naturalistas sugirieron que los embriones preexistían dentro de cada gameto en forma de *animáculos* u *homúnculos* (Pinto-Correia, 1997). Sin embargo, la limitación de esta teoría preformacionista era que concebía que un organismo preformado tenía un único progenitor. Posteriormente, y aunque durante esta época los científicos ya estaban

familiarizados con la existencia de óvulos/huevos en distintas especies, el análisis microscópico del semen indujo a que algunos observadores como Nicolaas Hartsoeker (1656-1725) sugirieran que era dentro de los espermatozoides donde se encontraban los animales/hombres en miniatura que después se desarrollarían (preformacionismo “espermista”; Fig. 18); esta afirmación es, sin embargo, discutida por algunos historiadores de la ciencia (Hill, 1985). Esta concepción preformacionista sería compartida por los científicos más respetados de la época, como Charles Bonnet (1720-1793) y Lazzaro Spallanzani (1729-1799). En el caso de Bonnet, sus estudios con pulgones le sirvieron para formular un argumento a favor del preformacionismo “ovista” (Bognon-Küss, 2019). De este modo, algunos naturalistas sugirieron que la especie humana ya estaba presente en los ovarios de Eva (doctrina *ovista*), mientras que otros indicaron que la observación de pequeños humanos (homúnculos) dentro de los espermatozoides indicaba que aquéllos procedían del linaje parental de Adán (doctrina *espermista*; Pinto-Correia, 1997; Cohen, 2013).

Figura 18. Representación artística de los homúnculos en el espermatozoide de Nicolaas Hartsoeker (1695; <https://www.philpotteducation.com/mod/book>).



En esta misma época, destacó también el inglés Nehemiah Grew (1641-1712) que coronó, en buena parte, los trabajos que había llevado a cabo Malpighi en el campo de la biología vegetal (Hughes, 1959; Dröscher, 2014). Muchas de las observaciones de Leeuwenhoek fueron confirmadas por el inglés Robert Hooke (1635-1703) que popularizó el uso de los microscopios entre sus contemporáneos (Fig. 19). Este profesor de Oxford empleó por primera vez en su obra “*Micrographia*” la palabra célula (latín: *cellula*; celdilla) para designar cada una de las cavidades funcionales o unidades estructurales que observaba en delgadas hojas de corcho y otros tejidos vegetales (Kru- ta, 1987). Aunque lo descrito no fueran células propiamente dichas, el nombre resultó muy adecuado y gráfico. A pesar de la observación durante esta época de las primeras células, incluidos los espermatozoides, el concepto de célula no apareció hasta casi 200 años más tarde. Este retraso fue debido no solo a la vigencia de la teoría fibrilar descrita anteriormente y apoyada, en cierto modo, por los estudios de Malpighi, sino, sobre todo, por las limitaciones técnicas de los microscopios de la época y por los métodos de preparación de los especímenes para su observación y estudio (Parnes, 2000; Mendelson, 2003).

Figura 19. Robert Hooke (1635-1703) y su microscopio
(<https://personajeshistoricos.com/c-cientificos/robert-hooke>).



La investigación microscópica continuaría a lo largo del siglo XVIII y el uso de este utensilio se extendería entre médicos y biólogos, que observaban y describían fibras, vasos, glóbulos y sustancias amorfas (artefactuales o reales). A finales del siglo XVIII y principios del XIX, apareció la obra de Marie François Xavier Bichat (1771-1802), que tendría un papel fundamental en el desarrollo posterior de la histología y la anatomía patológica (Fig. 20) (Shoja et al., 2008). Bichat concretó una teoría de la organización animal basada en la existencia de, al menos, 21 tejidos distintos, definiéndose el tejido “por la homogeneidad y constancia de su apariencia sensorial, cualesquiera que sean las condiciones en las que se observa, los órganos de los que procede y las manipulaciones a las que se somete”. Según este padre de la histología y gran anatomista francés, cada órgano resultaría de la combinación de un cierto número de tejidos elementales, cuyas actividades vitales sumadas darían como producto la fuerza propia de ese órgano (Shoja et al., 2008). La importancia de esta contribución estriba en que preparó el camino a la Teoría Celular y en el hecho de que, gracias a ella, se subió un peldaño más en el conocimiento de la organización biológica (Scott y Logan, 2004; Cvrčková, 2018). La idea de Bichat, a propósito de que los órganos están constituidos por subunidades que se agrupan formando una entidad de orden superior, fue recogida y reconvertida para explicar los fundamentos de varias corrientes de pensamiento científico (Dröscher, 2014). Así, y sin olvidar que la Teoría Fibrilar todavía se hallaba vigente - aunque muy mermada en su aceptación incondicional -, Johann Friedrich Meckel el joven (1781-1833) consideró que los tejidos estaban constituidos por una “materia homogénea coagulada o coagulable y glóbulos” (Opitz et al., 2006). Para el botánico alemán Ludolf Christian Treviranus (1779-1864), el tejido estaba compuesto por tres tipos de elementos: una materia homogénea amorfa, fibras y glóbulos (van den Berg y Demarest, 2020). Otros científicos comenzaron a describir ele-

mentos microglobulares en todos los tejidos y se asumió que los elementos fibrilares resultaban de la organización de los glóbulos. Este nuevo paso hacia adelante fue la antesala de la Teoría Celular (Duchesneau, 1987).

Figura 20. François Xavier Bichat (1771-1802), padre de la Histología (<https://www.britannica.com/biography/Marie-Francois-Xavier-Bichat>).



4.5. *La teoría celular*

Durante la primera mitad del siglo XIX cambiaron las condiciones de la investigación, pues ésta se institucionalizó (como se ha indicado previamente, la Academia de Ciencias de París era la primera que había contratado investigadores en el siglo XVII) y el mecenazgo fue sustituido por los recursos colectivos; la mayoría de los sabios serían, a partir de aquel momento, profesionales de la ciencia (Mazzarello, 1999). La multiplicación de los laboratorios permitió un desarrollo rápido de los instrumentos: se consiguieron los primeros microscopios acromáticos modernos y se introdujeron mejoras en la corrección de las aberraciones (Bechtel, 2006). Hacia 1840, el poder de resolución de los microscopios más comúnmente utilizados en los laboratorios era de aproximadamente una micra, magni-

tud que permitía una primera exploración del dominio celular (Baker, 1955).

Paralelamente, se asistió a un cambio en el clima intelectual. La búsqueda de una unidad biológica preocupó sobremanera a los naturalistas de la época, dando paso a la filosofía natural, una corriente de pensamiento alemán surgida durante la transición del siglo XVIII al siglo XIX, y cuya idea principal propugnaba que la naturaleza se construía según un plan combinatorio y evolutivo (Gribbin, 2003; van den Berg y Demarest, 2020). El representante más significativo de dicha corriente de pensamiento fue el naturalista alemán Lorenz Okenfuss (1779-1851) quien en su “Programa sobre el Universo” (1808) presagiaba la Teoría Celular al afirmar que “animales y plantas no son otra cosa sino una vesícula subdividida o reiterada” (Duchesneau, 1987). El progreso técnico en el desarrollo de los microscopios y la buena disposición de muchos investigadores en la búsqueda de la unidad estructural y funcional del ser vivo permitió elaborar unas bases generales que facilitaron el avance hacia una nueva teoría biológica (van den Berg y Demarest, 2020). Poco a poco, fueron surgiendo las voces premonitorias de esta gran revolución del conocimiento científico. Así, el naturalista francés Jean-Baptiste Lamarck (1744-1829) insistió en la constitución celular de los organismos, pues “ningún cuerpo puede poseer la vida si las partes que contiene no son un tejido celular (...). Cada cuerpo vivo es ante todo una masa de tejido celular”. Por su parte, otro francés, Henri Dutrochet (1776-1847), propuso la generalización del glóbulo como unidad estructural de los organismos vegetales y animales afirmando, en 1837, que “todos los tejidos, todos los órganos de los animales, no son realmente sin un tejido celular diversamente modificado” (Fig. 21; Mazzarello, 1999; Nezelof, 2003).

Figura 21. Henri Dutrochet (1776-1847), antecesor de la formulación de la Teoría Celular (<https://alchetron.com/Henri-Dutrochet>).



Con todo, el terreno estaba abonado para que germinara la obra de Schleiden y Schwann. El botánico Matthias Schleiden (1804-1881) y el médico y zoólogo Theodor Schwann (1810-1882), ambos alemanes, culminarían todas las investigaciones anteriores con la formulación de la Teoría Celular entre los años 1838 y 1839 (Fig. 22; Goss, 1937; Harris, 1999). Dicha teoría consideraba que la célula es el componente estructural universal del mundo animal y vegetal (Sekeres y Zarsky, 2018). La teoría incluía dos generalizaciones: una, relativa a la organización celular de los seres vivos; y otra, sobre el origen de las células. La primera se percibía ya en el ambiente científico, de modo que lo más importante era la idea que los autores se hacían acerca de cómo se formaban y multiplicaban las células. En este sentido, se atribuyó gran importancia a las estructuras subcelulares, entre las que se destacó el núcleo (Mazzarello, 1999). Previamente, en 1835, el médico escocés Robert Brown (1773-1857) había descubierto el núcleo de las células

vegetales, lo que permitió generalizar su presencia tanto en los animales como en las vegetales (Mendelson, 2003). En 1837, el fisiólogo alemán Gabriel Gustav Valentin (1810-1883) había descrito en los núcleos de la conjuntiva una especie de “núcleo del núcleo”, una estructura a la que llamó nucléolo (Rudoph, 1985). Todos estos hallazgos persuadieron a Schleiden acerca de la uniformidad estructural entre plantas y animales y a la importancia del núcleo en la génesis de las células. Entonces, comunicó sus ideas Schwann y éste elaboró en 1838 la memoria titulada “Investigaciones microscópicas sobre la concordancia en la estructura y el crecimiento de los animales y las plantas” (Ribatti, 2018). Las ideas fundamentales de la Teoría Celular de Schleiden y Schwann pueden resumirse en los siguientes puntos:

- La célula es la porción elemental (unidad estructural) de los organismos.
- Las células constan esencialmente de membrana, cuerpo celular y núcleo.
- En cada célula de un organismo multicelular cabe distinguir una doble dimensión: la de la célula en sí misma, y la que le corresponde como pieza integrada del organismo.
- Las células se originan *de novo* a partir de un vehículo que se condensa y desarrolla en el seno de una masa orgánica informe.

La Teoría Celular así formulada tenía dos limitaciones fundamentales: una relativa a la citogénesis y otra sobre la constitución de las células; durante la segunda mitad del siglo

XIX, la investigación se encaminó a superar estas limitaciones (Hughes, 1959; Harris, 1999). En 1855, los investigadores alemanes Rudolf Virchow (1821-1902; Fig. 23) y Robert Remak (1815-1865) recusaron la hipótesis exogenética en provecho de la derivación de toda célula a partir de una célula madre como consecuencia de la escisión del núcleo (Karsenti, 2008). Parafraseando a William Harvey, Virchow acuñó su célebre aforismo: “*omnis cellula e cellula*” (toda célula procede de otra célula precedente) resolviendo de forma definitiva el enigma de la citogénesis, al situar a la división celular como acontecimiento central en la reproducción de los organismos (Scott y Logan, 2014). En apoyo de la teoría de Virchow y Remak, Walther Flemming (1843-1905; Fig. 24), fundador de la citogenética, demostró que las células aseguran su continuidad entre una generación y otra por medio del mecanismo de la mitosis, y Heinrich Wilhelm Gottfried Waldeyer (1836-1921) identificó los cromosomas y observó su división exacta (Bechtel, 2006).

Figura 22. Matthias Schleiden (1804-1881) y Theodor Schwann (1810-1882) padres de la Teoría Celular
(<https://www.actualidadmedica.es/archivo/2015/796/ca01.html>).

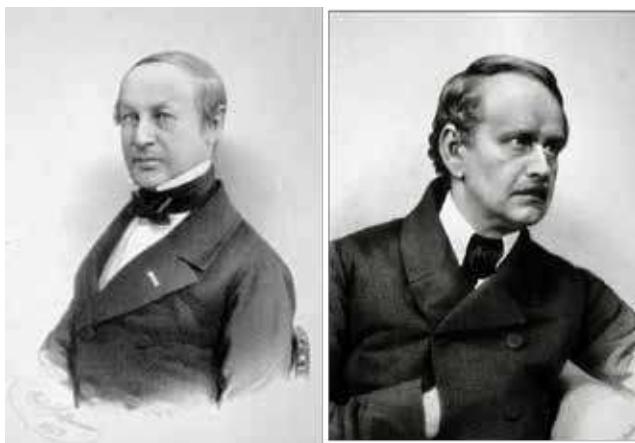


Figura 23. Rudolf Virchow (1821-1902), quien acuñó el famoso aforismo “*omnis cellula e cellula*” (<https://www.britannica.com/biography/Rudolf-Virchow>).



Figura 24. Walther Flemming (1843-1905), fundador de la citogenética (<http://www.uni-kiel.de/ueberblick/geschichte-e.shtml>)

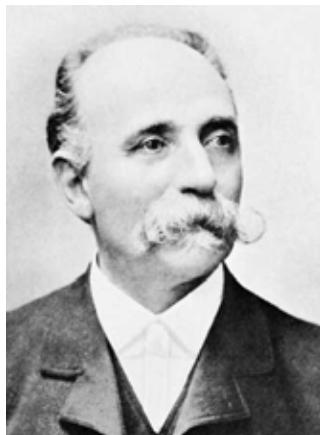


En 1840, el fisiólogo checo Jan Evangelista Purkyně (también conocido como Jan Evangelista Purkinje, 1787-1869; Fig. 25) definió el protoplasma como la sustancia fundamental de la materia viviente y, por tanto, responsable de todos los procesos vitales. Las investigaciones acerca del protoplasma realizadas sobre células vivas intactas permitieron obtener la mayor parte de la información básica sobre las propiedades físicas de las células vivas (mecánicas, ópticas, eléctricas y contráctiles; Orel y Matalova, 1990). Posteriormente, Max Johann Sigismund Schultze (1825-1874) advirtió de la identidad que existía entre el protoplasma de las células animales y el de las células vegetales, lo que le permitió formular, en 1861, su “Doctrina del protoplasma” (Geison, 1969). Así, el concepto primitivo de célula se transformaba en el de una masa de protoplasma, que rodeaba al núcleo y estaba limitada en el espacio por una membrana plasmática. Sin embargo, pronto se hizo evidente que el protoplasma no era homogéneo (Parnes, 2000). La elucidación de los componentes del protoplasma, término que sería sustituido por el de citoplasma, fue larga y difícil. Para ello, era necesario disponer de instrumentos de mayor calidad y depurar los métodos de análisis. En la medida en que se perfeccionaron el microscopio óptico convencional y las técnicas de preparación de especímenes, se hicieron progresos en este sentido. Así, a finales del siglo XIX se consiguió identificar alguno de los orgánulos esenciales: las mitocondrias (Carl Benda, 1857-1932), el ergastoplasma o retículo endoplasmático rugoso (Charles Garnier, 1825-1898) y el aparato de Golgi (Camillo Golgi, 1843-1926; Fig. 26). Como se ha dicho previamente, el estudio del núcleo fue más fructífero que el del citoplasma pues, entre 1878 y 1888, las investigaciones de Flemming, Rabl y Strasburger establecieron definitivamente los hechos clave de la mitosis y, como consecuencia de ello, describieron la estructura del núcleo (Corliss, 1989).

Figura 25. Jan Evangelista Purkyně (1787-1869) que definió el protoplasma como la sustancia fundamental de la célula
(<https://www.britannica.com/biography/Jan-Evangelista-Purkinje>)



Figura 26. Camillo Golgi (1843-1926) descubridor del aparato que lleva su nombre (<https://www.britannica.com/biography/Camillo-Golgi>).



4.6. La primera teoría germinal

Algunos científicos del siglo XVIII rechazaron tanto la doctrina *espermista* como la doctrina *ovista* (Bodemer, 1964). Uno de

los más argumentos más convincentes contra dichas hipótesis fueron los esgrimidos por Casper Friedrich Wolff (1733-1794) mediante la publicación, en 1759, del artículo “Teoría de la Generación”. En él, Wolff afirmó que los órganos del cuerpo no existían al inicio de la gestación, sino que se formaban a partir de “material” no diferenciado y a través de una serie de pasos (Bognon-Küss, 2019). Otros naturalistas empezaron a estar interesados en este nuevo modelo. Así, y de acuerdo con lo mencionado previamente, la Teoría Celular reemplazó completamente la de la generación espontánea durante el siglo XIX - aunque todavía se requeriría un tiempo considerable para convencer a científicos y filósofos de que dicha teoría era incorrecta -, y se expandió con el descubrimiento, en 1827, del oocito de perro por parte del científico alemán Karl Ernst von Baer (1792-1876) (Tammiksaar y Brauckmann, 2004; Lopata, 2009). Este hecho aconteció 150 años después de que Leeuwenhoek observara, por primera vez, los espermatozoides. A pesar de este hito, no hay, en estos momentos, un consenso entre los historiadores de la ciencia acerca de qué científico observó, por primera vez, el proceso de interacción entre el espermatozoide y el oocito, puesto que tanto el embriólogo vienes Samuel Leopold Schenk (1840-1902) como el zoólogo suizo Hermann Fol (1845-1892) publicaron sendos ensayos en los que describían dicho proceso (Lopata, 2009; Cohen, 2013). En cualquier caso, lo que sí se sabe con certeza es que Schenk fue pionero en describir la disolución de las células del cúmulus en oocitos de conejo después de su incubación en los fluidos foliculares y uterinos, y después de su exposición a espermatozoides epididimarios en 1878. Se puede decir, así, que Schenk efectuó el primer intento de fecundación *in vitro* (FIV) utilizando oocitos de mamífero (Sztein et al., 2018). Hay que hacer notar que la publicación de estos hallazgos, que supusieron el establecimiento de la embriología experimental, tuvo lugar 100 años antes de que se produjera el nacimiento del primer bebé probeta en 1978.

En 1876 Oskar Hertwig (1849-1922), un estudiante del eminente biólogo Ernst Haeckel (1834-1919), describió la fecundación en el erizo de mar, enfatizando la relevancia del papel del espermatozoide y del núcleo del oocito, y de la reducción del número de cromosomas en los gametos. Hertwig sugirió que el espermatozoide y el núcleo del oocito se fusionaban durante la fecundación (Churchill, 1970; Gonzalès, 2006). Poco tiempo después, entre finales de la década de 1880 e inicios de la década de 1890, otro biólogo alemán Theodor Boveri (1862-1915; Fig. 27) publicó algunos de los principios fundamentales del desarrollo embrionario preimplantacional. Boveri estudió la maduración de los huevos del nematodo *Ascaris megalocephala* y observó que el número de cromosomas se reducía a la mitad durante la formación de estos huevos (Boveri, 1902). De este modo, Boveri fue el primero en observar una de las características fundamentales de la meiosis. Boveri también investigó el desarrollo normal de los oocitos del erizo de mar, así como lo que ocurría cuando dichos oocitos eran fecundados por dos espermatozoides, observando que el desarrollo embrionario de estos animales requería que todos los cromosomas estuvieran presentes (Dietel, 2014). A partir de estas observaciones, Boveri dedujo que los dos gametos (espermatozoide y oocito) tenían la misma cantidad de información trasmisible a la progenie, puesto que ambos tenían la mitad de la dotación cromosómica (células haploides) de un embrión. Con ello, se estableció que el correcto desarrollo embrionario requería que la dotación cromosómica fuera diploide y que las alteraciones en el número de cromosomas producían desarreglos en la embriogénesis (Cohen, 2013). En este contexto, tuvo lugar el redescubrimiento de las Leyes de Gregor Johann Mendel (1822-1884) en el año 1900 (Hoßfeld et al., 2019). Gracias a este hecho, Boveri reconoció la correlación entre las observaciones efectuadas por Mendel y la evidencia citológica de su teoría cromosómica. El centriolo, que es fundamental para la división celular y organi-

za el huso cromosómico, sería descubierto por el mismo Boveri en 1888 (Sathananthan et al., 2006; Schwarz et al., 2018). Sus investigaciones también permitieron concluir que se requieren un par de centriolos dispuestos perpendicularmente entre sí para formar el centrosoma. El centrosoma es el centro de organización de los microtúbulos en las células animales, si bien más tarde se observó que en algunas células animales, como los oocitos de ratón, los centrosomas son acentriolares (Valllet-Buisan et al., 2023). Boveri afirmó, además, que después de la fecundación solo uno de los dos centriolos permanecía funcional, puesto que el otro era inactivado. Junto con su papel durante la división celular, también se le asignó al centriolo un papel estructural de soporte (Schwarz et al., 2018). Amén de sus contribuciones al nacimiento y desarrollo de la embriología, Boveri también sugirió que el cáncer se producía como consecuencia de errores durante el proceso de división celular (Balmain, 2001). Los historiadores de la ciencia consideran hoy que Boveri y su mujer, Marcella Boveri, fueron los primeros embriólogos experimentales (Cohen, 2013). Boveri fue nominado para el premio Nobel (que nunca recibiría) antes de su prematura y súbita muerte en 1915. Junto a Boveri, el genetista norteamericano Walter Stanborough Sutton (1877-1916) contribuyó, de modo independiente, a la formulación de la teoría cromosómica de la herencia (Tagarelli et al., 2003). El trabajo de Sutton en saltamontes demostró que los cromosomas se organizan en parejas de homólogos paternos y maternos, y que éstos se separan durante la meiosis (división reduccional). Sutton también formuló la hipótesis de que los cromosomas, que habían sido descubiertos 60 años antes por los biólogos alemanes Waldeyer y Wilhelm Hofmeister (1824-1877; Campbell, 1925), contienen la información genética (Tagarelli et al., 2003). Pocos años después, Edmund Beecher Wilson (1856-1939) y Nettie Stevens (1861-1912) descubrieron, también de modo independiente, la determinación cromosómica del sexo

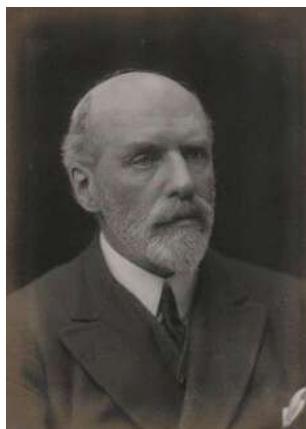
(XY: sexo masculino; XX: sexo femenino; Ogilvie y Choquette, 1981; Dröscher, 2002).

Por otra parte, también hay que mencionar la contribución del zoólogo británico Walter Heape (1855-1929; Fig. 28) que fue el primero en conseguir la exitosa transferencia de un embrión segmentado de un animal a otro (Biggers, 1991). Heape transfirió embriones obtenidos del conejo de Angora a la liebre belga y obtuvo una descendencia mixta, puesto que el animal receptor fue montado de manera natural. Los embriones no fueron sometidos a condiciones de laboratorio (*in vitro*) y la transferencia se llevó a cabo rápidamente después de lavar los embriones recuperados de los oviductos de la hembra donante (Seidel, 2014). Aunque pionera, la transferencia embrionaria entre animales concebida por Heape no se tradujo explícitamente en el desarrollo de la inseminación artificial, lo que no fue óbice para que influyera en la concepción y diseño de otros experimentos futuros.

Figura 27. Theodor Boveri (1862-1915), es considerado el primer embriólogo experimental (<https://www.sciencephoto.com/media/223338/view/theodor-boveri-german-biologist>).



Figura 28. Walter Heape (1855-1929) fue pionero en la transferencia embrionaria (<https://www.npg.org.uk/collections/search/person/mp81372/walter-heape>).



4.7. Los avances en la investigación de las células durante el siglo XX

La comprobación de que los tejidos están compuestos por células desplazó a la fibra como unidad anatómica y nació así uno de los conceptos generales que más ha iluminado todos los campos de la investigación biológica. La Teoría Celular dio origen a la citología que, inicialmente, se cultivó dentro de la zoología, la botánica o la anatomía hasta tener una identidad propia (Hugues, 1959). Asimismo, la Teoría Celular tuvo una importante repercusión en el desarrollo de otras disciplinas, como la histología, la embriología, la patología y la espermatología. En 1885 apareció la primera publicación con este contenido “*La Cellule*”, editada por Jean-Baptiste Carnoy (1836-1899), Gustave Gilson (1859-1944) y Joseph Denys (1857-1932). Pocos años después, en 1893, el alemán Óscar Hertwig (1849-1922) publicó la monografía titulada “*Die Zelle und das Gewebe*”; en ella - y basándose en las características de la célula, su estructura y función - se intentó realizar una síntesis general de los fenóme-

nos biológicos (Karsenti, 2008; Dröscher, 2014). Los estudios sobre la división celular contribuyeron, con independencia de los trabajos de Mendel, a otras disciplinas como la genética clásica. Durante el siglo XX, los avances en el conocimiento de las células avanzaron en dos aproximaciones distintas aunque complementarias (Maienschein, 1991; Rasmussen, 1997): el estudio estructural, por una parte, y el análisis de la relación entre la estructura y la función, por otra. De este modo, se iría evolucionando hacia un concepto más amplio de la célula, sobre todo a partir de los años 50 (Galperin et al., 1999). Este cambio se debió a dos factores principales: el avance tecnológico ligado al desarrollo y perfeccionamiento de la microscopía electrónica y de la difracción por rayos X, y la convergencia con otras ramas de la investigación biológica, en especial la genética y la bioquímica.

Un hito importante en el avance del estudio de la estructura celular fue el aumento del poder de resolución de los instrumentos de análisis (Rasmussen, 1997). En este sentido, hay que destacar la invención del microscopio electrónico de transmisión que, en 1932 y gracias al ingeniero electricista alemán Ernst August Friedrich Ruska (1906-1988) y sus colaboradores, alcanzó los 400 aumentos (Fig. 29). Este microscopio fue mejorado por el físico canadiense James Hillier (1915-2007), de modo que ya en 1937 se alcanzaron los 7.000 aumentos. Sin embargo, la aplicación del microscopio electrónico a la investigación biológica no se produjo hasta la década de los 50, cuando se generalizaron la utilización de los ultramicrótomas y de resinas plásticas como medio de inclusión (Rasmussen, 1997; Mascorro y Bozzola, 2007). Además, para la observación de material biológico mediante microscopía electrónica, se hizo necesario mejorar los procedimientos de fijación y deshidratación de los tejidos y los métodos de contraste de los cortes. En

todo caso, la microscopía electrónica revolucionaría el conocimiento de la arquitectura celular, al revelar las estructuras que escapaban al poder de resolución del microscopio óptico. Más tarde, el microscopio electrónico de barrido permitiría el análisis tridimensional de la ultraestructura (Maienschein, 1991). Las técnicas citoquímicas e histoquímicas, la criofactura, la microscopía electrónica de alto voltaje, el marcaje con isótopos radioactivos, el microscopio de fuerzas atómicas y la difracción de rayos X, entre otras innovaciones, marcarían, durante las últimas cuatro décadas del siglo XX, la evolución del estudio preciso y detallado de la ultraestructura celular y macromolecular de los seres vivos (Galperin et al., 1999). En toda esta evolución, un hecho destacado fue la aparición en 1955 de la primera revista dedicada casi exclusivamente a la publicación de detalles ultraestructurales y funciones celulares: “*The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*” que, significativamente, cambió su nombre en 1962 por el de “*The Journal of Cell Biology*”.

Figura 29. Ernst Ruska (1906-1988), inventor del microscopio electrónico de transmisión (<https://www.biografiasyvidas.com/biografia/r/ruska.htm>).



Otro aspecto importante para la descripción dinámica de la célula vino de la articulación profunda entre la bioquímica y la citología. Por ejemplo, mediante el análisis químico de la membrana mitocondrial, Albert Claude (1899-1983) y George Emil Palade (1912-2008) establecieron su función: la fosforilación oxidativa (Zorca y Zorca, 2011; Fig. 30). Así, la bioquímica permitió identificar numerosos componentes, y descubrir los productos del metabolismo intermedio y los enzimas que catalizan las reacciones; todas estas reacciones no se explicaban en una organización celular estática (Dröscher, 2014). Para situar a escala celular las manifestaciones bioquímicas características de los seres vivos, se idearon diversas técnicas tales como el empleo de isótopos naturales, el estudio de la composición de los ácidos nucleicos al microscopio de luz ultravioleta, ... (Galperin et al., 1999). Fruto de la combinación de las técnicas de fraccionamiento celular y el análisis bioquímico de las fracciones obtenidas se descubrieron los lisosomas y los peroxisomas. Por otra parte, se aplicó la centrifugación para aislar ciertos componentes celulares, y determinar su composición química y su actividad en el interior de sistemas simplificados; se pasó de la centrifugación a la ultracentrifugación, lo que permitió identificar a los ribosomas (Claude Palade y Christian De Duve, 1917-2013; Zorca y Zorca, 2011). El uso de isótopos radioactivos y de la autorradiografía, junto con el empleo de anticuerpos monoclonales en estudios inmuno-histoquímicos e inmunocitoquímicos, entre otras técnicas, aportaron una información valiosísima acerca de la localización de moléculas específicas en células (incluyendo los espermatozoides) y tejidos y, en general, sobre la fisiología celular (Karsenti, 2008).

Figura 30. Albert Claude (1899-1983; izquierda) y George Palade (1912-2008; derecha) descubridores de los ribosomas
(<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1974/summary>).



El estudio de las células y los tejidos así como la embriología también se beneficiaron en gran medida de otro gran avance metodológico: el establecimiento de los cultivos celulares *in vitro* que, si bien, databan de principios del siglo XX, solo se desarrollaron de manera sistemática a partir de los años 60, gracias a la labor de los investigadores Renato Dulbecco (1914-2012), Harry Eagle (1905-1992) y Theodore Puck (1916-2005). Durante las últimas seis décadas, los cultivos celulares y las ventajas que representa reproducir aproximaciones a los sistemas *in vivo* en el laboratorio han condicionado y dirigido buena parte de las investigaciones de células y tejidos (Bechtel, 2006). La facilidad con la que las células tumorales, algunos tipos celulares normales (fibroblastos, hepatocitos, células epidérmicas, ...), embriones en sus primeros estadios de desarrollo e incluso tejidos pueden proliferar y desarrollarse *in vitro*, unida a la inmensa posibilidad de observación y experimentación que esto representa, han impulsado espectacularmente los análisis de la

estructura, función y diferenciación de los tipos celulares más variados (Karsenti, 2008). Todos estos avances han aportado nuevos conocimientos que ayudan a comprender la célula eucariota, no solo como un complejo organismo vivo aislado, sino como un elemento más, integrado en un ambiente funcional pluricelular.

Otra contribución destacable al estudio de las células vino de la mano de la biología molecular (Mendelson, 2003; Cvrčková, 2018). Las investigaciones referentes al papel de los ácidos nucleicos en la biosíntesis de las proteínas y la transmisión de la información genética sirvieron de punto de partida de esta disciplina, que surgió de la relación entre la genética y la bioquímica (Dröscher, 2014). Durante muchos años, se había pensado que los constituyentes de los genes eran proteínas. Sin embargo, un experimento realizado en 1944 por Oswald Theodore Avery (1877-1955), Colin Munro MacLeod (1909-1972) y Maclyn McArthy (1911-2005) demostró que el ADN era el principio transformante de la bacteria *Streptococcus pneumoniae* con la que trabajaban. La gran evolución sucedería en 1953, cuando los bioquímicos James Dewey Watson (1928-) y Francis Harry Compton Crick (1916-2004) infirieron la estructura de la doble hélice del ADN. Previamente, a finales de los años 40, el bioquímico austriaco Erwin Chargaff (1905-2002) había descubierto la ley de apareamiento de bases (adenina con timina y citosina con guanina) y el físico Maurice Hugh Frederick Wilkins (1916-2004) y sus colaboradores, especialmente Rosalind Elsie Franklin (1920-1958), habían obtenido imágenes de difracción de rayos X de la molécula de ADN, demostrando que los átomos estaban regularmente espaciados y formaban una estructura helicoidal (Fig. 31; Galperin et al., 1999). Posteriormente, los trabajos de George Wells Beadle (1903-1989) y Edward Laurie Tatum (1909-1975) con el hongo *Neurospora crassa* dieron pie al conocido

aforismo “un gen, un enzima” (Singer y Berg, 2014). Éstas y otras experiencias realizadas durante los años 40 y 50 del siglo pasado establecieron que los genes codifican proteínas, aun cuando se desconocía realmente el control de la actividad génica (Karsetin, 2008). Dos científicos franceses Jacques-Lucien Monod (1910-1976) y François Jacob (1920-2013) sugirieron en 1961 que los genes estaban regulados por la acción de otros genes (Fig. 32). Desde que estos investigadores presentaron sus hallazgos sobre genes reguladores se produjeron tres avances importantes (Schnek y Massarini, 2008):

1. La prueba de que el ARN mensajero transmite la información desde el ADN hasta la maquinaria celular responsable de la síntesis proteica.
2. El desciframiento del código genético, que implica que la información se almacena en los ácidos nucleicos.
3. El descubrimiento de que las proteínas se traducen con ayuda de los ARN de transferencia y los ribosomas.

Figura 31. James Watson (1928-; izquierda), Francis Crick (1916-2004; centro) y Maurice Wilkins (1916-2004; derecha) descubridores de la estructura del ADN
(<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/summary>).



Figura 32. François Jacob (1920-2013; izquierda)
y Jacques Monod (1910-1976; derecha)
(<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1965/summary>).



Los trabajos de Jacob y Monod permitieron entender que un mismo genoma puede expresarse de formas muy diferentes, lo que explicó el fenómeno de la diferenciación celular; es decir, el hecho de que un mismo organismo desarrolla fenotipos celulares distintos (Thomas, 1998). En fechas posteriores a los descubrimientos de Jacob y Monod, el biólogo británico John Bertrand Gurdon (1933-; Fig. 33) ofreció la mejor prueba de la constancia del genoma con sus experimentos de trasplante nuclear: el núcleo de una célula completamente madura de rana inyectada a un óvulo al que se le había eliminado el suyo (enucleación) era capaz de iniciar el desarrollo de un proceso embrionario completo y dar lugar a un renacuajo normal. Este hallazgo fue fundamental para la embriología y permitió, al mismo tiempo, descubrir que las células adultas se podían reprogramar (Rosenthal y Zernicka-Goetz, 2014; Gurdon, 2016).

Figura 33. John Gurdon (1933-) descubridor de la reprogramación celular, por el que obtuvo el premio Nobel (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2012/summary>).



Por otro lado, el trabajo pionero en ribosomas se debió a Paul Charles Zamecnik (1912-2009) y colaboradores, quienes descubrieron su papel fundamental en la síntesis de proteínas. Investigaciones posteriores llevadas a cabo por el bioquímico americano Marshall Warren Nirenberg (1927-2010) demostraron, en 1961, que el ARN mensajero era necesario para la síntesis de proteínas. (Nelson, 2011). Basándose en los trabajos del bioquímico español Severo Ochoa (1905-1993), quien produjo ARN sintético en 1955, y del investigador americano Arthur Kornberg (1918-2007), que lo hizo un año después (Kornberg, 1993) (Fig. 34), Nirenberg y Har Gobind Khorana (1922-2011) se encargaron de descifrar el código que determinaba cada uno de los 20 aminoácidos (Fig. 35); fruto de estas investigaciones se descubrió el código genético en 1965 (Raju, 1999; Nelson, 2011). Desde el último tercio del siglo XX y las dos primeras décadas del siglo XXI, se han venido

desarrollando ininterrumpidamente nuevas técnicas basadas en la manipulación del ADN que han incidido de manera fundamental en el conocimiento del funcionamiento de la célula. Así, por ejemplo, a principios de los años 70 se consiguió aislar por primera vez un fragmento de ADN de entre los miles de millones de nucleótidos de un cromosoma. Posteriormente, se descubrió que este fragmento se podía incluir en otro cromosoma creando moléculas de ADN nuevas que a su vez podían ser introducidas en el organismo. Este conjunto de técnicas se bautizaría con el nombre de Tecnología del ADN Recombinante (Khan et al., 2016). La utilización de dicha tecnología permitió la secuenciación de los genomas de varios organismos unicelulares, como bacterias y levaduras, y de organismos más complejos como el nematodo *C. elegans*, la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*), animales domésticos y la especie humana. Técnicas como la hibridación *in situ* para detectar cualquier segmento de ADN, el clonaje de moléculas de ADN, o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por Kary Banks Mullis (1944-2019) en 1985, son algunas de las herramientas más utilizadas en los laboratorios de biología celular y molecular de hoy en día (Lorenz, 2012; Fig. 36). Además, los genes clonados se pueden introducir en el genoma de las células de un organismo dado, produciendo así organismos transgénicos. Estos genes son susceptibles de modificaciones *in vitro* mediante la inducción de mutaciones, lo que permite estudiar la función de un gen determinado. También las técnicas de silenciamiento de la expresión génica mediante modelos *knock out* y *knock down* (ARN de interferencia) y en particular la tecnología CRISPR-Cas9 han permitido conocer, con más profundidad, la función específica de genes y proteínas concretas, y han abierto el camino de la edición génica, incluso en embriones (Gupta et al., 2019; Chen y Liu, 2023 Madigan et al., 2023).

Figura 34. Severo Ochoa (1905-1993; izquierda) y Arthur Kornberg (1918-2007; derecha)
(<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1959/summary>).



Figura 35. Marshall Nirenberg (1927-2010; izquierda) y Har Gobind Khorana (1922-2011; derecha)
(<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1968/summary>).



Figura 36. Kary Mullis (1944-2019), inventor de la PCR
(<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1993/summary>).

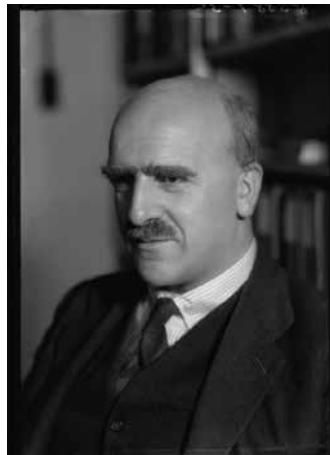


Se puede concluir, en definitiva, que la explicación de los procesos biológicos en distintos tipos celulares, incluidos los espermatozoides, a partir del conocimiento de la estructura de las moléculas y de su disposición y dinamismo en la membrana, los orgánulos, el citosol, el núcleo y los cromosomas, ha sido la gran aportación de la biología molecular. A su amparo ha surgido un nuevo modo de entender la conexión entre la estructura del gameto masculino y su funcionalidad. De esta manera, se puede considerar plenamente como estructura, y por lo tanto morfología, la doble hélice del ADN y la organización de la cromatina espermática en toroides (Vallet-Buisan et al., 2023), así como la bicapa lipídica y la disposición de las proteínas en la membrana. A partir de esta aproximación, cada día mayor, entre dimensión molecular y morfología, la espermatología ha adquirido un estatus propio y ha contribuido a confirmar la Teoría Celular con la profundización de los conocimientos moleculares.

4.8. *De la meiosis a la ectogénesis*

Es altamente probable que la idea de la fecundación externa en humanos a través de técnicas de laboratorio fuera introducida, por primera vez, por el eminentísimo fisiólogo británico John Burdon Sanderson Haldane (1892-1964; Fig. 37) quien publicó, en 1924, la obra “*Daedalus; or Science and the future*”, donde afirmaba que el proceso que él denominó “ectogénesis” permitiría, más pronto que tarde, crear individuos fuera del cuerpo humano (Cohen, 2013). Haldane también predijo que el nacimiento del primer bebé mediante esta tecnología se produciría en 1951. Esta predicción no se cumplió, ni él pudo verla cumplida en vida, pero solo se equivocó de 25 años. Siguiendo la profecía de Haldane, el escritor y filósofo británico Aldous Leonard Huxley (1894-1963) popularizó la tecnología de la reproducción mediante una novela (“*Brave New World*”) publicada en 1932 (Huxley, 1932).

