

EFECTO QUIMIOTÁCTICO DEL FLUIDO FOLICULAR DE LA OVEJA SOBRE LOS ESPERMATOZOIDES OVINOS

Miguel-Jiménez, S., Arribas, A., Casao, A. y Pérez-Pe, R.

Grupo BIOFITER-Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular - Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. saramiguel@unizar.es

INTRODUCCIÓN

El fluido folicular conforma el entorno bioquímico en el que se desarrolla el ovocito previamente a su ovulación. Contiene hormonas, iones, metabolitos y factores de crecimiento, entre otros muchos compuestos, cuya concentración varía a lo largo del ciclo reproductivo estral. Alguno de estos compuestos podría estar involucrado en la respuesta quimiotáctica de los espermatozoides, mediante la cual serían guiados hacia el ovocito para que se produzca la fecundación. Un requisito fundamental para que la fecundación se produzca con éxito, es que los espermatozoides hayan sufrido el proceso de capacitación, un conjunto de cambios moleculares y bioquímicos que le confieren la capacidad fecundante. Estudios previos en mamíferos han demostrado el efecto quimioatrayente del fluido folicular sobre espermatozoides capacitados (Eisenbach *et al.*, 1999), pero hasta el momento no existe ningún estudio en la especie ovina. Por ello, el objetivo de este trabajo fue investigar la capacidad quimiotáctica del fluido folicular de la oveja sobre los espermatozoides ovinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Teniendo en cuenta la composición variable del fluido folicular a lo largo del ciclo estral de la oveja, se ensayaron fluidos obtenidos en dos momentos distintos del ciclo: en fase folicular temprana (FFT, proestro) y luteal temprana (FLT, metaestro), ambos a concentraciones de 2% y 10% (v/v). Se utilizó semen de moruecos adultos y, con el fin de eliminar el plasma seminal de la muestra fresca, se seleccionaron los espermatozoides mediante el método swim-up/dextrano. Se indujo la capacitación espermática *in vitro* en ausencia y presencia de agentes elevadores del AMPc (muestras control y Cap-C, respectivamente). Tras la valoración de la calidad espermática (motilidad, viabilidad y estado de capacitación) antes (swim-up) y después de la capacitación *in vitro* (control y Cap-C), se realizaron los ensayos de quimiotaxis utilizando cámaras IBIDI® μ -Slide Chemotaxis, y se analizaron mediante el software de acceso libre OpenCASA, desarrollado por nuestro grupo de investigación (Alquézar-Baeta *et al.*, 2019). Este software proporciona un valor de índice quimiotáctico, y las diferencias estadísticas de este índice entre condiciones experimentales se evaluaron utilizando el software GraphPad Prism (versión 5.1; USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguno de los fluidos foliculares, a las dosis ensayadas, mostraron una acción quimioatrayente sobre los espermatozoides sin capacitar (muestras swim-up). Sin embargo, tanto el FFT como el FLT, provocaron un aumento en el índice quimiotáctico cuando se expusieron a espermatozoides capacitados en presencia y en ausencia de elevadores de AMPc, siendo el efecto quimioatrayente más acusado cuando se ensayaron a concentración del 10 % (v/v). Estos resultados están en concordancia con estudios previos en espermatozoides de conejo y humano, sobre los que el fluido folicular ejerce una acción quimioatrayente sólo cuando éstos completan la capacitación (Cohen *et al.*, 1995; Fabro *et al.*, 2002).

CONCLUSIÓN

El fluido folicular de oveja, en fase folicular y luteal temprana, ejerce una acción quimiotáctica únicamente sobre los espermatozoides ovinos capacitados *in vitro*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Eisenbach, M. 1999. Dev. Genet. 25(2): 87-94
- Alquézar-Baeta, C. *et al.* 2019. PLoS. Comput. Biol. 15(1): e1006691
- Cohen-Dayag, A. *et al.* 1995. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 92(24): 11039-43
- Fabro, G. *et al.* 2002. Biol. Reprod. 67(5): 1565-1571.

Agradecimientos: AGL2017-83799-R, DGA-A07_17R y IUCA. S.M.-J. disfruta de un contrato predoctoral de la Diputación General de Aragón (DGA). Los autores agradecen a la Dra. Pilar Coy (Dpto. Fisiología, F. Veterinaria, Universidad de Murcia) la donación de los fluidos foliculares de oveja.