

MÁS ALLÁ DEL ESPERMATOZOIDE: LA EVALUACIÓN DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA CALIDAD DEL EYACULADO

Toledo-Guardiola¹, S.M., Moya-Fernández¹, A., Navarro-Serna², S. y Matás^{1,3*}, C.

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Campus de Excelencia Mare Nostrum. Universidad de Murcia, Murcia, Spain; ²CIPF Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, Spain; ³IMIB-Arrixaca, Murcia, Spain
*cmatas@um.es

INTRODUCCIÓN

En los centros de inseminación artificial (IA), se realiza una evaluación rutinaria de la calidad del semen de los verracos. La mayoría de estos análisis, solo examinan algunos parámetros del eyaculado como la concentración, la motilidad y las anomalías espermáticas; sin embargo, el plasma seminal (PS) no es tenido en cuenta. Hoy en día, se sabe que el PS, a través de sus componentes, modula procesos como la maduración, la motilidad de los espermatozoides, su capacitación e incluso la unión a la zona pelúcida del ovocito (Mateo-Otero *et al.*, 2022). Entre los componentes del PS se encuentran las vesículas extracelulares (VEs), cuya caracterización y relación con la calidad del eyaculado no está determinada. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las VEs del PS de machos de diferente calidad seminal y analizar la relación entre dicha calidad y las vesículas (tamaño, número y concentración proteica).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron los eyaculados completos de 20 verracos de fertilidad probada de un centro de IA. Dichos eyaculados fueron enviados al laboratorio para la realización de un espermiograma. Se analizaron las morfo-anomalías (MA), la motilidad (M), la viabilidad (V) y el daño acrosomal (DA), y se clasificaron los eyaculados en categorías de calidad según parámetros preestablecidos: Machos de buena calidad: MA<20%, M>60%, V>60%, DA<20%; Machos de mala calidad: MA>20%, M<60%, V<60%, DA>20%; Machos de calidad media: Los que incumplen una de las 4 condiciones y con suma de MA (gotas citoplasmáticas proximales; GP + cola en látigo; CL) ≥10%. Posteriormente, se aislaron las VEs del PS de cada eyaculado (Toledo-Guardiola *et al.*, 2024) y, se elaboró un pool de VEs procedentes de verracos de buena, media y mala calidad. Seguidamente, se determinó el tamaño y n° de partículas mediante Nano Tracking Analysis (NTA) así como la concentración de proteína total mediante el método de Bradford. Además, para verificar la idoneidad del aislamiento, se determinó la presencia de tetraspaninas (CD81, CD63 y HSP70) en cada grupo mediante citometría de flujo (MISEV 2023; Welsh *et al.* 2023). Para el análisis estadístico, se aplicó ANOVA de una vía seguido de una prueba post-hoc de Tukey y pruebas no paramétricas como el test de Kruskal-Wallis para los datos con distribución no normal utilizando el software SPSS versión 24.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados revelaron la presencia de tetraspaninas en los tres grupos experimentales. Se observó que no había diferencias significativas en el tamaño medio, ni en el número de partículas de las VEs del PS en los tres grupos de machos clasificados. Sin embargo, al examinar las VEs por categorías de tamaños (exosomas ~50-200nm y microvesículas ~200-500 nm) sí que hubo diferencias. Se observó que el grupo de machos con buena calidad espermática presentaba el mayor número de exosomas ($227,5 \times 10^{10} \pm 84,6 \times 10^{10}$ partículas/mL) y microvesículas ($61,3 \times 10^{10} \pm 21,9 \times 10^{10}$ partículas/mL) en comparación con el resto ($p < 0,05$). Asimismo, se hallaron diferencias significativas en la concentración de proteína total de las VEs del PS siendo los machos con buena calidad espermática los que exhibían una mayor concentración de proteína ($1,80 \pm 0,05 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, $p < 0,05$).

CONCLUSIÓN

La determinación de la calidad de un eyaculado, no se limita únicamente a los parámetros espermáticos, sino que también se ve influenciada por las características de las VEs del plasma seminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Mateo-Otero, Y., Yeste, M., Roca, J. *et al.* 2022. Sci Rep. 12, 19096: 1-13. • Welsh, J.A., Goberdhan, D.C.I., O'Driscoll, L. *et al.* 2024. J. Extracell. Vesicles 13(5): e12451. • Toledo-Guardiola, S.M., Martínez-Díaz, P. *et al.* 2024. Rep. Fert. and Dev. 36: RD23239.

Agradecimientos: Ministerio de Ciencia e Innovación (PDC2022-133589-I00-E05071301).