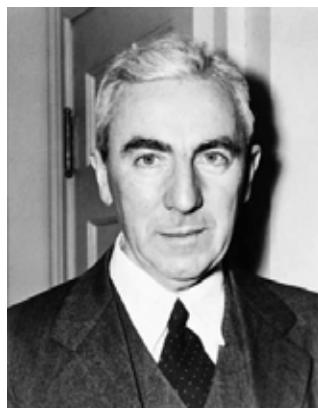
Figura 37. John B.S. Haldane (1892-1964) fue el primero que sugirió que la fecundación externa en humanos era posible (<https://www.npg.org.uk/collections/search/portrait/mw165816/John-Burdon-Sanderson-Haldane>).



El segundo cambio de paradigma se produjo con la aplicación del modelo ectogenético a las mujeres con bloqueo o desórdenes en la trompa de Falopio. Esta posibilidad fue sugerida por el ginecólogo estadounidense - y uno de los creadores de la píldora anticonceptiva - John Rock (1890-1984; Fig. 38), mediante una nota editorial publicada, aunque no firmada, en la revista científica *New England Journal of Medicine* en 1937 (Cohen et al., 2005). De este modo, se sugería que la hipótesis de Haldane podría servir para tratar dolencias y casos clínicos concretos. El diagnóstico y tratamiento de la infertilidad antes del nacimiento de Louise Brown fue muy sofisticado. En realidad, el tratamiento de la infertilidad ya había sido establecido como una subespecialidad de la ginecología bastantes años antes del inicio de la Segunda Guerra Mundial. Sin embargo, sería durante estos años cuando emergería una nueva disciplina, la andrología. Inicialmente, los tratamientos tuvieron, en la gran mayoría de casos, nula

efectividad (Cohen, 2013). A pesar de ello, hubo algunas terapias para tratar la infertilidad que se demostraron efectivas. Se llevaron a cabo intervenciones quirúrgicas para remediar las dolencias relacionadas con las trompas de Falopio y se trataron algunos desórdenes endocrinológicos e inmunológicos con cierto éxito. Por otra parte, aunque los primeros intentos de inseminación artificial se retraían a fines del siglo XVIII (John Hunter, 1728-1793), no fue hasta los años 50 del siglo pasado cuando el proceso sería descrito, por primera vez, en las revistas médicas (Ombelet y Van Robays, 2015).

Figura 38. John Rock (1890-1984) fue el primer en sugerir que la fecundación *in vitro* podía servir para la tratar la infertilidad relacionada con desórdenes en la trompa de Falopio (https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Embryology_History_-_John_Rock).



Otro hito importante, no solo para la espermatología sino también para la criobiología, fue el descubrimiento del glicerol como crioprotector por parte del científico británico Christopher Polge (1926-2006). Polge y sus colaboradores fueron los primeros en criopreservar, con éxito, espermatozoides de varias especies de animales y de la especie humana en 1949 (Polge et al., 1949; Yeste, 2016). Años más tarde, Jerome K. Sherman (1925-) estableció, por primera vez, un banco de semen. Mien-

tras tanto, otros científicos completaron los primeros pasos de la ectogénesis en el laboratorio, con la planificación de experimentos de fecundación *in vitro* en modelos animales (Fig. 39). Aunque la contribución del científico chino-estadounidense y co-creador de la píldora anticonceptiva Min Chueh Chang (1908-1991; Chang, 1959) fue fundamental para el estudio de la capacitación espermática y el desarrollo de la fecundación *in vitro* (Fig. 40), otros investigadores habían llevado a cabo con anterioridad numerosos experimentos que contribuyeron, sin lugar a dudas, a allanar el camino (Austin, 1961). Hay que destacar las primeras investigaciones realizadas por Onanoff a finales del siglo XIX, en las que se utilizaron óvulos de coneja y cobaya recogidos del útero (Onanoff, 1893). A pesar de ello, la mayoría de embriólogos utilizaron posteriormente óvulos procedentes de la trompa de Falopio. Otra contribución importante fueron los experimentos de FIV - también en conejos - que el tercer padre de la píldora anticonceptiva, Gregory Pincus (1903-1967; Fig. 40), llevó a cabo antes de la Segunda Guerra Mundial (Pincus y Enzmann, 1935). En los años 50 del siglo XX, se observó que, durante la FIV, los espermatozoides podían interaccionar con la zona pelúcida y que el exceso de éstos era difícilmente eliminable mediante lavados sucesivos de los oocitos. Pincus también descubrió la presencia de dos corpúsculos polares después de la activación del oocito y constató que en un periodo muy corto de tiempo el oocito pasaba del estadio de vesícula germinal al de metafase-II (aparición del primer corpúsculo polar; Pincus y Enzmann, 1935). Por otra parte, el anteriormente mencionado John Rock y Miriam Menkin, ambos científicos en Harvard, fueron recogiendo oocitos inmaduros de pacientes, aunque los resultados que tuvieron fueron más bien modestos (Menkin y Rock, 1948). Estas investigaciones fueron complementadas por el francés Charles Thibault (1919-2003; Fig. 41) y por Chang también durante los 50, cuando llevaron a cabo exitosamente la FIV en

conejos y obtuvieron descendencia después de la transferencia de los embriones (Thibault, 1954; Chang, 1959). A pesar de todos estos avances, aún se sabía muy poco acerca de cómo se producía la FIV y se creía que los espermatozoides tenían que madurar primero en el útero.

Figura 39. Hitos históricos más importantes para espermatología hasta 1978 (Ombelet y Van Robays, 2015).

| | | |
|------|--------------------------|---|
| 1677 | • Van Leeuwenhoek Antoni | first picture of sperm cells |
| 1786 | • Spallanzani Lazzaro | first insemination (in a dog) |
| 1790 | • Hunter John | first vaginal insemination in human |
| 1890 | • Ivanov Ilya | development of semen extenders |
| 1894 | • Pincus Gregory | first animal (rabbit) conceived by artificial insemination |
| 1931 | • Phillips & Lardy | egg yolk to protect bull sperm upon cooling |
| 1944 | • Polge et al. | glycerol in the medium for freezing |
| 1950 | • Foote and Bratton | antibiotics in medium |
| 1953 | • Sherman Jerome | first pregnancy after AI with frozen sperm |
| 1978 | • Steptoe and Edwards | first IVF birth – refinement of semen processing techniques |

Figura 40. Min Chueh Chang (1908-1991; izquierda) y Gregory Pincus (1903-1967) (https://npg.si.edu/object/npg_NPG.84.238; <https://www.britannica.com/biography/Gregory-Pincus>).



Figura 41. Charles Thibault (1919-2003), pionero de la FIV en animales (<http://institut.inra.fr/Reperes/Jalons-historiques/Une-aventure-humaine/Tous-les-magazines/Charles-Thibault>).



Sería en 1963, cuando un hito remarcable marcaría para siempre el desarrollo y éxito de la FIV. Fue durante este año cuando el fisiólogo Robert Geoffrey Edwards (Fig. 42) se interesó por el tratamiento de la infertilidad mediante esta técnica. Para Edwards, el establecimiento exitoso de la FIV en humanos requería primero resolver varios interrogantes (Edwards, 1996):

- 1) ¿Cuál es el medio apropiado de cultivo?
- 2) ¿Cuál es la mejor manera de cultivar las muestras?
- 3) ¿Cómo se podrían madurar los oocitos inmaduros *in vitro*?
- 4) ¿Cómo se pueden obtener oocitos maduros de manera rutinaria?
- 5) ¿Cómo se deberían procesar/preparar los espermatozoides?
- 6) ¿Cómo se debería proceder para recolectar más de un oocito?

- 7) ¿Cómo se podría programar la ovulación de manera más precisa?
- 8) ¿En qué estadio deberían transferirse los embriones al útero después de la FIV?
- 9) ¿Cómo y dónde se deberían transferir los embriones?

Figura 42. Robert Edwards (1925-2013), padre de la FIV en humanos y Premio Nobel de Medicina (2010; (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2010/edwards/>)



Aunque ya se estaban haciendo numerosos esfuerzos para resolver algunas de estas cuestiones en modelos animales, dichos resultados debían ser contemplados desde la perspectiva de que cada especie tiene sus propios requerimientos. Además, otra dificultad añadida en el caso de la especie humana era la naturaleza del material con el que se trabajaba, pues las mujeres de las que se recolectaban los oocitos eran de edad avanzada y padecían infertilidad. Asimismo, los oocitos eran obtenidos de la misma paciente a la que se le transferían los embriones, a

diferencia de lo que ocurría en animales, donde la donante de oocitos y la receptora de los embriones producidos *in vitro* eran hembras distintas. Con todo, los principales aspectos de la FIV y del diagnóstico genético preimplantacional fueron establecidos por el mismo Edwards en un artículo que se publicó en *The Lancet* (Edwards, 1965; Johnson et al., 2010).

4.8. *Capacitación espermática, cultivo embrionario e hiperestimulación ovárica*

Durante muchos años y de acuerdo con Chang (1968), se tuvo la impresión generalizada de que salvo que se pudieran obtener crías después de trasplantar los oocitos fecundados en conejas receptoras, no se podría dar por demostrado el éxito de la FIV; en efecto, los oocitos podrían haber sido fecundados de manera anormal o, aun, podrían no haber sido fecundados. La confirmación final de dicho éxito la obtuvo el propio Chang en 1959 (Chang, 1959). Dicho investigador chino-estadounidense incubó oocitos ovulados con espermatozoides capacitados durante cuatro horas, y después los incubó en un medio con un 50% de suero de conejo durante 18 horas. Posteriormente, transfirió estos oocitos a conejas receptoras, de modo que, por primera vez, se obtuvieron crías nacidas de FIV y transferencia embrionaria. No fue sin embargo hasta una década más tarde cuando el propio Chang y el investigador japonés nacionalizado estadounidense Ryuzo Yanagimachi (1928-2023; Fig. 43) descubrieron la capacitación espermática, y establecieron un protocolo para conseguir la capacitación *in vitro* de los espermatozoides, esta vez en hámsteres (Yanagimachi y Chang, 1963). Cinco años más tarde, el científico británico David Whittingham estableció la FIV en ratón (Whittingham, 1968), lo que permitiría desarrollar otros estudios acerca del desarrollo embrionario pre-implantacional.

Figura 43. Ryuzo Yanagimachi (1928-2023) fue uno de los descubridores de la capacitación espermática (<https://www.ssr.org/news-events/past-meetings/2015-meeting>).



El establecimiento del cultivo embrionario *in vitro* fue también un hito fundamental para el desarrollo de la embriología experimental. Con anterioridad al establecimiento del protocolo, Elizabeth Hammond había descubierto que los embriones de ratón recogidos en el estadio de ocho células, pero no en el de dos células, se podían cultivar en una solución fisiológica salina suplementada con yema de huevo, alcanzando así el estadio de blastocisto (Hammond, 1949). Aunque la imposibilidad de cultivar los embriones de dos células representó un desafío durante mucho tiempo, el descubrimiento de Hammond permitió abandonar el uso de los fluidos biológicos como medio de cultivo para los embriones. En 1956, Whitten sustituyó el medio de Hammond con una modificación de la solución de bicarbonato Krebs-Ringer, suplementada con glucosa, antibióticos y albúmina sérica bovina (BSA; Whitten, 1956). Con este nuevo medio, Whitten consiguió que tanto los embriones de dos como los de ocho células alcanzaran el estadio de blastocisto después de su cultivo. Dos años más tarde, McLaren y Biggers (McLaren y Biggers, 1958) obtuvieron ratones sanos nacidos de la transferencia de blastocistos cultivados *in vitro* con el medio

de Whitten. En ese momento, el principal problema para el desarrollo de la tecnología en humanos estaba relacionado con la incapacidad de obtener un número elevado de oocitos por ciclo. De acuerdo con Edwards, el dogma que había imperado hasta ese momento afirmaba que los ovarios de las mujeres adultas no responderían a las gonadotropinas (Edwards y Steptoe, 1980). Sin embargo, tanto él como su mujer, la también científica Ruth Fowler (1930-2013), desafiaron con éxito este dogma. Para ello, siguieron las investigaciones de Allen Gates, que había conseguido inducir artificialmente la ovulación en hembras de ratón prepuberales mediante la inyección de suero de yegua preñada, dos días después, de suero de mujer embarazada (Runner y Gates, 1954). Utilizando el mismo método, Fowler y Edwards indujeron la superovulación en ratones postpuberales (Fowler y Edwards, 1957). Posteriormente, el endocrinólogo sueco Carl Axel Gemzell (1910-2007; Fig. 44) demostró que las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) inducían con éxito la ovulación en humanos (Gemzell, 1962). Aunque todos estos avances fueron fundamentales, el establecimiento de un sistema de cultivo optimizado era aún una asignatura pendiente.

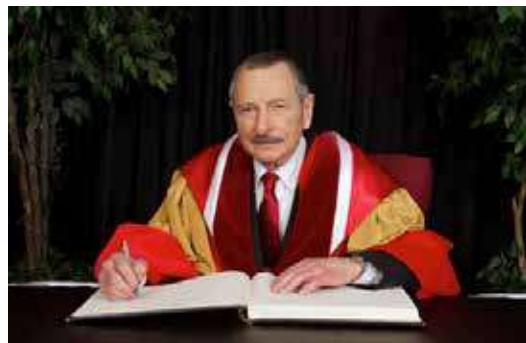
Figura 44. Carl Gemzell (1910-2007), pionero de la superestimulación ovárica (Bettendorf, 1995).



En 1963, el genetista norteamericano Ralph L. Brinster (1932-; Fig. 45) dispuso los embriones en pequeñas gotas de medio de cultivo cubiertas por una capa de aceite de parafina. Con pequeñas modificaciones, este sistema de cultivo *in vitro* en “microgotas” y placas de Petri se ha convertido en el más utilizado para el cultivo de embriones de mamífero. En efecto, este método se utiliza en el 99,9% de las clínicas de reproducción asistida humana (Hammer, 1998; Cohen, 2013). A pesar de que la placa diseñada por Richard Petri (1852-1921) se utilizó por primera vez en el siglo XIX, se han efectuado pocos cambios para adaptarla a campos distintos al de la microbiología (p.ej., cultivos celulares). Actualmente, algunas de las modificaciones menores de este soporte son las placas de cuatro pocillos, que son de las más utilizadas para la maduración *in vitro* de oocitos, la FIV y el cultivo embrionario. Inicialmente, las placas de Petri eran de vidrio, y de este material fueron las placas utilizadas para las técnicas de reproducción asistida hasta los años 70 del siglo pasado. Sin embargo, el incremento de los costes de producción hizo que, a partir de la segunda mitad de los años 80, se empezara a utilizar el plástico. Por otra parte, y como se ha mencionado previamente, se añadió una capa de aceite de parafina, un fluido transparente y viscoso, sobre las microgotas que contenían los gametos. Este sistema de cultivo “abierto” tiene varias ventajas, pues reduce la posibilidad de contaminación microbiana, y permite que la FIV y el desarrollo embrionario tengan lugar en condiciones menos restrictivas (Sherbahn et al., 1996). Además, con esta capa de aceite, se evita que se evaporen los medios de fecundación y cultivo y, al ser transparente, los gametos se pueden observar en el microscopio invertido durante todo el proceso. Por otra parte, este sistema de cultivo también ha permitido el estudio de la fisiología de los espermatozoides y los oocitos, mediante la evaluación de los metabolitos producidos y absorbidos por las células, y el mantenimiento de la temperatura de los gametos y de los embriones - incluso

cuando las placas se retiran momentáneamente del incubador para su evaluación -, así como el establecimiento de las técnicas de micromanipulación (Scarica et al., 2022). De hecho, la inyección intracitoplasmática de los espermatozoides (ICSI) no hubiera sido posible sin la utilización de dicho aceite. Dado que uno de los problemas del uso del aceite de parafina era su toxicidad, éste se terminó sustituyendo por otros aceites como el aceite mineral que es el que se utiliza actualmente. Aunque la toxicidad de este aceite - que es un destilado del petróleo - es inferior, aún existe una gran variación de su efectividad entre experimentos (Cohen, 2013).

Figura 45. Ralph Brinster (1932-) estableció el cultivo embrionario (<https://www.vet.upenn.edu/research/research-laboratories/research-laboratory/brinster-laboratory-of-reproductive-physiology>).



4.9. El desarrollo de la FIV en humanos

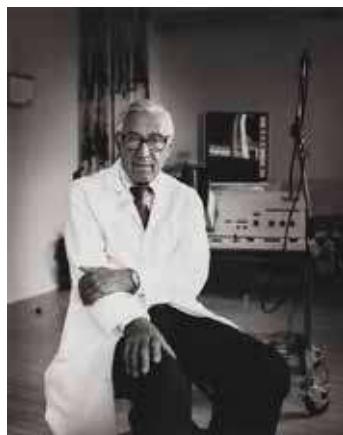
El conocimiento y la experiencia adquiridos en modelos animales por varios investigadores durante décadas, incluyendo la maduración *in vitro* de los oocitos (Edwards, 1965), se aplicó por primera vez en humanos en marzo de 1968. Edwards y su colaborador B.D. Bavister utilizaron una modificación del medio Tyrode's establecido cinco años antes por Yanagimachi y Chang para la

FIV en hámsteres (Yanagimachi y Chang, 1963) y añadieron espermatozoídes a nueve oocitos humanos. Once horas después, observaron la presencia de una cola de espermatozoide dentro de un oocito y la presencia de dos pronúcleos en otro. Sin lugar a dudas, esta fue la primera evidencia incontrovertible de que la FIV se podía llevar a cabo en humanos (Edwards et al., 1969), si bien ello representaba el primer paso de un largo camino, dado que en dicho medio los presuntos embriones no llegaron a desarrollarse (Johnson, 2019). En este momento ya se sabía que el plasma seminal debía ser eliminado para que se produjera la FIV y que los espermatozoídes tenían que capacitarse para que pudieran penetrar el oocito. La colaboración de Edwards con el ginecólogo británico Patrick Christopher Steptoe (1913-1988; Fig. 46), en la que podría considerarse como una de las colaboraciones más fructíferas entre un científico y un médico, empezó en 1968, y ello gracias al hecho de que Steptoe había sido capaz de utilizar la laparoscopia como método para visualizar y manipular los ovarios (Litynski, 1998).

La primera vez que se trató a pacientes infériles con FIV fue en 1970. Desafortunadamente, se tuvieron que llevar a cabo hasta 100 intentos (incluyendo la transferencia embrionaria), que se demoraron durante siete años, para que se consiguiera un embarazo normal (noviembre de 1977). Un año antes, en 1976, se había conseguido el primer embarazo, pero éste fue ectópico (Johnson, 2019). Aunque otros grupos de investigación, radicados en Suecia, Holanda, India y Estados Unidos, llevaron a cabo sendos intentos, la iniciativa principal la continuaron teniendo Edwards y Steptoe, a los que se les unió la enfermera Jean Purdy (1945-1980). Purdy, cuya contribución al desarrollo de la FIV fue durante muchos años ignorada, jugó un papel fundamental en la convergencia de la embriología experimental (representada por Edwards) y la medicina reproductiva (representada por Steptoe). Así, facilitó la transformación de la

investigación básica de la FIV en un disciplina clínica y meticulosa, haciendo énfasis en el control de calidad de los protocolos (Cohen, 2013; Johnson, 2019).

Figura 46. Patrick Steptoe (1913-1988) colaborador de Edwards en el establecimiento de la FIV (<https://www.npg.org.uk/collections/search/person/mp05780/patrick-christopher-steptoe>).



Louise Joy Brown nació el 25 de julio de 1978 y se convirtió rápidamente en el bebé más famoso del mundo. Su nombre es aún reconocido mundialmente, y representa el éxito del empeño y los intentos que, durante tantos años, Edwards y Steptoe llevaron a cabo (Johnson, 2019). Después del nacimiento de Louise, Edwards y Steptoe publicaron una pequeña *Letter* en *The Lancet* (Steptoe y Edward, 1978), que recogía tres aspectos fundamentales del proceso que se había seguido. El primero era que el embrión que se había transferido estaba en el estadio de ocho células y no en un estadio más avanzado de desarrollo como había sucedido en otros intentos fallidos. La razón por la cual se habían transferido blastocitos en los intentos previos fue que se creía que los embriones en estadios más tempranos serían recibidos con una mayor hostilidad fisiológica, dado que se conocía que la implantación se producía en el estadio de blastocisto. Ac-

tualmente, se sabe que esta afirmación es solo válida para los animales y que el útero humano puede tolerar cualquier estadio de desarrollo alrededor del momento de la ovulación, incluso la presencia de ambos gametos antes de la fecundación si la transferencia del espermatozoide y el oocito es simultánea (Craft et al., 1982). La segunda relevación de la *Letter* en *The Lancet* fue que a Lesley, madre de Louise Brown, se le habían extirpado sus trompas de Falopio por una enfermedad y que los ovarios tuvieron que ser relocalizados para que tuvieran fácil acceso. Este hecho constituía otra prueba más, si cabe, de que, efectivamente, Louise era una niña probeta y que se descartaba la posibilidad de fecundación espontánea. El tercer aspecto fue que el oocito empleado en la FIV había sido obtenido de un folículo maduro que se había desarrollado de manera natural y que no se utilizó la superestimulación ovárica, al contrario de lo que había acontecido en otras pacientes. Por ello, los científicos se preguntaron si el ciclo ovárico natural era un requisito para la FIV. Sin embargo, el equipo del embriólogo australiano Alan Trounson (1946-) demostró, en 1981, que la FIV también se podía llevar a cabo con éxito utilizando oocitos recogidos después de la superestimulación ovárica con gonadotropinas y citrato de clomifeno (Trounson et al., 1981).

Para concluir esta sección, huelga decir que los primeros intentos e incluso el éxito de la FIV estuvieron rodeados de un ambiente hostil, aquejado de una crítica continua y con la negativa de las agencias gubernamentales de financiar cualquier tipo de investigación. Muchos líderes religiosos y políticos, filósofos, médicos e incluso científicos fueron totalmente contrarios a esta técnica. Sin embargo, Edwards confrontó y debatió con ellos, y nunca titubeó a la hora de defender, mediante artículos en revistas especializadas y de divulgación, los aspectos legales, políticos y éticos de las técnicas de reproducción asistida.

4.10. El establecimiento y expansión de la práctica clínica de la reproducción asistida

A finales de los años 80, Edwards y Steptoe abrieron la primera clínica mundial de reproducción asistida cerca de Cambridge (*Bourn Hall Clinic*). El hecho de que transcurriera tanto tiempo desde el nacimiento de Louise Brown y hasta al establecimiento de dicha clínica se debía a las dificultades que los promotores tuvieron para encontrar apoyo financiero. En efecto, la financiación, tanto local como nacional, estaba descartada después de que el *Medical Research Council* británico (MRC) y el *National Health Service* (NHS) rechazaran apoyar las técnicas de reproducción asistida. Este rechazo ya se había producido en 1971, cuando el MRC declinó financiar un proyecto sobre reproducción asistida (Johnson et al., 2010). En 1983, el MRC volvió de nuevo a rechazar la financiación de un proyecto de investigación que habían preparado Edwards y sus colaboradores. A pesar de ello, la clínica *Bourn Hall* se convirtió en un lugar legendario, que desde sus inicios contó con laboratorios de investigación de embriología y endocrinología, y atrajo la visita de pacientes y miembros de comités éticos (Johnson, 2019). Siguiendo el camino de esta clínica, se abrieron, poco después, otros centros en Melbourne (Australia), Londres (Reino Unido) y Norfolk (Estados Unidos). Estas iniciativas en el mundo anglosajón inspiraron la apertura de otras clínicas en India, Austria, Francia, Holanda, Suecia y España. A pesar del éxito obtenido por la clínica establecida en Norfolk en 1981, la administración norteamericana no levantó la prohibición, establecida un año antes, de llevar a cabo investigación en embriones humanos (Cohen et al., 2005). De hecho, las restricciones legales y presupuestarias para trabajar con embriones humanos han sido una tónica general en los EE.UU. durante las cuatro últimas décadas.

Aunque, actualmente, la base de las técnicas de reproducción asistida está bien establecida, hay aún muchos aspectos que se desconocen. Los pioneros de la FIV consiguieron hacer un número importante de observaciones. Así, determinaron que tanto la sincronización de la ovulación como la recolección de folículos eran procesos complicados que no solo limitaban la capacidad del equipo de planificar los ciclos, sino que también frustraban las pacientes tanto por el bajo número de oocitos recolectados como por las cancelaciones a las que tenían que enfrentarse (Johnson, 2019). Para controlar mejor estas limitaciones se llegó a la conclusión de que la utilización de fármacos, básicamente el uso de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que reducen la secreción de la hormona estimuladora de folículos (FSH) y de la hormona luteinizante (LH), era positiva. Con ello se conseguía que se suprimiera la producción de gonadotropinas endógenas y el pico de LH, y se podía llevar a cabo una recolección de oocitos después de la inyección de gonadotropina coriónica humana (hCG; Fleming et al., 1982). La práctica clínica de la FIV también tuvo que enfrentarse a otra dificultad importante durante los primeros años: la necesidad de laparoscopia, que requería anestesia general en un quirófano así como bastante tiempo. Además, cuando la visualización era difícil, los ovarios permanecían inaccesibles y los folículos dominantes eran inalcanzables. Por ello, se buscaron métodos alternativos y se concluyó que la ecografía era una posibilidad, dado que se había utilizado previamente para monitorizar el crecimiento de los folículos (Hackeloer, 1977). La primera aspiración de un folículo se llevó a cabo en 1982 y fue transabdominal, lo que suponía un largo recorrido y acceder al ovario a través de la vejiga (Lenz y Lauritsen, 1982). Un año más tarde, se combinó la ecografía abdominal con la aspiración vaginal de los folículos (Gleicher et al., 1983). Finalmente, el sistema se perfeccionó con el uso de un ecógrafo transvaginal que tenía una aguja adyacente para hacer la punción ovárica (Wikland et al., 1985).

Mientras tanto, en el laboratorio, los embriólogos experimentales se dedicaron a observar pacientemente los gametos y los embriones, y se percataron de la importancia de estandarizar los métodos. Otro aspecto que les sorprendió fue la variación entre embriones humanos, no solo entre pacientes sino también dentro de las cohortes (Edwards y Purdy, 1982), lo que hacía muy difícil su evaluación. De igual manera, observaron que la morfología y la tasa de desarrollo embrionario no estaban directamente correlacionadas. De hecho, se han llevado a cabo durante los últimos 30 años numerosos esfuerzos para determinar marcadores morfológicos que predigan la implantación. Aunque la aparición del *Embryoscope* supuso un avance considerable, la búsqueda de un método de selección embrionaria inequívoco continúa siendo un desafío para las técnicas de reproducción asistida. En todo caso, el objetivo de dicho método que es la transferencia de un único embrión - evitando así embarazos múltiples - se ha ido consiguiendo paulatinamente (Elder y Cohen, 2008).

Actualmente, las técnicas de reproducción asistida permiten tanto el tratamiento de la infertilidad femenina como de la masculina. Inicialmente, sin embargo, se pensó que los espermatozoides de hombres infériles serían incapaces de penetrar la zona pellucida y de que, si lo hacían, el desarrollo del feto sería anormal. No obstante, se observó que la FIV en parejas cuyo factor de infertilidad era masculino también tenía éxito, si bien el porcentaje de oocitos fecundados era inferior al de otras parejas con problemas de fertilidad (Cohen et al., 1984). Además, el tratamiento en el caso de hombres oligozoospérmicos era harto complicado, pues no se disponía de un número de espermatozoides suficiente para preparar las microgotas de co-incubación con los oocitos. Fue en este escenario en el que se planteó que la micromanipulación podría incrementar las tasas de división en aquellos casos en los que la infertilidad se debía

a un factor masculino. Los primeros experimentos se llevaron a cabo en 1979 en Holanda, y en 1986 se produjo el nacimiento de los primeros ratones mediante micromanipulación; en este caso, se efectuó la disección de la zona pellucida, lo que suponía la apertura artificial de esta cubierta oocitaria (Gordon y Talansky, 1986). Dos años más tarde, nacieron los primeros bebés mediante dos técnicas de micromanipulación: la disección mecánica de la zona pellucida y la inyección de los espermatozoides en el espacio perivitelino (Cohen et al., 1988; Ng et al., 1988). Sin embargo, la efectividad de estos tratamientos fue relativamente reducida, puesto que las tasas de fecundación eran bajas como consecuencia de la ausencia de un rápido mecanismo de bloqueo de la polispermia a nivel de la membrana del oocito. Esto implicaba que se debían utilizar un número bajo de espermatozoides para que el tratamiento funcionara. Este escenario cambió radicalmente con la introducción de la ICSI por parte de Gianpiero D. Palermo (Fig. 47) y colaboradores en 1992 (Palermo et al., 1992). Actualmente, la ICSI es la técnica más utilizada en aquellos casos en los que se produce un fallo total de fecundación después de un ciclo de FIV (*total fertilization failure*); en algunos países, como en España, se utiliza de modo rutinario para la mayoría de casos de infertilidad.

Figura 47. Gianpiero Palermo desarrolló la ICSI
(<http://vubtoday.be/nl/node/4019>)



Otro aspecto importante a destacar durante estas últimas décadas es la combinación de la espermatología y la embriología con otras disciplinas, como, por ejemplo, la criobiología. Así, la criopreservación de gametos ha permitido el establecimiento de estrategias de preservación de la fertilidad en pacientes sujetos a tratamientos quimioterapéuticos, y la de embriones ha posibilitado el almacenaje de los embriones sobrantes. El establecimiento de los protocolos de criopreservación requirió el ensayo de distintos crioprotectores (Trounson et al., 1983; Zeilmaker et al., 1984; Cohen et al., 1985; Lassalle et al., 1985), y se basó en trabajos previos llevados a cabo en animales, fundamentalmente ratones y animales de producción (Whittingham et al., 1972; Wilmut, 1972; Willadsen, 1977). Mediante la preservación de estos embriones sobrantes se consiguió que las parejas sometidas a tratamientos para la infertilidad no requirieran de otros ciclos de FIV, en caso de que quisieran ser padres de nuevo, sino que se pudieran utilizar dichos embriones sobrantes. Actualmente, aún se siguen llevando a cabo esfuerzos dirigidos a la mejora de los protocolos de criopreservación, fundamentalmente vitrificación, de gametos y embriones, aumentando su tasa de supervivencia. Otra prueba del éxito de la combinación de la embriología con otras disciplinas, en este caso la genética, fue el establecimiento, en 1989, del diagnóstico genético preimplantacional, mediante la biopsia de blastómeros antes de la transferencia embrionaria (Handyside et al., 1989). Curiosamente, esta técnica había sido establecida por el propio Edwards y uno de sus estudiantes de doctorado, Richard Gardner (1943-), más de veinte años antes, cuando sexaron embriones de conejo mediante la biopsia del trofoblasto (Gardner y Edwards, 1968). Sin embargo, la técnica requeriría de otro gran avance científico, el establecimiento de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en 1985, para que se pudiera aplicar como técnica de diagnóstico. La aparición posterior de las técnicas de secuenciación masiva del genoma (NGS) y el análisis del transcriptoma (ARNseq) y del proteoma (iTRAQ)

para una sola célula (*single-cell omics*) permitieron efectuar grandes progresos en el ámbito del diagnóstico genético preimplantacional (Kilby et al., 2023).

La evolución de las técnicas de reproducción asistida desde un punto de vista clínico se considera hoy como un pujante sector económico. En 2013, había más de 2.000 clínicas de reproducción asistida en todo el mundo (Cohen, 2013). En términos del número de pacientes, la mayor clínica se encuentra en Tokio (Japón) y trata más de 15.000 parejas al año. A pesar de su importancia para los pacientes, los gobiernos de los países occidentales tardaron bastante tiempo en incluir los ciclos de FIV en sus programas nacionales de salud pública. Como quiera que sea, el número de bebés nacidos a través de las técnicas de reproducción asistida no ha hecho sino aumentar, situándose en más de ocho millones en 2018 según los datos de la Sociedad Europea de Reproducción Humana (ESHRE) (Niederberger et al., 2018).

4.11. Avances y retos actuales en el estudio de los espermatozoides

La espermatología se ha desarrollado junto con la embriología y la andrología, de modo que un buen análisis del estudio de los espermatozoides precisa de una referencia a las técnicas de reproducción asistida y al estudio de la infertilidad masculina. Las técnicas de reproducción asistida se han convertido, en las últimas décadas, en una intervención médica habitual, y gracias a ellas han nacido millones de niños (Johnson, 2019). Con la concesión del Premio Nobel de Medicina a Edwards se reconoció la gran contribución de estas técnicas a la salud y el bienestar social durante el último tercio del siglo XX y su gran potencial en los tiempos venideros. Este enorme éxito se consideraba una ilusión hace apenas 60 años, cuando, en modo

alguno, se albergaba la posibilidad de que la FIV pudiera convertirse en el mejor tratamiento para la infertilidad (Cohen et al., 2005). Con todo, el desarrollo y la expansión del uso de la FIV es aún más impresionante, como también lo son las enormes aplicaciones y las técnicas derivadas, no solo para el tratamiento de la infertilidad, sino también para el clonaje, la transgénesis y la generación de modelos *knock out* para el estudio de enfermedades. La tecnología CRISPR-Cas9 es, precisamente, un buen ejemplo de como la micromanipulación de oocitos y embriones mediante la ICSI ha permitido el establecimiento de una técnica, relativamente sencilla comparada con las disponibles anteriormente, para generar estos modelos *knock out*. Desde el establecimiento de las técnicas de reproducción asistida, muchos investigadores han estudiado los espermatozoides y los oocitos, han intentado mejorar la FIV y los protocolos y medios de cultivo embrionario, han adaptado la técnica a casos clínicos específicos, y han investigado los mecanismos fisiológicos que subyacen a la fecundación y la infertilidad. Todo ello ha sido posible después de un largo recorrido histórico, tal y como se ha esbozado previamente, que no ha sido exento de dificultades dada la relevancia de los aspectos éticos y legales para la manipulación de los gametos y de los embriones, y de las propias convicciones religiosas de las personas que requieren estos tratamientos. Por ello, las técnicas de reproducción asistida requieren de una reflexión histórica y ética continuadas, así como del establecimiento de unos límites legales claros que, si bien no deberían impedir el desarrollo de dichas técnicas, si deben poner coto a los excesos y abusos que determinados investigadores podrían llegar a cometer. Esta reflexión histórica debe hacerse desde la perspectiva de la ciencia básica y teniendo en cuenta las herramientas necesarias para llevar a cabo estas técnicas, pues es sobre la base de la mismas que la disciplina puede evolucionar y mejorar (Cohen, 2013).

El momento actual es el de la biología molecular del espermatozoide, con un mayor énfasis en su potencial impacto en la embriogénesis. Durante los últimos años ha habido una explosión de nuevas técnicas y conceptos que han invadido el estudio del espermatozoide. Así, se ha producido la aparición de las tecnologías -ómicas (genómica, metabolómica, transcriptómica, proteómica e interactómica) y de la epigenética (Zapalska-Sozoniuk et al., 2019). En efecto, las proteínas - constituyentes mayoritarios de los espermatozoides - son uno de los principales focos de estudio en la actualidad, pues forman parte de lo que se puede denominar como maquinarias celulares que llevan a cabo funciones cooperativas. La identificación de estos complejos proteicos permite el estudio de dichas máquinas, así como sus funciones, propiedades, interacciones y localizaciones en el espermatozoide. Por otra parte, el conocimiento detallado de la acción de los genes, así como de la relevancia de su integridad, es de gran valor para obtener una visión global e integradora de los procesos normales y patológicos que afectan al espermatozoide. Aunque en la actualidad se tiene una imagen bastante completa de la organización, estructura y función de los espermatozoides, quedan muchas cuestiones por resolver y probablemente algunas de ellas todavía no estén ni siquiera planteadas. Uno de los aspectos en el que más se está ahondando en la actualidad es el análisis de los mecanismos de señalización intracelular que permiten que cada una de las moléculas específicas encuentre su lugar apropiado en el seno de la funcionalidad espermática. Se trata de un problema fundamental y de gran complejidad, puesto que abarca los procesos de biosíntesis, degradación, transporte, compartimentación y reconocimiento intermolecular (Baluška y Lyons, 2018). Aunque el espermatozoide es una unidad estructural y funcional, no es posible, como sucede con el resto de células, aproximarse a su estudio desde una visión holística, sino que hay que concentrarse en el análisis

de sus distintas partes o elementos, tanto desde la perspectiva molecular como fisiológica. Así, cabe hablar, de acuerdo con las distintas ramas de la biología (Presley, 2005), de diferentes subáreas de estudio del espermatozoide:

1. Una de ellas es la investigación del metabolismo celular, lo que incluye las reacciones químicas, la bioenergética y los procesos anabólicos y catabólicos que tienen lugar en su seno. Este campo está estrechamente relacionado con la bioquímica y, aun, la fisiología.
2. Otro subcampo se centra en las proteínas y, por lo tanto, tiene una relación directa no solo con la bioquímica sino también con la genética. Así, las proteínas son las que en último término se ocupan de traducir gran parte del mensaje contenido en el código genético.
3. Otra subárea es la que se ocupa de los compartimentos subcelulares (p.ej., el acrosoma), lo que involucraría a la microscopía óptica y electrónica.
4. La subárea que se ocupa de los mecanismos de transducción de la señal y comunicación celular, con especial énfasis en los mensajes que reciben de otras células, como en el caso de la capacitación espermática.
5. Por último, hay que mencionar la subárea que se ocupa de la producción de la célula, particularmente de la espermatogénesis (meiosis), la diferenciación (espermiogénesis) y la maduración epididimaria.



❖ 5. LA CONTRIBUCIÓN DEL FACTOR MASCULINO A LA FECUNDACIÓN Y A LA EMBRIOGÉNESIS

Una vez definidos los conceptos de saber y ciencia, como principal ocupación de las academias, establecido el objeto formal de la espermatología y descritos sus principales hitos históricos - en muchos casos de la mano de la embriología -, es momento de referirse al estado del arte actual de la disciplina, haciendo especial hincapié en las evidencias que sugieren que la contribución del factor masculino va más allá de la simple transmisión de la información genética del padre al oocito a través del espermatozoide.

5.1. El factor masculino de la infertilidad

Se define como infertilidad a la incapacidad de una pareja en edad de concebir de tener un hijo después de un año de mantener relaciones sexuales sin utilizar métodos anticonceptivos. La infertilidad afecta entre el 10% y el 15% de las parejas en todo el mundo, lo que representa una de cada seis parejas en edad de concebir (Simon et al., 2017a). Se estima que, aproximadamente, entre el 40% y el 50% de los casos de infertilidad son causados por un factor masculino (Fig. 48), lo que se refiere a la incapacidad de un hombre para fecundar un oocito o de que el embrión resultante del mismo llegue a implantarse y dar lugar a un embarazo que llegue a término en una mujer clínicamente sana. Como se ha indicado más arriba, durante los últimos 40 años las técnicas de reproducción asistida han hecho grandes progresos en la lucha contra la infertilidad y

han facilitado a millones de parejas la posibilidad de tener hijos (Niederberger et al., 2018). Sin embargo, a pesar de estos logros, se ha prestado muy poca atención a la hora de identificar qué factores masculinos - fuera de los comúnmente evaluados en el espermiograma convencional (concentración, motilidad, morfología) - pueden obstaculizar el desarrollo embrionario (Colaco y Sakkas, 2018; Bashiri et al., 2021; Tarozzi et al., 2021). Esto se debe a que, tradicionalmente, se ha considerado al espermatozoide como un mero vehículo que transporta el material genético paterno al oocito. De hecho, la evaluación de la motilidad espermática y el número de espermatozoides son las variables más evaluadas en lo que se refiere al gameto masculino, muchas veces sin tener en cuenta que, en el caso de la fecundación natural, el transporte espermático es tanto pasivo como activo (Suarez y Pacey, 2006). De este modo, considerar exclusivamente la motilidad no siempre proporciona un análisis exhaustivo de la funcionalidad espermática.

