

EL ÁCIDO GRASO DEL PLASMA SEMINAL NO ES UN BUEN PREDICTOR DE LA CONGELACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES DE EPIDÍMIO DE CABALLO

Vieira, LA., Matás, C. y Gadea, J

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Campus de Excelencia Internacional para la Educación Superior e Investigación (Campus Mare Nostrum), Universidad de Murcia, Murcia 30100, España E-mail: luisalberto.vieira@um.es, Instituto de Investigación Biomédica de Murcia IMIB-Arrixaca, Murcia, España.

INTRODUCCIÓN

La variabilidad que existe entre los sementales en lo que respecta la congelación de los espermatozoides (Loomis and Graham, 2008) de caballo, reduce la posibilidad de lograr un resultado satisfactorio en este campo. En ese sentido, Aurich et al. (1996) atribuyen esa variabilidad a la composición del plasma seminal (PS). Así, se ha determinado que la concentración de proteínas en el PS de distintos animales (Kareskoski et al., 2011), los tipos de ácidos grasos y la capacidad antioxidante total (TAC) (Martínez-Soto et al., 2013), determinan que sean buenos o malos congeladores. En estudios recientes donde se evaluaron el efecto de PS de diferentes sementales sobre la viabilidad y el daño acrosomal de los espermatozoides de epidídimo de caballo congelado-descongelado (Vieira et al., 2016), observaron efectos positivos y perjudiciales sobre la integridad de la membrana espermática dependiendo del semental. Estos mismos autores, demostraron una relación positiva entre la concentración de proteínas y TAC con una relación lineal de coeficiente de índice de Pearson $r=0.94$. Por otro lado, Martínez-Soto et al. (2013) evidenció una relación de tipos de ácidos grasos presentes en el PS con la calidad seminal después de la congelación-descongelación. El objetivo de este estudio fue investigar si la composición de los ácidos grasos está relacionada con la congelabilidad de los espermatozoides de epidídimo de caballo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los espermatozoides se obtuvieron de la cola de epidídimo de testículos de 12 machos castrados o sacrificados en el matadero. El transporte al laboratorio se realizó en recipiente isoterma en tiempo inferior a 1 h desde la obtención de los testículos. Seguidamente se procedió al lavado de los mismos con solución salina fisiológica y se procedió a la disección de la cola del epidídimo. Con un catéter de inyección intravenosa (21G) acoplada a una jeringuilla de 10 mL, se introdujo el aire en el conducto deferente para la posterior obtención de los espermatozoides. El PS fue obtenido de tres sementales de fertilidad probada denominados como: A, F y O. La obtención de la muestra seminal se realizó mediante una vagina artificial con la ayuda de una yegua en celo. Posteriormente el eyaculado se sometió a dos centrifugaciones (3000 g durante 30 min a 4°C) y, el sobrenadante se congeló en alícuotas de 1 mL a 20°C hasta el momento de su uso. Los lípidos totales fueron extraídos según el método descrito por Folch et al. (1957). La transmetilación se realizó según describe Christie y Han (2010). Los ácidos grasos extraídos, neutralizados con 2 mL de KHCO_3 al 2% y disueltos nuevamente en 1 mL de iso-hexano. Se separó y se cuantificó de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (ácidos grasos saturados-SFA, monoinsaturados-MUFA y poliinsaturados-PUFA) mediante cromatografía gas-líquido. Las concentraciones de ácidos grasos se expresaron como porcentaje total del contenido de lípidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados (Tabla 1) muestran que el PS del macho O presenta una mayor proporción de SFA que el macho A y el macho F. Mientras que el macho F tiene una menor proporción de MUFA y el porcentaje más alto de PUFA que el macho A y el macho O. Luego, la proporción de SFA/PUFA del macho F fue menor en relación a los machos A y O. Después del análisis de la PUFA, se observó que el macho F mostraba valores más altos,

