

VESÍCULAS EXTRACELULARES OVIDUCTALES Y UTERINAS DE CERDAS GESTANTES TRAS SER INSEMINADAS CON FRACCIONES ACUMULATIVAS DEL EYACULADO

Toledo¹, S., Luongo¹, C., García-Vázquez^{1,2}, F.A. y Matás^{1,2*}, C.

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Campus de Excelencia Mare Nostrum. Universidad de Murcia, 30100, Murcia, Spain. ²IMIB-Arrixaca, Murcia, Spain

*cmatas@um.es

INTRODUCCIÓN

Es habitual en la inseminación artificial (IA) porcina, que las dosis seminales se preparen sólo con la fracción rica del eyaculado. Sin embargo, la justificación de esta metodología muestra cierta controversia, ya que el plasma seminal (PS) promueve entre otros factores, el desarrollo del embrión a través de vías de señalización específicas al tracto genital femenino. En estas vías, participan las vesículas extracelulares (VEs), las cuales representan un modo de comunicación intercelular mediante la transferencia de su contenido (ARN, proteínas y lípidos) a las células diana. El objetivo de este trabajo fue analizar el tamaño y concentración de proteína de las VEs del fluido oviductal (FO) y uterino (FU) procedente de cerdas antes de la implantación, tras haber sido inseminadas con diferentes fracciones acumulativas del eyaculado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron 6 verracos de fertilidad probada (Pietrain German Genetics) y con calidad seminal similar. Las dosis seminales (30×10^6 espermatozoides en 60 ml) se conservaron a 16 °C hasta el momento de su uso. Después, se inseminaron con 3 diferentes fracciones acumulativas del eyaculado (F1 = fracción rica en espermatozoides; F2 = F1+fracción intermedia y F3 = F1 + F2 + fracción pobre) por IA post-cervical, un total de 15 cerdas híbridas (Large-White x Landrace genética Danbred) con paridad y condiciones corporales similares. A los 6 días de la última inseminación, las cerdas se sacrificaron, se recogieron sus tractos genitales y se extrajeron las VEs del FO y del FU mediante ultra centrifugaciones (Théry *et al.*, 2006). Como grupo control, se utilizaron 5 cerdas sin inseminar, de las mismas características que los grupos experimentales anteriores y en la misma etapa del ciclo. Tras aislar las VEs, se determinó el tamaño de éstas mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y la concentración de proteína contenida en su cargo con el kit de ensayo Coomassie-Plus Bradford. Para el análisis estadístico, se aplicó ANOVA de una vía seguido de una prueba post-hoc de Tukey con el programa SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que el tamaño y la concentración de proteína de las VEs del FO y del FU era independiente de las fracciones del eyaculado. Sin embargo, al analizar estos parámetros entre cerdas inseminadas y no inseminadas, se observó que tanto la concentración de proteína en el FO ($0,04 \pm 0,03$ vs. $0,33 \pm 0,21$ $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), como en el FU ($0,57 \pm 0,61$ vs. $3,36 \pm 2,17$ $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), era mayor en el grupo de cerdas no inseminadas ($p < 0,05$). No hemos encontrado estudios que relacionen el efecto de las fracciones del eyaculado y la producción de VEs, por lo que no hemos podido corroborar nuestros resultados. En relación a la menor cantidad de proteína encontrada en VEs de las cerdas gestantes, podría explicarse por la internalización de estas proteínas por parte del embrión. En vacuno se ha observado que el FO y FU presentan una composición diferente en vacas preñadas respecto a las cíclicas (revisado por Rodríguez-Alonso *et al.*, 2020). Por lo que, de la misma manera, las proteínas de las VEs del FO y FU, podrían modularse en animales gestantes. No obstante, son necesarios más estudios para determinar los efectos paracrinos de las VEs producidas por el embrión sobre el epitelio oviductal y uterino.

CONCLUSIÓN

Las fracciones del eyaculado no influyen en el tamaño ni en la concentración de proteína de las VEs pero sí, el estado de gravidez de la cerda.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Théry C., Amigorena S., Raposo G. & Clayton A. 2006. *Curr Protoc Cell Biol*, Chapter 3: 3-22. • Rodríguez-Alonso B., Sánchez, J.M., González, E., Lonergan, P. & Rizos, D. 2020. *Theriogenology* 150: 139-149.

Agradecimientos: Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-106380RB-I00/AEI/10.13039/501100011033) y (PDC2022-133589-I00-E05071301) y la Fundación Séneca (21656/PDC/21).