

# EFFECTO DEL PROCESO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN SOBRE LA INTEGRIDAD BIOQUÍMICA DE LA TECA PERINUCLEAR DEL ESPERMATOZOIDE DE CERDO

Arancibia Salinas K<sup>1\*</sup>, Trujillo Ortega ME<sup>2</sup>, Hernández González E<sup>3</sup>, Montaldo Valdenegro HH<sup>4</sup>, Gutiérrez CG<sup>5</sup>, Juárez Mosqueda ML<sup>1</sup>

Departamento de: Morfología<sup>1</sup>, Producción Animal Cerdos<sup>2</sup>, Genética y Bioestadística<sup>4</sup> y Reproducción<sup>5</sup> de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM; CINVESTAV-IPN<sup>3</sup>. Proyecto apoyado por la DGAP-UNAM (PAPIIT IN206702).

## INTRODUCCIÓN

La teca perinuclear (TP) es un elemento citoesquelético único que rodea al núcleo del espermatozoide de los mamíferos, excepto en su base donde el flagelo se inserta al cuello. Se ha sugerido que las proteínas de la TP, participan en procesos como el mantenimiento de dominios de la membrana plasmática de la cabeza espermática y en la activación del óvulo, por lo cual es de suma importancia en la capacidad fecundante del espermatozoide de los mamíferos. Resultados en el espermatozoide del cerdo señalan que el proceso de criopreservación les produce cambios morfológicos en la TP. El objetivo de este trabajo fue valorar bioquímicamente la integridad de TP en los espermatozoides frescos y congelados-descongelados. Esto con la finalidad de generar información sobre los cambios que ocurren en las proteínas de la TP para de esta forma en un futuro poder proteger dicha estructura y que se pueda aumentar la viabilidad de la célula después de dicho proceso.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El semen de doce verracos fue dividido en dos fracciones; una fue congelada-descongelada y la otra fue usada en fresco como testigo, las cerdas fueron de las razas Yorkshire, Landrace, Duroc, y Pelón Mexicano. Los espermatozoides fueron congelados por el método de Bwanga (1990). Para la exposición de la TP ambos muestras fueron tratadas con el detergente no iónico Brij 36-T, después de lavadas, para la extracción de las proteínas de la TP, las muestras fueron resuspendidas en SSF y adicionadas con SDS al 1.2%. Posteriormente las muestras se centrifugaron y, para la precipitación de las proteínas extraídas, el sobrenadante fue recuperado y depositado v/v en acetona fría por un período de 12 a 24 hrs a -20° C. Las proteínas precipitadas con acetona fueron recuperadas por centrifugación. La pastilla obtenida fue resuspendida en amortiguador de muestra y hervidas por 5 minutos. Las muestras se corrieron en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) al 10% por el método descrito por Laemmli (1970), como marcadores se utilizaron proteínas de bajo peso molecular. Las muestras fueron corridas a 100 voltios constantes. Los geles fueron teñidos con plata, por el método de Oakley *et al.* (1980). Es importante señalar que las proteínas de la TP fueron extraídas tanto de espermatozoides completos como de cabezas espermáticas purificadas.

## RESULTADOS

Cualitativamente, en el semen fresco las proteínas más abundantes tuvieron un peso molecular relativo de 83, 77 y 45 kDa, mientras que en el semen congelado-descongelado además de la 45 kDa se observaron otras de 68 y 64. Adicionalmente, las bandas proteicas en las muestras congeladas-descongeladas se tiñeron con mayor intensidad. Por otra parte, en el patrón electroforético de las proteínas de la TP obtenida sólo de las cabezas espermáticas no se identificaron varias bandas proteicas.

## DISCUSIÓN

El daño morfológico que experimenta la TP durante el proceso de criopreservación podría estar relacionado con las alteraciones en el patrón proteico, observado en este estudio, en el semen descongelado. Diversas investigaciones señalan que varias proteínas del citoesqueleto son sensibles a los cambios de temperatura (Watson, 1995; 2000; Petrunkina, 2004; 2005). Posiblemente la despolimerización o el rompimiento de algunas proteínas de la TP, durante el proceso de congelación-descongelación, sea el reflejo del cambio observado en el patrón electroforético de las proteínas extraídas de la TP en este tipo de células, además de la mayor intensidad colorida de las bandas. Por otra parte, las proteínas que no aparecieron en el patrón proteico de la TP de los espermatozoides decapitados podrían ser de flagelo.

## Bibliografía

1. Lecuyer C, Dacheux, JL, Hernand E, Mazeman, E, Rousseaux J, Rousseaux R. 2000. Biol. Reprod. 63:1801-1810.
2. Medrano y Holt. 1998. Arch. Zootec. 47:319-327
3. Petrunkina AM, Hebel M, Waberski D, Weitze KF, Töpfer-Petersen E. 2004. Reproduction. 127:105-115.
4. Petrunkina AM, Gröpper B, Töpfer-Petersen E, Günzel-Apel AR. 2005. Theriogenology. 63:1390-1406.
5. Rousseaux-Prévost R, Lecuyer C, Drobecq H, Sergheraert C, Dacheux JL, Rousseaux J. 2003. Biochemical and Biophysical Research. 303:182-189.
6. Watson PF. 1995. Repro. Fertil. Dev. 7: 871-891.
7. Watson PF. 2000. Ani. Rep. Sci. 60-61:481-492.