Figura 48. Incidencia de la infertilidad masculina en distintos países y continentes (Llavanera, 2023).



El semen está formado por una fracción líquida, el plasma seminal, y una fracción celular, los espermatozoides. Ambos

componentes, como se detallará a continuación, son importantes para entender la contribución de los factores paternos a la fecundación del oocito y al ulterior desarrollo embrionario. A pesar de ello, la relevancia que se le ha dado a los factores masculinos es relativamente baja. Sin embargo, en los últimos años se han ido acumulando evidencias acerca de la importancia de los factores paternos para la embriogénesis y la salud de la descendencia. El hecho de que se haya prestado menor atención al espermatozoide puede deberse, entre otras razones, a que ésta es una de las células más complejas y diferenciadas (Vallet-Buisan et al., 2023). De hecho, es la única célula que tiene que abandonar el cuerpo para realizar su función, pues fecunda al oocito dentro del cuerpo de la hembra. En las secciones que siguen se hará referencia tanto a la interacción del plasma seminal con el tracto reproductor femenino, cuanto a cómo éste se ve afectado por aquél. Del mismo modo, se abordará el espermatozoide, analizando los distintos componentes que juegan un papel fundamental durante la fecundación y el desarrollo embrionario, lo que incluye el centriolo proximal, las proteínas, el ADN, el ARN y, aun, las distintas huellas epigenéticas (metilación del ADN, metilación/acetilación de las histonas, y ARN no codificantes).

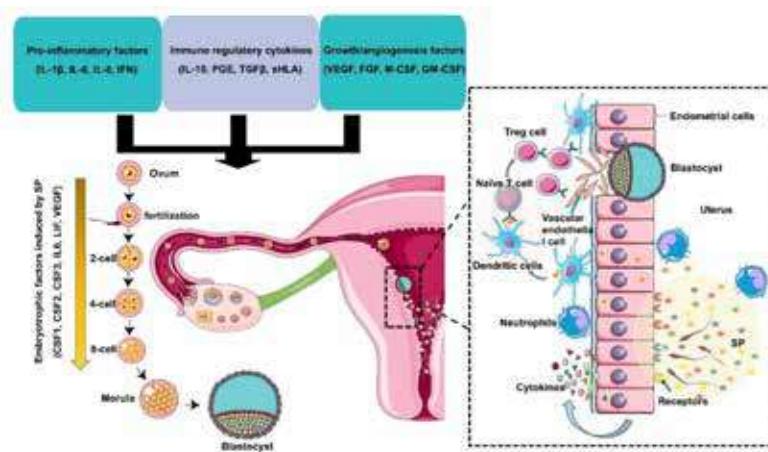
5.2. La contribución del plasma seminal

El plasma seminal es la fracción líquida del semen y está compuesto por las secreciones del epidídimos y de las glándulas accesorias masculinas (próstata, vesículas seminales y glándulas de Cowper). Se ha considerado que el plasma seminal es un simple vehículo que protege a los espermatozoides, les proporciona determinados nutrientes y facilita su transporte. En los últimos años, no obstante, se han ido acumulando nuevas evidencias que indican que dicho fluido puede modular el entorno endometrial e influir en el desarrollo embrionario

y el crecimiento fetal (Bromfield et al., 2014; Watkins et al., 2018). En efecto, estudios previos en ratones vasectomizados demostraron que el plasma seminal modula los niveles endometriales del factor de necrosis tumoral (TNF), la interleucina-1 β (IL-1 β), el interferón- γ (IFN- γ), la proteína inflamatoria de macrófagos 1- α (MIP-1 α) y el factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF, también conocido como CSF3), así como la síntesis de prostaglandinas (Watkins et al., 2018). Otros hallazgos previos respaldan que el plasma seminal desencadena una cascada endometrial de citocinas y quimiocinas, y recluta las células T reguladoras, lo que suprime la inflamación, aumenta la tolerancia de la madre a los antígenos paternos expresados por el feto y facilita la implantación del embrión en ratones (Robertson et al., 1996, 2001; Bromfield et al., 2014), hámsteres (Chow et al., 2003) y cerdos (Bromfield et al., 2014) (Fig. 49). A diferencia de especies como el ratón doméstico, que deposita el semen casi directamente en el útero durante el apareamiento (Muro et al., 2016), los humanos eyaculan en la vagina. Por ello, no se sabe si el plasma seminal llega al útero. Relacionado con esta cuestión, cabe mencionar que estudios previos llevados a cabo en la especie bovina, cuyos machos también eyaculan en la vagina, sugirieron que los componentes del plasma seminal se adhieren a los espermatozoides, de modo que estas células actúan como vehículos de los mismos (Recuero et al., 2020). En humanos, el plasma seminal también parece desempeñar un papel crucial en la preparación del endometrio materno para el embarazo (Ibrahim et al., 2019a; 2019b; George et al., 2020; Ajdary et al., 2021; Szczykutowicz et al., 2021). Así, la exposición de la mujer al plasma seminal de su pareja mejora la fertilidad (Crawford et al., 2015), aumenta la tasa de embarazo después de la FIV (von Wolff et al., 2009; Chicea et al., 2013; Friedler et al., 2013; Crawford et al., 2015) y puede

disminuir el riesgo de padecer preeclampsia (Robertson et al., 2003).

Figura 49. Efecto inmunomodulador del plasma seminal en el tracto reproductor femenino, facilitando el desarrollo embrionario y la implantación (Wang et al., *Int J Mol Sci* 2020a;21:8499).

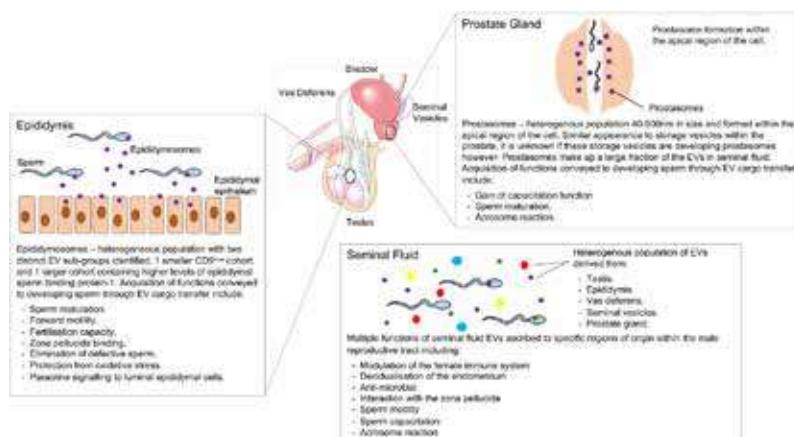


5.3. La función de las vesículas extracelulares

Las vesículas extracelulares (VE) son partículas envueltas por una bicapa lipídica, que son secretadas por las células al espacio extracelular y están involucradas en la comunicación de éstas entre sí (Yáñez-Mó et al., 2015). Se han hallado vesículas extracelulares en los fluidos prostático, epididimario y en el plasma seminal, y se ha sugerido que participan en la gametogénesis, la fecundación y la embriogénesis (Rodríguez-Caro et al., 2019; Jena et al., 2021) (Fig. 50). En el caso de los epididimatosomas, que son liberados por las células epiteliales del epidídimo (Thimon et al., 2008), se ha demostrado que se fusionan con los espermatozoides del epidídimo (Păunescu et al., 2014; James et al., 2020). Esta fusión permite la trans-

ferencia de microARN (miARN) y proteínas desde el epidídimo al espermatozoide (Twenter et al., 2020). De acuerdo con distintos estudios llevados a cabo en carneros (Gatti et al., 2005), toros (Girouard et al., 2011), ratones y humanos (Barrachina et al., 2022), estas vesículas extracelulares epididimarias contienen enzimas y otras moléculas relacionadas con la maduración y la regulación de la motilidad de los espermatozoides. Hay que destacar, asimismo, que en ratones se ha determinado que la exposición del padre a cambios en el entorno - incluyendo la exposición al estrés crónico - alteran el perfil proteómico y de los ARN de las vesículas extracelulares de origen epididimario, lo que puede tener un impacto deletéreo en el desarrollo fetal y la salud de la descendencia (Chan et al., 2020; ver sección 5.12.3) dado que, como ya se ha indicado, éstas se fusionan con los espermatozoides.

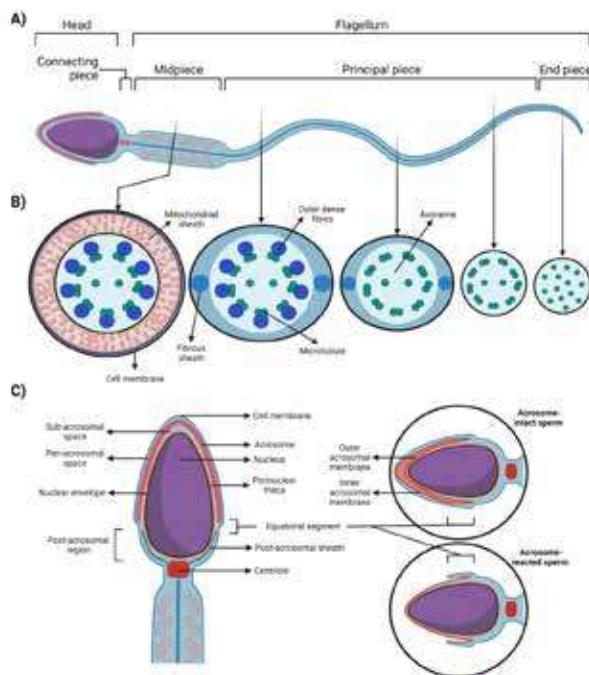
Figura 50. Origen y funciones de las vesículas extracelulares presentes en el plasma seminal (Rimmer et al., *Reprod Fertil* 2021;2:R51-R66).



5.4. Una introducción a la génesis de los espermatozoides: la espermatogénesis

La función principal del espermatozoide es transportar el genoma paterno haploide al oocito. Previamente, las células germinales experimentan una serie de cambios morfológicos dentro de los túbulos seminíferos del testículo hasta que se convierten en espermatozoides. A través de este proceso, denominado espermatogénesis, las células diploides esféricas se convierten en espermatozoides haploides, y en ellos se distinguen tres partes: cabeza, cuello y cola (Alavattam et al., 2019; Fig. 51). La espermatogénesis se inicia con las espermatogonias A indiferenciadas (*spermatogonial stem cell*, SSC) que, o bien se dividen por mitosis asegurando así su autorenovación (etapa proliferativa), o bien se diferencian en espermatogonias B y después en espermatocitos primarios ($2n$) que entran en la meiosis (etapa meiótica) (Kubota y Brinster, 2018). Los espermatocitos secundarios (n), que son el resultado de la primera división meiótica (también denominada reduccional), inician una segunda división meiótica (o división equacional) que da lugar a las espermátidas (n). Las espermátidas haploides experimentan un proceso de diferenciación, conocido como espermiogénesis, a través del cual se alargan, modificando su morfología esférica y convirtiéndose en espermatozoides testiculares alargados (Huang et al., 2021). En la espermatogénesis participan también unas células somáticas, las células de Sertoli, que actúan proporcionando un soporte a las células germinales. La espermatogénesis, en tanto que es crucial para determinar la viabilidad y funcionalidad de los espermatozoides, es un proceso altamente regulado (Bhattacharya et al., 2023).

Figura 51. Representación esquemática del espermatozoide de mamífero con sus distintas partes diferenciadas (Llavanera, 2023).

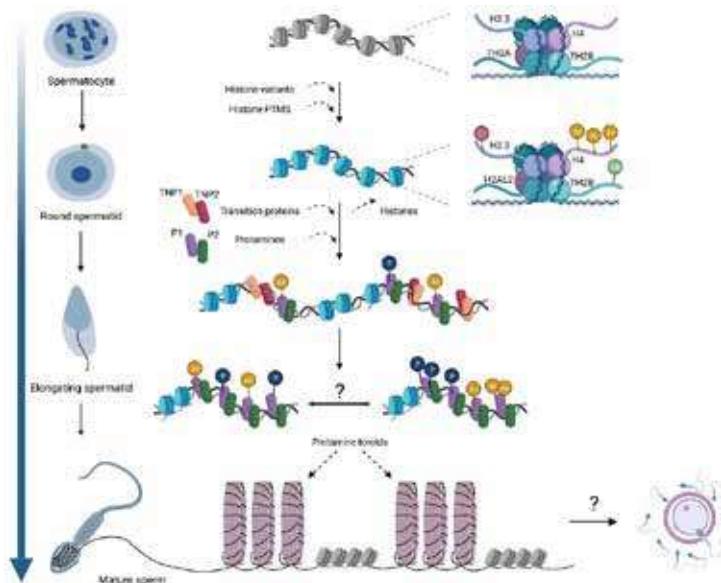


Uno de los cambios más importantes que se producen durante la espermiogénesis afecta a la organización de la cromatina espermática. En las células somáticas, la cromatina está constituida por ADN e histonas y se organiza en nucleosomas. Cada nucleosoma está formado por un octámero de histonas y comprende alrededor de 150 pares de bases de ADN. Las histonas contienen modificaciones postraduccionales, cuya finalidad es controlar la expresión génica y el acceso transcripcional a las regiones genómicas (Bartosovic et al., 2021). El caso de los espermatozoides es, sin embargo, particular. En efecto, durante la espermiogénesis la mayoría de estas histonas (alrededor del 85-90%, aunque esta cifra varía entre especies)

son reemplazadas por protaminas y la cromatina adopta una estructura especializada, compactándose en toroides (Ward y Coffey, 1990; Barral et al., 2017) (Fig. 52). Estas estructuras toroidales están ancladas a la matriz nuclear proteica, a través de las regiones de unión a la matriz (*matrix attached regions*; Narwade et al., 2019). A diferencia de las histonas, las protaminas contienen una gran cantidad de residuos de arginina, pues ello les permite establecer un mayor número de uniones no covalentes con el ADN (Ward y Coffey, 1991; DeRouche et al., 2013). Asimismo, estas protaminas tienen, en el caso de algunas especies de mamíferos como los ungulados, altos niveles de residuos de cisteína que son importantes para la formación de puentes disulfuro, lo que permite establecer enlaces entre protaminas en las regiones toroidales (Gosálvez et al., 2011; Ribas-Maynou et al., 2021a). Este elevado nivel de compactación permite una mayor protección del ADN espermático, lo que parece explicarse, en parte, por la ausencia de mecanismos de reparación de la información genética en dicha célula (Ni et al., 2016; Schneider et al., 2021). Cabe destacar que, durante la compactación de la cromatina en la espermiogénesis, las protaminas reemplazan a la mayoría de histonas (H2A, H2B, H3 y H4; Wang et al., 2019). A pesar de ello, algunas histonas que pueden tener marcas epigenéticas se retienen (Govin et al., 2007; Kasimanickam et al., 2019), lo que se abordará de nuevo más tarde. Hay que destacar, además, que en la especie humana, que a diferencia de otras como la bovina tiene también protamina 2, las proporciones de P1 y P2 son similares (Sarasa et al., 2020). Esta relación P1:P2 puede, sin embargo, alterarse cuando se producen errores en relación con la regulación temporal de la transcripción de los genes que codifican por las protaminas, lo que se relaciona con la infertilidad masculina. Por otra parte, una retención excesiva de histonas en los espermatozoides maduros (Aoki et al., 2006; Rogenhofer et al., 2013) está asociada negativamen-

te con la fertilidad masculina y la calidad del embrión (Rogenhofer et al.; 2017; Amor et al., 2019). Así, se ha apuntado que la ratio histonas:protaminas en el espermatozoide puede predecir la calidad del embrión en la etapa de blastocisto, de modo que un porcentaje de histonas inferior al 6 % o superior al 26 % está asociado con un desarrollo embrionario preimplantacional alterado (Fournier et al., 2018).

Figura 52. Cambios en la organización de la cromatina espermática durante la espermatogénesis (Moritz y Hammoud, *Front Endocrinol* 2022;13:895502).



5.5. La importancia de una maduración epididimaria adecuada

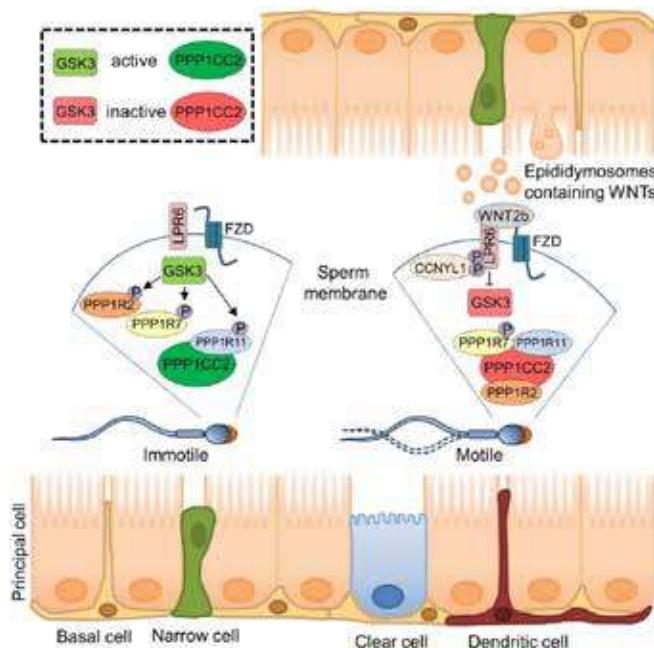
Una vez completada la espermatogénesis, los espermatozoides se desprenden de las células de Sertoli y se liberan hacia la

rete testis. Seguidamente, éstos se dirigen al conducto eferente y después al epidídimo, donde maduran (Zhou et al., 2018). A medida que viajan a través del epidídimo, los espermatozoides sufren varias alteraciones que afectan a la condensación de la cromatina nuclear, las huellas epigenéticas, el contenido de ARN no codificantes (ARNnc), el proteoma, la motilidad y la estructura del citoesqueleto. Una vez han completado su maduración, los espermatozoides se almacenan en la cola del epidídimo hasta el momento de la eyaculación. Hay que destacar que las células epiteliales del epidídimo, debido a su actividad metabólica, producen especies reactivas de oxígeno (ROS) que se convierten en una amenaza para los espermatozoides (El-Taieb et al., 2009; Schneider et al., 2020). Por este motivo, el epidídimo libera enzimas antioxidantes para neutralizar estas ROS y proteger a los espermatozoides (Wu et al., 2020).

Uno de los cambios importantes que experimentan los espermatozoides durante la maduración epididimaria es la adquisición de la capacidad de moverse (Tourzani et al., 2021). Además, se producen otras modificaciones que afectan a la composición de la membrana plasmática (Kirchhoff y Hale, 1996; Lu et al., 2018; Shan et al., 2020) y que involucran la fosforilación de ciertas proteínas espermáticas que están implicadas en la regulación de la motilidad (Bhattacharjee et al., 2018; Goswami et al., 2019) (Fig. 53). También durante la maduración epididimaria, los espermatozoides acumulan varias proteínas involucradas en la unión y penetración de las células del cúmulo ooforo y la zona pelúcida, tales como la proteína secretora rica en citosina 1 (CRISP1) (Cohen et al., 2011; Maldera et al., 2014; Weigel Muñoz et al., 2018), la proteína de unión a la acrosina (ACRBP) (Nagdas et al., 2010; Yin et al., 2018), receptores de andrógenos (Zhang et al., 2019a) y proteínas de la familia de desintegrinas y metaloproteasas (ADAM) (Nishimura et al., 2007). De igual forma, los factores liberados por las células epi-

teliales en la luz del epidídimo son responsables de la protección y nutrición de los espermatozoides; la mayoría de estos factores son transportados por los epididimatos (Thimon et al., 2008; Reilly et al., 2016; Zhou et al., 2017; James et al., 2020; Barrachina et al., 2022; Fig. 53). Se ha sugerido, asimismo, que estos epididimatos desempeñan un papel importante en un modo de herencia epigenética paterna a través de pequeños ARN no codificantes (Zhang et al., 2018; Chan et al., 2020; ver también sección 5.12.3). Un estudio reciente en ratones sugirió que durante la maduración epididimaria se producen cambios en la metilación del ADN, lo que podría tener efectos en la descendencia (Chen et al., 2022).

Figura 53. Relevancia de la maduración epididimaria en la adquisición de la motilidad espermática. Los epididimatos contienen proteínas WNT que están involucradas junto con los receptores Frizzled en la fosforilación de serinas necesaria para que el espermatozoide adquiera la capacidad de moverse. (Björkgren y Sipilä, *Reproduction* 2019;158:R155-R167).



La maduración adecuada de los espermatozoides en el epidídimo es de suma importancia para la fecundación y el desarrollo embrionario. Así, los primeros estudios llevados a cabo en este campo demostraron que los oocitos fecundados con espermatozoides procedentes del caput epididimario presentaban una embriogénesis defectuosa (Wazzan et al., 1990). A pesar de ello, estos resultados no se confirmaron cuando se replicaron utilizando la ICSI (Conine et al., 2018; Suganuma et al., 2005; Fernández-González et al., 2019; Zhou et al., 2019, 2021), de modo que, aunque es probable que la maduración de los espermatozoides en el epidídimo desempeñe un papel clave durante el transporte espermático y la fecundación, no es descartable que los cambios que los gametos masculinos padecen durante este proceso no sean cruciales para la supervivencia del embrión. Si bien se requiere más investigación para comprender el verdadero alcance de la importancia de estos factores, es razonable sugerir, a partir de los datos actuales, que las alteraciones de la maduración del espermatozoide en el epidídimo afectan, en última instancia, las marcas epigenéticas y el cargo de ARNm, miARN y proteínas, lo que puede estar detrás de algunos casos de sub/infertilidad (véase también la sección 5.12).

5.6. Transporte de espermatozoides a través del tracto reproductor femenino: respuesta inmunitaria y reservorio seminal

El paso de los espermatozoides a través del tracto reproductor femenino está altamente regulado para garantizar que solo las células con la mejor morfología y motilidad alcanzan y fecundan el oocito (Fig. 54). En todo el tracto femenino, los espermatozoides están expuestos al estrés oxidativo y a la respuesta inmune. Dependiendo de la especie, el semen puede depositarse en la vagina (como en ovejas, vacas o humanos) o

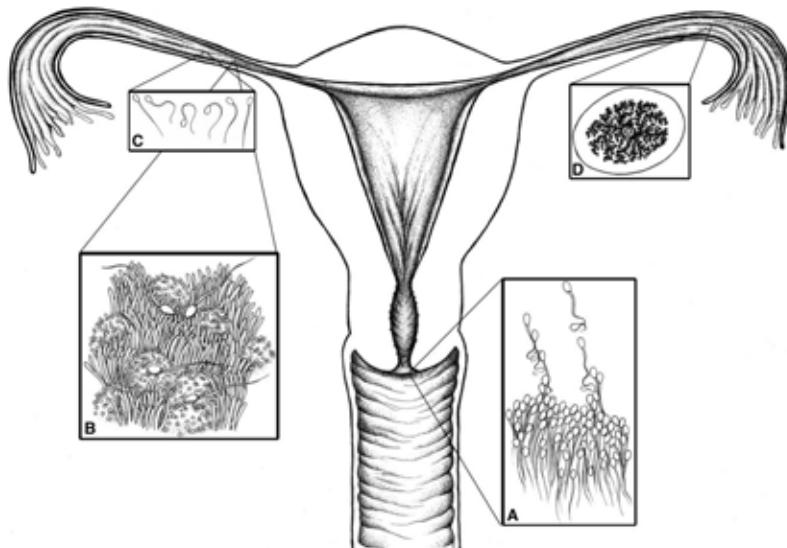
en el útero (como en cerdos, roedores o caballos) tras la eyaculación (Vallet-Buisan et al., 2023). Este depósito en el tracto reproductor femenino genera reacciones inmunes innatas en la vagina y el cuello del útero, lo que implica la migración de anticuerpos femeninos, del sistema del complemento y de células inmunes como los neutrófilos (Fichtner et al., 2020). Los granulocitos polimorfonucleares, que son un tipo de leucocitos, liberan su ADN al medio circundante para generar trampas extracelulares de neutrófilos (NET), que pueden capturar y matar bacterias y espermatozoides mediante un proceso llamado NETosis (Alghamdi y Foster, 2005; Alghamdi et al., 2009; Katila, 2012). En humanos, la NETosis se desencadena por la presencia de espermatozoides en el tracto femenino, y la respuesta depende de la concentración de éstos y del tiempo de exposición (Zambrano et al., 2016). En burros, sin embargo, la NETosis se desencadena por la presencia del plasma seminal y no de los espermatozoides (Mateo-Otero et al., 2021). Los granulocitos polimorfonucleares también pueden matar patógenos y espermatozoides mediante la generación de ROS y la liberación de péptidos antimicrobianos (Zambrano et al., 2016). Relacionado con esto, se ha demostrado que la NETosis elimina el exceso de espermatozoides tanto en humanos como en otras especies de mamíferos, especialmente de aquellos que presentan una menor motilidad (Alghamdi y Foster, 2005; Alghamdi et al., 2009; Katila, 2012; Zambrano et al., 2021). Frente a esta posibilidad, los espermatozoides poseen glicoconjungados en su superficie que les protegen frente a las respuestas inmunitarias femeninas. Uno de estos glicoconjungados es el ácido siálico que, en humanos, es necesario para que los espermatozoides penetren el moco cervical y se adhieran al epitelio oviductal (Tollner et al., 2012). Las lectinas similares a inmunoglobulinas (siglecs) se expresan en el endometrio de humanos y ratones, y son ligandos endógenos que se unen al ácido siálico (Teclu et al., 2019). En ratones,

las sigeles endometriales interactúan con los espermatozoides sialilados (Tecle et al., 2019) y desempeñan un papel protector contra la fagocitosis mediada por los macrófagos (Ma et al., 2016). De este modo, y a medida que viajan a través del tracto reproductor femenino, se produce una selección de los espermatozoides según su morfología y motilidad, toda vez que los espermatozoides suprimen de manera selectiva la reacción inmunitaria femenina. Esta selección, como se indica en el párrafo siguiente, es de suma importancia para el establecimiento del reservorio espermático, que mantiene la supervivencia de los espermatozoides con mayor aptitud fecundante (Yeste, 2013).

Por otra parte, el lugar de depósito de los espermatozoides condiciona el camino que éstos siguen a través del tracto reproductor femenino (Fig. 54). En los seres humanos, el semen se deposita en la vagina durante el coito y los espermatozoides deben nadar hacia el canal cervical, donde el moco y las contracciones del miometrio uterino les empujan a través de la cavidad uterina hasta la unión útero-tubárica (UTJ) (Ishimoto y Gaffney, 2016). La UTJ tiene una serie de pliegues que atrapan a los espermatozoides de menor calidad; en cambio, los espermatozoides que pasan con éxito a través de la UTJ llegan al oviducto (también conocido como trompa de Falopio en humanos). El oviducto tiene cuatro segmentos diferentes: la sección intramural, el istmo, la ampolla y el infundíbulo. En varias especies de mamíferos, se ha observado que los espermatozoides se adhieren a las células epiteliales del istmo y se mantienen en una suerte de “reservorio espermático” (Sharif et al., 2022). Este reservorio funciona como un almacén temporal de espermatozoides con el objetivo de mantener su supervivencia y fertilidad hasta la ovulación (Pollard et al., 1991; Chian y Sirard, 1995; Yeste et al., 2009; Teijeiro y Marini, 2012). A pesar de que no se ha identificado de modo

inequívoco un reservorio de esta naturaleza en humanos, se ha demostrado que, en condiciones *in vitro*, los espermatozoides móviles de esta especie se unen a la superficie apical del epitelio oviductal (Pacey et al., 1995), lo que prolonga su supervivencia (Ziskind et al., 2000). Puesto que, además, se ha demostrado que se puede establecer un embarazo después de seis días de haber mantenido relaciones sexuales y antes de que se produzca la ovulación (Wilcox et al., 1995), es probable que los espermatozoides humanos se almacenen en algún lugar del tracto reproductor femenino después de la eyaculación; de ser ello cierto, sería altamente plausible que dicho reservorio se ubicara en las trompas de Falopio (Fig. 54).

Figura 54. Diagrama del tracto reproductor femenino en el que se muestra: (a) el paso de los espermatozoides a través del moco cervical, (b) la interacción de los espermatozoides con las células epiteliales del oviducto (trompa de Falopio) formando el reservorio espermático, (c) la capacitación y la hiperactivación de la motilidad de los espermatozoides, y (d) la ampolla del oviducto. (Suarez y Pacey, *Hum Reprod Update* 2006;12:23-37).

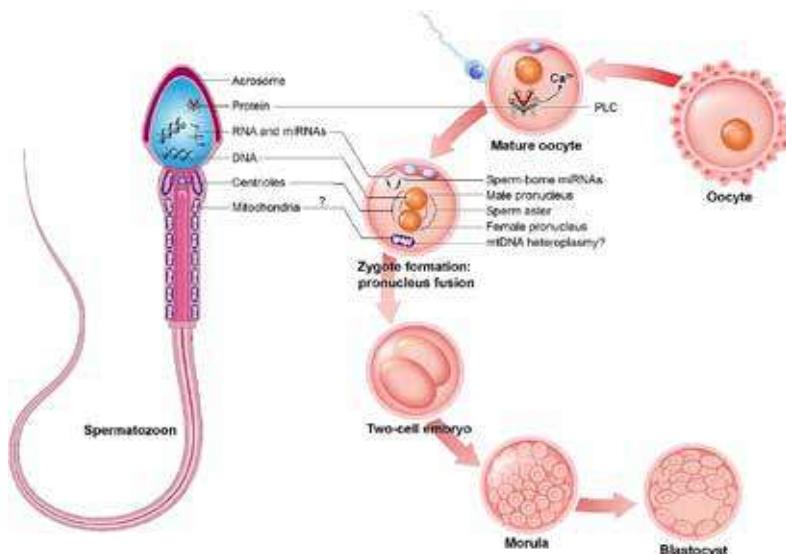


En el reservorio espermático se establecen interacciones dinámicas entre las células oviductales y los espermatozoides. Estas interacciones permiten la selección de los espermatozoides más móviles y viables para la fecundación, así como la eliminación de aquellos que se consideran menos aptos (Rath et al., 2008). En la mayoría de las especies, la unión entre los espermatozoides y el oviducto está mediada por oligosacáridos (Liberda et al., 2006; Kadirvel et al., 2012; Yeste, 2013) y proteínas de unión al espermatozoide expresadas en la superficie de las células del epitelio oviductal (Pérez et al., 2006; Teijeiro et al., 2008). En humanos, se ha propuesto que la S100-A9, una proteína expresada y secretada por el epitelio oviductal, se une a los espermatozoides móviles y está involucrada en su capacitación (Massa et al., 2019), lo que sugiere que también puede participar en el establecimiento del reservorio espermático. También se ha observado que los espermatozoides retenidos en el reservorio generan una respuesta transcripcional en las células oviductales al modificar la expresión de proteínas relacionadas con la supervivencia espermática (HSPA5 y HSPA8), así como de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento (Yeste et al., 2014; Mousavi et al., 2021; Zúñiga et al., 2021), lo que lleva a una regulación negativa de las moléculas inflamatorias y el consiguiente aumento de la tolerancia inmunológica hacia los espermatozoides. De la misma manera, los espermatozoides de mala calidad - incluidos aquellos con daño en el ADN - desencadenan la expresión diferencial de factores de crecimiento (Mohammadi et al., 2022) y una mayor reacción inflamatoria en el oviducto, generando un ambiente patológico para la capacitación, la fecundación y el desarrollo embrionario (Zandieh et al., 2019). Todos estos hallazgos demuestran que los espermatozoides tienen la capacidad de influir, de un modo u otro, en la respuesta inmunitaria del tracto reproductor femenino.

5.7. *La fecundación*

La fecundación es el proceso mediante el cual los gametos masculino y femenino se fusionan para crear una única célula diploide, el cigoto (Georgadaki et al., 2016). En el oviducto se produce una sucesión de acontecimientos que incluye: la capacitación de los espermatozoides, la reacción acrosómica, la fusión de los gametos, la activación del oocito y el inicio del desarrollo embrionario. Respecto a esta última cuestión, hay que destacar, y éste es uno de los puntos clave que sugiere un cambio de paradigma, que los componentes del espermatozoide pueden jugar un papel relevante durante las primeras etapas de la embriogénesis. Así, por ejemplo, la fecundación de los oocitos por parte de espermatozoides defectuosos puede retrasar - e incluso detener - el desarrollo embrionario antes de la implantación (Colombero et al., 1999). De hecho, estudios realizados a finales de la década de 1990 demostraron que cuando se microinyectaba un oocito con partes del espermatozoide, como la cabeza o la cola, el embrión no podía sobrevivir más allá de las primeras divisiones mitóticas (Moomjy et al., 1999). Esto demostró la importancia de la integridad estructural del espermatozoide para el desarrollo embrionario. Desde entonces, las investigaciones han proporcionado pistas sobre los efectos de las deficiencias del espermatozoide en la embriogénesis temprana, e incluso sobre las consecuencias que persisten después de la implantación y que conducen a defectos embrionarios y fetales. Por ello, a continuación se abordarán los componentes del espermatozoide que pueden tener una función relevante durante y después de la fecundación, lo que incluye el centriolo proximal, las mitocondrias, las proteínas, los ARN codificantes y no codificantes, la integridad del ADN, la condensación y protaminación de la cromatina, y las marcas epigenéticas (Fig. 55).

Figura 55. Componentes espermáticos involucrados en la fecundación y las primeras etapas de la embriogénesis (Alves et al., *Front Cell Dev Biol* 2020;8:791).

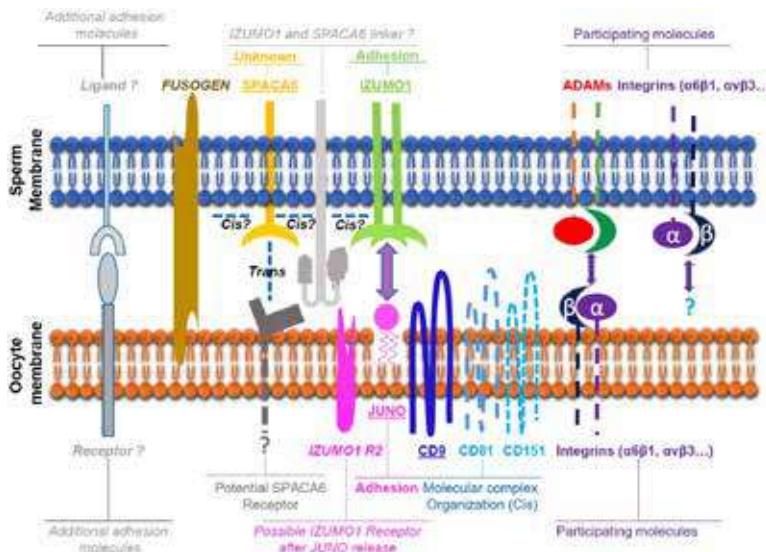


5.7.1. Capacitación, reacción acrosómica y fusión de gametos

Tanto la capacitación como la reacción acrosómica son procesos esenciales para que el espermatozoide pueda fecundar el oocito. La capacitación, que solo ocurre en mamíferos, comporta cambios en la membrana plasmática del espermatozoide y en los componentes intracelulares (Molina et al., 2018). La reacción acrosómica permite que el espermatozoide atraviese las cubiertas del oocito y penetre la zona pelúcida (Gupta, 2021). Después de su paso a través de la zona pelúcida, las proteínas de la región ecuatorial de los espermatozoides interaccionan con la membrana plasmática del oocito (Inoue et al., 2005; Hirohashi y Yanagimachi, 2018). Seguidamente, las membranas de ambos gametos se fusionan y el espermatozoide es engullido por el citoplasma del oocito (Bianchi et al., 2014; Jean et al.,

2019). Parece ser que son varias las proteínas espermáticas y oocitarias que participan en la interacción de los gametos. Una de las interacciones que se conoce mejor es la que involucra la proteína espermática IZUMO1 y su receptor en el oocito JUNO (Inoue et al., 2005; Bianchi et al., 2014). Otras proteínas que se encuentran en la superficie del espermatozoide y que podrían estar involucradas en la fecundación del oocito son la galactina-3, la CD9, la CD81, la CD151, la TMEM95, la SPACA6, la LYPD4 y la HE4 (Barbaux et al., 2020; Fig. 56). La galactina-3 es una lectina que se encuentra en el plasma seminal y se transfiere a la superficie del espermatozoide a través de las vesículas extracelulares. En humanos, se ha observado que participa en la unión de los espermatozoides con la zona pelúcida después de la capacitación (Mei et al., 2019). La CD151 es una tetraspanina ubicada en el segmento ecuatorial de los espermatozoides. En ratones, bovinos y humanos, se ha sugerido que participa en la fecundación, junto con las tetraspaninas CD9 y CD81 (Jankovicova et al., 2020), si bien no es descartable que sean las formas oocitarias de estas últimas las que desempeñen esta función (Ohnami et al., 2012; Barbaux et al., 2020). La TMEM95, una proteína de la membrana del espermatozoide (Lamas-Toranzo et al., 2020; Noda et al., 2020), así como la LYPD4 (Wang et al., 2020b) y la proteína epididimaria 4 (HE4) (Kant et al., 2019) también participan en la fecundación en humanos y ratones. Si bien aún se desconoce a través de qué mecanismos participan estas proteínas en la fecundación, los espermatozoides que carecen de ellas son infériles o subfériles.

Figura 56. Proteínas involucradas en la fusión del espermatozoide y el oocito durante la fecundación (Barbaux et al., *Sci Rep* 2020;10:5335).



