

SELECCIÓN QUIMIOTÁCTICA DE ESPERMATOZOIDES MEDIANTE EL USO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES DEL FLUIDO FOLICULAR EN LA ESPECIE PORCINA: ANÁLISIS FUNCIONAL MEDIANTE EVALUACIÓN DE CAPACITACIÓN Y FECUNDACIÓN *IN VITRO*

Moya-Fernández¹, A., Toledo-Guardiola¹, S.M., Gervasi², M.G. y Matás^{1,3*}, C.

¹Fisiología de la reproducción, Facultad de Veterinaria, Campus de excelencia Mare Nostrum, Universidad de Murcia; ²Department of Animal Science University of Connecticut, Storrs, CT, USA;

³IMIB-Arrixaca, Murcia, España

*cmatas@um.es

INTRODUCCIÓN

Durante la fecundación, los espermatozoides pasan por un proceso de selección, optimizando el éxito reproductivo. El fluido folicular porcino (FF) actúa *in vitro* como quimioatrayente, modulando la capacitación y la reacción acrosómica (Hasan *et al.*, 2021; Vieira *et al.*, 2021), aunque sus componentes aún no se conocen completamente. En este estudio, evaluamos el papel de las vesículas extracelulares (VEs) y del FF en la selección espermática y su impacto en la capacitación y fecundación *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las VEs se obtuvieron de folículos ováricos de cerdas prepúberes de matadero, fueron aisladas y caracterizadas según Toledo *et al.* (2024). La selección espermática se realizó mediante un dispositivo quimiotáctico (www.zopiksd.com). Se agregaron 20×10^6 spz/mL a un pocillo con medio de capacitación (TALP) conectado con otro pocillo suplementado con FF al 0,25% (grupo FF) o VEs (2 µg de proteína) (grupo VEs). Como grupo control se utilizó el pocillo solo con medio TALP. Tras 1 hora de la incubación los espermatozoides migrados al quimioatrayente fueron utilizados para FIV con una concentración de 125.000 células/ml (Soriano-Úbeda *et al.*, 2017). A las 18 h de la inseminación, los cigotos se fijaron para evaluar los parámetros: porcentaje de ovocitos penetrados (PEN), número de espermatozoides adheridos a la zona pelúcida (SPZ-ZP), porcentaje de monospermia (MON) y porcentaje de ovocitos monospermicos sobre el total de ovocitos inseminados (Eficiencia). Para evaluar la capacitación, se determinó la actividad de PKA mediante WB (Soriano-Úbeda *et al.*, 2017). Para el análisis estadístico, se realizó una prueba de normalidad Kolmogórov-Smirnov y tras la normalidad de las muestras se realizó ANOVA de una vía con una prueba post-hoc de Tukey utilizando el programa SPSS Versión 28.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indicaron que el valor de PEN en el grupo FF fue significativamente inferior ($p < 0,05$) en comparación con los grupos control y VEs ($15,6\% \pm 4,6\%$ vs. $24,1\% \pm 5,7\%$ y $24,02\% \pm 5,6\%$, respectivamente). El valor de SPZ/ZP fue menor en el grupo control respecto a FF y VEs ($5,5 \pm 0,6$ vs. $7 \pm 0,8$ y $7,6 \pm 1,4$). El grupo FF presentó el valor más alto para el parámetro MON respecto a VEs y control ($90\% \pm 1,0\%$ vs. $71,4\% \pm 1,25\%$ y $50,0\% \pm 1,39\%$), aunque la eficiencia fue superior en el grupo VEs en comparación con FF y control ($21,6\% \pm 9,2\%$ vs. $16,1\% \pm 7,5\%$, y $12,3\% \pm 6,3\%$, respectivamente). Estudios previos sugieren que el FF disminuye la polispermia y mejora la fecundación (Funahashi y Day, 1993; Vatzias y Hagen, 1999). Por tanto, las VEs podrían contribuir a este efecto seleccionando los espermatozoides más aptos o induciendo un bloqueo de la polispermia. Aunque este estudio es preliminar, esta hipótesis se refuerza con la menor actividad de la PKA en los grupos VEs y FF, lo que sugiere una regulación en la capacitación espermática para evitar la polispermia.

CONCLUSIÓN

La selección de espermatozoides por quimiotaxis utilizando VEs y FF mejora el rendimiento de la FIV y regula la actividad de la PKA siendo, en parte, las VEs responsables de esta función.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Funahashi, H. y Day, B.N. 1993. Rep. 99: 97-103.
- Hasan, M.M., Ul, Q., Reshi, A., Lättekivi, F., Viil, J., Godakumara, K. *et al.* 2021. Biology. 10: 1154.
- Soriano-Úbeda, C., García-Vázquez, F.A., Romero-Aguirregomez, J., Matás, C. 2017. Scientific Reports. 7: 43616.
- Toledo-Guardiola, S.M., Martínez-Díaz, P., Martínez-Núñez, R., Navarro-Serna, S. *et al.*, 2024. Rep. Fert. & Devel. 36: RD23239.
- Vatzias, H., Hagen, D.R. 1999. Biology of reproduction. 1: 42-48.
- Vieira, L.A., Diana, A., Soriano-Úbeda, C., Matás, C. 2021. Animals. 11: 1-18.

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