principalmente omega-6, mientras que los omega-3 fueron similares entre ellos. Por lo tanto, la proporción entre omega-6/omega-3 fue mayor para el macho F que para los machos A y O. Martínez-Soto et al. (2013) correlacionaron los SFA y MUFA con mala calidad seminal, mientras que los PUFA están correlacionados con la calidad seminal y la fertilidad (Safarinejad et al., 2010). Previamente habíamos demostrado que el PS de dos machos (F y O) con mayor (F) e intermedia (O) concentración de proteínas y TAC respectivamente, mejoraron la viabilidad y previnieron el daño acrosomal en relación al control y al macho (A) con menor concentración de proteínas y menor TAC, quienes redujeron esos valores (Vieira et al., 2016). En ese sentido, hemos querido investigar si la composición de los ácidos grasos de estos sementales (A, F y O) estaría relacionada con las concentraciones de las proteínas y TAC de PS. Sin embargo, no hemos apreciado esa relación, ya que el macho (O) que previamente mejoró la viabilidad y previno el daño acrosomal, presentó un porcentaje similar de SFA y MUFA (relacionados con mala calidad seminal), y menor porcentaje de PUFA (relacionado con la calidad seminal) que el macho (A) que redujo dichos parámetros. Estos resultados sugieren que la composición lipídica del PS no es un claro predictor de la congelación de los espermatozoides de epidídimo.

Tabla 1. Porcentajes de diferentes ácidos grasos del plasma seminal de tres sementales.

Ácidos grasos	Valores medios (%)	A (%)	F (%)	O (%)
SFA	62,9	61,42	61,07	66,16
MUFA	20,38	22,64	15,91	22,59
PUFA	16,7	15,94	23,02	11,24
Omega-3	7,17	7,28	8,15	6,07
Omega-6	9,57	8,67	14,87	5,17
Ratio ω -6/ ω -3	1,29	1,19	1,82	0,85
Ratio SFA/PUFA	4,13	3,85	2,65	5,88

SFA: ácidos grasos saturados, MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, ω -3: omega-3, ω -6: omega-6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aurich, J.E., Kuhne, A., Hoppe, H., Aurich, C., 1996. Theriogenology 46: 791-797. • Christie, W.W., Han, X., 2010. Oily Press Bridgewater, UK. • Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. Journal of Biological Chemistry 226: 497-509. • Kareskoski, A.M., del Alamo, M.M., Guvenc, K., Reilas, T., Calvete, J.J., Rodriguez-Martinez, H., Andersson, M., Katila, T., 2011. Reprod. Domes. Anim. 46: e79-e84. • Loomis, P.R., Graham, J.K., 2008. Anim. Reprod. Sci. 105: 119-128. • Martínez-Soto, J.C., Landeras, J., Gadea, J., 2013. Andrology 1: 365-375. • Safarinejad, M.R., Hosseini, S.Y., Dadkhah, F., Asgari, M.A., 2010. Clinical Nutrition 29: 100-105. • Vieira, L. Matás, C and Gadea, J. 18th International Congress of Animal Reproduction. 26- 30 June 2016. Tours, France. PW124.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Fundación Séneca, Saavedra Fajardo (20020/SF/16). MINECO-FEDER (AGL 2015-66341-R).

FATTY ACID FROM SEMINAL PLASMA IS NOT A GOOD FREEZABILITY PREDICTOR OF STALLION EPIDIDYMAL SPERM

ABSTRACT: Previously we studied the effect of SP from different stallions (A, F, O) on the viability and acrosome status of epididymal frozen-thawed spermatozoa. SP from two stallions (F and O) improved the values in comparison to control and another stallion (A) who reduced the values (Vieira et al., 2016). A positive correlation between total antioxidant capacity (TAC) and protein concentration (linear Pearson correlation index $r = 0.94$) has been observed. The aim of this study was to investigate if the fatty acid composition is related with freezability of stallion epididymal sperm. Our findings showed that SP from stallion O had a greater proportion of SFA and low PUFA percentage than stallion A and F. On the other hand, MUFA level was similar to stallion A and higher to stallion F. While PUFA level was higher for stallion F than A and O. These results suggest that SP lipid composition is not a clear freezability predictor of stallion epididymal sperm.

Keywords: Epididymal sperm, stallion, fatty acid composition, seminal plasma.