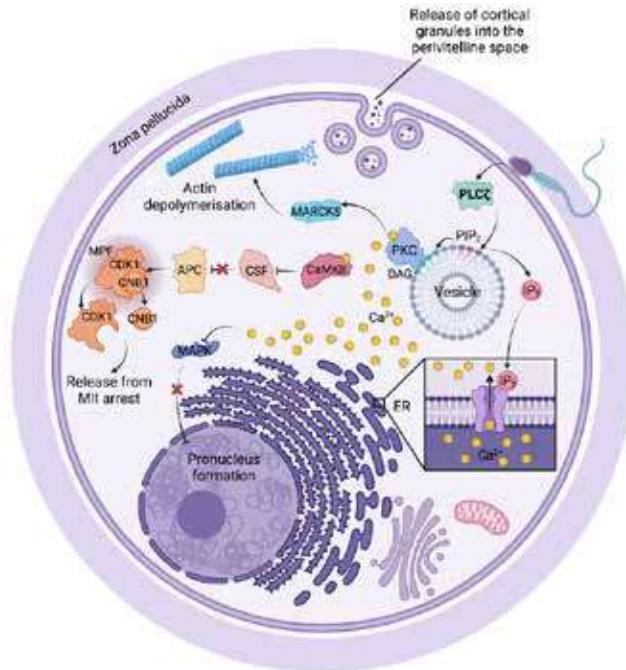
5.7.2. La activación del oocito

La activación del oocito se produce cuando el espermatozoide es engullido por el ooplasma e implica la reanudación de la segunda meiosis (detenida en la metafase II) y el posterior inicio de la embriogénesis (Horner y Wolfner, 2008). Una de las características de la activación del oocito es el patrón de oscilaciones periódicas en los niveles de calcio intracelular, que están inducidas por un factor específico que aportan los espermatozoides. Se han propuesto tres hipótesis para explicar la liberación de calcio en el citosol del gameto femenino después de su fusión con el espermatozoide: la hipótesis del factor espermático de activación del oocito (SOAF) (Dale et al., 1985); la hipótesis del receptor (Kline et al., 1988); y la hipótesis de la bomba de calcio (Jaffe, 1983). La hipótesis del factor espermático (SOAF) ganó adeptos cuando se descu-

brió que la fosfolipasa C zeta (PLC ζ), una fosfolipasa C específica del espermatozoide, desencadena oscilaciones de calcio en los oocitos de distintas especies de vertebrados (Saunders et al., 2002; Yeste et al., 2016; 2023). Concretamente, tras la fusión de las membranas de los gametos, la PLC ζ hidroliza el fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) de la membrana de las vesículas de los oocitos para producir inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG). El DAG permanece en la membrana y activa la proteína quinasa C (Fukami et al., 2010). El IP₃ se une a sus receptores en el retículo endoplásmico liso y provoca la liberación de calcio en el citosol del oocito fecundado, generando así una serie de oscilaciones (Swann y Yu, 2008; Swann et al., 2012). Los espermatozoides que no pueden desencadenar un patrón normal de oscilaciones periódicas de calcio suelen presentar una capacidad de fecundante baja o nula (Heindryckx et al., 2013). Concretamente, y en lo que concierne al espermatozoide humano, la ausencia o reducción de los niveles relativos de PLC ζ están asociadas con una activación deficiente del oocito y, por consiguiente, con la infertilidad debida al factor masculino (Heytens et al., 2009; Kashir et al., 2011, 2013, 2018; Yelumalai et al., 2015). La secuenciación de ADN exómico ha puesto de relieve la existencia de mutaciones puntuales en determinados dominios de la PLC ζ , como el C2 y los dominios catalíticos X e Y, en aquellos pacientes que presentan ausencia total de fecundación después de la ICSI (Escoffier et al., 2016; Yeste et al., 2023). Además, Yoon y col. (2008) descubrieron que los espermatozoides de los pacientes infériles que eran incapaces de fecundar los oocitos mediante ICSI tampoco podían inducir oscilaciones de calcio cuando se inyectaban en oocitos de ratón; estos espermatozoides también carecían de PLC ζ en la región ecuatorial. Este fenotipo infértil solo se resolvió cuanto se microinyectó el ARNc correspondiente al gen *Plcz1* a los

oocitos de ratón, lo que confirmó la función esencial de la PLC ζ en la activación del oocito. Otros estudios demostraron que los espermatozoides de pacientes con globozoospermia completa o parcial, una afección que se caracteriza - entre otras anomalías - por presentar espermatozoides con niveles reducidos o nulos de PLC ζ , tampoco podían fecundar los oocitos (Taylor et al., 2010; Kashir et al., 2012; Yassine et al., 2015). En 2017, Hachem y col. (2017) generaron ratones macho *knock out* para el gen *Plcz1*, y los espermatozoides de estos animales no lograron desencadenar oscilaciones de calcio en el oocito tras la fecundación. Su estudio corroboró en gran medida el papel que se le atribuye a la PLC ζ . Sin embargo, algunos oocitos lograron iniciar la embriogénesis, lo que sugirió que los machos *knock out* para *Plcz1* eran subfértiles en lugar de infértils. Otros grupos de investigación observaron que los espermatozoides que no logran activar el oocito después de la ICSI no siempre presentan alteraciones en la PLC ζ (Ferrer-Vaquer et al., 2016). En consecuencia, puede decirse que la PLC ζ no es el único factor activador del oocito en los espermatozoides; de hecho, se ha propuesto que hay otros factores espermáticos que participan en esta activación. Un ejemplo de ello es la proteína post-acrosómica de unión al dominio WW (PAWP, también conocida como WBP2NL), que se localiza en la teca perinuclear y desencadena oscilaciones de calcio en los oocitos de *Xenopus*, porcino, bovino, macaco y humano (Wu et al., 2007; Aarabi et al., 2010, 2014; Kennedy et al., 2014). Dado que estos hallazgos no han sido confirmados en otros estudios llevados a cabo en ratón (Nomikos et al., 2014, 2015) y humano (Freour et al., 2017), el papel real de la proteína espermática PAWP en cuanto a la activación del oocito sigue siendo controvertido.

Figura 58. Activación del oocito por parte de la proteína específica PLC ζ inmediatamente después de la fusión de los gametos (Yeste et al., en: Chakraboti et al. (ed.) *Phospholipases in Physiology and Pathology* (Volumen 4): *Role of Phospholipases in Inflammation, Gene Expression, and Apoptosis*; pp. 355-389, 2023).

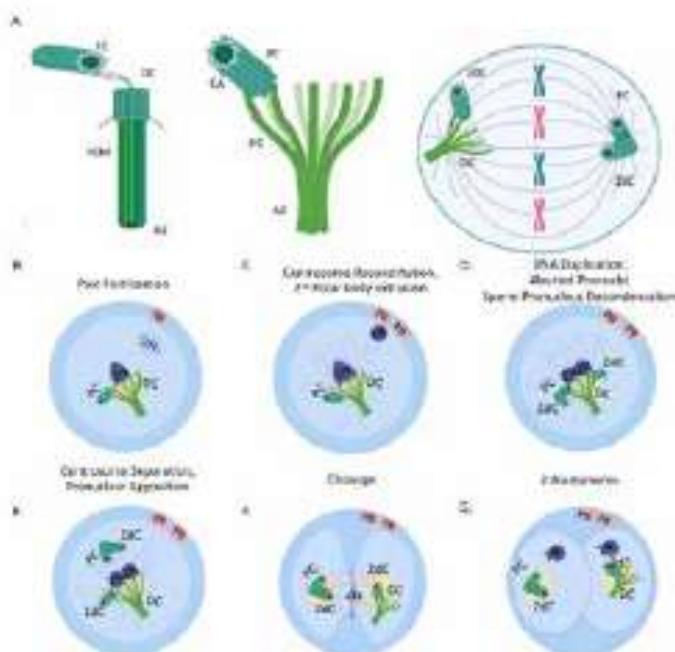


5.8. Contribución del centriolo del espermatozoide después de la fecundación

En las células eucariotas, los centriolos son un tipo de orgánulos necesarios para la división celular, así como para la formación de cilios y flagelos, y desempeñan un papel fundamental en la organización del citoesqueleto celular. Los espermatozooides humanos contienen dos centriolos ubicados en la región del cuello: el centriolo proximal (PC) y el centriolo distal (DC) (Khanal et al., 2021, et al., 2021). En los primates y en las es-

pecies porcina y bovina, se cree que el cigoto hereda el centriolo proximal del espermatozoide en el momento de la fecundación (Schneider et al., 2021; Amargant et al., 2021). Sin embargo, los centriolos del espermatozoide no están presentes en los cigotos de los roedores, ya que éstos degeneran en la espermato-génesis (Manandhar et al., 1998). Esto indica que es posible que los centriolos paternos no se hereden ni sean necesarios para el desarrollo embrionario en algunas especies, de modo que su contribución y funciones son específicas de éstas. Puesto que los centriolos de los oocitos humanos se eliminan durante la oogénesis, se cree que sus homólogos paternos son esenciales para garantizar el desarrollo apropiado de los embriones humanos (Simerly et al., 2018; Avidor-Reiss et al., 2019); esta noción es, no obstante, controvertida. Turner y col. (2021) desarrollaron un ensayo ratiométrico basado en la fluorescencia de los centriolos del espermatozoide, con el objetivo de evaluar su calidad en los espermatozoides de 33 pacientes. Descubrieron que el 79% de los espermatozoides de hombres que padecían infertilidad tenían centriolos defectuosos. En concordancia con estos resultados, las investigaciones previas sobre la formación anormal del áster espermático sugirieron que los centriolos de los espermatozoides están implicados en la organización del citoesqueleto del cigoto y, por ende, en la migración de los pronúcleos (Avidor-Reiss y Fishman, 2019; Scheffler et al., 2021) y la escisión celular (Rawe et al., 2002). Por el contrario, otros datos apuntaron a que los centriolos de los espermatozoides no son necesarios para la división del cigoto, aunque sí participan en etapas posteriores del desarrollo embrionario en humanos (Sha et al., 2017; Avidor-Reiss et al., 2022). Todo ello demuestra, en cualquier caso, que los centriolos de los espermatozoides juegan un papel importante después de la fecundación (Jaiswal et al., 2022).

Figura 59. Participación de los centriolos del espermatozoide en el cigoto después de la fusión de los gametos (Vallot-Buisan et al. *Hum Reprod Update* 2023;29:395-433).



5.9. El destino de las mitocondrias de los espermatozoides

La función principal de las mitocondrias de los espermatozoides es producir ATP mediante la fosforilación oxidativa, proporcionando así la energía necesaria para la motilidad. Las mitocondrias, además, participan en la regulación de la capacitación de los espermatozoides (Ferreira et al., 2021; Giaccagli et al., 2021). En los mamíferos, las mitocondrias de los espermatozoides difieren de las de las células somáticas en términos de morfología, distribución y composición bioquímica. Durante la espermogénesis, las mitocondrias de los espermatozoides se acumulan en la pieza intermedia (Otani et al., 1988). Las mito-

condrias del espermatozoide también presentan isoformas específicas para algunas proteínas y enzimas, como la subunidad VIb de la citocromo c oxidasa (Hüttemann et al., 2003) y la creatina quinasa (Huszar et al., 2000). Las mitocondrias también son una fuente importante de ROS, que, por su parte, son necesarias para algunos procesos como la capacitación; sin embargo, dichas especies reactivas pueden contribuir al daño mitocondrial a través del estrés oxidativo (Aitken et al., 1998; Fernández et al., 2019). De hecho, el daño generado por las ROS se ha asociado con el 30-80% de los casos de infertilidad masculina (Agarwal et al., 2006; Zandieh et al., 2018).

Para evaluar los espermatozoides se pueden examinar distintas características de las mitocondrias, como el ADN mitocondrial (ADNmt), el potencial de la membrana mitocondrial, y la integridad y funcionalidad de determinadas proteínas. En humanos, las mutaciones y los reordenamientos del ADNmt de los espermatozoides se han relacionado con mala calidad espermática e infertilidad (Holyoake et al., 2001; Talebi et al., 2017). De hecho, mientras que un número elevado de copias de ADNmt se ha asociado con una mala calidad espermática y una menor probabilidad de embarazo (May-Panloup et al., 2003; Tiegs et al., 2018; Rosati et al., 2020), un número bajo de las mismas se ha relacionado con parámetros normales del espermograma (Tiegs et al., 2018, 2020). Asimismo, las alteraciones en la integridad del ADNmt se han vinculado con una calidad espermática anormal o reducida (Song y Lewis, 2008; Zhang et al., 2016). Sin embargo, otros estudios han demostrado que el número relativo de copias de ADNmt en el espermatozoide no permite predecir el éxito de la FIV y la ICSI (Tiegs et al., 2018, 2020). De hecho, en los mamíferos, se establece un patrón de herencia uniparental para el ADNmt, pues éste se hereda íntegramente de la madre. Esto ocurre porque

el oocito degrada selectivamente el ADNmt aportado por el espermatozoide después de la fecundación mediante un proceso conocido como mitofagia (Giles et al., 1980; Gyllensten et al., 1991; Sutovsky et al., 1999; Song et al., 2016). Entre otras razones, el ADNmt del espermatozoide se degrada porque tiende a adquirir mutaciones nocivas producidas por la exposición a las ROS durante su transporte hacia el oocito (Kumar et al., 2009). Puesto que el ADNmt no está protegido por histonas ni tiene mecanismos eficientes de reparación del ADN, las mutaciones y delecciones inducidas por las ROS son abundantes (Kujoth et al., 2005; Shokolenko et al., 2009).

En cuanto a otras variables mitocondriales, el potencial de la membrana mitocondrial de los espermatozoides se ha correlacionado con la calidad espermática (Zhang et al., 2016), y el análisis de proteínas mitocondriales específicas ha revelado que una función mitocondrial alterada en los espermatozoides conduce a un fallo total de fecundación después de la ICSI (Torra-Massana et al., 2021). Estos estudios indican que los biomarcadores mitocondriales se pueden utilizar para predecir la calidad del semen tanto en la población general como en pacientes infértilles.

5.10. Integridad de la cromatina espermática y efectos de sus alteraciones

Como se ha indicado previamente, el espermatozoide transporta el genoma haploide paterno al oocito; por lo tanto, la integridad de su cromatina es fundamental para el éxito reproductivo y, según parece, para la salud de la descendencia. Debido al modo en que se produce la mitosis del cigoto y las primeras divisiones, es posible que las anomalías del núcleo paterno no se detecten hasta que el embrión tiene cuatro/ocho células (Wong et al., 2010; Yan et al., 2013). Es en este punto cuando se inicia la activación del

genoma embrionario y, por lo tanto, la expresión de los genes de origen paterno (Castillo et al., 2018).

La fragmentación del ADN espermático se produce por la acumulación en el espermatozoide de roturas en el ADN, tanto de cadena sencilla como doble. Esta fragmentación está relacionada con la infertilidad y el desarrollo deficiente de los embriones (Sedó et al., 2017a; Borges et al., 2019; Ribas-Maynou et al., 2021b; 2022a), y puede afectar negativamente a la salud de la descendencia (Fernández-González et al., 2008). La fragmentación del ADN espermático puede ser inducida tanto por factores extrínsecos como intrínsecos, tal y como se ha observado en animales y en la especie humana. Los factores extrínsecos incluyen hábitos de vida, como la nutrición (Jurewicz et al., 2018), el tabaquismo (Cui et al., 2016), la exposición a radiaciones ionizantes (Kumar et al., 2013) y los períodos prolongados de abstinencia (Comar et al., 2017); estados patológicos, como diabetes (Condorelli et al., 2018), obesidad (Fullston et al., 2015), cáncer (Méseguer et al., 2008), infecciones del tracto genital masculino (Han et al., 2021) y varicocele (Jeremías et al., 2021); e intervenciones quirúrgicas como la vasectomía (Ribas-Maynou et al., 2022b). También se ha descubierto que la edad es uno de los factores de riesgo más importantes para el aumento de la fragmentación del ADN espermático en hombres (Evenson et al., 2020; Vaughan et al., 2020). Los factores intrínsecos que pueden dar lugar a esta fragmentación incluyen defectos en el reemplazo de histonas por protaminas (Yoshida et al., 2018), un empaquetamiento defectuoso de la cromatina (Tarozzi et al., 2009), escisión enzimática mediada por nucleasas (Shaman et al., 2006; Viñolas-Vergés et al., 2023), cambios similares a la apoptosis (Shukla et al., 2012) y estrés oxidativo (Dorostghoal et al., 2017).

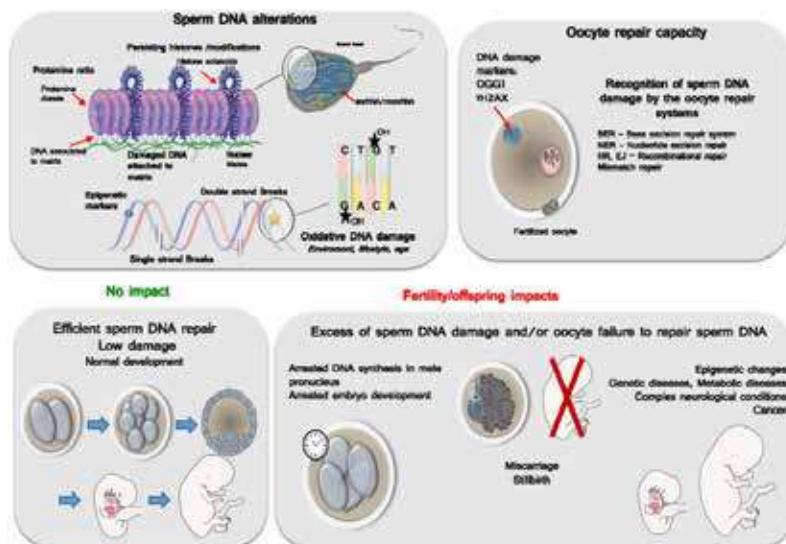
La fragmentación del ADN del espermatozoide puede tener efectos deletéreos en el desarrollo embrionario y la implantación. Los espermatozoides carecen de algunos de los enzimas clave necesarios para completar la reparación del ADN después de producirse la fragmentación (Smith et al., 2013). Por lo tanto, tras la fecundación, se precisa la colaboración del oocito para reparar el daño en el ADN paterno (Shimura et al., 2002; Lord y Aitken, 2015). Dependiendo de la extensión de este daño en el ADN paterno, es posible que el oocito no lo pueda corregir completamente, de modo que las aberraciones residuales del ADN se acaban transmitiendo al cigoto (Fig. 60). De este modo, las replicaciones posteriores del ADN del embrión pueden incrementar la carga mutacional y la inestabilidad genómica (Lane et al., 2014; Ohno et al., 2014; Middelkamp et al., 2020). Varios estudios han relacionado la reparación fallida del ADN paterno con un efecto negativo en el desarrollo embrionario temprano al alterar la morfocinética y la estabilidad genómica del embrión (Esbert et al., 2018). De igual forma, distintas investigaciones han asociado la fragmentación del ADN espermático con una mayor incidencia de abortos espontáneos en embarazos naturales (Avendaño et al., 2010; Robinson et al., 2012) y con una reducción de la tasa de embarazos que llegan a término (Zhao et al., 2014; Simon et al., 2017b; Ribas-Maynou et al., 2021b). En concreto, Ribas-Maynou y col. (2021b) analizaron 78 estudios que incluyeron a más de 25.000 ciclos de FIV y/o ICSI con el objetivo de determinar los efectos de la fragmentación del ADN en el desarrollo embrionario. El 66% de estos trabajos mostraron que el daño en el ADN del espermatozoide afectaba negativamente a las tasas de fecundación, la calidad de los embriones y la formación de blastocistos. Sin embargo, otros metaanálisis (Li et al., 2006; Collins et al., 2008), así como la Sociedad Estadounidense de Medicina Reproductiva (Practice Committee

of the American Society for Reproductive Medicine, 2013), indicaron que la fragmentación del ADN espermático humano no tiene un efecto deletéreo en el éxito de la implantación y en el mantenimiento de un embarazo clínico. Una posible causa de las discrepancias entre los distintos estudios puede ser que los efectos del daño en el ADN difieran según el tipo de ensayo utilizado para medir su integridad. Por ejemplo, el test de Comet muestra la asociación más fuerte entre la mala calidad del embrión y el daño del ADN, ya que es el método más sensible. Simón y col. (2011) utilizaron el ensayo de Comet y demostraron que la fragmentación del ADN espermático se asociaba con una disminución de la calidad del embrión cuando había más de un 52% de espermatozoides con daño en el ADN. Otros estudios observaron una correlación negativa cuando se empleó el test de TUNEL para evaluar los efectos del daño del ADN en el desarrollo de los blastocistos y las tasas de embarazo (Ruvolo et al., 2013; Cankut et al., 2019). Además, el metaanálisis realizado por Ribas-Maynou y col. (2021b) mostró diferencias entre las técnicas de reproducción asistida utilizadas; de hecho, pocos estudios detectaron una correlación negativa significativa en el caso de la ICSI, mientras que muchos de ellos confirmaron la existencia de dicha correlación negativa cuando se utilizó la FIV.

En cuanto al grado de alteración del ADN, un nivel alto de fragmentación se ha correlacionado con ausencia total de fecundación después de la FIV y de la ICSI (Velez de la Calle et al., 2008), baja calidad embrionaria (Zheng et al., 2018; Kim et al., 2019; Ribas-Maynou et al., 2022a; Wang et al., 2022) y aborto espontáneo (Haddock et al., 2021). Algunos trabajos asociaron una fragmentación leve del ADN con la detención de la embriogénesis después de la activación del genoma embrionario (EGA; Simon et al., 2014), mientras

que otros no observaron efectos negativos sobre la blastulación o las tasas de embarazo cuando el nivel de fragmentación del ADN espermático era bajo (Champroux et al., 2015; Sedó et al., 2017). Con todo, los efectos de la integridad del ADN espermático en el desarrollo embrionario preimplantacional y las variables clínicas (p.ej., embarazos que llegan a término) siguen siendo controvertidos. Por otra parte, un número creciente de estudios respaldan fuertes vínculos entre la fragmentación del ADN espermático y la salud de la descendencia (Aitken et al., 2020). Se trata de casos en los que los espermatozoides con ADN fragmentado fecundan con éxito al oocito, pero éste a su vez no es capaz de reparar con éxito todo el daño. La reparación insuficiente de las aberraciones del ADN del espermatozoide antes de la primera división mitótica puede conducir potencialmente a un aumento de la carga mutagénica en la descendencia (Champroux et al., 2016).

Figura 60. Representación de las posibles alteraciones en el ADN espermático y sus efectos en el embrión según el grado de fragmentación (Champroux et al. *Basic Clin Androl* 2016;26:17).



5.11. Aneuploidía espermática

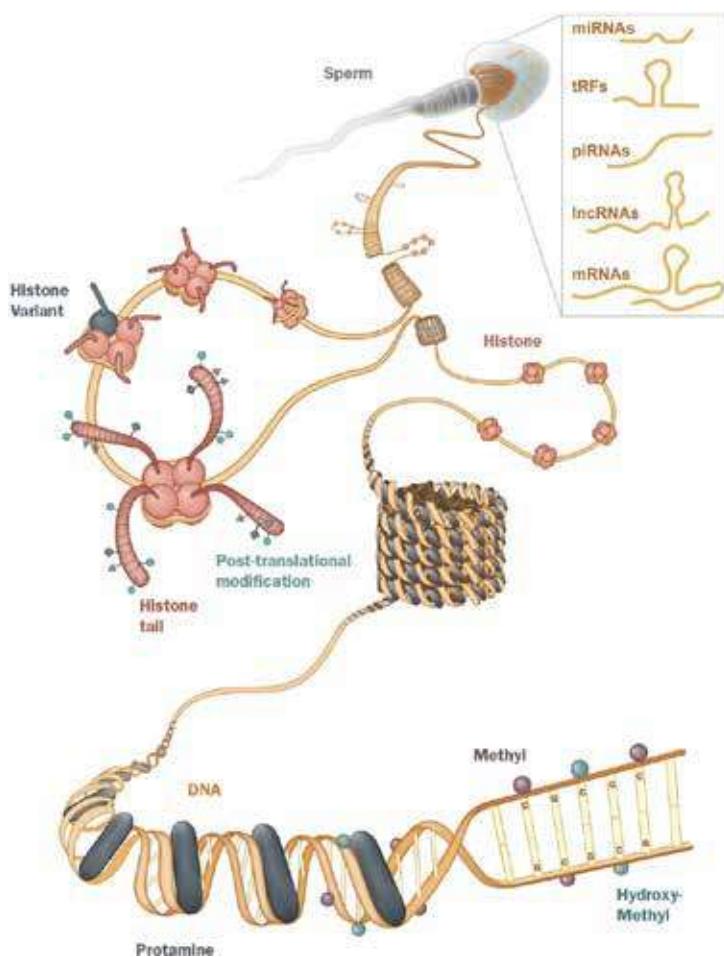
Aunque la mayoría de los casos de aneuploidía embrionaria son el resultado de factores maternos - las más de las veces de complicaciones en la meiosis I -, los factores paternos ocasionalmente pueden desempeñar un papel en la trisomía de los cromosomas sexuales (Magli et al., 2009; Oldereid et al., 2018, Wang et al., 2020c). Así, los espermatozoides macrocefálicos, los espermatozoides con más de un núcleo (Mehdi et al., 2012), la teratozoospermia - espermatozoides con mala morfología - (Braham et al., 2019, Nayel et al., 2021) y la oligoastenoteratozoospermia - espermatozoides con mala motilidad, mala morfología y baja concentración - (Saei et al., 2021) están correlacionados con las aneuploidías. Por lo tanto, el aumento de anomalías morfológicas en los espermatozoides tiene mayores posibilidades de provocar aneuploidía embrionaria. Sin embargo, no se ha observado que la mala motilidad de los espermatozoides por sí sola esté asociada con mayores tasas de aneuploidía (Rodrigo et al., 2019). Los niveles elevados de aneuploidía espermática se correlacionan negativamente con las tasas de implantación y embarazo tras los ciclos de reproducción asistida (Ramasamy et al., 2015).

5.12. Huellas epigenéticas y ARN paternos

La epigenética es la regulación de la expresión génica sin necesidad de que se produzcan cambios en la secuencia de ADN. Contrariamente a la creencia previa, y de nuevo anticipando un cambio de paradigma, se ha demostrado que tanto los factores paternos como los maternos están involucrados en la reprogramación epigenética que se produce en el embrión, y que incluye variaciones en el patrón de metilación del ADN y en el contenido de ARN no codificantes, modificaciones de las histonas y cambios en la accesibilidad a la cromatina (Smith et

al., 2014). Concretamente, el epigenoma del espermatozoide consta de una combinación de modificaciones de las histonas retenidas, un perfil específico de metilación del ADN y un conjunto de ARN no codificantes (miARN, piARN y lncARN) (Fig. 61).

Figura 61. Estructura de la cromatina y modificaciones epigenéticas en los espermatozoides (Gapp y Bohacek. *Genes Brain Behav* 2018;17:e12407).



5.12.1. Modificaciones de las histonas

Las histonas sufren varias modificaciones para regular la expresión génica. Estos cambios incluyen la metilación, la acetilación, la fosforilación y la ubiquitinación. Para lograr los niveles de compactación nuclear necesarios para el funcionamiento adecuado de los espermatozoides, y tal y como se ha apuntado previamente, la mayoría de las histonas de los espermatozoides son reemplazadas por protaminas en la espermiogénesis de los mamíferos; en este proceso intervienen también las proteínas de transición nuclear (Zeyad et al., 2018). Las histonas restantes (10-15 % en humanos y 1-8 % en ratones; Brykczynska et al., 2010; Jung et al., 2017) evaden la transición histona-protamina y retienen las marcas epigenéticas cuando el espermatozoide abandona el testículo. El embrión, por lo tanto, hereda estas marcas epigenéticas, lo que puede estar implicado en la regulación de la expresión génica y en el control de la condensación de la cromatina (Ozturk et al., 2021). Hammoud y col. (2009) demostraron que en el espermatozoide humano las histonas retenidas se encuentran predominantemente en los genes clave del desarrollo, que incluyen grupos de genes homeóticos HOX y promotores de factores de transcripción y señalización. Las regiones de histonas retenidas pueden corresponder a regiones de unión entre toroides (Ward, 2010, Ribas-Maynou et al., 2021a; 2022b). Varios estudios han correlacionado mutaciones en estas histonas con problemas reproductivos como infertilidad en gusanos (Katz et al., 2009), y alteraciones en la activación del genoma embrionario en ratones (Ihara et al., 2014) y en la embriogénesis en humanos (Hammoud et al., 2011; Vieweg et al., 2015; Glanzner et al., 2017; Huang et al., 2019). Se han identificado más de una docena de modificaciones diferentes en las histonas que pueden ser importantes para la espermatogénesis y la embriogénesis, ya sea de forma inde-

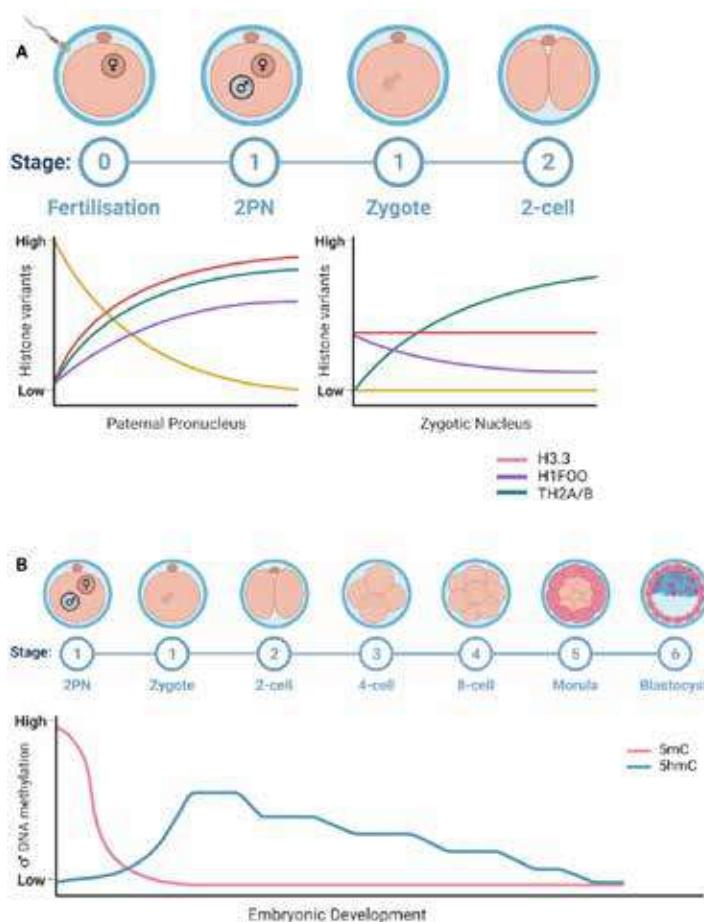
pendiente o de modo conjunto (Schon et al., 2019). Por ejemplo, si la H4K12 no se acetila adecuadamente, la activación del genoma embrionario se ve alterada y el desarrollo embrionario se detiene (Paradowska et al., 2012; Vieweg et al., 2015). Además, se ha demostrado que anomalías en enzimas como la metiltransferasa de histonas M112 interrumpen el desarrollo embrionario antes de la implantación (Denissov et al., 2014, Lv et al., 2019). De igual forma, las modificaciones epigenéticas de algunas histonas espermáticas, como la H3K4me3 (Deng et al., 2020; Lambrot et al., 2021) y la H3K27me3 (Sun et al., 2021), desempeñan un papel crucial en la activación del genoma embrionario. En efecto, los niveles de H3K27me3 disminuyen inmediatamente después de la fecundación y permanecen bajos hasta la etapa de dos células; posteriormente, aumentan y permanecen altos hasta la etapa de blastocisto (Liu et al., 2016; Huang et al., 2019). Por otra parte, si los niveles de expresión de los genes que alteran la metilación de H3K4 durante la activación del genoma, como *BRG1* y *KDM1A*, disminuyen, el desarrollo embrionario se ve comprometido (Glanzner et al., 2017). Después de la fecundación y antes de la activación del genoma embrionario - que, como se ha indicado previamente, en humanos ocurre en la etapa de cuatro/ocho células (Wong et al., 2010; Yan et al., 2013) -, el núcleo del espermatozoide se somete a una reprogramación, lo que comporta la descondensación de la cromatina, la eliminación de las protaminas, la adición de variantes de histonas maternas y la recondensación. Los nucleosomas resultantes contienen histonas paternas heredadas y maternas nuevas, cuyas variantes desempeñan funciones clave en las primeras etapas de la embriogénesis. De hecho, una variante de la H3, la H3.3, se deposita por vía materna en la cromatina paterna (Ishiuchi et al., 2021; Fig. 62) para activar genes de pluripotencia (Wen et al., 2014; Kong et al., 2018). La H1FOO, una variante de histona que regula la estructura

de la cromatina del cigoto en ratones (Funaya et al., 2018), también se incorpora por vía materna al genoma paterno tras la eliminación de las protaminas (Becker et al., 2005; Funaya et al., 2018). Del mismo modo, las variantes oocitarias de las histonas TH2A y TH2B (TH2A/B) se depositan en la cromatina paterna e inducen una configuración abierta del genoma que es necesaria para la viabilidad de la descendencia (Shinagawa et al., 2014; Patankar et al., 2021; Fig. 62).

5.12.2. Metilación del ADN

La metilación del ADN es otra modificación epigenética que regula la expresión génica. La ADN-metiltransferasa 1 (DNMT1) cataliza la metilación de las islas CpG del ADN, que son regiones ricas en dinucleótidos de citosina-fosfato-guanina (CpG) que se encuentran muy cercanas a los promotores de los genes. Además, las nuevas metilaciones del ADN están reguladas por la DNMT3a y la DNMTb (Kaneda et al., 2004; Yagi et al., 2020). La eliminación y adición de grupos metil al ADN paterno se producen específicamente durante la espermatogénesis y el desarrollo embrionario. Las alteraciones en la metilación de este ADN paterno están asociadas con una mala calidad embrionaria y pueden producir abortos espontáneos recurrentes (Benchab et al., 2003, 2005; Cao et al., 2020; Richard Albert et al., 2020). Un caso concreto es la metilación defectuosa del promotor del gen que codifica por el elemento modulador de respuesta al AMPc (CREM), que está asociada con la infertilidad masculina (Nanassy y Carrell, 2011; Song et al., 2021). Asimismo, la sobreexpresión de DNMT3 (3a, 3b y 3L) se ha relacionado con el desarrollo de carcinomas embrionarios que pueden desembocar en abortos espontáneos (Almstrup et al., 2005; Dahlet et al., 2020).

Figura 62. Reprogramación de los núcleos del espermatozoide y del cigoto después de la fecundación. Se muestran (A) los cambios en las histonas y (B) en la metilación del ADN (Vallet-Buisan et al., *Hum Reprod Update* 2023;29:395-433).



La desmetilación global del ADN se produce en el embrión temprano y tiene el objetivo de establecer un estado pluripotente en el epiblasto (Lee et al., 2018; Fig. 62). A lo largo de este proceso, los genomas materno y paterno se desmetilan asimétricamente (Zhu et al., 2018; Yang et al., 2022). Con-

cretamente, la metilación del ADN materno se pierde principalmente de forma pasiva a través de la replicación del ADN, mientras que el genoma paterno está sujeto a una desmetilación rápida y activa por parte del oocito (Guo et al., 2014); sin embargo, los *imprinted* genes (impronta genética), también los procedentes del padre, eluden este proceso (Bar et al., 2021). Los mecanismos subyacentes a la desmetilación del ADN paterno en la embriogénesis no se conocen bien, pero se cree que están gobernados, entre otras, por la enzima TET3 (Cheng et al., 2019). Esta enzima convierte la 5-metilcitosina (5-mC) en 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), se encuentra predominantemente en el pronúcleo masculino (Gu et al., 2011, Mulholland et al., 2020) y desmetila aproximadamente el 25% del genoma paterno (Peat et al., 2014; Olszewska et al., 2022). Por su parte, la proteína de pluripotencia del desarrollo 3 (DPPA3; también conocida como PGC7 o STELLA) protege al genoma materno al interactuar con la H3K9me2, una variante de la H3; de este modo impide que la TET3 oxide la 5-mC (Mulholland et al., 2020). El genoma paterno, en cambio, no puede interactuar con la DPPA3 porque carece de nucleosomas con la H3K9me2 y, por lo tanto, es vulnerable a la desmetilación por parte de la TET3 (Nakamura et al., 2012). En ratones, se encuentran pequeñas cantidades de DPPA3 en el pronúcleo masculino que protegen el estado de metilación de dos loci con impronta paterna (*H19* y el *RASGRF1*) que están marcados con H3K9me2 (Nakamura et al., 2007). Se ha demostrado que las anomalías de la impronta genética causan problemas en el desarrollo embrionario, lo que en ocasiones conduce a síndromes congénitos, como el síndrome de Angelman, el síndrome de Prader-Willi o el síndrome de Beckwith-Wiedemann (Kobayashi et al., 2009; Hattori et al., 2019; Inoue et al., 2020). Por ejemplo, el síndrome de Beckwith-Wiedemann se ha relacionado con una sobremetilación de *H19* (Blick et al., 2001; Kubo et al.,

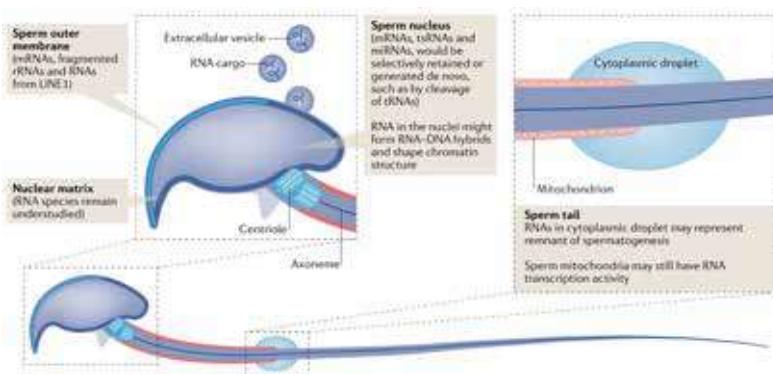
2020) y una submetilación de *KvDMR1* (Singh et al., 2017), siendo ambos alelos de herencia paterna. Por otro lado, las alteraciones en los patrones de metilación de las islas CpG que se encuentran en regiones del ADN espermático asociadas a histonas están relacionadas con una mala calidad embrionaria, y se han observado tanto en pacientes con oligozoospermia cuanto en individuos normozoospérmicos. Concretamente, la reducción de la metilación del ADN espermático en regiones CpG que contienen genes relacionados con el desarrollo embrionario y retienen histonas conlleva alteraciones durante la embriogénesis, lo que sugiere una asociación de dichos genes con la infertilidad masculina (Denomme et al., 2017). Todos estos datos indican, en fin, que los patrones de metilación del ADN paterno son fundamentales para establecer una dinámica adecuada durante el desarrollo embrionario. Esto fue especialmente evidente gracias a un estudio realizado con 127 hombres sometidos a FIV, en el que la investigación de más de 485.000 sitios de metilación del ADN mostró que los individuos que dieron lugar a embriones de peor calidad tenían patrones de metilación del ADN significativamente diferentes a los de los hombres normozoospérmicos que produjeron embriones de mejor calidad y mayor viabilidad (Aston et al., 2015).

5.12.3. Los ARN espermáticos

La sustitución de la mayoría de las histonas por protaminas en los espermatozoides conduce a un núcleo transcripcionalmente inactivo (Hutchison et al., 2017). Durante la última década, los avances en las tecnologías de secuenciación del ARN han permitido la identificación, cuantificación y caracterización de transcritos que permanecen en el espermatozoide después de la espermiogénesis. Estos transcritos incluyen ARN codificantes (ARNm) y no codificantes (ARNnc). Dentro de

los ARNnc, se distinguen los siARN, los miARN, los piARN, los ARN circulares (circ) y los ARN largos no codificantes (lnc) (Fig. 63). Investigaciones previas han sugerido que los ARN paternos pueden influir en el éxito de la fecundación y el desarrollo embrionario (Ostermeier et al., 2004, Jodar et al., 2015, Bianchi et al., 2018).

Figura 63. Origen y localización de los ARN codificantes y no codificantes en el espermatozoide (Zhang et al., *Nat Rev Endocrinol* 2019;15:489-498).



a) El ARN mensajero

Si bien el espermatozoide humano tiene casi 600 veces menos ARNm que las células somáticas (Zhao et al., 2006), se han detectado actividades marginales de ADN y ARN polimerasa en el núcleo del espermatozoide de los mamíferos (Bianchi et al., 2018). La función de los ARNm presentes en los espermatozoides se desconoce, si bien se han planteado diferentes hipótesis. Puede darse el caso de que los ARNm de los espermatozoides no tengan ninguna función y sean simplemente residuales. Otra posibilidad es que los ARNm de los espermatozoides desempeñen algún papel en las últimas etapas de la espermatogénesis, particularmente durante la condensación

de la cromatina nuclear. Es probable que los espermatozoides maduros no transcriban ni traduzcan ARN nuevos (Ren et al., 2017; Corral-Vazquez et al., 2021); por lo tanto, es plausible que los ARNm se transcriban antes de que las histonas sean sustituidas por las protaminas y que se traduzcan cuando la célula germinal masculina alcance el estadio de espermátila alargada. Si este fuera el caso, estos ARNm podrían tener una función en la regulación de la expresión génica del embrión después de que éste active su genoma (Sendler et al., 2013). Otra explicación podría ser que los ARNm de los espermatozoides estén directamente involucrados en la embriogénesis (Ko et al., 2000; Ostermeier et al., 2005; Jodar et al., 2015, Ntostis et al., 2017). Relacionado con esta posibilidad, se ha sugerido que los ARNm específicos del espermatozoide (p.ej., *PSG1* y *HLA-E*) pueden estar involucrados en el desarrollo embrionario e incluso en la implantación, pues cuando se fecundan oocitos de hámster con espermatozoides humanos, estos ARNm se encuentran en dichos oocitos 24 horas después de la fecundación (Avendaño et al., 2008). La función de las proteínas resultantes apoya su posible relevancia para la implantación. Así, la *PSG1* se ha relacionado con la proliferación de células T (Motrán et al., 2002; Timanova et al., 2019), lo que indica que puede participar en la protección del embrión frente a las células inmunitarias maternas (tolerancia alogénica). Cuando se comparó la expresión de los genes *PSG1* y *HLA-E* entre grupos de hombres infériles y fértiles, el grupo fértil mostró una expresión significativamente mayor de los transcritos derivados de estos genes (Avendaño et al., 2009). Por lo tanto, es razonable hipotetizar que los espermatozoides proporcionan ARNm que participan en el desarrollo embrionario; a pesar de lo dicho, la función precisa de muchos de los ARNm espermáticos aún no está clara y faltan estudios en humanos que investiguen esta cuestión.

