

# EFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE DEL CERDO SOBRE LA INDUCCIÓN DE LA REACCIÓN ACROSOMAL E INTEGRIDAD DE LA TECA PERINUCLEAR

\*Barrientos-Morales, M., Juárez-Mosqueda, M. L.<sup>1</sup>, Martel, B. S.<sup>1</sup> y Trujillo, O. M. E.<sup>1</sup>

\*Academia de Especies Productivas I. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. Proyecto apoyado por la DGAPA-UNAM<sup>1</sup> (PAPIIT IN 206506). Correspondencia con autor: [mvzmpabarrientos@hotmail.com](mailto:mvzmpabarrientos@hotmail.com)

## INTRODUCCIÓN

La teca perinuclear (TP) es el principal elemento del citoesqueleto de la cabeza del espermatozoide de los mamíferos (1). En estudios recientes se ha demostrado el daño que sufre esta estructura durante el proceso de congelación-descongelación (2); la existencia de una subestructura en la teca perinuclear (sTP) es la que ha servido como marcador morfológico para determinar la integridad de la misma (3). También se ha observado la correlación que hay entre la alteración de esta estructura y la integridad del acrosoma. Algunos trabajos concluyen que elementos de la TP participan en el anclaje de lípidos para mantener la integridad de las membranas de la cabeza del espermatozoide (4). Otros estudios han encontrado que el proceso de criopreservación de los espermatozoides de cerdo aparentemente induce un estado equivalente a la capacitación (5).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron 3 eyaculados de verracos de razas comerciales por el método de la mano enguantada y se congelaron de acuerdo con el protocolo descrito por Bwanga (6). Se determinó la pérdida del acrosoma y la integridad de la sTP en el semen fresco y criopreservado antes y después de la capacitación. Para la capacitación de los espermatozoides fueron lavados tres veces por centrifugación/resuspensión en solución salina fisiológica (SSF) a 2500rpm 3 min. y se resuspendieron en Tyrode completo a una concentración de  $25 \times 10^6$  cels/ml, e incubados a 38°C en atmósfera húmeda y 5% de CO<sub>2</sub> durante dos horas para su capacitación y por 2 horas más para que presentaran reacción acrosomal (RA). Para exponer la superficie de la TP los espermatozoides se lavaron en solución salina fisiológica (SSF) y la concentración se ajustó a  $35 \times 10^6$  cels/ml. Después a las muestras se les agregó Brij 36-T (1.2% concentración final) y se incubaron a temperatura ambiente por 5 min. Posteriormente se fijaron en Karnovsky y se procesaron para microscopía electrónica (3) Para valorar la reacción acrosomal según el método descrito por Talbot (7).

## RESULTADOS

El porcentaje de espermatozoides con acrosoma integro fue de 88% en el semen fresco y 92% mantuvieron la TP integra, mientras que en el semen descongelado ambos porcentajes fueron de 36 y 26 respectivamente ( $P < 0.005$ ) (ver Cuadro 1). Después de la capacitación y RA espermática *in vitro*, se encontró que el semen fresco presento 45% de acrosoma integro y 50% de TP integra; habiendo una diferencia estadística significativa en comparación con los porcentajes obtenidos antes de la capacitación y RA ( $P < 0.005$ ). En el caso del semen descongelado capacitado con RA ambos valores fueron

de 32% y 16% respectivamente no habiendo diferencia estadística con los porcentajes obtenidos en este tipo de muestra antes de la capacitación y RA.

**Cuadro 1.** Porcentajes de integridad del acrosoma y TP en espermatozoides frescos y descongelados antes y después de la capacitación.

	Capacitado			
	Fresco %	Desc %	Fresco %	Desc %
Acrosoma Integro	88 <sup>a</sup>	36 <sup>b*</sup>	45 <sup>b</sup>	32 <sup>a*</sup>
TP. íntegra	92 <sup>a</sup>	26 <sup>a*</sup>	50 <sup>b</sup>	16 <sup>b†</sup>

Literales y asteriscos diferentes entre fila indican distribución estadística significativa ( $P < 0.005$ ).

## DISCUSIÓN

Se ha reportado una correlación importante entre estado acrosomal e integridad de la TP (2). En este estudio se encontró que después a la capacitación y RA existe una relación entre los espermatozoides que conservaron la TP íntegra y el acrosoma. No así en los espermatozoides descongelados capacitados con RA donde el porcentaje de pérdida de la sTP fue mayor en comparación con el porcentaje de espermatozoides que mantuvieron el acrosoma. Esto posiblemente se deba a que la congelación-descongelación induce cambios en los componentes proteicos de la TP, que la hacen más susceptible a alterarse durante la capacitación. En el espermatozoide del cobayo junto con la RA se pierde la sTP (3). Por otra parte, esto significa que los espermatozoides que conservan el acrosoma no necesariamente son fértiles, ya que su TP podría estar alterada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Longo, F. J. *et al.* (1987). *J. Cell. Biol.* **105**: 1105-1120.
2. Juárez-Mosqueda, M.L. y col. (2006). *Theriogenology*. (In press).
3. Juárez-Mosqueda, L. and Mújica, A. (1999). *J. Struct. Biol.* **128**: 225-236.
4. Watson, P. F. (2000). *Anim. Reprod. Sci.* **60-61**: 481-492.
5. Watson, P. F. (1996). *Reprod. Dom. Anim.* **31**: 135-140.
6. Bwanga, C. O. (1990). Thesis. Swedish University of Agriculture Sciences. Faculty Veterinary Medicine. Uppasala, Sweden. Pp. 13-113.
7. Talbot, P. and Chacón, R. (1981). *J. Exp. Zool.* **215**: 201-208.