

RELOCALIZACIÓN DE LA ACUAPORINA 3 EN ESPERMATOZOIDES DE MACHOS CABRÍOS TRAS LOS PROCESOS DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN

Pequeño^{1*}, B., Laborda², JA., Bóveda¹, P., Castaño¹, C., Toledano-Díaz¹, A.,
Martínez-Madrid³, B. Soler², AJ. y Santiago-Moreno¹, J.

¹Departamento de Reproducción Animal, INIA-CSIC. Madrid, España. ²Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) Albacete, España. ³Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, UCM, Madrid, España
*pequeno.belen@inia.csic.es

INTRODUCCIÓN

La acuaporina 3 (AQP3) es una proteína de membrana cuya localización, a lo largo del espermatozoide, puede verse afectada por los cambios osmóticos que acontecen durante los procesos de congelación-descongelación, y que parece involucrada en la criorresistencia espermática (Santiago-Moreno *et al.*, 2022). Se ha apuntado que la congelación-descongelación puede, además, producir una relocalización de AQPs. El objetivo de este trabajo es conocer si estos cambios en la localización se establecen de forma permanente o temporal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 5 eyaculados obtenidos mediante vagina artificial de 5 machos cabríos mantenidos en la granja experimental del INIA-CSIC. Se analizó la presencia de AQP3 por western blot (WB) y su localización por inmunocitoquímica (ICC) y citometría de flujo, utilizándose anticuerpos comerciales anti-AQP3 policlonal (ab 125219). Los análisis se realizaron tras la descongelación y después de un periodo de incubación de 6 horas en un medio Tyrode. Los datos se analizaron mediante un t-test.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

WB detectó la presencia de AQP3 como una banda en torno a 32 kDa. AQP3 fue localizada por ICC en el acrosoma, post-acrosoma, tracto intermedio, tracto principal y final de la cola espermática. Tras el periodo de incubación en el medio Tyrode se observó una disminución ($p < 0,05$) de la proporción de espermatozoides con presencia de AQP3 en el acrosoma, tracto intermedio y principal. La citometría de flujo identificó una menor localización de AQP3 ($p < 0,05$) en el tracto intermedio de las muestras tras la incubación. Las diferencias entre análisis pueden deberse al hecho de que la citometría no discriminaba entre localizaciones en acrosoma y post-acrosoma (todas las refiere como localización en cabeza) y a la diferencia del número de células analizadas entre ambas técnicas (cientos en el caso de la ICC frente a miles en citometría de flujo). Los resultados sugieren que los cambios de localización de AQP3 que se pueden dar tras la congelación de la célula espermática no serían permanentes, y que tras un periodo de incubación pueden acontecer procesos de relocalización. Estos cambios en la localización también han sido observados en otros tipos celulares (adipocitos, células neoplásicas, etc.) (Markou *et al.*, 2022) y apuntan procesos de adaptación celular ante nuevos escenarios osmóticos.

CONCLUSIÓN

La incubación de muestras espermáticas descongeladas determina una relocalización de la AQP3 en diferentes áreas del espermatozoide. Estos cambios deben tenerse en cuenta en la valoración de la expresión de la AQP3 y su relación con animales considerados como buenos o malos congeladores en función de la criorresistencia de sus eyaculados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Markou, A., Unger, L., Abir-Awan, M., Saadallah, A., Halsey, A., Balklava, Z., Corner, M., Törnroth-Horsefield, S., Greenhill, S.D., Conner, A.; Bill, R.M., Salman, M.M., & Kitchen, F. 2002. Biomembranes 1864: 183853. • Santiago-Moreno, J., Pequeño, B., Martínez-Madrid, B., Castaño, C., Bóveda, P., Velázquez, R., Toledano-Díaz, A., Álvarez-Rodríguez, M., & Rodríguez-Martínez, H. 2022. International Journal of Molecular Science 23: 2903.

Agradecimientos: A Patricia Peris Frau por su ayuda en la elaboración de la plantilla en el programa IDEAS necesaria para el análisis de las muestras por citometría de flujo. Trabajo financiado por el proyecto PID2020-113288RB-I00 / AEI / 10,13039/501100011033.