Por otra parte, a principios de los años 2000 una investigación llevada a cabo en ratones conjeturó que los ARNm del espermatozoide se degradan durante la etapa unicelular del desarrollo embrionario y, por lo tanto, no pueden afectar a la embriogénesis (Hayashi et al., 2003). Otros estudios posteriores observaron que, en cerdos, algunos ARNm de los espermatozoides, como *SSFA2* y *SESN1*, están presentes hasta la etapa de cuatro células y participan en el desarrollo embrionario previo a la implantación (Yang et al., 2009; Guo et al., 2017). Además, los ARNm paternos codificantes para la protamina-2 (*PRM2*) y la proteína de choque térmico 90 (*HSP90AA1*) parece que también están implicados en la embriogénesis. Así, se ha demostrado que los hombres con niveles más bajos de *PRM2* y niveles más altos de *HSP90AA1* dan lugar a tasas superiores de abortos espontáneos recurrentes (Cho et al., 2003; Hwang et al., 2013; Kause et al., 2019). Esto puede ser el resultado de un aumento del estrés oxidativo causado por los radicales libres, lo que conduce a la fragmentación del ADN y afecta al desarrollo de los blastocistos (Esakky y Moley, 2016). En relación con esta cuestión, otro estudio investigó si el contenido relativo de los ARN y las actividades de las glutatión peroxidases 1 y 4, y de la glutatión reductasa (GSR) en los espermatozoides afectaban al desarrollo embrionario (Meseguer et al., 2006). Si bien la tasa de fecundación y la formación de pronúcleos no se correlacionaron con los niveles de transcritos correspondientes a *GPX1*, *GPX4* o *GSR*, se encontró que la abundancia en el espermatozoide del ARNm correspondiente a la *GPX4* estaba correlacionada negativamente con la proporción de embriones asimétricos. Además, se descubrió que una menor actividad de *GPX1* en los espermatozoides conducía a un desarrollo embrionario deficiente cinco días después de la fecundación. Esto sugiere que los ARNm de origen paterno codificantes para *GPX1* y *GPX4* pueden desempeñar un pa-

pel durante el desarrollo embrionario temprano (Meseguer et al., 2006). Sadakierska-Chudy y col. (2020) investigaron más a fondo la hipótesis de que los ARNm transmitidos por los espermatozoides participan en el desarrollo del embrión. Para ello, compararon los niveles de transcritos derivados de genes importantes para la fecundación, la activación del oocito y la remodelación de la cromatina entre hombres normozoospérmicos y con oligozoospermia grave, y examinaron también cigotos y embriones. Los espermatozoides del grupo oligozoospermico mostraron niveles reducidos de ARNm relacionados con la fecundación, la activación del oocito, la remodelación de la cromatina espermática después de la fecundación y la activación del genoma embrionario. Estos ARNm incluían *AKAP4*, *PTK7*, *PLCZ1* y *POU5F1* (Sadakierska-Chudy et al., 2020).

Las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) también han permitido la secuenciación de los ARNm del espermatozoide humano (Sendler et al., 2013; Jodar et al., 2015; Corral-Vazquez et al., 2021). Un estudio que llevó a cabo un análisis del transcriptoma mediante NGS en espermatozoides de 12 hombres encontró una gran proporción de transcritos relacionados con la embriogénesis (Corral-Vazquez et al., 2021). Entre estos se identificaron, además de *PRM1* y *PRM2*, que codifican para las protaminas 1 y 2; *TNP1*, que codifica para la proteína nuclear de transición 1 que participa, como se ha dicho previamente, en la sustitución de las histonas por las protaminas; y *TSSK6*, que interviene en la condensación del ADN durante la remodelación de la cromatina después de la meiosis. Centrándose en *PRM1* y *PRM2*, y como se mencionó anteriormente, Rogenhofer y col. (2017) observaron que los niveles bajos de transcritos de *PRM1* y *PRM2* están asociados con abortos espontáneos recurrentes. Hay que señalar, con todo, que muchos de los estudios antes

mencionados han asumido que el ARNm transmitido por el espermatozoide puede estar involucrado en la embriogénesis basándose únicamente en la presencia de dichos ARNm en el oocito. Ello no obstante, hace falta probar de manera inequívoca que estos transcritos paternos son funcionales y que, en el oocito, se traducen específicamente en proteínas implicadas en el desarrollo embrionario.

b) Los ARN no codificantes

Aparte de los ARN que codifican proteínas, los ARNnc participan en la regulación de varios procesos fisiológicos e incluyen, como se mencionaba más arriba, lncARN, miARN, piARN y circARN. Distintos estudios han sugerido que estos ARNnc espermáticos pueden desempeñar un papel en la fecundación y el desarrollo embrionario previo a la implantación (Salas-Huetos et al., 2020).

Los miARN son pequeñas moléculas de ARN monocatenario que regulan la expresión génica. Son los ARNnc espermáticos mejor caracterizados y, como se detallará a continuación, modulan la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Yuan et al., 2016). Varios de estos miARN se han asociado con la infertilidad masculina (Lian et al., 2010; Marcet et al., 2011; Romero et al., 2011; Comazzetto et al., 2014; Gou et al., 2017). El miARN transmitido por el espermatozoide humano más abundante es el miR-34c (Salas-Huetos et al., 2014), necesario para la primera división del cigoto en ratones (Liu et al., 2012b). Se cree que el miR-216b espermático modula, junto con el miR-216b del cigoto, la expresión de KRAS, una proteína implicada en la proliferación y diferenciación celular en embriones de dos células (Alves et al., 2019). El impacto de los miARN transmitidos por el espermatozoide en el desarrollo embrionario también se ha ob-

servado en otras especies, incluida la bovina (Wu et al., 2020; Salas-Huetos et al., 2023). Por ejemplo, el mi-449b bovino está implicado en la división del cigoto, además de en la reprogramación epigenética de los embriones y en la apoptosis de blastocistos (Wang et al., 2017). También los niveles de miR-138 en espermatozoides criopreservados de bovino están asociados con la fertilidad después de la inseminación artificial (Salas-Huetos et al., 2023). Por otro lado, el Dicer es un enzima implicado en la biogénesis de miARN y siARN. Yuan y col. (2016) descubrieron que los embriones derivados de ratones *knock out* condicionales para Dicer no podían desarrollarse normalmente hasta la etapa de blastocisto; estos embriones, sin embargo, pudieron reanudar su desarrollo cuando se les microinyectaron miARN purificados de espermatozoides.

Los espermatozoides que se encuentran en la cola del epidídimo contienen una mezcla de ARNnc, que incluye miARN y fragmentos de ARNt. Se descubrió que los ARNt contribuyen al metabolismo de la descendencia, así como a la herencia epigenética (Sharma et al., 2013, 2018; Chen et al., 2016; Zhang et al., 2018). Además, los niveles de miARN cambian durante la maduración en el epidídimo. Como se ha indicado previamente, la fecundación con espermatozoides en diferentes etapas de maduración, por ejemplo, espermatozoides testiculares y del cauda epididimario, muestra efectos distintos en el desarrollo embrionario, lo que sugiere que los miARN pueden ser importantes para la regulación de la expresión génica en el embrión temprano (Conine et al., 2018). Éste es un factor importante a considerar al realizar FIV o ICSI con espermatozoides extraídos directamente del testículo o del epidídimo. Asimismo, se sabe que los piARN silencian elementos transponibles al destruir las regiones 3'UTR de los ARN (Larriba y del Mazo, 2018) o alterar la metilación del gen *DNMT3L* (Itou et al., 2015). Por lo tanto, se ha propuesto que los

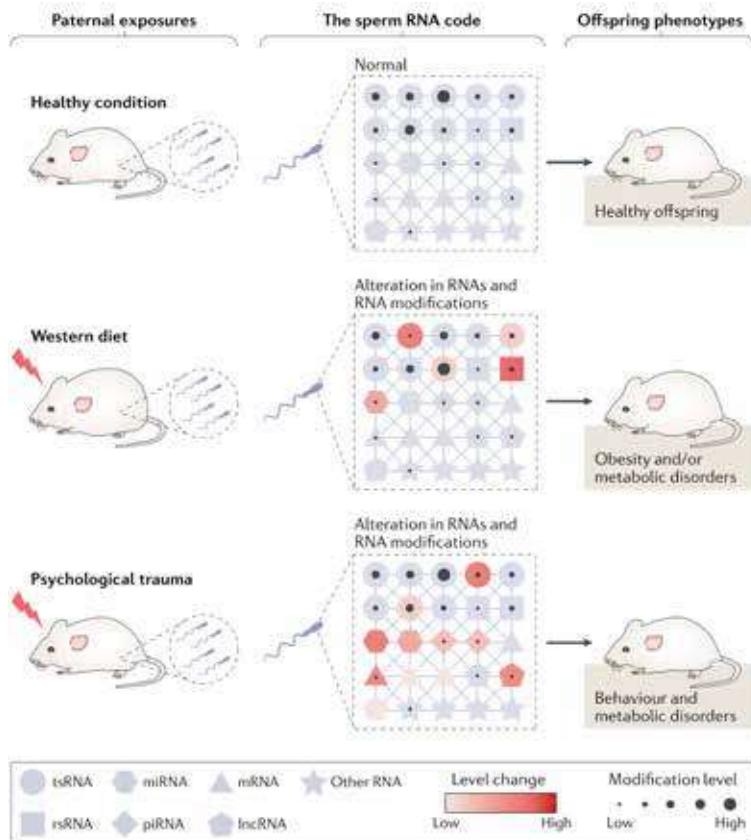
piARN protegen al embrión de los elementos transponibles que pueden comprometer la integridad del genoma. Se ha hipotetizado, además, que los piARN de los espermatozoides pueden estar involucrados en la transmisión transgeneracional (Ingerslev et al., 2018) y la regulación epigenética (de Castro Barbosa et al., 2015; Donkin et al., 2016; Tyebji et al., 2020). En ratones, los piARN derivados de los cromosomas 6 y 10 participan en la espermiogénesis, la fecundación de los oocitos y el desarrollo de embriones (Wu et al., 2020). Al igual que los miARN, los lncARN transmitidos por los espermatozoides también se han asociado con la embriogénesis y la función de los espermatozoides (Corral-Vazquez et al., 2021); por ejemplo, es probable que lncARN, como lnc09522, lnc32058 y lnc98487, desempeñen un papel en la regulación de la motilidad de los espermatozoides (Zhang et al., 2019a). Finalmente, los circARN, piezas circulares de ARN monocatenario que participan en la regulación de la función de miARN y ARNm también podrían estar implicados en la embriogénesis (Dang et al., 2016, Li et al., 2021). Dang y col. (2016) observaron que ciertos ARN circulares identificados en los espermatozoides se encuentran también en embriones preimplantacionales pero no en oocitos, lo que sugeriría que tienen un papel durante la embriogénesis. Además, el estudio de los ARN circulares en espermatozoides mediante *arrays* de ARN identificó unos 20.000 transcritos. Hay que destacar que la dotación de ARN circulares en los espermatozoides de hombres con mala calidad espermática difiere de la de individuos normozoospérmicos (Chioccarelli et al., 2019; Manfreola et al., 2020). En otra investigación se determinó que la proteína FUS de unión a ARN desempeña una misión crucial en la circularización de los ARNm, a través de su interacción con circCNOT6L y en cooperación con la ARN polimerasa II y la proteína Quaking (QKI). Este estudio también observó que el espermatozoide le aporta al oocito tanto FUS como circCNOT6L, y que el

circCNOT6L transmitido por los espermatozoides participa en la regulación de la transición del cigoto al estadio de dos células (Chioccarelli et al., 2021).

5.12.4. Efectos de las alteraciones en las marcas epigenéticas

Las alteraciones en las huellas epigenéticas de los espermatozoides incluyen variaciones en el contenido de histonas (Oliva y Ballesca, 2012), en los patrones de metilación del ADN (Khosravizadeh et al., 2020) y en la dotación de AR-Nnc (Jodar et al., 2013; Zhang et al., 2019a; Salas-Huetos et al., 2020). Azpiazu y col. (2014) descubrieron que los niveles de seis variantes de histonas eran más bajos en los espermatozoides de hombres infériles, lo que podría provocar reordenamientos de la cromatina en los genes homeóticos y alterar la embriogénesis. Los patrones anormales de metilación de los espermatozoides - específicamente, los niveles más altos de ADN hipometilado - se han asociado con baja motilidad espermática y subfertilidad (Pacheco et al., 2011). Con respecto a los ARN, la transcriptómica y el análisis de microarrays identificaron la expresión diferencial de 2.081 ARNm (Bansal et al., 2015) y 52 miARN (Liu et al., 2012a) entre individuos fértiles y pacientes infériles. Se descubrió que la expresión de miR-27a, un miARN que se cree que regula negativamente la fusión de la proteína secretora rica en cisteína 2 (CRISP2) producida en el epidídimo con los espermatozoides, aumenta en los espermatozoides de hombres infériles (Zhou et al., 2017). Por lo tanto, se ha establecido una relación entre los cambios epigenéticos en los espermatozoides y las alteraciones en el desarrollo embrionario y la descendencia (Zhang et al., 2019b; Fig. 64), lo que constituye otra razón para justificar un cambio de paradigma en el campo de la espermatología.

Figura 64. Posible transmisión a la descendencia y a través de los ARN espermáticos de la exposición paterna a determinados factores
 (Zhang et al., *Nat Rev Endocrinol* 2019b;15:489-498)



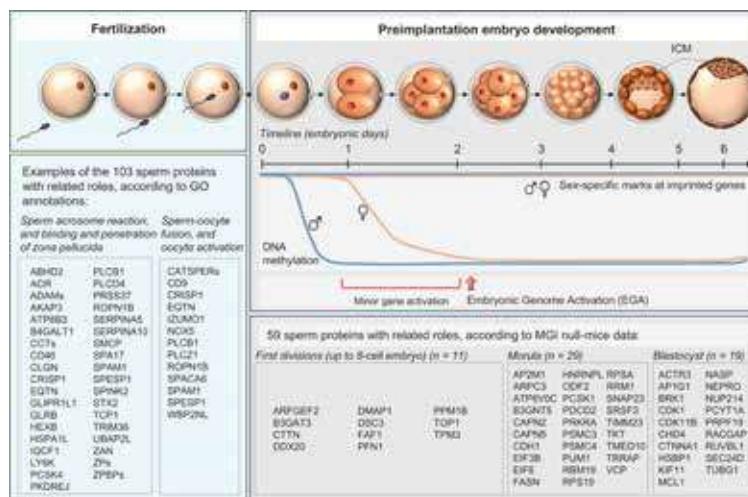
5.13. La función de las proteínas espermáticas

La contribución de las proteínas espermáticas al embrión temprano sigue siendo objeto de numerosos estudios. Dada la naturaleza morfológica del espermatozoide, determinar si una proteína de este gameto participa en el desarrollo embrionario o simplemente es un remanente de la espermatogénesis es una ta-

rea harto difícil. Sin embargo, se ha demostrado que numerosas proteínas de este tipo celular contribuyen al desarrollo embrionario (Amaral et al., 2014; Vandebrouck et al., 2016; Jodar et al., 2017; Castillo et al., 2018). Un metaanálisis realizado por Castillo y col. (2018) identificó 103 proteínas espermáticas involucradas en la fecundación y 93 implicadas en el desarrollo embrionario preimplantacional (Fig. 65). Vale la pena enfatizar que, durante el desarrollo previo a la implantación, las proteínas transmitidas por los espermatozoides pueden desempeñar una función en las primeras divisiones embrionarias (hasta el estadio de ocho células; 11 proteínas), la formación de la mórula (29 proteínas) y el desarrollo del blastocisto (19 proteínas). Hay que destacar que 59 de las proteínas humanas identificadas interrumpen el desarrollo embrionario cuando, en estudios llevados a cabo en ratones, los genes codificantes para estas proteínas son eliminados. Una de estas proteínas es la desmocolina 3 (DSC3), una glicoproteína transmembrana del espermatozoide implicada en la adhesión celular. En ratones, el gameto masculino proporciona dicha proteína al cigoto (Den et al., 2006), y en humanos parece estar relacionada con la regulación de la adhesión de las células formadas el primer día de desarrollo, antes de que se active el genoma embrionario (Castillo et al., 2018). Otra proteína espermática vinculada con la formación de la mórula es la lactosilceramida 1,3-N-acetil-beta-D-glucosaminiltransferasa (B3GNT5), que regula la formación de las membranas lipídicas. Se ha establecido que la regulación negativa de la B3GNT5 altera la adhesión celular y los procesos de señalización en la etapa de mórula, lo que resulta letal para el embrión (Biellmann et al., 2008). Finalmente, la colina-fosfato citidiltransferasa A (PCYT1A) también es una proteína espermática que estaría implicada en la formación de las membranas lipídicas. En ratones, se ha observado que amén de ser esencial para el desarrollo del embrión, la PCYT1A también es imprescindible para la implantación del blastocisto (Wang et

al., 2005). Dado que todos estos datos proceden de estudios en animales de laboratorio, hacen falta más investigaciones para determinar si lo observado en dichas investigaciones es extrapolable a la especie humana.

Figura 65. Proteínas espermáticas potencialmente involucradas en la fecundación y el desarrollo embrionario (Castillo et al., *Hum Reprod Update* 2018;24:535-555).



5.14. Relevancia de los factores espermáticos en las técnicas de reproducción asistida

Las técnicas de reproducción asistida han brindado la oportunidad de combatir la infertilidad y, en este sentido, hay que tener presente que el peso del gameto masculino es del 50%. La aplicación de estas técnicas puede, ciertamente, sortear algunos casos de infertilidad, pero no todos. En este sentido, cabe preguntarse hasta qué punto las alteraciones en los factores paternos, a los que se les ha atribuido una relevancia inferior a la necesaria y que son aún en gran parte desconocidos, contribuyen a la infertilidad.

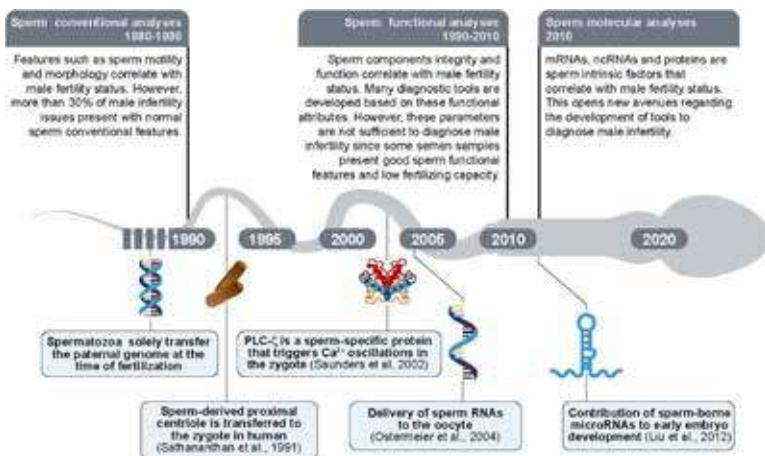
cidos, son determinantes y cómo se pueden resolver. Además, incluso en el caso de que se utilicen estas técnicas, hay que plantearse si algunos defectos en los componentes paternos se pueden eliminar realmente. En este sentido, Kobayashi y col. (2007) mostraron la presencia de defectos en la metilación del ADN en más del 20% de los embriones producidos mediante técnicas de reproducción asistida, el 41% de los cuales tenían anomalías derivadas de la metilación heredada por vía paterna. De igual manera, se ha demostrado que los síndromes que surgen de errores en la impronta genética, como el síndrome de Angelman, son más comunes en niños nacidos mediante FIV (Cortessis et al., 2018; Hattori et al., 2019). Asimismo, otras investigaciones han sugerido que los niños varones nacidos gracias a la ICSI pueden tener un mayor riesgo de padecer infertilidad y de desarrollar otras malformaciones congénitas (Esteves et al., 2018; Jwa et al., 2019; Catford et al., 2020). Por lo tanto, la cuestión que cabe plantearse es hasta qué punto se conoce el alcance de los factores paternos involucrados en la fecundación y el desarrollo embrionario ulterior, y qué consecuencias pueden tener las alteraciones de aquéllos para la salud de la descendencia.



❖ 6. CONCLUSIÓN: ¿HACIA UN CAMBIO DE PARADIGMA?

Como se ha expuesto, la influencia del semen en el tracto reproductor femenino y su contribución en la fecundación y durante el desarrollo embrionario son mucho más amplias de lo que se creía hace unos años, de modo que tanto el espermatozoide como el plasma seminal hacen mucho más que simplemente transportar el genoma haploide paterno al oocito. Así, las investigaciones recientes han aportado conocimientos novedosos sobre la manera como el semen regula el desarrollo y la implantación del embrión a través del plasma seminal, el centriolo del espermatozoide, las proteínas y los ARN espermáticos y, aun, las huellas epigenéticas (Fig. 66). Asimismo, los estudios sobre la fragmentación del ADN y la condensación de la cromatina han arrojado luz sobre los efectos clínicos negativos del daño en el ADN paterno. Todos estos datos resaltan la necesidad de llevar a cabo más investigaciones sobre el papel de los factores paternos durante la fecundación y el desarrollo embrionario, y el impacto en la descendencia futura, y plantean incluso un cambio en el paradigma predominante que le ha otorgado un papel excesivamente preponderante al oocito y al resto de factores maternos.

Figura 66. Principales avances en el análisis del espermatozoide y sus componentes durante las últimas cuatro décadas, con un énfasis creciente a lo que ocurre después de la fecundación (Alves et al., *Front Cell Dev Biol* 2020;8:791).



❖ REFERENCIAS

- Aarabi M, Balakier H, Bashar S, Moskowitz SI, Sutovsky P, Librach CL, Oko R. Sperm-derived WW domain-binding protein, PAWP, elicits calcium oscillations and oocyte activation in humans and mice. *FASEB J* 2014;28:4434-4440.
- Aarabi M, Qin Z, Xu W, Mewburn J, Oko R. Sperm-borne protein, PAWP, initiates zygotic development in *Xenopus laevis* by eliciting intracellular calcium release. *Mol Reprod Dev* 2010;77:249-256.
- Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni S. What an andrologist/urologist should know about free radicals and why. *Urology* 2006;67:2-8.
- Aitken RJ, Harkiss D, Knox W, Paterson M, Irvine DS. A novel signal transduction cascade in capacitating human spermatozoa characterised by a redox-regulated, cAMP-mediated induction of tyrosine phosphorylation. *J Cell Sci* 1998;111:645-656.
- Aitken RJ, Iuliis GN De, Nixon B. The sins of our forefathers: paternal impacts on de novo mutation rate and development. *Annu Rev Genet* 2020;54:1-24.
- Ajdary M, Ashrafi M, Aflatoonian R, Mehdizadeh M. The role of sperm in inducing genomic changes in the implantation: An experimental study. *Andrologia* 2021;53:14077.
- Alavattam KG, Maezawa S, Sakashita A, Khoury H, Barski A, Kaplan N, Namekawa SH. Attenuated chromatin compartmentalization in meiosis and its maturation in sperm development. *Nat Struct Mol Biol* 2019;26:175.

- Alghamdi AS, Foster DN. Seminal DNase frees spermatozoa entangled in Neutrophil Extracellular Traps. *Biol Reprod* 2005;73:1174-1181.
- Alghamdi AS, Lovaas BJ, Bird SL, Lamb GC, Rendahl AK, Taube PC, Foster DN. Species-specific interaction of seminal plasma on sperm-neutrophil binding. *Anim Reprod Sci* 2009;114:331-344.
- Almstrup K, Hoei-Hansen CE, Nielsen JE, Wirkner U, Ansorge W, Skakkebæk NE, Rajpert-De Meyts E, Leffers H. Genome-wide gene expression profiling of testicular carcinoma in situ progression into overt tumours. *Br J Cancer* 2005;92:1934-1941.
- Alves MBR, Arruda RP de, Bem THC De, Florez-Rodriguez SA, Sá Filho MF de, Belleannée C, Meirelles FV, Silveira JC da, Perecin F, Celeghini ECC. Sperm-borne miR-216b modulates cell proliferation during early embryo development via K-RAS. *Sci Rep* 2019;9:10358.
- Alves MBR, Celeghini ECC, Belleannée C. From sperm motility to sperm-borne microRNA signatures: new approaches to predict male fertility potential. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:791.
- Amaral A, Castillo J, Ramalho-Santos J, Oliva R. The combined human sperm proteome: cellular pathways and implications for basic and clinical science. *Hum Reprod Update* 2014;20:40-62.
- Amargant F, Pujol A, Ferrer-Vaquer A, Durban M, Martínez M, Vassena R, Vernos I. The human sperm basal body is a complex centrosome important for embryo preimplantation development. *Mol Hum Reprod* 2021;27:gaab062.
- Amor H, Shelko N, Hamad MF, Zeyad A, Hammadeh ME. An additional marker for sperm DNA quality evaluation in

spermatozoa of male partners of couples undergoing assisted reproduction technique (IVF/ICSI): Protamine ratio. *Andrologia* 2019;51:e13400.

Andrade E Da C. A Brief History of the Royal Society. Ballou Press: New York, 2010.

Aoki VW, Liu L, Jones KP, Hatasaka HH, Gibson M, Peterson CM, Carrell DT. Sperm protamine 1/protamine 2 ratios are related to in vitro fertilization pregnancy rates and predictive of fertilization ability. *Fertil Steril* 2006;86:1408-1415.

Aston KI, Uren PJ, Jenkins TG, Horsager A, Cairns BR, Smith AD, Carrell DT. Aberrant sperm DNA methylation predicts male fertility status and embryo quality. *Fertil Steril* 2015;104:1388-1397.e1385

Austin CR. Fertilization of mammalian eggs in vitro. *Int Rev Cytol* 1961;12:337-359.

Avendaño C, Franchi A, Oehninger S. Human sperm mRNA: differential expression between fertile and infertile men and maintenance of transcripts after fertilization. *Fertil Steril* 2008;90(Suppl):194-195.

Avendaño C, Franchi A, Jones E, Oehninger S. Pregnancy-specific β -1-glycoprotein 1 and human leukocyte antigen-E mRNA in human sperm: differential expression in fertile and infertile men and evidence of a possible functional role during early development. *Hum Reprod* 2009;24:270-277.

Avendaño C, Franchi A, Duran H, Oehninger S. DNA fragmentation of normal spermatozoa negatively impacts embryo quality and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Fertil Steril* 2010;94:549-557.

Avidor-Reiss T, Fishman EL. It takes two (centrioles) to tango. *Reproduction* 2019;157:R33-R51.

- Avidor-Reiss T, Mazur M, Fishman EL, Sindhwani P. The role of sperm centrioles in human reproduction - The Known and the Unknown. *Front Cell Dev Biol* 2019;7:188.
- Avidor-Reiss T, Achinger L, Uzbekov R. The centriole's role in miscarriages. *Front Cell Dev Biol* 2022;10:864692.
- Azpiazu R, Amaral A, Castillo J, Estanyol JM, Guimerà M, Ballesca JL, Balasch J, Oliva R. High-throughput sperm differential proteomics suggests that epigenetic alterations contribute to failed assisted reproduction. *Hum Reprod* 2014;29:1225-1237.
- Baker JR. The cell theory: a restatement, history, and critique. *Q J Microsc Sci* 1955; 96:449-481.
- Balmain A. Cancer genetics: from Boveri and Mendel to microarrays. *Nat Rev Cancer*. 2001;1:77-82.
- Baluška F, Lyons S (2018) Symbiotic origin of eukaryotic nucleus: from cell body to neo-energide. En: Pratap Sahi V, Baluška F (eds.) *Concepts in Cell Biology - History and Evolution*, pp. 39-66. Springer International Publishing: Cham (Suiza), 2018.
- Bansal SK, Gupta N, Sankhwar SN, Rajender S. Differential genes expression between fertile and infertile spermatozoa revealed by transcriptome analysis. *PLoS One* 2015;10:e0127007.
- Bar S, Vershkov D, Keshet G, Lezmi E, Meller N, Yilmaz A, Yanuka O, Nissim-Rafinia M, Meshorer E, Eldar-Geva T, Benvenisty N. Identifying regulators of parental imprinting by CRISPR/Cas9 screening in haploid human embryonic stem cells. *Nat Commun* 2021;12:6718.
- Barbaux S, Ialy-Radio C, Chalbi M, Dybal E, Homps-Legrand M, Do Cruzeiro M, Vaiman D, Wolf JP, Ziyyat A. Sperm

- SPACA6 protein is required for mammalian sperm-egg adhesion/fusion. *Sci Rep* 2020;10:5335.
- Barrachina F, Battistone MA, Castillo J, Mallofré C, Jodar M, Breton S, Oliva R. Sperm acquire epididymis-derived proteins through epididymosomes. *Hum Reprod* 2022;37:651-668
- Barral S, Morozumi Y, Tanaka H, Montellier E, Govin J, de Dieuleveult M, Charbonnier G, Couté Y, Puthier D, Buchou T, Boussouar F, Urahama T, Fenaille F, Curtet S, Héry P, Fernandez-Nunez N, Shiota H, Gérard M, Rousseaux S, Kuruimizaka H, Khochbin S. Histone variant H2A.L.2 guides transition protein-dependent protamine assembly in male germ cells. *Mol Cell* 2017;66:89-101.e8.
- Bartosovic M, Kabbe M, Castelo-Branco G. Single-cell CUT&Tag profiles histone modifications and transcription factors in complex tissues. *Nat Biotechnol* 2021;39:825-835.
- Bashiri Z, Amidi F, Amiri I, Zandieh Z, Maki CB, Mohammadi F, Amiri S, Koruji M. Male factors: the role of sperm in preimplantation embryo quality. *Reprod Sci* 2021;28:1788-1811.
- Bechtel W. Discovering cell mechanisms. The creation of modern cell biology. Cambridge University Press: Cambridge, 2006.
- Becker M, Becker A, Miyara F, Han Z, Kihara M, Brown DT, Hager GL, Latham K, Adashi EY, Misteli T. Differential in vivo binding dynamics of somatic and oocyte-specific linker histones in oocytes and during ES cell nuclear transfer. *Mol Biol Cell* 2005;16:3887-3895.
- Benchaib M, Ajina M, Lornage J, Niveleau A, Durand P, Guérin JF. Quantitation by image analysis of global DNA methylation in human spermatozoa and its prognostic val-

- ue in in vitro fertilization: a preliminary study. *Fertil Steril* 2003;80:947-953.
- Benchaib M, Braun V, Ressnikof D, Lornage J, Durand P, Niveau A, Guérin JF. Influence of global sperm DNA methylation on IVF results. *Hum Reprod* 2005;20:768-773.
- Beretta M, Clericuzio A, Principe LM. The Accademia del cimento and its European context. Science History Publications. Watson Publishing International LLC: Sagamore Beach (EE.UU.), 2009.
- Bhattacharjee R, Goswami S, Dey S, Gangoda M, Brothag C, Eisa A, Woodgett J, Phiel C, Kline D, Vijayaraghavan S. Isoform-specific requirement for GSK3 α in sperm for male fertility. *Biol Reprod* 2018;99:384-394
- Bhattacharya I, Dey S, Banerjee A. Revisiting the gonadotropic regulation of mammalian spermatogenesis: evolving lessons during the past decade. *Front Endocrinol* 2023; 14:1110572.
- Bianchi E, Doe B, Goulding D, Wright GJ. Juno is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature* 2014;508:483-487.
- Bianchi E, Stermer A, Boekelheide K, Sigman M, Hall SJ, Reyes G, Dere E, Hwang K. High-quality human and rat spermatozoal RNA isolation for functional genomic studies. *Andrology* 2018;6:374-383.
- Biellmann F, Hülsmeier AJ, Zhou D, Cinelli P, Hennet T. The Lc3-synthase gene B3gnt5 is essential to pre-implantation development of the murine embryo. *BMC Dev Biol* 2008;8:109.
- Biggers JD. Walter Heape, FRS: a pioneer in reproductive biology. Centenary of his embryo transfer experiments. *J Reprod Fertil* 1991;93:173-186.

- Bisceglia N. Cell Biology. <https://www.nature.com/scitable/topic/cell-biology-13906536>, 2017.
- Björkgren I, Sipilä P. The impact of epididymal proteins on sperm function. *Reproduction* 2019;158:R155-R167.
- Bliek J, Maas SM, Ruijter JM, Hennekam RCM, Alders M, Westerveld A, Mannens MMAM. Increased tumour risk for BWS patients correlates with aberrant H19 and not KCNQ1OT1 methylation: occurrence of KCNQ1OT1 hypomethylation in familial cases of BWS. *Hum Mol Genet* 2001;10:467-476.
- Bodemer CW. Regeneration and the decline of preformationism in eighteenth century embryology. *Bull Hist Med* 1964;38:20-31.
- Bognon-Küss C. Between biology and chemistry in the Enlightenment: how nutrition shapes vital organization. Buffon, Bonnet, C.F. Wolff. *Hist Philos Life Sci* 2019;41:11.
- Boorstin DJ. Los descubridores. Crítica: Barcelona, 2000.
- Borges E Jr, Zanetti BF, Setti AS, Braga DPAF, Provenza RR, Iaconelli A Jr. Sperm DNA fragmentation is correlated with poor embryo development, lower implantation rate, and higher miscarriage rate in reproductive cycles of non-male factor infertility. *Fertil Steril* 2019;112:483-490.
- Boveri T. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. [Regarding multipolar mitosis as a means to analyze the cell nucleus]. *Verhandlungen Physikalisch-Medizinische Gesellschaft* 1902;35:67-90.
- Braham A, Ghadir H, Zidi I, Sallem A, Hajlaoui A, Ajina M, Saad A, Ibala-Romdhane S. Nuclear sperm quality in total polymorphic teratozoospermia and its impact on intracytoplasmic sperm injection outcome. *Andrologia* 2019;51:e13252.

- Bromfield JJ, Schjenken JE, Chin PY, Care AS, Jasper MJ, Robertson SA. Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:2200-2205.
- Brykczynska U, Hisano M, Erkek S, Ramos L, Oakeley EJ, Roloff TC, Beisel C, Schübeler D, Stadler MB, Peters AHFM. Repressive and active histone methylation mark distinct promoters in human and mouse spermatozoa. *Nat Struct Mol Biol* 2010;17:679-687.
- Bueno G. La Teoría del Cierre Categorial (Volumen I). Pentalfa Ediciones: Oviedo, 1992.
- Bueno G. ¿Qué es la ciencia? La respuesta de la teoría del cierre categorial. Pentalfa Ediciones: Oviedo, 1995.
- Cankut S, Dinc T, Cincik M, Ozturk G, Selam B. Evaluation of sperm DNA fragmentation via Halosperm technique and TUNEL assay before and after cryopreservation. *Reprod Sci* 2019;26:1575-1581.
- Cao M, Shao X, Chan P, Cheung W, Kwan T, Pastinen T, Robaire B. High-resolution analyses of human sperm dynamic methylome reveal thousands of novel age-related epigenetic alterations. *Clin Epigenetics* 2020;12:192.
- Castillo J, Jodar M, Oliva R. The contribution of human sperm proteins to the development and epigenome of the preimplantation embryo. *Hum Reprod Update* 2018;24:535-555.
- Castro Barbosa T de, Ingerslev LR, Alm PS, Versteyhe S, Massart J, Rasmussen M, Donkin I, Sjögren R, Mudry JM, Vetterli L, Gupta S, Krook A, Zierath JR, Barrès R. High-fat diet reprograms the epigenome of rat spermatozoa and transgenerationally affects metabolism of the offspring. *Mol Metab* 2015;5:184-197.

- Catford SR, Lewis S, Halliday J, Kennedy J, O'Bryan MK, McBain J, Amor DJ, Rombauts L, Saffery R, Hart RJ, McLachlan RI. Health and fertility of ICSI-conceived young men: study protocol. *Hum Reprod Open* 2020;2020:hoaa042.
- Chalmers A. ¿Qué es esa cosa llamada Ciencia? Siglo XXI Editores: Madrid, 2000.
- Champroux A, Torres-Carreira J, Gharagozloo P, Drevet JR, Kocer A. Mammalian sperm nuclear organization: resilience and vulnerabilities. *Basic Clin Androl* 2016;26:17.
- Chan JC, Morgan CP, Adrian Leu N, Shetty A, Cisse YM, Nugent BM, Morrison KE, Jašarević E, Huang W, Kanyuch N, Rodgers AB, Bhanu NV, Berger DS, Garcia BA, Ament S, Kane M, Neill Epperson C, Bale TL. Reproductive tract extracellular vesicles are sufficient to transmit intergenerational stress and program neurodevelopment. *Nat Commun* 2020;11:1499.
- Chang MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature* 1959;18:466.
- Chen H, Scott-Boyer M-P, Droit A, Robert C, Belleanné C. Sperm heterogeneity accounts for sperm DNA methylation variations observed in the caput epididymis, independently from DNMT/TET activities. *Front Cell Dev Biol* 2022;10:834519.
- Chen PJ, Liu DR. Prime editing for precise and highly versatile genome manipulation. *Nat Rev Genet* 2023;24:161-177.
- Chen Q, Yan M, Cao Z, Li X, Zhang Y, Shi J, Feng GH, Peng H, Zhang X, Zhang Y, Qian J, Duan E, Zhai Q, Zhou Q. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science* 2016;351:397-400.
- Cheng H, Zhang J, Zhang S, Zhai Y, Jiang Y, An X, Ma X, Zhang X, Li Z, Tang B. Tet3 is required for normal in vitro

- fertilization preimplantation embryos development of bovine. *Mol Reprod Dev* 2019;86:298-307.
- Chian RC, Sirard MA. Fertilizing ability of bovine spermatozoa cocultured with oviduct epithelial cells. *Biol Reprod* 1995;52:156-162.
- Chicea R, Ispasoiu F, Focsa M. Seminal plasma insemination during ovum-pickup - a method to increase pregnancy rate in IVF/ICSI procedure. A pilot randomized trial. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:569-574.
- Chioccarelli T, Falco G, Cappetta D, De Angelis A, Roberto L, Addeo M, Ragusa M, Barbagallo D, Berrino L, Purrello M, Ambrosino C, Cobellis G, Pierantoni R, Chianese R, Manfreola F. FUS driven circCNOT6L biogenesis in mouse and human spermatozoa supports zygote development. *Cell Mol Life Sci* 2021;79:50.
- Chioccarelli T, Manfreola F, Ferraro B, Sellitto C, Cobellis G, Migliaccio M, Fasano S, Pierantoni R, Chianese R. Expression patterns of circular RNAs in high quality and poor quality human spermatozoa. *Front Endocrinol* 2019;10:435
- Cho C, Jung-Ha H, Willis WD, Goulding EH, Stein P, Xu Z, Schultz RM, Hecht NB, Eddy EM. Protamine 2 deficiency leads to sperm DNA damage and embryo death in mice. *Biol Reprod* 2003;69:211-217.
- Chow PH, Jiang HY, Poon HK, Lee KH, O WS. Embryos sired by males without accessory sex glands induce failure of uterine support: a study of VEGF, MMP and TGF expression in the golden hamster. *Anat Embryol (Berl)* 2003;206:203-213.
- Churchill FB. Hertwig, Weismann, and the meaning of reduction division circa 1890. *Isis* 1970;61:429-457.
- Cohen DJ, Maldera JA, Vasen G, Ernesto JI, Muñoz MW, Battistone MA, Cuasnicú PS. Epididymal protein CRISP1

plays different roles during the fertilization process. *J Androl* 2011;32:672-678.

