

ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DE ADN ESPERMÁTICO EN VERRACOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON RUBULAVIRUS PORCINO

Parra-Forero, L.Y*, Estrada, B.S¹., Rivera-Benítez, J.F.², Martínez-Bautista, R.², Ramírez-Mendoza, H.², De Loera, O.Y³,
Sánchez, L.N¹., García-Contreras, A.C¹.

¹Laboratorio de Imagenología. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco; ²DMI, FMVZ, UNAM. ³Universidad Complutense de Madrid.
adelfa@correo.xoc.uam.mx

INTRODUCCIÓN

La enfermedad del ojo azul en los cerdos es causada por el *Rubulavirus porcino* (RVP). Esta infección se caracteriza por alteraciones neurológicas, respiratorias y reproductivas. En los verracos adultos los signos clínicos que se presentan son dependientes de la edad, afectando básicamente al epidídimo, testículos y próstata produciendo infertilidad. (orquitis, epididimitis y disminución de la calidad seminal) (Ramírez-Mendoza *et al.*, 1997; Rivera-Benítez *et al.*, 2013). Se ha estudiado el impacto reproductivo de esta enfermedades al evaluar las características macroscópicas y microscópicas del semen obtenido de verracos infectados (Espinosa, 2001; Martínez-Bautista, 2009), sin embargo no se han realizado evaluaciones que definan si existe un daño a nivel de ADN nuclear espermático. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue determinar el Índice de fragmentación de ADN espermático (IFADN) en verracos infectados experimentalmente con RVP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 13 verracos entrenados para colección de semen, con una edad promedio de 12 meses, los cuales fueron asignados a dos grupos, cuatro animales en el Grupo testigo y nueve en el Grupo infectado con *Rubulavirus porcino*. Se utilizaron 5 ml de la cepa PAC-3 a 1×10^5 DICC₅₀/ml. Durante las dos primeras semanas “posinfección” se tomaron alícuotas de 2ml de cada eyaculado, dichas muestras fueron diluidas con PBS para obtener una concentración de 15×10^6 Spz/ml. Para la determinación del IFADN se utilizó la técnica de dispersión de la cromatina espermática o SCD (Sperm Chromatin Dispersion test) (Kit Sperm, Halomax®) (Enciso *et al.* 2006). Para ello, se colocaron 15 µl de semen diluido en portaobjetos pretratados con agarosa, y posteriormente fueron sometidos a un proceso de lisis. Los portaobjetos fueron teñidos con SYBR GREEN y se contaron 300 spz por muestra en un microscopio de fluorescencia, para obtener el IFADN. Los resultados fueron analizados con GLM de SAS.

RESULTADOS

De las muestras evaluadas en esta investigación se puede observar que existieron diferencias ($P < 0.0001$) en el IFADN espermático entre el grupo testigo y el grupo infectado experimentalmente (6.4%; EEM=0.48 y 8.9%; EEM=5.9 respectivamente).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Se ha observado un efecto negativo en la calidad seminal de los verracos posterior a la infección experimental con RVP (Espinosa, 2001; Martínez-Bautista, 2009), así como en aquellos infectados de forma natural, induciendo fallas reproductivas (Kirkland y Stephano, 2006). Se observó que el RVP causó un aumento en el IFADN espermático durante las dos primeras semanas pos-infección. García-Contreras *et al.* (2011), señalan que el IFADN menores al 10% suele ser una variable a considerar en el uso o desecho de dosis seminales destinadas a programas de inseminación artificial. En tanto que, un incremento mayor al 15% del IFADN en los eyaculados, deben ser descartados. Sin embargo, bajo condiciones en donde existe un proceso infeccioso evidente, un aumento del IFADN mayor al 3.5% debe ser considerado como motivo de atención y análisis, para determinar su conveniencia de uso. Se ha descrito que un aumento en el IFADN puede estar asociado a procesos de epididimitis u orquitis (Molina *et al.*, 2009). Se puede señalar que durante esta investigación dichos signos fueron evidentes en los verracos infectados con RVP. El semen obtenido de los verracos infectados con RVP, puede presentar características aparentemente normales desde el punto de vista morfológico y de motilidad progresiva. No obstante, los verracos infectados naturalmente o inoculados experimentalmente con RVP, como en esta investigación dan evidencia del daño que se presenta en el acrosoma de los espermatozoides (31.5%; EEM=0.82) (Galicia *et al.*, 2010) y en el ADN. Por lo que, la realización de este tipo de evaluaciones, puede ayudar en la identificación de animales que estén transcurriendo por un proceso subclínico y con ello, tomar decisiones con respecto al tratamiento, o desecho de los mismos.

REFERENCIAS

1. Ramírez-Mendoza *et al.*, J Comp Pathol. 1997 117(3):237-52.
2. Rivera-Benítez *et al.*, Vet Microbiol. 2013 23;162(2-4):491-8.
3. Espinosa, H. S. 2001. Tesis de Maestría. FMVZ-UNAM. México.
4. Martínez-Bautista, R. 2009. Tesis de Maestría. FMVZ-UNAM. México.
5. Enciso M. *et al.* Theriogenol. 2006 66(2):308-316.
6. Kirkland P. D. & Stephano A. 2006. Diseases of swine. 9ª Ed. Blackwell Publishing.
7. García-Contreras A *et al.*, Reproductive Toxicology. 2011 31:570-573.
8. Molina R.I. *et al.*, Revista Facultad de Ciencias Médicas 2009; 66(Supl.1): 60-66.
9. Galicia *et al.*, 2010. UCM.