Cohen J. From Pythagoras and Aristotle to Boveri and Edwards: a history of clinical embryology and therapeutic. En: Coward K, Wells D (eds.) *Textbook of Clinical Embryology*. Cambridge University Press: New York, 2013.

Cohen J, Fehilly CB, Fishel SB, Edwards RG, Hewitt J, Rowland GF, Steptoe PC, Webster J. Male infertility successfully treated by in-vitro fertilisation. *Lancet* 1984;323:1239-1240.

Cohen J, Malter H, Fehilly C, Wright G, Elsner C, Kort H, Massey J (1988) Implantation of embryos after partial opening of oocyte zona pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet* 1998;332:162.

Cohen J, Trounson A, Dawson K, Jones H, Hazekamp J, Nygren KG, Hamberger L. The early days of IVF outside the UK. *Hum Reprod Update* 2005;11:439-459.

Colaco S, Sakkas D. Paternal factors contributing to embryo quality. *J Assist Reprod Genet* 2018;35:1953-1968.

Collins J, Barnhart K, Schlegel P. Do sperm DNA integrity tests predict pregnancy with in vitro fertilization? *Fertil Steril* 2008;89:823-831.

Colombero L., Moomjy M, Sills E., Rosenwaks Z, Palermo G. The role of structural integrity of the fertilising spermatozoon in early human embryogenesis. *Zygote* 1999;7:157-163.

Comar VA, Petersen CG, Mauri AL, Mattila M, Vagnini LD, Renzi A, Petersen B, Nicoletti A, Dieamant F, Oliveira JBA, Baruffi RLR, Franco JG Jr. Influence of the abstinence period on human sperm quality: Analysis of 2,458 semen samples. *J Bras Reprod Assist* 2017;21:306-312.

- Comazzetto S, Giacomo M Di, Rasmussen KD, Much C, Azzi C, Perlas E, Morgan M, O'Carroll D. Oligoasthenoteratozoospermia and infertility in mice deficient for miR-34b/c and miR-449 Loci. *PLOS Genet* 2014;10:e1004597.
- Condorelli RA, Vignera S La, Mongioi LM, Alamo A, Calogero AE. Diabetes mellitus and infertility: Different pathophysiological effects in type 1 and type 2 on sperm function. *Front Endocrinol* 2018;9:268.
- Conine CC, Sun F, Song L, Rivera-Pérez JA, Rando OJ. Small RNAs gained during epididymal transit of sperm are essential for embryonic development in mice. *Dev Cell* 2018;46:470.
- Copleston F. Historia de la Filosofía (I): De la Grecia Antigua al mundo cristiano. Ariel: Barcelona, 2012a.
- Copleston F. Historia de la Filosofía (II): De la escolástica al empirismo. Ariel: Barcelona, 2012b.
- Corliss JO. The protozoan and the cell: a brief twentieth century overview. *J Hist Biol* 1989;22:307-323.
- Corral-Vazquez C, Blanco J, Aiese Cigliano R, Sarrate Z, Rivera-Egea R, Vidal F, Garrido N, Daub C, Anton E. The RNA content of human sperm reflects prior events in spermatogenesis and potential post-fertilization effects. *Mol Hum Reprod* 2021;27:gaab035
- Cortessis VK, Azadian M, Buxbaum J, Sanogo F, Song AY, Sriprasert I, Wei PC, Yu J, Chung K, Siegmund KD. Comprehensive meta-analysis reveals association between multiple imprinting disorders and conception by assisted reproductive technology. *J Assist Reprod Genet* 2018;35:943.
- Craft I, Djahanbakhch O, McLeod F, Bernard A, Green S, Twigg H, Smith W, Lindsay K, Edmonds K. Human pregnancy following oocyte and sperm transfer to the uterus. *Lancet* 1982;319:1031-1033.

- Crawford G, Ray A, Gudi A, Shah A, Homburg R. The role of seminal plasma for improved outcomes during in vitro fertilization treatment: review of the literature and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2015;21:275-284.
- Cui X, Jing X, Wu X, Wang Z, Li Q. Potential effect of smoking on semen quality through DNA damage and the downregulation of Chk1 in sperm. *Mol Med Rep* 2016;14:753-761.
- Cunningham A. Philosophy of science. En: Runehov, A.L.C., Oviedo, L. (eds) *Encyclopedia of Sciences and Religions*. Springer, Dordrecht. 2013.
- Cvrčková F. A brief history of eukaryotic cell research, pp. 67-94. En: Pratap Sahi V, Baluška F (eds.) *Concepts in cell biology - history and evolution*, pp. 39-66. Springer International Publishing: Cham (Suiza), 2018.
- Dahlet T, Argüeso Lleida A, Al Adhami H, Dumas M, Bender A, Ngondo RP, Tanguy M, Vallet J, Auclair G, Bardet AF, Weber M. Genome-wide analysis in the mouse embryo reveals the importance of DNA methylation for transcription integrity. *Nat Commun* 2020;11:3153.
- Dale B, DeFelice LJ, Ehrenstein G. Injection of a soluble sperm fraction into sea-urchin eggs triggers the cortical reaction. *Experientia* 1985;41:1068-1070.
- Dang Y, Yan L, Hu B, Fan X, Ren Y, Li R, Lian Y, Yan J, Li Q, Zhang Y, Li M, Ren X, Huang J, Wu Y, Liu P, Wen L, Zhang C, Huang Y, Tang F, Qiao J. Tracing the expression of circular RNAs in human pre-implantation embryos. *Genome Biol* 2016;17:130.
- Den Z, Cheng X, Merched-Sauvage M, Koch PJ. Desmocollin 3 is required for pre-implantation development of the mouse embryo. *J Cell Sci* 2006;119:482-489.

- Deng M, Liu Z, Chen B, Wan Y, Yang H, Zhang Y, Cai Y, Zhou J, Wang F. Aberrant DNA and histone methylation during zygotic genome activation in goat cloned embryos. *Theriogenology* 2020;148:27-36.
- Denissov S, Hofemeister H, Marks H, Kranz A, Ciotta G, Singh S, Anastassiadis K, Stunnenberg HG, Stewart AF. Mll2 is required for H3K4 trimethylation on bivalent promoters in embryonic stem cells, whereas Mll1 is redundant. *Development* 2014;141:526-537.
- Denomme MM, McCallie BR, Parks JC, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Alterations in the sperm histone-retained epigenome are associated with unexplained male factor infertility and poor blastocyst development in donor oocyte IVF cycles. *Hum Reprod* 2017;32:2443-2455.
- DeRouchey J, Hoover B, Rau DC. A comparison of DNA compaction by arginine and lysine peptides: A physical basis for arginine rich protamines. *Biochemistry* 2013;52:3000.
- Diéguez Lucena A. Realismo científico. Una introducción al debate actual en la filosofía de la ciencia. Servicio de publicaciones e intercambio científico de la Universidad de Málaga: Málaga, 1998.
- Ditel M. Boveri at 100: the life and times of Theodor Boveri. *J Pathol* 2014;234:135-137.
- Díez JA, Ulises Moulines C. Fundamentos de Filosofía de la Ciencia. Ariel: Barcelona, 1997.
- Donkin I, Versteyhe S, Ingerslev LR, Qian K, Mechta M, Nordkap L, Mortensen B, Appel EV, Jørgensen N, Kristiansen VB, Hansen T, Workman CT, Zierath JR, Barrès R. Obesity and bariatric surgery drive epigenetic variation of spermatozoa in humans. *Cell Metab* 2016;23:369-378.

Dorostghoal M, Kazeminejad SR, Shahbazian N, Pourmehdi M, Jabbari A. Oxidative stress status and sperm DNA fragmentation in fertile and infertile men. *Andrologia* 2017;49:e12762.

Dröscher A. History of cell biology. En: Encyclopedia of life sciences. John Wiley & Sons Ltd; <http://dx.doi.org/10.1002/9780470015902.a0021786.pub2>, 2014.

Dröscher A. Edmund B. Wilson's "The Cell" and Cell Theory between 1896 and 1925. *Hist Philos Life Sci* 2002;24:357-389.

Duchesneau F. Genèse de la théorie cellulaire. Bellarmin: Montreal-Paris, 1987.

Dunyach JF. L'Europe des savoirs (xviie-xviiie siècle). Encyclopédie d'histoire numérique de l'Europe. <https://ehne.fr/fr/node/12296>, 2020.

Eamon W, Paheau F. The Accademia Segreta of Girolamo Ruscelli: A Sixteenth-Century Italian Scientific Society. *Isis* 1984;75:327-342.

Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet* 1965;286:926-929.

Edwards RG. The history of assisted human conception with especial reference to endocrinology. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104:183-204.

Edwards RG, Purdy JM, Human conception in vitro. Academic Press: London, 1982.

Edwards RG, Steptoe PC. A matter of life: The story of a medical breakthrough. Morrow: New York, 1980.

Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization in vitro of human oocytes matured in vitro. *Nature* 1969;221:632-635.

- Elder K, Cohen J. Human preimplantation embryo selection. CRC Press: London, 2008.
- El-Taieb MAA, Herwig R, Nada EA, Greilberger J, Marberger M. Oxidative stress and epididymal sperm transport, motility and morphological defects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;144 Suppl 1:S199-S203.
- Esakky P, Moley KH. Paternal smoking and germ cell death: A mechanistic link to the effects of cigarette smoke on spermatogenesis and possible long-term sequelae in offspring. *Mol Cell Endocrinol* 2016;435:85-93.
- Esbert M, Pacheco A, Soares SR, Amorós D, Florensa M, Ballsteros A, Meseguer M. High sperm DNA fragmentation delays human embryo kinetics when oocytes from young and healthy donors are microinjected. *Andrology* 2018;6:697-706.
- Escoffier J, Lee HC, Yassine S, Zouari R, Martinez G, Karaouzène T, Coutton C, Kherraf ZE, Halouani L, Triki C, Nef S, Thierry-Mieg N, Savinov SN, Fissore R, Ray PF, Arnoult C. Homozygous mutation of PLCZ1 leads to defective human oocyte activation and infertility that is not rescued by the WW-binding protein PAWP. *Hum Mol Genet* 2016;25:878-891.
- Esteves SC, Roque M, Bedoschi G, Haahr T, Humaidan P. Intracytoplasmic sperm injection for male infertility and consequences for offspring. *Nat Rev Urol* 2018;15:535-562.
- Evenson DP, Djira G, Kasperson K, Christianson J. Relationships between the age of 25,445 men attending infertility clinics and sperm chromatin structure assay (SCSA[®]) defined sperm DNA and chromatin integrity. *Fertil Steril* 2020;114:311-320.
- Fernández-González R, Laguna R, Ramos-Ibeas P, Pericuesta E, Alcalde-Lopez V, Perez-Cerezales S, Gutierrez-Adan A.

Successful ICSI in mice using caput epididymal spermatozoa. Front Cell Dev Biol 2019;7:346.

Fernández-Gonzalez R, Moreira PN, Pérez-Crespo M, Sánchez-Martín M, Ramirez MA, Pericuesta E, Bilbao A, Bermejo-Alvarez P, de Dios Hourcade J, de Fonseca FR, Gutiérrez-Adán A. Long-Term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with DNA-fragmented sperm on health and behavior of adult offspring. Biol Reprod 2008;78:761-772.

Ferreira JJ, Cassina A, Irigoyen P, Ford M, Pietroroia S, Peramsetty N, Radi R, Santi CM, Sapiro R. Increased mitochondrial activity upon CatSper channel activation is required for mouse sperm capacitation. Redox Biol 2021;48:102176.

Ferrer-Vaquer A, Barragan M, Freour T, Vernaeve V, Vassena R. PLC ζ sequence, protein levels, and distribution in human sperm do not correlate with semen characteristics and fertilization rates after ICSI. J Assist Reprod Genet 2016;33:747-756.

Fichtner T, Kotarski F, Gärtner U, Conejeros I, Hermosilla C, Wrenzycki C, Taubert A. Bovine sperm samples induce different NET phenotypes in a NADPH oxidase-, PAD4-, and Ca⁺⁺-dependent process. Biol Reprod 2020;102:902-914.

Fleming R, Adam AH, Barlow DH, Black WP, MacNaughton MC, Coutts JR. A new systematic treatment for infertile women with abnormal hormone profiles. Br J Obstet Gynaecol 1982;89:80-83.

Fournier C, Labrune E, Lornage J, Soignon G, d'Estaing SG, Guérin J-F, Benchaib M. The impact of histones linked to sperm chromatin on embryo development and ART outcome. Andrology 2018;6:436-445.

Fowler RE, Edwards RG. Induction of superovulation and pregnancy in mature mice by gonadotrophins. J Endocrinol 1957;15:374-384.

- Freour T, Barragan M, Ferrer-Vaquer A, Rodríguez A, Vassena R. WBP2NL/PAWP mRNA and protein expression in sperm cells are not related to semen parameters, fertilization rate, or reproductive outcome. *J Assist Reprod Genet* 2017;34:803-810.
- Friedler S, Ben-Ami I, Gidoni Y, Strassburger D, Kasterstein E, Maslansky B, Komarovsky D, Bern O, Ron-El R, Raziel A. Effect of seminal plasma application to the vaginal vault in in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatment cycles-a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:907-911.
- Fukami K, Inanobe S, Kanemaru K, Nakamura Y. Phospholipase C is a key enzyme regulating intracellular calcium and modulating the phosphoinositide balance. *Prog Lipid Res* 2010;49:429-437.
- Fullston T, McPherson NO, Owens JA, Kang WX, Sandeman LY, Lane M. Paternal obesity induces metabolic and sperm disturbances in male offspring that are exacerbated by their exposure to an “obesogenic” diet. *Physiol Rep* 2015;3:e12336.
- Funaya S, Ooga M, Suzuki MG, Aoki F. Linker histone H1FOO regulates the chromatin structure in mouse zygotes. *FEBS Lett* 2018;592:2414-2424.
- Galperin C, Gilbert S, Hoppe B (eds.) *Fundamental changes in Cellular Biology in the 20th Century: Biology of Development, Chemistry and Physics in the Life Sciences*. Brepols: Turnhout (Bélgica), 1999.
- García Novo, F. *Historia de las Academias Europeas de Ciencias. Monografías de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza* 2020;44:5-117.
- Gardner D. John Goodsir FRS (1814-1867): Pioneer of cytology and microbiology. *J Med Biogr* 2017;25:114-122.

- Gardner RL, Edwards RG. Control of the sex ratio at full term in the rabbit by transferring sexed blastocysts. *Nature* 1968;218:346-349.
- Gatti JL, Métayer S, Belghazi M, Dacheux F, Dacheux JL. Identification, proteomic profiling, and origin of ram epididymal fluid exosome-like vesicles. *Biol Reprod* 2005;72:1452-1465.
- Geison GL. The protoplasmic theory of life and the vitalist-mechanist debate. *Isis* 1969;60:273-292.
- Gemzell CA. Induction of ovulation with human pituitary gonadotrophins. *Fertil Steril* 1962;13:153-168.
- Georgadaki K, Khouri N, Spandidos DA, Zoumpourlis V. The molecular basis of fertilization (Review). *Int J Mol Med* 2016;38:979-986.
- George AF, Jang KS, Nyegaard M, Neidleman J, Spitzer TL, Xie G, Chen JC, Herzig E, Laustsen A, Marques de Menezes EG, Houshdaran S, Pilcher CD, Norris PJ, Jakobsen MR, Greene WC, Giudice LC, Roan NR. Seminal plasma promotes decidualization of endometrial stromal fibroblasts in vitro from women with and without inflammatory disorders in a manner dependent on interleukin-11 signaling. *Hum Reprod* 2020;35:617-640.
- Giaccagli MM, Gómez-Elías MD, Herzfeld JD, Marín-Brigiler CI, Cuasnicú PS, Cohen DJ, da Ros VG. Capacitation-Induced Mitochondrial Activity Is Required for Sperm Fertilizing Ability in Mice by Modulating Hyperactivation. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:767161.
- Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77:6715-6719.
- Girouard J, Frenette G, Sullivan R. Comparative proteome and lipid profiles of bovine epididymosomes collected in the

- intraluminal compartment of the caput and cauda epididymidis. *Int J Androl* 2011;34:e475-e486.
- Glanzner W, Wachter A, Coutinho AR, Albornoz M, Dugavathi R, GonÇAlves P, Bordignon V. Altered expression of BRG1 and histone demethylases, and aberrant H3K4 methylation in less developmentally competent embryos at the time of embryonic genome activation. *Mol Reprod Dev* 2017;84:19-29.
- Gleicher N, Friberg J, Fullan N, Giglia RV, Mayden K, Kesky T, Siegel I. Egg retrieval for in vitro fertilisation by sonographically controlled vaginal culdocentesis. *Lancet* 1983;322:508-509.
- Gómez Adanero M, Gómez García JA, Muñelo Cobo JC, Muñoz de Baena Simón JL, Utrera García, JC. *Filosofía del Derecho*. Editorial Sindéresis: Madrid, 2020.
- Gonzalès J. Histoire du spermatozoïde et mobilité des idées. *Gynecol Obstet Fertil* 2006;34:819-826.
- Gordon JW, Talansky BE. Assisted fertilization by zona drilling: a mouse model for correction of oligospermia. *J Exp Zool* 1986;239:347-354.
- Gosálvez J, López-Fernández C, Fernández JL, Gouraud A, Holt W V. Relationships between the dynamics of iatrogenic DNA damage and genomic design in mammalian spermatozoa from eleven species. *Mol Reprod Dev* 2011;78:951-961.
- Goss CM. The Historical Background of Schwann's Cell Theory. *Yale J Biol Med* 1937;10:125-144.
- Goswami S, Korrodi-Gregório L, Sinha N, Bhutada S, Bhat-tacharjee R, Kline D, Vijayaraghavan S. Regulators of the protein phosphatase PP1γ2, PPP1R2, PPP1R7, and PPP1R11 are involved in epididymal sperm maturation. *J Cell Physiol* 2019;234:3105-3118.

- Gou LT, Kang JY, Dai P, Wang X, Li F, Zhao S, Zhang M, Hua MM, Lu Y, Zhu Y, et al. Ubiquitination-deficient mutations in human piwi cause male infertility by impairing histone-to-protamine exchange during spermiogenesis. *Cell* 2017;169:1090-1104.e13.
- Govin J, Escoffier E, Rousseaux S, Kuhn L, Ferro M, Thévenon J, Catena R, Davidson I, Garin J, Khochbin S, et al. Pericentric heterochromatin reprogramming by new histone variants during mouse spermiogenesis. *J Cell Biol* 2007;176:283-294.
- Goy I. Was Aristotle the 'father' of the epigenesis doctrine? *Hist Philos Life Sci* 2018;40(2):28.
- Greffé F, Griset P. Une compagnie en son siècle. 350 ans de l'Académie des sciences. Cherche-Midi: Paris, 2016.
- Gribbin J. Historia de la Ciencia (1543-2001). Crítica: Barcelona, 2003.
- Gu TP, Guo F, Yang H, Wu HP, Xu GF, Liu W, Xie ZG, Shi L, He X, Jin SG, et al. The role of Tet3 DNA dioxygenase in epigenetic reprogramming by oocytes. *Nature* 2011;477:606-612.
- Guo F, Li X, Liang D, Li T, Zhu P, Guo H, Wu X, Wen L, Gu TP, Hu B, et al. Active and passive demethylation of male and female pronuclear DNA in the mammalian zygote. *Cell Stem Cell* 2014;15:447-459.
- Guo L, Chao S-B, Xiao L, Wang Z-B, Meng T-G, Li Y-Y, Han Z-M, Ouyang Y-C, Hou Y, Sun Q-Y, et al. Sperm-carried RNAs play critical roles in mouse embryonic development. *Oncotarget* 2017;8:67394-67405.
- Gupta D, Bhattacharjee O, Mandal D, Sen MK, Dey D, Dasgupta A, Kazi TA, Gupta R, Sinharoy S, Acharya K, Chatto-padhyay D, Ravichandiran V, Roy S, Ghosh D (2019) CRIS-PR-Cas9 system: A new-fangled dawn in gene editing. *Life Sci* 2019;232:116636.

- Gupta SK. Human Zona Pellucida glycoproteins: binding characteristics with human spermatozoa and induction of acrosome reaction. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:619868.
- Gurdon JB. Cell Fate Determination by Transcription Factors. *Curr Top Dev Biol* 2016;116:445-454.
- Gyllensten U, Wharton D, Josefsson A, Wilson AC. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature* 1991 352:6332 1991;352:255-257.
- Hachem A, Godwin J, Ruas M, Lee HC, Ferrer Buitrago M, Ardestani G, Bassett A, Fox S, Navarrete F, de Sutter P, Heindryckx B, Fissore R, Parrington J. PLC ζ is the physiological trigger of the Ca $^{2+}$ oscillations that induce embryogenesis in mammals but conception can occur in its absence. *Development* 2017;144:2914-2924.
- Hackeloer BJ. The ultrasonic demonstration of follicular development during the normal menstrual cycle and after hormone stimulation. En: Kurjak A (ed.) Recent advances in ultrasound diagnosis, pp. 122-128. Oxford University Press: Amsterdam, 1977.
- Haddock L, Gordon S, Lewis SEM, Larsen P, Shehata A, Shehata H. Sperm DNA fragmentation is a novel biomarker for early pregnancy loss. *Reprod Biomed Online* 2021;42:175-184.
- Hammer RE. Egg culture: the foundation. *Int J Dev Biol* 1998;42:833-839.
- Hammond J. Recovery and culture of tubal mouse ova. *Nature* 1949;163:28.
- Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, Purwar J, Carrell DT, Cairns BR. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature* 2009;460:473-478.

Hammoud SS, Nix DA, Hammoud AO, Gibson M, Cairns BR, Carrell DT. Genome-wide analysis identifies changes in histone retention and epigenetic modifications at developmental and imprinted gene loci in the sperm of infertile men. *Hum Reprod* 2011;26:2558-2569.

Han T, Huang J, Gu J, Xie Q, Zhong Y, Huang T. Hepatitis B virus surface protein induces sperm dysfunction through the activation of a Bcl2/Bax signaling cascade triggering AIF/Endo G-mediated apoptosis. *Andrology* 2021;9:944-955.

Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJ, Delhanty JD, Winston RM, Tuddenham EG. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 1989;333:347-349.

Harris H. *The Birth of the Cell*. Yale University Press: New Haven, 1999.

Hattori H, Hiura H, Kitamura A, Miyauchi N, Kobayashi N, Takahashi S, Okae H, Kyono K, Kagami M, Ogata T, et al. Association of four imprinting disorders and ART. *Clin Epigenetics* 2019;11:21.

Hayashi S, Yang J, Christenson L, Yanagimachi R, Hecht NB. Mouse preimplantation embryos developed from oocytes injected with round spermatids or spermatozoa have similar but distinct patterns of early messenger RNA expression. *Biol Reprod* 2003;69:1170-1176.

Heindryckx B, Nikiforaki D, Caluwaerts L, vanden Meer-schaut F, Deroo T, de Sutter P. Analysis of calcium oscillations pattern triggered by human sperm showing failed or low fertilization. *Fertil Steril* 2013;100 Suppl:S236-S237.

Heytens E, Parrington J, Coward K, Young C, Lambrecht S, Yoon SY, Fissore RA, Hamer R, Deane CM, Ruas M, et al. Reduced amounts and abnormal forms of phospholipase C

- zeta (PLC ζ) in spermatozoa from infertile men. *Hum Reprod* 2009;24:2417-2428.
- Hill KA. Hartsoeker's homunculus: a corrective note. *J Hist Behav Sci* 1985; 21:178-179.
- Hirohashi N, Yanagimachi R. Sperm acrosome reaction: Its site and role in fertilization. *Biol Reprod* 2018;99:127-133.
- Holyoake AJ, McHugh P, Wu M, O'Carroll S, Benny P, Sin IL, Sin FYT. High incidence of single nucleotide substitutions in the mitochondrial genome is associated with poor semen parameters in men. *Int J Androl* 2001;24:175-182.
- Horner VL, Wolfner MF. Transitioning from egg to embryo: Triggers and mechanisms of egg activation. *Dev Dyn* 2008;237:527-544.
- Hoßfeld U, Levit GS, Watts E. 100 Years of phenogenetics: Valentin Haecker and his examination of the phenotype. *Mol Genet Genomics* 2019;294:445-456.
- Huang Q, Liu Y, Zhang S, Yap YT, Li W, Zhang D, Gardner A, Zhang L, Song S, Hess RA. Autophagy core protein ATG5 is required for elongating spermatid development, sperm individualization and normal fertility in male mice. *Autophagy* 2021;17: 1753-1767.
- Huang X, Gao X, Li W, Jiang S, Li R, Hong H, Zhao C, Zhou P, Chen H, Bo X, et al. Stable H3K4me3 is associated with transcription initiation during early embryo development. *Bioinformatics* 2019;35:3931-3936.
- Hughes A. *A History of Cytology*. Abelard-Schuman: London, 1959.
- Huszar G, Stone K, Dix D, Vigue L. Putative creatine kinase M-isoform in human sperm is identified as the 70-kilodalton heat shock protein HspA2. *Biol Reprod* 2000;63:925-932.

- Hutchison JM, Rau DC, DeRouchey JE. Role of disulfide bonds on DNA packaging forces in bull sperm chromatin. *Biophys J* 2017;113:1925-1933.
- Hüttemann M, Jaradat S, Grossman LI. Cytochrome c oxidase of mammals contains a testes-specific isoform of subunit VIb - the counterpart to testes-specific cytochrome c? *Mol Reprod Dev* 2003;66:8-16.
- Huxley A. *Brave New World*. Chatto and Windus: London, 1932.
- Hwang JY, Mulligan BP, Kim H-M, Yang B-C, Lee C-K, Hwang JY, Mulligan BP, Kim H-M, Yang B-C, Lee C-K. Quantitative analysis of sperm mRNA in the pig: relationship with early embryo development and capacitation. *Reprod Fertil Dev* 2013;25:807-817.
- Ibrahim LA, Rizo JA, Fontes PLP, Lamb GC, Bromfield JJ. Seminal plasma modulates expression of endometrial inflammatory mediators in the bovine. *Biol Reprod* 2019a;100:660-671.
- Ibrahim MG, Elghonaimy EA, Schäfer S, Vennemann M, Kliesch S, Kiesel L, Götte M, Schüring AN. Seminal plasma (SP) induces a rapid transforming growth factor beta 1 (TG-F β 1)-independent up-regulation of epithelial-mesenchymal transdifferentiation (EMT) and myofibroblastic metaplasia-markers in endometriotic (EM) and endometrial cells. *Arch Gynecol Obstet* 2019b;299:173-183.
- Ihara M, Meyer-Ficca ML, Leu NA, Rao S, Li F, Gregory BD, Zalenskaya IA, Schultz RM, Meyer RG. Paternal Poly (ADP-ribose) Metabolism modulates retention of inheritable sperm histones and early embryonic gene expression. *PLoS Genet* 2014;10:e1004317.

- Ingerslev LR, Donkin I, Fabre O, Versteyhe S, Mechta M, Pattamaprapanont P, Mortensen B, Krarup NT, Barrès R. Endurance training remodels sperm-borne small RNA expression and methylation at neurological gene hotspots. *Clin Epigenetics* 2018;10:12.
- Inoue K, Ogonuki N, Kamimura S, Inoue H, Matoba S, Hirose M, Honda A, Miura K, Hada M, Hasegawa A, et al. Loss of H3K27me3 imprinting in the Sfmbt2 miRNA cluster causes enlargement of cloned mouse placentas. *Nat Commun* 2020;11:2150.
- Inoue N, Ikawa M, Isotani A, Okabe M. The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs. *Nature* 2005;434:234-238.
- Ishimoto K, Gaffney EA. Mechanical tuning of mammalian sperm behaviour by hyperactivation, rheology and substrate adhesion: a numerical exploration. *J R Soc Interface* 2016;13:20160633.
- Ishiuchi T, Abe S, Inoue K, Yeung WKA, Miki Y, Ogura A, Sasaki H. Reprogramming of the histone H3. 3 landscape in the early mouse embryo. *Nat Struct Mol Biol* 2021;28:38-49.
- Itou D, Shiromoto Y, Shin-ya Y, Ishii C, Nishimura T, Ogonuki N, Ogura A, Hasuwa H, Fujihara Y, Kuramochi-Miyagawa S, et al. Induction of DNA Methylation by Artificial piRNA Production in Male Germ Cells. *Curr Biol* 2015;25:901-906.
- Jaffe LF. Sources of calcium in egg activation: A review and hypothesis. *Dev Biol* 1983;99:265-276.
- Jaiswal A, Baliu-Souza T, Turner K, Nadiminty N, Rambhatla A, Agarwal A, Krawetz SA, Dupree JM, Saltzman B, Schon SB, Avidor-Reiss T. Sperm centriole assessment identifies

- male factor infertility in couples with unexplained infertility - a pilot study. *Eur J Cell Biol* 2022;101:151243.
- James ER, Carrell DT, Aston KI, Jenkins TG, Yeste M, Salas-Huetos A. The role of the epididymis and the contribution of epididymosomes to mammalian reproduction. *Int J Mol Sci* 2020;21:5377.
- Jankovicova J, Frolikova M, Palenikova V, Valaskova E, Cerny J, Secova P, Bartokova M, Horovska L, Manaskova-Postlerova P, Antalikova J, et al. Expression and distribution of CD151 as a partner of alpha6 integrin in male germ cells. *Sci Rep* 2020;10:4374.
- Jean C, Haghishirad F, Zhu Y, Chalbi M, Ziyyat A, Rubinstein E, Gourier C, Yip P, Wolf JP, Lee JE, et al. JUNO, the receptor of sperm IZUMO1, is expressed by the human oocyte and is essential for human fertilisation. *Hum Reprod* 2019;34:118-126.
- Jena SR, Nayak J, Kumar S, Kar S, Dixit A, Samanta L. Paternal contributors in recurrent pregnancy loss: Cues from comparative proteome profiling of seminal extracellular vesicles. *Mol Reprod Dev* 2021;88:96-112.
- Jodar M, Selvaraju S, Sendler E, Diamond MP, Krawetz SA. The presence, role and clinical use of spermatozoal RNAs. *Hum Reprod Update* 2013;19:604-624.
- Jodar M, Sendler E, Moskowitz SI, Librach CL, Goodrich R, Swanson S, Hauser R, Diamond MP, Krawetz SA. Absence of sperm RNA elements correlates with idiopathic male infertility. *Sci Transl Med* 2015;7:295re6.
- Jodar M, Soler-Ventura A, Oliva R. Semen proteomics and male infertility. *J Proteomics* 2017;162:125-134.
- Johnson MH. A short history of in vitro fertilization (IVF). *Int J Dev Biol* 2019;63:83-92.

- Johnson MH, Franklin SB, Cottingham M, Hopwood N. Why the Medical Research Council refused Robert Edwards and Patrick Steptoe support for research on human conception in 1971. *Hum Reprod* 2010;25:2157-2174.
- Jung YH, Sauria MEG, Lyu X, Cheema MS, Ausio J, Taylor J, Corces VG. Chromatin States in Mouse Sperm Correlate with Embryonic and Adult Regulatory Landscapes. *Cell Rep* 2017;18:1366-1382.
- Jurewicz J, Radwan M, Sobala W, Radwan P, Bochenek M, Hanke W. Dietary Patterns and Their Relationship With Semen Quality. *Am J Mens Health* 2018;12:575-583.
- Jwa SC, Jwa J, Kuwahara A, Irahara M, Ishihara O, Saito H. Male subfertility and the risk of major birth defects in children born after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a retrospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2019;19:192.
- Kadirvel G, Machado SA, Korneli C, Collins E, Miller P, Bess KN, Aoki K, Tiemeyer M, Bovin N, Miller DJ. Porcine sperm bind to specific 6-sialylated biantennary glycans to form the oviduct reservoir. *Biol Reprod* 2012;87:147.
- Kaneda M, Okano M, Hata K, Sado T, Tsujimoto H, Li E, Sasaki H. Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature* 2004;429:900-903.
- Kant K, Tomar AK, Sharma P, Kundu B, Singh S, Yadav S. Human epididymis protein 4 quantification and interaction network analysis in seminal plasma. *Protein Pept Lett* 2019;26:458-465.
- Karsenti E. Self-organization in cell biology: a brief history. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:255-262.

- Kashir J, Jones C, Lee HC, Rietdorf K, Nikiforaki D, Durrans C, Ruas M, Tee ST, Heindryckx B, Galione A, et al. Loss of activity mutations in phospholipase C zeta (PLC ζ) abolishes calcium oscillatory ability of human recombinant protein in mouse oocytes. *Hum Reprod* 2011;26:3372-3387.
- Kashir J, Sermondade N, Sifer C, Oo SL, Jones C, Mounce G, Turner K, Child T, McVeigh E, Coward K. Motile sperm organelle morphology evaluation-selected globozoospermic human sperm with an acrosomal bud exhibits novel patterns and higher levels of phospholipase C zeta. *Hum Reprod* 2012;27:3150-3160.
- Kashir J, Jones C, Mounce G, Ramadan WM, Lemmon B, Heindryckx B, Sutter P De, Parrington J, Turner K, Child T, et al. Variance in total levels of phospholipase C zeta (PLC- ζ) in human sperm may limit the applicability of quantitative immunofluorescent analysis as a diagnostic indicator of oocyte activation capability. *Fertil Steril* 2013;99:107-117.
- Kashir J, Nomikos M, Lai FA. Phospholipase C zeta and calcium oscillations at fertilisation: The evidence, applications, and further questions. *Adv Biol Regul* 2018;67:148-162.
- Kasimanickam R., Kasimanickam V., Arangasamy A, Kastelic J. Sperm and seminal plasma proteomics of high-versus low-fertility Holstein bulls. *Theriogenology* 2019;41-48.
- Katila T. Post-mating inflammatory responses of the uterus. *Reprod Domest Anim* 2012;47 Suppl 5:31-41.
- Katz DJ, Edwards TM, Reinke V, Kelly WG. A *C. elegans* LSD1 Demethylase Contributes to Germline Immortality by Reprogramming Epigenetic Memory. *Cell* 2009;137:308-320.
- Kause F, Zhang R, Ludwig M, Schmiedeke E, Rissmann A, Thiele H, Altmueller J, Herms S, Hilger AC, Hildebrandt F,

- et al. HSPA6: A new autosomal recessive candidate gene for the VATER/VACTERL malformation spectrum. *Birth Defects Res* 2019;111:591-597.
- Kennedy CE, Krieger KB, Sutovsky M, Xu W, Vargovič P, Didion BA, Ellersieck MR, Hennessy ME, Verstegen J, Oko R, et al. Protein expression pattern of PAWP in bull spermatozoa is associated with sperm quality and fertility following artificial insemination. *Mol Reprod Dev* 2014;81:436-449.
- Khan S, Ullah MW, Siddique R, Nabi G, Manan S, Yousaf M, Hou H. Role of recombinant DNA technology to improve life. *Int J Genomics* 2016;2405954.
- Khanal S, Leung MR, Royfman A, Fishman EL, Saltzman B, Bloomfield-Gadélha H, Zeev-Ben-Mordehai T, Avidor-Reiss T. A dynamic basal complex modulates mammalian sperm movement. *Nat Commun* 2021;12:3808.
- Khosravizadeh Z, Hassanzadeh G, Tavakkoly Bazzaz J, Alizadeh F, Totonchi M, Salehi E, Khodamoradi K, Khanehzad M, Hosseini SR, Abolhassani F. The effect of cryopreservation on DNA methylation patterns of the chromosome 15q11-q13 region in human spermatozoa. *Cell Tissue Bank* 2020;21:433-445.
- Kilby MD, Morgan S, Mone F, Williams D. Prenatal next-generation sequencing in the fetus with congenital malformations: how can we improve clinical utility? *Am J Obstet Gynecol MFM* 2023;5:100923.
- Kim SM, Kim SK, Jee BC, Kim SH. Effect of Sperm DNA fragmentation on embryo quality in normal responder women in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Yonsei Med J* 2019;60:461-466.
- Kirchhoff C, Hale G. Cell-to-cell transfer of glycosylphosphatidylinositol-anchored membrane proteins during sperm maturation. *Mol Hum Reprod* 1996;2:177-184.

- Kline D, Simoncini L, Mandel G, Maue RA, Kado RT, Jaffe LA. Fertilization events induced by neurotransmitters after injection of mRNA in *Xenopus* eggs. *Science* 1988;241:464-467.
- Ko MS, Kitchen JR, Wang X, Threat TA, Wang X, Hasegawa A, Sun T, Grahovac MJ, Kargul GJ, Lim MK, et al. Large-scale cDNA analysis reveals phased gene expression patterns during preimplantation mouse development. *Development* 2000;127:1737-1749.
- Kobayashi H, Hiura H, John RM, Sato A, Otsu E, Kobayashi N, Suzuki R, Suzuki F, Hayashi C, Utsunomiya T, Yaegashi N, Arima T. DNA methylation errors at imprinted loci after assisted conception originate in the parental sperm. *Eur J Hum Genet* 2009;17:1582-1591.
- Kobayashi H, Sato A, Otsu E, Hiura H, Tomatsu C, Utsunomiya T, Sasaki H, Yaegashi N, Arima T. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Hum Mol Genet* 2007;16:2542-2551.
- Kong Q, Banaszynski LA, Geng F, Zhang X, Zhang J, Zhang H, O'Neill CL, Yan P, Liu Z, Shido K, et al. Histone variant H3.3-mediated chromatin remodeling is essential for paternal genome activation in mouse preimplantation embryos. *J Biol Chem* 2018;293:3829-3838.
- Kornberg A. Severo Ochoa (1905-93). *Nature* 1993;366:408.
- Kruta V. The idea of the primary unity of elements in the microscopic structure of animals and plants: J.E. Purkyne and Th. Schwann. *Folia Mendeliana Musei Moravia*, 1987;22:35-49.
- Kubo S, Murata C, Okamura H, Sakasegawa T, Sakurai C, Hatsuzawa K, Hori N. Oct motif variants in Beckwith-Wiedemann syndrome patients disrupt maintenance of the hy-

- pometylated state of the H19/IGF2 imprinting control region. *FEBS Lett* 2020;594:1517-1531.
- Kubota H, Brinster RL. Spermatogonial stem cells. *Biol Reprod* 2018;99:52-74.
- Kuhn T. The structure of scientific revolutions. Fondo de Cultura Económica, Buenos Aires, 1988.
- Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Morrow JD, Van Remmen H, Sedivy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Weindruch R, Leeuwenburgh C, Prolla TA. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005;309:481-484.
- Kumar D, Salian SR, Kalthur G, Uppangala S, Kumari S, Challapalli S, Chandraguthi SG, Krishnamurthy H, Jain N, Kumar P, et al. Semen abnormalities, sperm DNA damage and global hypermethylation in health workers occupationally exposed to ionizing radiation. *PLoS One* 2013;8:e69927.
- Kumar R, Venkatesh S, Kumar M, Tanwar M, Shasmsi M., Gupta N., Sharma R., Talwar P, Dada R, R. Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation in idiopathic oligoasthenozoospermic men. *Indian J Biochem Biophys* 2009;46:172-177.
- Labrousse E. Rotterdam; les Nouvelles de la République des Lettres 1681-1685. En: Pierre Bayle. Archives Internationales d'Histoire des Idees/International Archives of the History of Ideas, vol 1. Springer: Dordrecht, 1985. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5087-0_7.
- Lamas-Toranzo I, Hamze JG, Bianchi E, Fernández-Fuertes B, Pérez-Cerezales S, Laguna-Barraza R, Fernández-González R, Lonergan P, Gutiérrez-Adán A, Wright GJ, Jiménez-Movilla M, Bermejo-Álvarez P. TMEM95 is a sperm mem-

brane protein essential for mammalian fertilization. *eLife* 2020;9:e53913.

Lambrot R, Chan D, Shao X, Aarabi M, Kwan T, Bourque G, Moskowitz S, Librach C, Trasler J, Dumeaux V, Kimmins S. Whole-genome sequencing of H3K4me3 and DNA methylation in human sperm reveals regions of overlap linked to fertility and development. *Cell Rep* 2021;36:109418.

Lane M, McPherson NO, Fullston T, Spillane M, Sandeman L, Kang WX, Zander-Fox DL. Oxidative stress in mouse sperm impairs embryo development, fetal growth and alters adiposity and glucose regulation in female offspring. *PLoS One* 2014;9:e100832.

Larriba E, Del Mazo J. An integrative piRNA analysis of mouse gametes and zygotes reveals new potential origins and gene regulatory roles. *Sci Rep* 2018;8:12832.

Lassalle B, Testart J, Renard JP. Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2 propanediol. *Fertil Steril* 1985;44:645-651.

Lee J, Matsuzawa A, Shiura H, Sutani A, Ishino F. Preferable in vitro condition for maintaining faithful DNA methylation imprinting in mouse embryonic stem cells. *Genes Cells* 2018;23:146-160.

Lenz S, Lauritsen JG. Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1982;38:673-677.

Leung MR, Roelofs MC, Ravi RT, Maitan P, Henning H, Zhang M, Bromfield EG, Howes SC, Gadella BM, Bloomfield-Gadêla H. The multi-scale architecture of mammalian sperm flagella and implications for ciliary motility. *EMBO J* 2021;40:e107410.

- Lewens T. The meaning of science: an introduction to the philosophy of science. Basic Books: New York, 2015.
- Li S, Li X, Xue W, Zhang L, Yang L-Z, Cao S-M, Lei Y-N, Liu C-X, Guo S-K, Shan L. Screening for functional circular RNAs using the CRISPR-Cas13 system. *Nat Methods* 2021;18:51-59.
- Li Z, Wang L, Cai J, Huang H. Correlation of sperm DNA damage with IVF and ICSI outcomes: A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2006;23:367.
- Lian J, Tian H, Liu L, Zhang X-S, Li W-Q, Deng Y-M, Yao G-D, Yin M-M, Sun F. Downregulation of microRNA-383 is associated with male infertility and promotes testicular embryonal carcinoma cell proliferation by targeting IRF1. *Cell Death Dis* 2010;1:e94.
- Liberda J, Maňásková P, Prelovská L, Tichá M, Jonáková V. Saccharide-mediated interactions of boar sperm surface proteins with components of the porcine oviduct. *J Reprod Immunol* 2006;71:112-125.
- Litynski GS, Patrick C, Steptoe: laparoscopy, sterilization, the test-tube baby, and mass media. *JSLS* 1998;2:99-101.
- Liu T, Cheng W, Gao Y, Wang H, Liu Z. Microarray analysis of microRNA expression patterns in the semen of infertile men with semen abnormalities. *Mol Med Rep* 2012a;6:535-542.
- Liu WM, Pang RTK, Chiu PCN, Wong BPC, Lao K, Lee KF, Yeung WSB. Sperm-borne microRNA-34c is required for the first cleavage division in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012b;109:490-494.
- Liu X, Wang C, Liu W, Li J, Li C, Kou X, Chen J, Zhao Y, Gao H, Wang H, et al. Distinct features of H3K4me3 and H3K27me3 chromatin domains in pre-implantation embryos. *Nature* 2016;537:558-562.

- Llavanera M. Molecular insights into mammalian sperm physiology: a comparative study of glutathione S-transferases in male reproduction. Tesis Doctoral. Universitat de Girona: Girona, 2023.
- Lopata A. History of the egg in embryology. *J Mamm Ova Res* 2009;26:2-9.
- Lord T, Aitken RJ. Fertilization stimulates 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine repair and antioxidant activity to prevent mutagenesis in the embryo. *Dev Biol* 2015;406:1-13.
- Lorenz TC. Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *J Vis Exp* 2012;22:e3998.
- Lu X, Ding F, Lian Z, Chen L, Cao Z, Guan Y, Chen R, Cai D, Yu Y. An epididymis-specific secretory protein Clpsl2 critically regulates sperm motility, acrosomal integrity, and male fertility. *J Cell Biochem* 2018;119:4760-4774.
- Lucas, P. Bacon's New Atlantis and the Fictional Origins of Organised Science. *Open Cult Stud* 2018;2:114-121.
- Lv S, Wang N, Lv H, Yang J, Liu J, Li W-P, Zhang C, Chen Z-J. The attenuation of trophoblast invasion caused by the downregulation of EZH2 is involved in the pathogenesis of human recurrent miscarriage. *Mol Ther Nucleic Acids* 2019;14:377-387.
- Ma X, Pan Q, Feng Y, Choudhury BP, Ma Q, Gagneux P, Ma F. Sialylation facilitates the maturation of mammalian sperm and affects its survival in female uterus. *Biol Reprod* 2016;94:123-124.
- Madigan V, Zhang F, Dahlman JE. Drug delivery systems for CRISPR-based genome editors. *Nat Rev Drug Discov* 2023;22:875-894.

- Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Gordts S, Fredericks V, Crippa A. Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos. *Reprod Biomed Online* 2009;18:536-542.
- Maienschein J. Cytology in 1924: expansion and collaboration. En: Benson KR, Maienschein J and Rainiger R (eds.) *The Expansion of American Biology*, pp. 23-51. Rutger University Press: New Brunswick (Canadá), 1991.
- Maldera JA, Muñoz MW, Chirinos M, Busso D, Raffo FGE, Battistone MA, Blaquier JA, Larrea F, Cuasnicu PS. Human fertilization: epididymal hCRISP1 mediates sperm-zona pellucida binding through its interaction with ZP3. *Mol Hum Reprod* 2014;20:341-349.
- Manandhar G, Sutovsky P, Joshi HC, Stearns T, Schatten G. Centrosome reduction during mouse spermiogenesis. *Dev Biol* 1998;203:424-434.
- Manfrevolà F, Chioccarelli T, Cobellis G, Fasano S, Ferraro B, Sellitto C, Marella G, Pierantoni R, Chianese R. CircRNA role and circRNA-dependent network (ceRNENET) in asthenozoospermia. *Front Endocrinol* 2020;11:395.
- Marcet B, Chevalier B, Luxardi G, Coraux C, Zaragosi LE, Cibois M, Robbe-Sermesant K, Jolly T, Cardinaud B, Moreilhon C, Giovannini-Chami L, Nawrocki-Raby B, Birembaut P, Waldmann R, Kodjabachian L, Barbry P. Control of vertebrate multiciliogenesis by miR-449 through direct repression of the Delta/Notch pathway. *Nat Cell Biol* 2011;13:693-699.
- Mascorro JA, Bozzola JJ. Processing biological tissues for ultrastructural study. *Methods Mol Biol* 2007;369:19-34.
- Massa E, Prez G, Zumoffen C, Morente C, Ghersevich S. S100 A9 is expressed and secreted by the oviduct epithelium, interacts with gametes and affects parameters of human sperm capacitation in vitro. *J Cell Biochem* 2019;120:17662-17676.

- Mateo-Otero Y, Zambrano F, Catalán J, Sánchez R, Yeste M, Miro J, Fernandez-Fuertes B. Seminal plasma, and not sperm, induces time and concentration-dependent neutrophil extracellular trap release in donkeys. *Equine Vet J* 2021;54:415-426.
- May-Panloup P, Chrétien MF, Savagner F, Vasseur C, Jean M, Malthièry Y, Reynier P. Increased sperm mitochondrial DNA content in male infertility. *Hum Reprod* 2003;18:550-556.
- Mazzarello P. A unifying concept: the history of cell theory. *Nat Cell Biol* 1999;1:13-15.
- McClellan III, JE. The Académie Royale des Sciences, 1699-1793: a statistical portrait. *Isis* 1981;72:541-567.
- McLaren A, Biggers JD. Successful development and birth of mice cultivated in vitro as early as early embryos. *Nature* 1958;182:877-878.
- Mehdi M, Gmidene A, Brahem S, Guerin JF, Elghezal H, Saad A. Aneuploidy rate in spermatozoa of selected men with severe teratozoospermia. *Andrologia* 2012;44 Suppl 1:139-143.
- Mei S, Chen P, Lee C-L, Zhao W, Wang Y, Lam KKW, Ho P-C, Yeung WSB, Fang C, Chiu PCN. The role of galectin-3 in spermatozoa-zona pellucida binding and its association with fertilization in vitro. *Mol Hum Reprod* 2019;25:458-470.
- Mendelson JA. Lives of the cell. *J Hist Biol* 2003;36:1-37.
- Menkin MF, Rock J. In vitro fertilization and cleavage of human ovarian eggs. *Am J Obstet Gynecol* 1948;55: 440-452.
- Meseguer M, de los Santos MJ, Simón C, Pellicer A, Remohí J, Garrido N. Effect of sperm glutathione peroxidases 1 and 4 on embryo asymmetry and blastocyst quality in oocyte donation cycles. *Fertil Steril* 2006;86:1376-1385.

- Meseguer M, Santiso R, Garrido N, Fernandez JL. The effect of cancer on sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin dispersion test. *Fertil Steril* 2008;90:225-227.
- Middelkamp S, Tol HTA Van, Spierings DCJ, Boymans S, Guryev V, Roelen BAJ, Lansdorp PM, Cuppen E, Kuijk EW. Sperm DNA damage causes genomic instability in early embryonic development. *Sci Adv* 2020;6:eaaz7602.
- Miguel Alonso, A. El Colegio Imperial de Madrid: un centro de estudios superiores para la Corte. Alicante: Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, 2022. <https://www.cervantesvirtual.com/nd/ark:/59851/bmc1147905>.
- Mohammadi R, Mousavi SO, Sheibak N, Amjadi F, Zandieh Z, Aghajanpour S, Aflatoonian K, Sabbaghian M, Eslami M, Aflatoonian R. Sperm-oviduct interaction: Differential gene expression of growth factors induced by sperm DNA fragmentation. *Andrologia* 2022;54:e14378.
- Molina LCP, Luque GM, Balestrini PA, Marín-Briggiler CI, Romarowski A, Buffone MG. Molecular basis of human sperm capacitation. *Front Cell Dev Biol* 2018;6:72.
- Moritz L, Hammoud SS. The art of packaging the sperm genome: molecular and structural basis of the histone-to-protamine exchange. *Front Endocrinol* 2022; 13:895502.
- Motrán CC, Díaz FL, Gruppi A, Slavin D, Chatton B, Bocco JL. Human pregnancy-specific glycoprotein 1a (PSG1a) induces alternative activation in human and mouse monocytes and suppresses the accessory cell-dependent T cell proliferation. *J Leukoc Biol* 2002;72:512-521.
- Mousavi SO, Mohammadi R, Amjadi F, Zandieh Z, Aghajanpour S, Aflatoonian K, Sabbaghian M, Eslami M, Madani T, Aflatoonian R. Immunological response of fallopian tube

- epithelial cells to spermatozoa through modulating cytokines and chemokines. *J Reprod Immunol* 2021;146:103327.
- Mulholland CB, Nishiyama A, Ryan J, Nakamura R, Yiğit M, Glück IM, Trummer C, Qin W, Bartoschek MD, Traube FR, et al. Recent evolution of a TET-controlled and DPPA3/ STELLA-driven pathway of passive DNA demethylation in mammals. *Nat Commun* 2020;11:5972.
- Muro Y, Hasuwa H, Isotani A, Miyata H, Yamagata K, Ikawa M, Yanagimachi R, Okabe M. Behavior of mouse spermatozoa in the female reproductive tract from soon after mating to the beginning of fertilization. *Biol Reprod* 2016;94.
- Nagdas SK, Hamilton SL, Samirsubas R. Identification of acrosomal matrix-specific hydrolases binding proteins of bovine cauda epididymal spermatozoa. *J Androl* 2010;31:177-187.
- Nakamura T, Arai Y, Umehara H, Masuhara M, Kimura T, Taniguchi H, Sekimoto T, Ikawa M, Yoneda Y, Okabe M, et al. PGC7/Stella protects against DNA demethylation in early embryogenesis. *Nat Cell Biol* 2007;9:64-71.
- Nakamura T, Liu YJ, Nakashima H, Umehara H, Inoue K, Matoba S, Tachibana M, Ogura A, Shinkai Y, Nakano T. PGC7 binds histone H3K9me2 to protect against conversion of 5mC to 5hmC in early embryos. *Nature* 2012;486:415-419.
- Nanassy L, Carrell D. Abnormal methylation of the promoter of CREM is broadly associated with male factor infertility and poor sperm quality but is improved in sperm selected by density gradient centrifugation. *Fertil Steril* 2011;95:2310-2314.
- Narwade N, Patel S, Alam A, Chattopadhyay S, Mittal S, Kulkarni A. Mapping of scaffold/matrix attachment regions in human genome: a data mining exercise. *Nucleic Acids Res* 2019;47:7247-7261.

- Nayel DM, Mahrous HSED, Khalifa EED, Kholeif S, Elhady GM. The effect of teratozoospermia on sex chromosomes in human embryos. *Appl Clin Genet* 2021;14:125-144.
- Nelson PG. Codes and circuits. *Cell Mol Neurobiol* 2011;31:809-813.
- Nezelof C. Henri Dutrochet (1776-1847): an unheralded discoverer of the cell. *Ann Diagn Pathol* 2003;7:264-272.
- Ng SC, Bongso A, Ratnam SS, Sathananthan H, Chan CL, Wong PC, Hagglund L, Anandakumar C, Wong YC, Goh VH. Pregnancy after transfer of sperm under zona. *Lancet* 1988;332:790.
- Ni K, Spiess AN, Schuppe HC, Steger K. The impact of sperm protamine deficiency and sperm DNA damage on human male fertility: a systematic review and meta-analysis. *Andrology* 2016;4:789-799.
- Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, Gardner DK, Palermo GD, O'Neill CL, Chow S, Rosenwaks Z, Cobo A, Swain JE, Schoolcraft WB, Frydman R, Bishop LA, Aharon D, Gordon C, New E, Decherney A, Tan SL, Paulson RJ, Goldfarb JM, Brännström M, Donne J, Silber S, Dolmans MM, Simpson JL, Handyside AH, Munné S, Eguizabal C, Montserrat N, Izpisua Belmonte JC, Trounson A, Simon C, Tulandi T, Giudice LC, Norman RJ, Hsueh AJ, Sun Y, Laufer N, Kochman R, Eldar-Geva T, Lunenfeld B, Ezcurra D, D'Hooghe T, Fauser BCJM, Tarlatzis BC, Meldrum DR, Casper RF, Fatemi HM, Devroey P, Galliano D, Wikland M, Sigman M, Schoor RA, Goldstein M, Lipshultz LI, Schlegel PN, Hussein A, Oates RD, Brannigan RE, Ross HE, Pennings G, Klock SC, Brown S, Van Steirteghem A, Rebar RW, LaBarbera AR. Forty years of IVF. *Fertil Steril* 2018;110:185-324.e5.
- Nishimura H, Myles DG, Primakoff P. Identification of an ADAM2-ADAM3 complex on the surface of mouse testic-

- ular germ cells and cauda epididymal sperm. *J Biol Chem* 2007;282:11:17900-17907.
- Noda T, Lu Y, Fujihara Y, Oura S, Koyano T, Kobayashi S, Matzuk MM, Ikawa M. Sperm proteins SOF1, TMEM95, and SPACA6 are required for sperm-oocyte fusion in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117:11493-11502.
- Nomikos M, Sanders JR, Kashir J, Sanusi R, Buntwal L, Love D, Ashley P, Sanders D, Knaggs P, Bunkheila A, et al. Functional disparity between human PAWP and PLC ζ in the generation of Ca $^{2+}$ oscillations for oocyte activation. *Mol Hum Reprod* 2015;21:702-710.
- Nomikos M, Sanders JR, Theodoridou M, Kashir J, Matthews E, Nounessis G, Lai FA, Swann K. Sperm-specific post-acrosomal WW-domain binding protein (PAWP) does not cause Ca $^{2+}$ release in mouse oocytes. *Mol Hum Reprod* 2014;20:938-947.
- Ogilvie MB, Choquette CJ. Nettie Maria Stevens (1861-1912): her life and contributions to cytogenetics. *Proc Am Philos Soc* 1985;125:292-311.
- Ohnami N, Nakamura A, Miyado M, Sato M, Kawano N, Yoshida K, Harada Y, Takezawa Y, Kanai S, Ono C, Takahashi Y, Kimura K, Shida T, Miyado K, Umezawa A. CD81 and CD9 work independently as extracellular components upon fusion of sperm and oocyte. *Biol Open* 2012;1:640-647.
- Ohno M, Sakumi K, Fukumura R, Furuichi M, Iwasaki Y, Hokama M, Ikemura T, Tsuzuki T, Gondo Y, Nakabeppu Y. 8-Oxoguanine causes spontaneous de novo germline mutations in mice. *Sci Rep* 2014;4:4689.
- Okasha, S. 'What is science?' En: Okasha, S. *Philosophy of Science: A Very Short Introduction*, first edition, Very Short Introductions. Online edition. Oxford Academic: Oxford, 2002.

- Olabarrieta E, Totorikaguena L, Romero-Aguirregomezcorta J, Agirre Goitia N, Agirre Goitia E. Mu opioid receptor expression and localisation in murine spermatozoa and its role in IVF. *Reprod Fertil Dev* 2020;32:349-354.
- Oldereid NB, Wennerholm U-B, Pinborg A, Loft A, Laivuori H, Petzold M, Romundstad LB, Söderström-Anttila V, Bergh C. The effect of paternal factors on perinatal and paediatric outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2018;24:320-389.
- Oliva R, Luís Ballesc J. Altered histone retention and epigenetic modifications in the sperm of infertile men. *Asian J Androl* 2012;14:239-240.
- Olszewska M, Kordyl O, Kamieniczna M, Fraczek M, Jędrzejczak P, Kurpisz M. Global 5mC and 5hmC DNA levels in human sperm subpopulations with differentially protaminated chromatin in normo-and oligoasthenozoospermic males. *Int J Mol Sci* 2022;23:4516.
- Ombelet W, Van Robays J. Artificial insemination history: hurdles and milestones. *Facts, Views Vis ObGyn* 2015;7:137-143.
- Onanoff J. Recherches sur la fecondation et la gestation des mammifères (conclusions). *C R Séances Soc Biol Fil* 1893;45:719.
- Opitz JM, Schultka R, Göbbel L. Meckel on developmental pathology. *Am J Med Genet A* 2006;140:115-128.
- Orel V, Matalova A. Jan Evangelista Purkyne and the origin of the cell theory. *Folia Mendelianae Musei Moravia* 1990;24-25:5-111.
- Ostermeier GC, Miller D, Huntriss JD, Diamond MP, Krawetz SA. Delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature* 2004;429:154.

- Ostermeier GC, Goodrich RJ, Moldenhauer JS, Diamond MP, Krawetz SA. A suite of novel human spermatozoal RNAs. *J Androl* 2005;26:70-74.
- Otani H, Tanaka O, Kasai K, Yoshioka T. Development of mitochondrial helical sheath in the middle piece of the mouse spermatid tail: regular dispositions and synchronized changes. *Anat Rec* 1988;222:26-33.
- Ozturk N, Dansranjavin T, Gies S, Calay D, Shiplu S, Creppe C, Hendrickx J, Schagdarsurengin U. H4K20me3 marks distal intergenic and repetitive regions in human mature spermatozoa. *Development* 2021;148:dev196477
- Pacey AA, Hill CJ, Scudamore IW, Warren MA, Barratt CLR, Cooke ID. Andrology: The interaction in vitro of human spermatozoa with epithelial cells from the human uterine (Fallopian) tube. *Hum Reprod* 1995;10:360-366.
- Pacheco SE, Houseman EA, Christensen BC, Marsit CJ, Kelsey KT, Sigman M, Boekelheide K. Integrative DNA methylation and gene expression analyses identify DNA packaging and epigenetic regulatory genes associated with low motility sperm. *PLoS One* 2011;6:e20280.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17-18.
- Paradowska AS, Miller D, Spiess A-N, Vieweg M, Cerna M, Dvorakova-Hortova K, Bartkuhn M, Schuppe H-C, Weidner W, Steger K. Genome wide identification of promoter binding sites for H4K12ac in human sperm and its relevance for early embryonic development. *Epigenetics* 2012;7:1057.
- Parnes O. The envisioning of cells. *Sci Context* 2000;13:71-92.

- Patankar A, Gajbhiye R, Surve S, Parte P. Epigenetic landscape of testis specific histone H2B variant and its influence on sperm function. *Clin Epigenetics* 2021;13:101.
- Păunescu TG, Shum WWC, Huynh C, Lechner L, Goetze B, Brown D, Breton S. High-resolution helium ion microscopy of epididymal epithelial cells and their interaction with spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 2014;20:929-937.
- Peat JR, Dean W, Clark SJ, Krueger F, Smallwood SA, Ficz G, Kim JK, Marioni JC, Hore TA, Reik W. Genome-wide bisulfite sequencing in zygotes identifies demethylation targets and maps the contribution of TET3 oxidation. *Cell Rep* 2014;9:1990-2000.
- Pérez FA, Roma SM, Cabada MO, Marini PE. Sperm binding glycoprotein is differentially present surrounding the lumen of isthmus and ampulla of the pig's oviduct. *Anat Embryol (Berl)* 2006;211:619-624.
- Pincus G, Enzmann EV. The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro: i. The activation of ovarian eggs. *J Exp Med* 1935;62:665-675.
- Piñeiro, ME. Las academias técnicas en la España del siglo XVI. *Quaderns d'història de l'enginyeria* 2002;5:10-20.
- Pinto-Correia C. The ovary of Eve: egg and sperm and preformation. University of Chicago Press: Chicago, 1997.
- Polge C, Smith AU, Parkes AS. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 1949;164:666-667.
- Pollard JW, Plante C, King WA, Hansen PJ, Betteridge KJ, Suarez SS. Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding of oviductal epithelial cells. *Biol Reprod* 1991;44:102-107.

- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical utility of sperm DNA integrity testing: a guideline. *Fertil Steril* 2013;99:673-677.
- Presley JF. Imaging the secretory pathway: the past and future impact of live cell optical techniques. *Biochim Biophys Acta* 2005;1744:259-272.
- Pritchard D. *Epistemology*. Palgrave Philosophy Today. Palgrave Macmillan: London, 2017.
- Raju TN. The Nobel Chronicles. 1968: Har Khorana (b 1922); Robert Holley (1922-93); Marshall Nirenberg (b 1927). *Lancet* 1999;354:690.
- Ramasamy R, Scovell J, Kovac J, Cook P, Lamb D, Lipshultz L. Fluorescence *in situ* hybridization detects increased sperm aneuploidy in men with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2015;103:906-909.e1.
- Rasmussen N. *Picture Control. The electron microscope and the transformation of biology in America 1940-1960*. Stanford University Press: Stanford, 1997.
- Rath D, Schuberth H, Coy P, Taylor U. Sperm Interactions from Insemination to Fertilization. *Reprod Domest Anim* 2008;43:2-11.
- Rawe VY, Terada Y, Nakamura S, Chillik CF, Olmedo SB, Chemes HE. A pathology of the sperm centriole responsible for defective sperm aster formation, syngamy and cleavage. *Hum Reprod* 2002;17:2344-2349.
- Reale G, Antiseri D. *Historia del Pensamiento y Científico I: Antigüedad y Edad Media*. Herder: Barcelona, 2010.
- Recuero S, Sánchez JM, Mateo-Otero Y, Bagés-Arnal S, McDonald M, Behura SK, Spencer TE, Kenny DA, Yeste M, Lonergan P, Fernandez-Fuertes B. Mating to intact, but not

vasectomized, males elicits changes in the endometrial transcriptome: insights from the bovine model. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:547.

Reilly JN, McLaughlin EA, Stanger SJ, Anderson AL, Hutchesson K, Church K, Mihalas BP, Tyagi S, Holt JE, Eamens AL, et al. Characterisation of mouse epididymosomes reveals a complex profile of microRNAs and a potential mechanism for modification of the sperm epigenome. *Sci Rep* 2016;6:31794.

Ren X, Chen X, Wang Z, Wang D. Is transcription in sperm stationary or dynamic? *J Reprod Dev* 2017;63:439-443.

Revilla C. Del historicismo a la hermenéutica: la recepción de Dilthey. *Convivium* 2004;17:81-102.

Ribas-Maynou J, Garcia-Bonavila E, Hidalgo CO, Catalán J, Miró J, Yeste M. Species-specific differences in sperm chromatin decondensation between eutherian mammals underlie distinct lysis requirements. *Front Cell Dev Biol* 2021a;9:1143.

Ribas-Maynou J, Yeste M, Becerra-Tomás N, Aston KI, James ER, Salas-Huetos A. Clinical implications of sperm DNA damage in IVF and ICSI: updated systematic review and meta-analysis. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2021b;96:1284-1300.

Ribas-Maynou J, Novo S, Torres M, Salas-Huetos A, Rovira S, Antich M, Yeste M. Sperm DNA integrity does play a crucial role for embryo development after ICSI, notably when good-quality oocytes from young donors are used. *Biol Res* 2022a;55:41

Ribas-Maynou J, Nguyen H, Valle R, Wu H, Yeste M, Ward WS. Sperm degradation after vasectomy follows a sperm chromatin fragmentation-dependent mechanism causing DNA breaks in the toroid linker regions. *Mol Hum Reprod* 2022b;29:gaac029.

Ribatti D. An historical note on the cell theory. *Exp Cell Res* 2018;364:1-4.

Richard Albert J, Au Yeung WK, Toriyama K, Kobayashi H, Hirasawa R, Brind'Amour J, Bogutz A, Sasaki H, Lorincz M. Maternal DNMT3A-dependent de novo methylation of the paternal genome inhibits gene expression in the early embryo. *Nat Commun* 2020;11:5417.

Ricoeur P. Scheiermacher's hermeneutics. *The Monist* 1977;60:181-197.

Rimmer MP, Gregory CD, Mitchell RT. The transformative impact of extracellular vesicles on developing sperm. *Reprod Fertil* 2021;2:R51-R66.

Robertson SA, Mau VJ, Tremellen KP, Seemark RF. Role of high molecular weight seminal vesicle proteins in eliciting the uterine inflammatory response to semen in mice. *J Reprod Fertil* 1996;107:265-277.

Robertson SA, Sjöblom C, Jasper MJ, Norman RJ, Seemark RF. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor promotes glucose transport and blastomere viability in murine preimplantation embryos. *Biol Reprod* 2001;64:1206-1215.

Robertson SA, Bromfield JJ, Tremellen KP. Seminal 'priming' for protection from pre-eclampsia - a unifying hypothesis. *J Reprod Immunol* 2003;59:253-265.

Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D, Lewis S, Kirkman-Brown J, Coomarasamy A. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2012;27:2908-2917.

Rodrigo L, Meseguer M, Mateu E, Mercader A, Peinado V, Bori L, Campos-Galindo I, Milán M, García-Herrero S, Simón C, et al. Sperm chromosomal abnormalities and their contribution to human embryo aneuploidy. *Biol Reprod* 2019;101:1091-1101.

Rodriguez-Caro H, Dragovic R, Shen M, Dombi E, Mounce G, Field K, Meadows J, Turner K, Lunn D, Child T, et al. In vitro decidualisation of human endometrial stromal cells is enhanced by seminal fluid extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles* 2019;8:1565262.

Rogenhofer N, Dansranjavin T, Schorsch M, Spiess A, Wang H, Schönfeldt V von, Cappallo-Obermann H, Baukloh V, Yang H, Paradowska A, et al. The sperm protamine mRNA ratio as a clinical parameter to estimate the fertilizing potential of men taking part in an ART programme. *Hum Reprod* 2013;28:969-978.

Rogenhofer N, Ott J, Pilatz A, Wolf J, Thaler CJ, Windischbauer L, Schagdarsurengin U, Steger K, von Schönfeldt V. Unexplained recurrent miscarriages are associated with an aberrant sperm protamine mRNA content. *Hum Reprod* 2017;32:1574-1582.

Romero Y, Meikar O, Papaioannou MD, Conne B, Grey C, Weier M, Pralong F, Massy B De, Kaessmann H, Vassalli J-D, et al. Dicer1 Depletion in Male Germ Cells Leads to Infertility Due to Cumulative Meiotic and Spermiogenic Defects. *PLoS One* 2011;6:e25241.

Rosati AJ, Whitcomb BW, Brandon N, Buck Louis GM, Mumford SL, Schisterman EF, Pilsner JR. Sperm mitochondrial DNA biomarkers and couple fecundity. *Hum Reprod* 2020;35:2619-2625.

Rosenthal N, Zernicka-Goetz M. A tribute to Sir John Gurdon. *Differentiation* 2014;88:1-2.

Rudolph G. Gabriel-Gustav Valentin (1810-1883): Grand prix de l'Académie des sciences (1835) correspondant de l'Académie de médecine (1846). *Hist Sci Med* 1985;19:367-375.

- Runner MN, Gates A. Conception in prepuberal mice following artificially induced ovulation and mating. *Nature* 1954;174:222-223.
- Ruvolo G, Roccheri MC, Bruculeri AM, Longobardi S, Cittadini E, Bosco L. Lower sperm DNA fragmentation after r-FSH administration in functional hypogonadotropic hypogonadism. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:497-503.
- Sadakierska-Chudy A, Patrylak J, Janeczko J, Chudy J. Down-regulation of gene expression and the outcome of ICSI in severe oligozoospermic patients: A preliminary study. *Mol Reprod Dev* 2020;87:1219-1230.
- Saei P, Bazrgar M, Gourabi H, Kariminejad R, Eftekhari-Yazdi P, Fakhri M. Frequency of sperm aneuploidy in oligoasthenoteratozoospermic (OAT) patients by comprehensive chromosome screening: a proof of concept. *J Reprod Fertil* 2021;22:57-64.
- Salas-Huetos A, Blanco J, Vidal F, Mercader JM, Garrido N, Anton E. New insights into the expression profile and function of micro-ribonucleic acid in human spermatozoa. *Fertil Steril* 2014;102:213-222.e4.
- Salas-Huetos A, James ER, Aston KI, Carrell DT, Jenkins TG, Yeste M. The role of miRNAs in male human reproduction: a systematic review. *Andrology* 2020;8:7-26.
- Salas-Huetos A, Ribas-Maynou J, Mateo-Otero Y, Tamargo C, Llavanera M, Yeste M. Expression of miR-138 in cryopreserved bovine sperm is related to their fertility potential. *J Anim Sci Biotechnol* 2023;14:129.
- San Martín J. *Antropología Filosófica I: De la antropología científica a la filosófica*. UNED: Madrid, 2013.
- Sarasa J, Enciso M, García L, Leza A, Steger K, Aizpurua J. Comparison of ART outcomes in men with altered mRNA

protamine 1/protamine 2 ratio undergoing intracytoplasmic sperm injection with ejaculated and testicular spermatozoa. *Asian J Androl* 2020;22:623-628.

Sathananthan AH, Ratnasooriya WD, de Silva A, Randeniya P. Rediscovering Boveri's centrosome in *Ascaris* (1888): its impact on human fertility and development. *Reprod Biomed Online* 2006;12:254-270.

Saunders CM, Larman MG, Parrington J, Cox LJ, Royse J, Blayney LM, Swann K, Lai FA. PLCζ: A sperm-specific trigger of Ca²⁺ oscillations in eggs and embryo development. *Development* 2002;129:3533-3544.

Scarica C, Monaco A, Borini A, Pontemezzo E, Bonanni V, De Santis L, Zacà C, Coticchio G; SIERR, Società Italiana di Embriologia Riproduzione e Ricerca. Use of mineral oil in IVF culture systems: physico-chemical aspects, management, and safety. *J Assist Reprod Genet* 2022;39:883-892.

Scheffler K, Uraji J, Jentoft I, Cavazza T, Mönnich E, Mogessie B, Schuh M. Two mechanisms drive pronuclear migration in mouse zygotes. *Nat Comm* 2021;12:841.

Schneider S, Shakeri F, Trötschel C, Arévalo L, Kruse A, Buness A, Poetsch A, Steger K, Schorle H. Protamine-2 deficiency initiates a reactive oxygen species (ROS)-mediated destruction cascade during epididymal sperm maturation in mice. *Cells* 2020;9:1789.

Schneider I, de Ruijter-Villani M, Hossain MJ, Stout TAE, Ellenberg J. Dual spindles assemble in bovine zygotes despite the presence of paternal centrosomes. *J Cell Biol.* 2021;220:e202010106.

Schnek A, Massarini A. *Curtis - Biología*. Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires, 2008.

- Schon SB, Luense LJ, Wang X, Bartolomei MS, Coutifaris C, Garcia BA, Berger SL. Histone modification signatures in human sperm distinguish clinical abnormalities. *J Assist Reprod Genet* 2019;36:267-275.
- Schwarz A, Sankaralingam P, O'Connell KF, Müller-Reichert T. Revisiting Centrioles in Nematodes-Historic Findings and Current Topics. *Cells* 2018;7:101.
- Scott I, Logan DC. The Birth of Cell Biology. *New Phytol* 2004;163: 7-9.
- Sedó CA, Bilinski M, Lorenzi D, Uriondo H, Noblía F, Longobucco V, Lagar EV, Nodar F. Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: Clinical and biological aspects. *J Bras Reprod Assist* 2017;21:343-350.
- Seidel GE Jr. Lessons from reproductive technology research. *Annu Rev Anim Biosci* 2015;3:467-87.
- Sekeres J, Zarsky V. 180 years of the cell: from Matthias Jakob Schleiden to the cell. En: Pratap Sahi V, Baluška F (eds.) *Concepts in Cell Biology - History and Evolution*, pp. 7-38. Springer International Publishing: Cham (Suiza), 2018.
- Sendler E, Johnson GD, Mao S, Goodrich RJ, Diamond MP, Hauser R, Krawetz SA. Stability, delivery and functions of human sperm RNAs at fertilization. *Nucleic Acids Res* 2013;41:4104-4117.
- Sha YW, Xu X, Mei L Bin, Li P, Su ZY, He XQ, Li L. A homozygous CEP135 mutation is associated with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella (MMAF). *Gene* 2017;633:48-53.
- Shaman JA, Prisztoka R, Ward WS. Topoisomerase IIB and an extracellular nuclease interact to digest sperm DNA in an apoptotic-like manner. *Biol Reprod* 2006;75:741-748.

- Shan S, Xu F, Bleyer M, Becker S, Melbaum T, Wemheuer W, Hirschfeld M, Wacker C, Zhao S, Schütz E. Association of a/b-hydrolase D16B with bovine conception rate and sperm plasma membrane lipid composition. *Int J Mol Sci* 2020;21:627.
- Sharif M, Hickl V, Juarez G, Di X, Kerns K, Sutovsky P, Bovin N, Miller DJ. Hyperactivation is sufficient to release porcine sperm from immobilized oviduct glycans. *Sci Rep* 2022;12:6446.
- Sharma U, Stefanova D, Holmes SG. Histone Variant H2A.Z Functions in sister chromatid cohesion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 2013;33:3473.
- Sharma U, Sun F, Conine CC, Reichholf B, Kukreja S, Herzog VA, Ameres SL, Rando OJ. Small RNAs are trafficked from the epididymis to developing mammalian sperm. *Dev Cell* 2018;46:481-494.e6.
- Sherbahn R, Frasor J, Radwanska E, Binor Z, Wood-Molo M, Hibner M, Mack S, Rawlins RG. Comparison of mouse embryo development in open and microdrop co-culture systems. *Hum Reprod* 1996;11:2223-2229.
- Shimura T, Inoue M, Taga M, Shiraishi K, Uematsu N, Takei N, Yuan Z-M, Shinohara T, Niwa O. p53-dependent S-phase damage checkpoint and pronuclear cross talk in mouse zygotes with X-irradiated sperm. *Mol Cell Biol* 2002;22:2220-2228.
- Shinagawa T, Takagi T, Tsukamoto D, Tomaru C, Huynh LM, Sivaraman P, Kumarevel T, Inoue K, Nakato R, Katou Y, et al. Histone variants enriched in oocytes enhance reprogramming to induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2014;14:217-227.

- Shoja MM, Tubbs RS, Loukas M, Shokouhi G, Ardalani MR. Marie-François Xavier Bichat (1771-1802) and his contributions to the foundations of pathological anatomy and modern medicine. *Ann Anat* 2008;190:413-420.
- Shokolenko I, Venediktova N, Bochkareva A, Wilson GL, Alexeyev M. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids* 2009;37:2539-2548.
- Shukla K, Mahdi A, Rajender S. Apoptosis, spermatogenesis and male infertility. *Front Biosci (Elite Ed)* 2012;4:746-754.
- Simerly C, Manil-Ségalen M, Castro C, Hartnett C, Kong D, Verlhac M-H, Loncarek J, Schatten G. Separation and loss of centrioles from primordial germ cells to mature oocytes in the mouse. *Sci Rep* 2018;8:12791.
- Simon L, Murphy K, Shamsi MB, Liu L, Emery B, Aston KI, Hotaling J, Carrell DT. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. *Hum Reprod* 2014;29:2402-2412.
- Simon L, Emery BR, Carrell DT. Review: Diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2017a;44:38-56.
- Simon L, Zini A, Dyachenko A, Ciampi A, Carrell D. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Asian J Androl* 2017b;19:80-90.
- Singer M, Berg P. George Beadle: from genes to proteins. *Nat Rev Genet* 2004;5:949-954.
- Singh VB, Sribenja S, Wilson KE, Attwood KM, Hillman JC, Pathak S, Higgins MJ. Blocked transcription through KvD-MR1 results in absence of methylation and gene silencing resembling Beckwith-Wiedemann syndrome. *Development* 2017;144:1820-1830.

- Smith TB, Dun MD, Smith ND, Curry BJ, Connaughton HS, Aitken RJ. The presence of a truncated base excision repair pathway in human spermatozoa that is mediated by OGG1. *J Cell Sci* 2013;126:1488-1497.
- Smith ZD, Chan MM, Humm KC, Karnik R, Mekhoubad S, Regev A, Eggan K, Meissner A. DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo. *Nature* 2014;511:611-615.
- Solís C, Sellés M. *Historia de la Ciencia*. Espasa: Madrid, 2022.
- Song B, Wang C, Chen Y, Li G, Gao Y, Zhu F, Wu H, Lv M, Zhou P, Wei Z, et al. Sperm DNA integrity status is associated with DNA methylation signatures of imprinted genes and non-imprinted genes. *J Assist Reprod Genet* 2021;38:2041-2048.
- Song GJ, Lewis V. Mitochondrial DNA integrity and copy number in sperm from infertile men. *Fertil Steril* 2008;90:2238-2244.
- Song WH, Yi YJ, Sutovsky M, Meyers S, Sutovsky P. Autophagy and ubiquitin-proteasome system contribute to sperm mitophagy after mammalian fertilization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113:E5261-E5270.
- Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978;312:366.
- Stewart Saunders E. Louis XIV: Patron of Science and Technology. Libraries Research Publications. Purdue University: Purdue (EE.UU). e-Pubs, 1984. https://docs.lib.purdue.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=&httpsredir=1&article=1053&context=lib_research.
- Suarez SS, Pacey AA. Sperm transport in the female reproductive tract. *Hum Reprod Update* 2006;12:23-37.

- Suganuma R, Yanagimachi R, Meistrich ML. Decline in fertility of mouse sperm with abnormal chromatin during epididymal passage as revealed by ICSI. *Hum Reprod* 2005;20:3101-3108.
- Sun Y, Gao F, Xu D, Lu L, Chen Q, Yang Z, Wang X, Pan X. Wenshen Shengjing Decoction improves early embryo development by maintaining low H3K27me3 levels in sperm and pronuclear embryos of spermatogenesis impaired mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021;2021:8035997.
- Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Simerly C, Schatten G. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* 1999;402:371-372.
- Swann K, Windsor S, Campbell K, Elgmati K, Nomikos M, Zernicka-Goetz M, Amso N, Lai FA, Thomas A, Graham C. Phospholipase C- ζ -induced Ca²⁺ oscillations cause coincident cytoplasmic movements in human oocytes that failed to fertilize after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2012;97:742-747.
- Swann K, Yu Y. The dynamics of calcium oscillations that activate mammalian eggs. *Int J Dev Biol* 2008;52:585-594.
- Szczykutowicz J, Tkaczuk-Włach J, Ferens-Sieczkowska M. Glycoproteins presenting galactose and N-acetylgalactosamine in human seminal plasma as potential players involved in immune modulation in the fertilization process. *Int J Mol Sci* 2021;22:7331.
- Sztein JM, Takeo T, Nakagata N. History of cryobiology, with special emphasis in evolution of mouse sperm cryopreservation. *Cryobiology* 2018;82:57-63.
- Tagarelli A, Piro A, Lagonia P, Tagarelli G. Walter Stanborough Sutton: a hundred years after the chromosomal theory of heredity. *Chromosoma* 2003;112:1-5.

- Tammiksaar E, Brauckmann S. Karl ernst von Baer's 'Über Entwickelungsgeschichte der Thiere II' and its unpublished drawings. *Hist Philos Life Sci* 2004;26:291-308.
- Tarozzi N, Nadalini M, Stronati A, Bizzaro D, Dal Prato L, Coticchio G, Borini A. Anomalies in sperm chromatin packaging: implications for assisted reproduction techniques. *Reprod Biomed Online* 2009;18:486-495.
- Tarozzi N, Nadalini M, Coticchio G, Zacà C, Lagalla C, Borini A. The paternal toolbox for embryo development and health. *Mol Hum Reprod* 2021;27:gaab042.
- Taylor SL, Yoon SY, Morshedi MS, Lacey DR, Jellerette T, Fissore RA, Oehninger S. Complete globozoospermia associated with PLC ζ deficiency treated with calcium ionophore and ICSI results in pregnancy. *Reprod Biomed Online* 2010;20:559-564.
- Tecle E, Reynoso HS, Wang R, Gagneux P. The female reproductive tract contains multiple innate sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins (Siglecs) that facilitate sperm survival. *J Biol Chem* 2019;294:11910-11919.
- Teijeiro JM, Cabada MO, Marini PE. Sperm binding glycoprotein (SBG) produces calcium and bicarbonate dependent alteration of acrosome morphology and protein tyrosine phosphorylation on boar sperm. *J Cell Biochem* 2008;103:1413-1423.
- Teijeiro JM, Marini PE. The effect of oviductal deleted in malignant brain tumor 1 over porcine sperm is mediated by a signal transduction pathway that involves pro-AKAP4 phosphorylation. *Reproduction* 2012;143:773-785.
- Thibault C, Dauzier L, Wintenberger S. Cytological study of fecundation in vitro of rabbit ovum. *C R Seances Soc Biol Fil* 1954;148:789-790.

- Thimon V, Frenette G, Saez F, Thabet M, Sullivan R. Protein composition of human epididymosomes collected during surgical vasectomy reversal: a proteomic and genomic approach. *Hum Reprod* 2008;23:1698-1707.
- Thomas R. Laws for the dynamics of regulatory networks. *Int J Dev Biol* 1998;42:479-485.
- Tiegs AW, Tao X, Landis J, Rajchel J, Bedard JL, Seli E, Wells D, Fragouli E, Scott R. Evaluation of sperm mitochondrial DNA copy number as a predictor of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) cycle outcomes in a large infertile population. *Fertil Steril* 2018;110:e75-e76.
- Tiegs AW, Tao X, Landis J, Zhan Y, Franasiak JM, Seli E, Wells D, Fragouli E, Scott RT. Sperm mitochondrial DNA copy number is not a predictor of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycle outcomes. *Reprod Sci* 2020;27:1350-1356.
- Timanova V, Bochkova M, Khramtsov P, Kochurova S, Rayev M, Zamorina S. Effects of pregnancy-specific β -1-glycoprotein on the helper T-cell response. *Arch Biol Sci* 2019;71:369-378.
- Tollner TL, Bevins CL, Cherr GN. Multifunctional glycoprotein DEFB126—a curious story of defensin-clad spermatozoa. *Nat Rev Urol* 2012;9:365-375.
- Torra-Massana M, Jodar M, Barragán M, Soler-Ventura A, Delgado-Dueñas D, Rodríguez A, Oliva R, Vassena R. Altered mitochondrial function in spermatozoa from patients with repetitive fertilization failure after ICSI revealed by proteomics. *Andrology* 2021;9:1192-1204.
- Tourzani DA, Battistone MA, Salicioni AM, Breton S, Visconti PE, Gervasi MG. Caput ligation renders immature mouse sperm motile and capable to undergo cAMP-dependent phosphorylation. *Int J Mol Sci* 2021;22:10241.

- Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983;305:707-709.
- Turner KA, Fishman EL, Asadullah M, Ott B, Dusza P, Shah TA, Sindhwan P, Nadiminty N, Molinari E, Patrizio P, Saltzman BS, Avidor-Reiss T. Fluorescence-based ratiometric analysis of sperm centrioles (FRAC) finds patient age and sperm morphology are associated with centriole quality. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:658891.
- Twenter H, Klohonatz K, Davis K, Bass L, Coleman SJ, Bouma GJ, Bruemmer JE. Transfer of microRNAs from epididymal epithelium to equine spermatozoa. *J Equine Vet Sci* 2020;87:102841.
- Tyebji S, Hannan AJ, Tonkin CJ. Pathogenic Infection in male mice changes sperm small RNA profiles and transgenerationally alters offspring behavior. *Cell Rep* 2020;31:107573.
- Vallet-Buisan M, Mecca R, Jones C, Coward K, Yeste M. Contribution of semen to early embryo development: fertilization and beyond. *Hum Reprod Update* 2023;29:395-433.
- Van den Berg H, Demarest B. Axiomatic natural philosophy and the emergence of biology as a science. *J Hist Biol* 2020;53:379-422.
- Van Speybroeck L, De Waele D, Van de Vijver G. Theories in early embryology: close connections between epigenesis, preformationism, and self-organization. *Ann N Y Acad Sci* 2002;981:7-49.
- Vandenbrouck Y, Lane L, Carapito C, Duek P, Rondel K, Bruley C, Macron C, Gonzalez De Peredo A, Coute Y, Chaoui K. Looking for missing proteins in the proteome of human spermatozoa: an update. *J Proteome Res* 2016;15:3998-4019.

- Vaughan DA, Tirado E, Garcia D, Datta V, Sakkas D. DNA fragmentation of sperm: a radical examination of the contribution of oxidative stress and age in 16945 semen samples. *Hum Reprod* 2020;35:2188-2196.
- Velez de la Calle JF, Muller A, Walschaerts M, Clavere JL, Jimenez C, Wittemer C, Thonneau P. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as assessed by the sperm chromatin dispersion test in assisted reproductive technology programs: results of a large prospective multicenter study. *Fertil Steril* 2008;90:1792-1799.
- Vieweg M, Dvorakova-Hortova K, Dudkova B, Waliszewski P, Otte M, Oels B, Hajimohammad A, Turley H, Schorsch M, Schuppe HC, et al. Methylation analysis of histone H4K-12ac-associated promoters in sperm of healthy donors and subfertile patients. *Clin Epigenetics* 2015;7:31.
- Viñolas-Vergés E, Yeste M, Garriga F, Bonet S, Mateo-Otero Y, Ribas-Maynou J. An intracellular, non-oxidative factor activates in vitro chromatin fragmentation in pig sperm. *Biol Res* 2023;56:53.
- Vittu J. Du Journal des savants aux Mémoires pour l'histoire des sciences et des beaux-arts: l'esquisse d'un système européen des périodiques savants. *Dix-septième siècle* 2005;228:527-545.
- Wang L, Magdaleno S, Tabas I, Jackowski S. Early Embryonic Lethality in Mice with Targeted Deletion of the CTP:Phosphocholine Cytidyltransferase α Gene (Pcyt1a). *Mol Cell Biol* 2005;25:3357-3363.
- Wang M, Gao Y, Qu P, Qing S, Qiao F, Zhang Y, Mager J, Wang Y. Sperm-borne miR-449b influences cleavage, epigenetic reprogramming and apoptosis of SCNT embryos in bovine. *Sci Rep* 2017;7:13403.

- Wang X, Kang J-Y, Wei L, Yang X, Sun H, Yang S, Lu L, Yan M, Bai M, Chen Y. PHF7 is a novel histone H2A E3 ligase prior to histone-to-protamine exchange during spermiogenesis. *Development* 2019;146:dev175547.
- Wang F, Yang W, Ouyang S, Yuan S. The vehicle determines the destination: the significance of seminal plasma factors for male fertility. *Int J Mol Sci* 2020a;21:8499.
- Wang D, Cheng L, Xia W, Liu X, Guo Y, Yang X, Guo X, Xu EY. LYPD4, mouse homolog of a human acrosome protein, is essential for sperm fertilizing ability and male fertility. *Biol Reprod* 2020b;102:1033-1044.
- Wang Z, Liu X, Xu J, Yang Q, Niu W, Dai S, Hu L, Guo Y. Paternal age, body mass index, and semen volume are associated with chromosomal aberrations-related miscarriages in couples that underwent treatment by assisted reproductive technology. *Aging* 2020c;12:8459.
- Wang S, Tan W, Huang Y, Mao X, Li Z, Zhang X, Wei P, Xue L. Sperm DNA fragmentation measured by sperm chromatin dispersion impacts morphokinetic parameters, fertilization rate and blastocyst quality in ICSI treatments. *Zygote* 2022;30:72-79.
- Ward S, Coffey D. Specific organization of genes in relation to the sperm nuclear matrix. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173:20-25.
- Ward S, Coffey D. DNA Packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cell. *Biol Reprod* 1991;44:569-574.
- Watkins AJ, Dias I, Tsuro H, Allen D, Emes RD, Moreton J, Wilson R, Ingram RJM, Sinclair KD. Paternal diet programs offspring health through sperm- and seminal plasma-specific pathways in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018;115:10064-10069.

- Wazzan WC, Gwatkin RBL, Thomas AJ. Zona drilling enhances fertilization by mouse caput epididymal sperm. *Mol Reprod Dev* 1990;27:332-336.
- Weigel Muñoz, Mu M, Battistone MA, Carvajal G, Maldera JA, Curci L, Torres P, Lombardo D, Pignataro OP, Ros VG Da, Cuasnicú PS. Influence of the genetic background on the reproductive phenotype of mice lacking Cysteine-Rich Secretory Protein 1 (CRISP1). *Biol Reprod* 2018;99:373-383.
- Weissman JS. The Epistemology of Cell Biology. *Mol Biol Cell* 2010;21:3825.
- Wen D, Banaszynski LA, Liu Y, Geng F, Noh KM, Xiang J, Elemento O, Rosenwaks Z, David Allis C, Rafi S. Histone variant H3.3 is an essential maternal factor for oocyte reprogramming. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:7325-7330.
- Whitten WK. Culture of tubal mouse ova. *Nature* 1956;177:96.
- Whittingham DG. Fertilization of mouse eggs in vitro. *Nature* 1968;220:592-593.
- Whittingham DG, Leibo SP, Mazur P. Survival of mouse embryos frozen to -196 degrees and -269 degrees C. *Science* 1972;178:411-414.
- Wikland M, Enk L, Hamberger L. Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by use of ultrasound. *Ann N Y Acad Sci* 1985;442:182-194.
- Wilberding J. Plato's Embryology. *Early Sci Med* 2015;20:150-168.
- Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *N Engl J Med* 1995;333:1517-1521.

- Willadsen SM. Factors affecting the survival of sheep embryos during freezing and thawing. *Ciba Found Symp* 1977;52:175-201.
- Wilmut I. The effect of cooling rate, warming rate, cryoprotective agent and stage of development on survival of mouse embryos during freezing and thawing. *Life Sci II* 1972;11:1071-1079.
- Wolff M von, Rösner S, Thöne C, Pinheiro RM, Jauckus J, Bruckner T, Biolchi V, Alia A, Strowitzki T. Intravaginal and intracervical application of seminal plasma in in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatment cycles--a double-blind, placebo-controlled, randomized pilot study. *Fertil Steril* 2009;91:167-172.
- Wong CC, Loewke KE, Bossert NL, Behr B, Jonge CJ De, Baer TM, Pera RAR. Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. *Nat Biotechnol* 2010;28:1115-1121.
- Wu ATH, Sutovsky P, Manandhar G, Xu W, Katayama M, Day BN, Park KW, Yi YJ, Yan WX, Prather RS, et al. PAWP, a sperm-specific WW domain-binding protein, promotes meiotic resumption and pronuclear development during fertilization. *J Biol Chem* 2007;282:12164-12175.
- Wu C, Blondin P, Vigneault C, Labrecque R, Sirard MA. Sperm miRNAs- potential mediators of bull age and early embryo development. *BMC Genomics* 2020;21:798.
- Wu PY, Scarlata E, O'Flaherty C. Long-term adverse effects of oxidative stress on rat epididymis and spermatozoa. *Antioxidants* 2020;9:170.
- Xia B, Yanai I. A periodic table of cell types. *Development* 2019;146:dev169854.

- Xie M, Fussenegger M. Designing cell function: assembly of synthetic gene circuits for cell biology applications. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018;19:507-525.
- Yagi M, Kabata M, Tanaka A, Ukai T, Ohta S, Nakabayashi K, Shimizu M, Hata K, Meissner A, Yamamoto T. Identification of distinct loci for de novo DNA methylation by DNMT3A and DNMT3B during mammalian development. *Nat Commun* 2020;11:3199.
- Yan L, Yang M, Guo H, Yang L, Wu J, Li R, Liu P, Lian Y, Zheng X, Yan J, et al. Single-cell RNA-Seq profiling of human preimplantation embryos and embryonic stem cells. *Nat Struct Mol Biol* 2013;20:1131-1139.
- Yanagimachi R, Chang MC. Fertilization of hamster eggs in vitro. *Nature* 1963;200:281-282.
- Yáñez-Mó M, Siljander PRM, Andreu Z, Zavec AB, Borràs FE, Buzas EI, Buzas K, Casal E, Cappello F, Carvalho J, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 2015;4:27066.
- Yang CC, Lin YS, Hsu CC, Wu SC, Lin EC, Cheng WTK. Identification and sequencing of remnant messenger RNAs found in domestic swine (*Sus scrofa*) fresh ejaculated spermatozoa. *Anim Reprod Sci* 2009;113:143-155.
- Yang H, Bai D, Li Y, Yu Z, Wang C, Sheng Y, Liu W, Gao S, Zhang Y. Allele-specific H3K9me3 and DNA methylation co-marked CpG-rich regions serve as potential imprinting control regions in pre-implantation embryo. *Nat Cell Biol* 2022;24:783-792.
- Yassine S, Escoffier J, Martinez G, Coutton C, Karaouzéne T, Zouari R, Ravanat JL, Metzler-Guillemain C, Lee HC, Fissore R, et al. Dpy19l2-deficient globozoospermic sperm display altered genome packaging and DNA damage that

compromises the initiation of embryo development. *Mol Hum Reprod* 2015;21:169-185.

Yelumalai S, Yeste M, Jones C, Amdani SN, Kashir J, Mounce G, da Silva SJM, Barratt CL, McVeigh E, Coward K. Total levels, localization patterns, and proportions of sperm exhibiting phospholipase C zeta are significantly correlated with fertilization rates after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2015;104:561-568.e4.

Yeste M. Boar spermatozoa within the oviductal environment (I): Sperm Reservoir. En: Bonet S, Casas I, Holt WV, Yeste M. (eds.). *Boar Reproduction: Fundamentals and New Biotechnological Trends*; pp. 169-280. Springer: Berlín, 2013.

Yeste M. Sperm cryopreservation update: Cryodamage, markers, and factors affecting the sperm freezability in pigs. *The riogenology* 2016;85:47-64.

Yeste M, Lloyd RE, Badia E, Briz M, Bonet S, Holt WV. Direct contact between boar spermatozoa and porcine oviductal epithelial cell (OEC) cultures is needed for optimal sperm survival in vitro. *Anim Reprod Sci* 2009;113:263-278.

Yeste M, Holt WV, Bonet S, Rodríguez-Gil JE, Lloyd RE. Viable and morphologically normal boar spermatozoa alter the expression of heat-shock protein genes in oviductal epithelial cells during co-culture in vitro. *Mol Reprod Dev* 2014;81:805-819.

Yeste M, Jones C, Amdani SN, Patel S, Coward K. Oocyte activation deficiency: a role for an oocyte contribution? *Hum Reprod Update* 2016;22:23-47.

Yeste M, Delgado-Bermúdez A, Jones C, Coward, K. Functions and gene expression alterations of phospholipase C in gametes. En: Chakraborti S. (editor). *Phospholipases in Physiology and Pathology (Volume 4): Role of Phospho-*

- lipases in Inflammation, Gene Expression, and Apoptosis; pp. 355-389. Academic Press: Cambridge (EE.UU.), 2023.
- Yin Q, Shen J, Wan X, Liu Q, Zhou Y, Zhang Y. Impaired sperm maturation in conditional Lcn6 knockout mice. *Biol Reprod* 2018;98:28-41.
- Yoon SY, Jellerette T, Salicioni AM, Lee HC, Yoo M, Coward K, Parrington J, Grow D, Cibelli JB, Visconti PE, et al. Human sperm devoid of PLC ζ fail to induce Ca $^{2+}$ release and are unable to initiate the first step of embryo development. *J Clin Invest* 2008;118:3671-3681.
- Yoshida K, Muratani M, Araki H, Miura F, Suzuki T, Dohmae N, Katou Y, Shirahige K, Ito T, Ishii S. Mapping of histone-binding sites in histone replacement-completed spermatozoa. *Nat Commun* 2018;9:3885.
- Yuan S, Schuster A, Tang C, Yu T, Ortogero N, Bao J, Zheng H, Yan W. Sperm-borne miRNAs and endo-siRNAs are important for fertilization and preimplantation embryonic development. *Development* 2016;143:635-647.
- Zagris N. Aristotle (384-322 BC): the beginnings of Embryology. *Int J Dev Biol* 2022;66:5-8.
- Zambrano F, Carrau T, Gärtner U, Seipp A, Taubert A, Felmer R, Sanchez R, Hermosilla C. Leukocytes coincubated with human sperm trigger classic neutrophil extracellular traps formation, reducing sperm motility. *Fertil Steril* 2016;106:1053-1060.e1.
- Zambrano F, Namuncura C, Uribe P, Schulz M, Pezo F, Burgos R, Taubert A, Hermosilla C, Sanchez R. Swine spermatozoa trigger aggregated neutrophil extracellular traps leading to adverse effects on sperm function. *J Reprod Immunol* 2021;146:103339.

- Zandieh Z, Vatannejad A, Doosti M, Zabihzadeh S, Haddadi M, Bajelan L, Rashidi B, Amanpour S. Comparing reactive oxygen species and DNA fragmentation in semen samples of unexplained infertile and healthy fertile men. *Ir J Med Sci* 2018;187:657-662.
- Zandieh Z, Ashrafi M, Aflatoonian K, Aflatoonian R. Human sperm DNA damage has an effect on immunological interaction between spermatozoa and fallopian tube. *Andrology* 2019;7:228-234.
- Zapalska-Sozoniuk M, Chrobak L, Kowalczyk K, Kankofer M. Is it useful to use several “omics” for obtaining valuable results? *Mol Biol Rep* 2019;46:3597-3606.
- Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, Rijkmans CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril* 1984;42:293-296.
- Zeyad A, Hamad MF, Hammadeh ME. The effects of bacterial infection on human sperm nuclear protamine P1/P2 ratio and DNA integrity. *Andrologia* 2018;50:e12841.
- Zhang G, Wang Z, Ling X, Zou P, Yang H, Chen Q, Zhou N, Sun L, Gao J, Zhou Z, et al. Mitochondrial biomarkers reflect semen quality: results from the MARCHS study in Chongqing, China. *PLoS One* 2016;11:e0168823.
- Zhang Y, Zhang X, Shi J, Tuorto F, Li X, Liu Y, Liebers R, Zhang L, Qu Y, Qian J, et al. Dnmt2 mediates intergenerational transmission of paternally acquired metabolic disorders through sperm small non-coding RNAs. *Nat Cell Biol* 2018;20:535-540.
- Zhang X, Zhang P, Song D, Xiong S, Zhang H, Fu J, Gao F, Chen H, Zeng X. Expression profiles and characteristics of human lncRNA in normal and asthenozoospermia sperm. *Biol Reprod* 2019a;100:982-993

- Zhang Y, Shi J, Rassoulzadegan M, Tuorto F, Chen Q. Sperm RNA code programmes the metabolic health of offspring. *Nat Rev Endocrinol* 2019b;15:489-498.
- Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2014;102:998-1005.e8.
- Zhao Y, Li Q, Yao C, Wang Z, Zhou Y, Wang Y, Liu L, Wang Y, Wang L, Qiao Z. Characterization and quantification of mRNA transcripts in ejaculated spermatozoa of fertile men by serial analysis of gene expression. *Hum Reprod* 2006;21:1583-1590.
- Zheng WW, Song G, Wang QL, Liu SW, Zhu XL, Deng SM, Zhong A, Tan YM, Tan Y. Sperm DNA damage has a negative effect on early embryonic development following in vitro fertilization. *Asian J Androl* 2018;20:75-79.
- Zhou D, Suzuki T, Asami M, Perry ACF. Caput epididymal mouse sperm support full development. *Dev Cell* 2019;50:5-6.
- Zhou J-H, Zhou Q-Z, Yang J-K, Lyu X-M, Bian J, Guo W-B, Chen Z-J, Xia M, Xia H, Qi T, et al. MicroRNA-27a-mediated repression of cysteine-rich secretory protein 2 translation in asthenoteratozoospermic patients. *Asian J Androl* 2017;19:591-595.
- Zhou W, Iuliis GN De, Dun MD, Nixon B. Characteristics of the epididymal luminal environment responsible for sperm maturation and storage. *Front Endocrinol* 2018;9:59.
- Zhou Y, Deng CC, Liu WJ, Liu H, Zheng H Bin, Tang YG, Zhang XZ, Deng JH. Reproductive outcomes of intracytoplasmic sperm injection using testicular sperm and ejacula-

- ted sperm in patients with AZFc microdeletions: a systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl* 2021;23:495-500.
- Zhu P, Guo H, Ren Y, Hou Y, Dong J, Li R, Lian Y, Fan X, Hu B, Gao Y, et al. Single-cell DNA methylome sequencing of human preimplantation embryos. *Nat Genet* 2018;50:12-19.
- Ziskind G, Paltiel Y, Eibschitz I, Ohel G, Weichselbaum A. The effect of human fallopian tube epithelium on human sperm velocity motility and binding. *J Assist Reprod Genet* 2000;17:147-150.
- Zorca SM, Zorca CE. The legacy of a founding father of modern cell biology: George Emil Palade (1912-2008). *Yale J Biol Med* 2011;84:113-116.
- Zúñiga LM, Andrade JC, Fábrega-Guerén F, Orihuela PA, Velásquez EV, Vidal EA, Gutiérrez RA, Morales P, Gómez-Silva B, Croxatto HB. Mating induces early transcriptional response in the rat endosalpinx: the role of TNF and RA. *Reproduction* 2021;161:43-59.



Discurso de contestación

Excma. Sra. Dra. D^a. M. Àngels Calvo Torras

DISCURSO DE RECEPCIÓN DEL DR. MARC YESTE OLIVERAS

Con la venia,

Excmo. Sr. Presidente, de la Real Academia Europea de Doctores, Dr. Alfredo Rocafort Nicolau, Excmos. Sres. Académicos presentes en la sala y que nos acompañan en forma telemática, autoridades, familiares y amigos del recipiendario, Sras, y Sres..

Permítanme que inicie mi intervención en el Solemne Acto de ingreso del Dr. Marc Yeste como Académico Correspondiente, manifestando mi agradecimiento a la Junta de Gobierno de la Real Academia Europea de Doctores y en especial a su Presidente, Excmo. Sr. Dr. D. Alfredo Rocafort Nicolau por haberme concedido el honor de dar la bienvenida al recipiendario en nombre de la Corporación, mediante la lectura del discurso preceptivo que me permitirá compartir con Vdes., los méritos del Dr. Yeste, así como realizar una breve glosa del contenido de su brillante discurso, de interés y actualidad indiscutible como ya hemos podido apreciar.

Hoy, la Academia se honra en acoger entre sus miembros a un nuevo académico que une a sus méritos investigadores y docentes, su gran capacidad de colaborar con una amplia variedad de grupos de investigación nacionales e internacionales, con los que comparte su incansable deseo de ampliar conocimientos en su principal línea de investigación de la que acaba de resumir los principales avances.

El Excmo. Sr. Dr. Marc Yeste, nació en Girona, hijo de una familia modesta y luchadora. Su padre trabajaba en un ferre-

tería, y también ayudaba a su madre que tenía una tienda de comestibles, frutas y verduras, en la que Marc pasó muchos de sus ratos libres echándoles una mano. Sin duda, los valores del esfuerzo, la tenacidad y el compromiso que tanto le ayudarían en su carrera académica los adquirió de sus padres, a quienes siempre vio como un incansable modelo a seguir, pues afrontaron un sinnúmero de retos y dificultades de todo tipo, que siempre encararon y superaron con entereza, valentía y estoicismo. Su familia, que nos acompaña hoy, ha sido un puntal fundamental en la vida de Marc y un apoyo inestimable en los momentos difíciles. Seguro que su padre, el mejor padre del mundo como dice siempre Marc, ejemplo de lucha contra la enfermedad, también nos acompaña y está muy orgulloso de ver a su hijo en un día como hoy.

El Dr. Yeste cursó la educación primaria y el bachillerato en el colegio La Salle de su ciudad natal. Desde muy pequeño, llama su atención por su curiosidad por las ciencias y las humanidades, y aunque eligió las primeras en su bachillerato, sigue definiéndose como una persona de letras puras (humanidades) haciendo de científico.

Es licenciado en Biología por la Universidad de Girona, master en Biotecnología y Doctor Europeo (Biología Celular). Su bagaje de estudios es muy amplio ya que ha cursado Ciencias Políticas y Sociología (obteniendo el premio extraordinario al mejor expediente de la promoción), así como estudios de derecho y filosofía en la Universidad Nacional de Educación a Distancia.

Su tesis doctoral la llevó a cabo de la mano del Profesor Dr. Sergi Bonet, su director, principal mentor, amigo y colaborador hasta el día de hoy, y durante la misma efectuó dos estancias de

investigación en el Instituto de Zoología de Londres (Zoological Society of London; 2006-2007), donde tuvo la oportunidad de trabajar con el Profesor Bill Holt, investigador especializado en el campo de la Criobiología y la conservación de especies. Regresó a Girona, donde fue Profesor de Biología Celular de la entonces naciente Facultad de Medicina de la Universidad de Girona (2008-2010).

En 2011, se trasladó al Departamento de Medicina y Cirugía Animales de la Universidad Autónoma de Barcelona como Investigador post-doctoral Juan de la Cierva. Durante este período, fue profesor de Tecnología de la Reproducción y Fisiología Obstétrica, y de Reproducción Animal en la Facultad de Veterinaria. Tuvo la oportunidad de trabajar e iniciar una colaboración fructífera con el profesor y buen amigo, Joan Enric Rodríguez Gil, quien ejerció también una notable influencia en Marc, y con los profesores Montserrat Rivera, Jordi Miró, Teresa Mogas y Teresa Rigau, con quienes forjó una buena amistad, con numerosas colaboraciones que aún hoy siguen activas.

Entre los años 2014 y 2016, Marc fue Investigador Marie Curie en el Departamento de Women's and Reproductive Health de la Universidad de Oxford y se inició en la docencia en el Máster de Embriología Clínica, al que sigue vinculado. Gracias a su paso por aquella universidad, el Dr. Yeste completó su bagaje previo en reproducción animal con investigaciones de diversa índole en el campo de la reproducción humana y la infertilidad. También en Oxford empezó a trabajar con el Profesor Kevin Coward y con Celine Jones, en la línea de investigación de la deficiencia en la activación del oocito.

En 2016, se reincorporó a la Universidad de Girona como Investigador Ramón y Cajal, siendo seleccionado como el primero de su convocatoria y área de investigación, a nivel nacional.

Actualmente, el Dr. Yeste es Investigador ICREA Academia y Profesor de Biología Celular en el Departamento de Biología de la Universidad de Girona. Asimismo fue nombrado Director Científico del Centro de Biotecnología de la Reproducción TechnoSperm, adscrito al Instituto de Tecnología Agroalimentaria, e imparte docencia en las Facultades de Medicina, Enfermería y Ciencias, en la Escuela Politécnica Superior, y en los másteres de Biología Molecular y Biomedicina, y de Biotecnología Alimentaria.

Ha sido, además, Profesor Visitante en la Universidad de Oxford (Reino Unido), la Universidad de Coventry (Reino Unido), la Universidad de Sao Paulo (Brasil), la Universidad Antonio Nariño (Colombia), la Universidad Federal de Lavras (Brasil), la Universidad de Alicante, la Universidad de Murcia y la Universidad de Santiago de Compostela.

Cabe destacar que el Dr. Yeste es Editor jefe de *Animal Reproduction Science*, Editor Senior de *Scientific Reports* (la revista multidisciplinar del grupo Nature); Editor Asociado de *BMC Biology, Reproducción, Fertilidad y Development* (CSIRO Publishing), *Frontiers in Physiology* (Frontiers) y *Frontiers in Endocrinology* (Frontiers); y miembro de los comités editoriales de *Theriogenology* y *Cryobiology* (Elsevier).

Ha sido revisor de artículos científicos para más de 120 revistas internacionales, y evaluador de proyectos de investigación y contratos de personal docente e investigador de varias agencias de evaluación, tanto nacionales como internacionales (AEI, España; BBRSC, Reino Unido; Teagasc, Irlanda, Marie Curie-COFUND, UE; NSERC, Canadá; MRC, Reino Unido; CONCYT, Argentina; NSC, Polonia; Lalor Foundation, EE.UU.; NWO, Países Bajos; MOST, Israel; y GACR, República Checa).

La investigación del recipiendario, ha estado fundamentalmente orientada a la Biología Celular y de la Reproducción en mamíferos de diferentes especies (humana, equina, porcina, bovina, ovina, felina y canina).

Entre los temas investigados destacan: la fisiología y la capacitación espermáticas, las interacciones entre los espermatozoides y las células epiteliales de diferentes órganos reproductores (epidídimo y trompa de Falopio), la criopreservación de gametos y embriones, el control sanitario del semen (presencia y crecimiento de microbios), la genética de la infertilidad, la deficiencia en la activación oocitaria, la maduración in vitro de los ovocitos y la preservación de la fertilidad.

Fruto de esta investigación, ha publicado alrededor de 400 contribuciones científicas: más de 240 artículos y más de 130 resúmenes en revistas internacionales indexadas en el SCI/JCR, la mayor parte de Quartil 1.

Además, es inventor de una patente y autor de cinco artículos en revistas de divulgación, 17 capítulos de libro y más de 260 comunicaciones en Congresos (ponente invitado en más de 30).

Ha participado también en más de 100 proyectos de investigación competitivos y contratos con empresas nacionales, estatales e internacionales (IP en más de 40), lo que incluye financiación de la Comisión Europea (programas FP7 y H2020). Coordina, asimismo, el grupo de investigación consolidado en biotecnología de la reproducción reconocido y financiado por la Generalitat de Catalunya, que agrupa a varios investigadores de la Universidad Autónoma de Barcelona y de la Universidad de Girona.

Ha dirigido 16 tesis doctorales, supervisado 12 post-doctorados, 27 trabajos de fin de Master y más de 60 estudiantes de grado y licenciatura. Muchos de sus colaboradores, pasados y presentes, buenos amigos y su segunda familia - como dice él - han hecho esfuerzos para acudir hoy en este acto. Dos de sus antiguos estudiantes de doctorado, ahora investigadores postdoctorales en la Universidad de Cambridge y en el Max Planck Institute de Múnich, han incluso avanzado su retorno para acompañarle en un día como hoy.

Ha sido nombrado Fellow de la Royal Society of Medicine del Reino Unido, y miembro de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), la Sociedad internacional de Criobiología (SfC), la Sociedad Europea de Reproducción Animal (ESDAR), la Federación Europea de Ciencia Animal (EAAP) y de la Asociación Española de Reproducción Animal (AERA).

Su actividad docente e investigadora ha sido reconocida tanto a nivel nacional como internacional. Está acreditado como Catedrático de Universidad por la Agencia para la Calidad del Sistema Universitario de Cataluña (AQU) y por la Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación (ANECA), y como Chartered Scientist (CSci) y Chartered Science Teacher (CSciTeach) por el Science Council. En 2020 fue reconocido como Chartered Biologist (CBiol) por la Royal Society of Biology.

El recipiendario es Fellow de la Higher Education Academy (HEA) desde 2015, Fellow de la Royal Society of Biology (RSB) desde 2020, y Fellow de la Young Academy of Europe (YAE) desde 2021. Desde 2023, es, además, Secretario de esta Young Academy of Europe.

Entre sus aficiones, destacan el deporte, leer, tocar el piano, y viajar y hacer excursiones, y muy especialmente el baile, fundamentalmente la salsa y la bachata.

En relación con su detallado discurso de recepción, debo destacar que el Dr. Yeste lo inicia con un recorrido por la historia y la influencia que las Academias, destacando su evolución y su papel como garantes de la ciencia y el saber y como fieles trasmisoras del conocimiento a la sociedad.

Enlaza de forma magistral, a nuestro entender, los valores de las Academias con la ciencia y sus paradigmas a través de la Epistemología y acercándonos a filósofos de la Ciencia como Kuhn y Lakatos. Siguiendo a Kuhn y como nos ha indicado, lo importante del cambio científico, es que un paradigma a lo largo del tiempo entra en crisis y un paradigma rival puede conseguir un mayor número de defensores que el anterior, independientemente de si este nuevo paradigma es “mejor” epistémicamente o no. Por ello en su discurso, el Dr. Yeste ha puesto en evidencia que la biología reproductiva y el estudio de la infertilidad se adentran en un nuevo paradigma, dado que actualmente, se acumulan notables evidencias de que los factores paternos tienen más importancia de la de la atribuida inicialmente.

En su discurso ha desglosado de forma sistemática desde el origen o génesis de los espermatozoides y su función, describiendo los cambios fundamentales en la organización de la cromatina espermática durante la espermatogénesis y el proceso de maduración epididimaria una vez finalizada y en consecuencia el desprendimiento de las células de Sertoli y su liberación a la red testicular. Cabe recordar que durante la maduración epididimaria, los espermatozoides adquieren la motilidad progresiva, fundamental para el desarrollo de su función. Los espermatozoides se acumulan en el epidídimo hasta la eyaculación.

Detalla a continuación como se lleva a cabo el transporte de espermatozoides a través del tracto reproductivo femenino y la respuesta inmunitaria innata en la vagina y el cuello uterino, que implica la migración de anticuerpos femeninos, del sistema del complemento y de células inmunes, como leucocitos y neutrófilos, aunque se debe destacar que los espermatozoides han desarrollado medidas para contrarrestar esto, principalmente mediante una supresión selectiva de la reacción inmune femenina.

Superada esta fase se produce la fecundación. El recipiendario, dedica varios apartados de su discurso a detallar el papel de los componentes del espermatozoide tras la fecundación y su incidencia sobre los oocitos así como su implicación en la embriogénesis por lo que destaca su papel en el éxito de la fecundación *in vitro*. Técnica de gran aplicación y éxitos reconocidos en la actualidad

Aunque mi campo de especialización pueda parecer muy lejano al contenido del discurso que acabamos de escuchar, quisiera destacar que hace más de 300 años, el científico neerlandés y pionero de la microbiología Antón van Leeuwenhoek, pudo observar a través del microscopio que él mismo había construido, el movimiento del espermatozoide humano que describió como un “culebreo” de lado a lado de la cola del gameto que lo impulsaba hacia adelante. Movimiento que hoy se describe de forma mucho más compleja y que como hemos indicado desempeña un papel crucial en el proceso de fecundación

Enhorabuena, Dr. Yeste por su discurso, inicio sin duda de sus actividades en la Real Academia Europea de Doctores que se honra y enriquece con la incorporación de un nuevo académico al que recibimos con los brazos abiertos y con el deseo de que entre todos y con su inestimable colaboración seamos

capaces de dar fiel cumplimiento a la misión encomendada a los académicos y por ende a la academia y que como bien sabemos, incluye: buscar la verdad, defender la vida, trabajar para y por la ciencia y proclamar la convivencia intercultural.

Marc, esta es tu casa.

Muchas gracias a todos por su amabilidad al escucharme.



**PUBLICACIONES DE LA REAL ACADEMIA
EUROPEA DE DOCTORES**

Publicaciones



Revista RAED Tribuna Plural





M. ÀNGELS CALVO es Licenciada y Doctor en Farmacia por la UB. Premio extraordinario de Licenciatura. Licenciada y Doctor en Veterinaria por la UCM. Diplomada en Sanidad y Especialista en Microbiología y Parasitología. Catedrática Emérita de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Ha publicado más de 230 trabajos de investigación. Ha colaborado en la redacción de capítulos de libros de Micología y Microbiología. Ha dirigido 42 tesinas y 20 tesis doctorales. Ha recibido 13 premios por su labor investigadora.

Es Acad. Num. de la RA de Medicina de Cataluña, de la RA de Doctores de Madrid, de la Academia de Veterinaria de Cataluña, de la RA Europea de Doctores de Cataluña, de la RA Academia de Farmacia de Cataluña, Académica Correspondiente de la RA de Medicina de Madrid, de la RA, de la Acad. Nac. de Med. de México, de la Acad. Nac. de Veterinaria de México, Miembro del I.M.F.C, de la Soc. Argentina de Veterinaria y de la Cof. Interno. de Investigadores de Toledo.

Ha sido Miembro del Comité Científico de Nutrición Animal (SCAN), siendo en la actualidad Experto de la CE. Fue Vice-Decana y Decana de la Facultad de Veterinaria de la UAB. Se Miembro del Consejo Asesor de la Salud Pública Catalana. Vice-Presidenta de la RAED, Secretaria general de la ACVC, Secretaría general adjunta de la RAMC y Miembro de la Junta de Gobierno de la RAFC.

Tiene reconocidos seis tramos de investigación y de docencia a nivel estatal y autonómico, es evaluadora de diferentes agencias nacionales e internacionales.



“Omnis cellula e cellula”

(Rudolf Virchow)

“Rather than being an interpreter, the scientist who embraces a new paradigm is like the man wearing inverting lenses”

(Thomas Kuhn)

“Dans la vie rien n'est à craindre tout est à comprendre”

(Marie Curie)

1914 - 2023

Colección Real Academia Europea de Doctores



**Generalitat
de Catalunya**

