

EFFECTO DE LA INCUBACIÓN DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS CON ESTREPTOLISINA “O” SOBRE LA MOTILIDAD Y VIABILIDAD POS-DESCONGELAMIENTO

CONACYT: CB 169861

Jácome-Sosa, Edelmira^{*1}; Barrientos-Morales, Manuel^{*1}; Domínguez-Mancera, Belisario¹; Hernández, B.A¹., Cervantes, A.P.1, Juárez-Mosqueda, María de Lourdes².

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; ²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Palabras clave: Estreptolisina “O”, espermatozoide porcino, criopreservación, viabilidad
mbarrientos@uv.mx*

Introducción

La estreptolisina “O” (SLO) ha sido utilizada para internalizar³⁴ una variedad de moléculas (ADN, ARN, proteínas), en células y así modificar su comportamiento o características². En espermatozoides, sin embargo, la SLO solo ha sido utilizada para liberar contenidos acrosomales^{6,7,9}. Existen pocos estudios sobre la permeabilización con SLO de espermatozoides porcinos. La apertura de poros en dicho gameto podría fungir como herramienta biotecnológica en procesos como la criopreservación. El objetivo de este trabajo es evaluar si el espermatozoide porcino tratado con estreptolisina “O” y adición de trehalosa mejora la motilidad y viabilidad pos-descongelamiento.

Material y Métodos

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Biología de la Reproducción, de la Unidad de Diagnóstico “Augusto R. Mancisidor Ahuja” de la Posta Zootécnica “Torreón del Molino” de la FMVZ, UV. Se trabajaron 15 eyaculados de 4 verracos probados. El eyaculado es diluido 1:1 con Vitacem LD (Megapor®) y refrigerado (16°C) 24h. Los espermatozoides son incubados por 5 min (T₁), 15 min (T₂) y 30 min (T₃) con 0.6 UI/ml de SLO (Sigma Aldrich®) liofilizada y 200µM de trehalosa a 37 °C, y un tratamiento control (T_C). Posteriormente fueron criopreservados de acuerdo a la técnica Westendorf⁸. Se descongelaron 15 días después y se evaluó la motilidad (por observación en microscopio óptico) y la viabilidad celular por medio de la tinción de Eosina-Nigrosina¹ y Azul de Coomassie.

Resultados y Discusión

Se muestra en el Cuadro 1 la motilidad espermática después del congelamiento.

Cuadro 1. Porcentaje de motilidad espermática después del tratamiento con SLO y trehalosa al posdescongelado.

Tratamiento de incubación en SLO y trehalosa	Motilidad (%)
Control	24.66 ± 7.66 ^a
5 min	17.00 ± 3.16 ^{ab}
15 min	16.66 ± 4.08 ^{ab}
30 min	11.66 ± 3.08 ^b
E.E.M 2.23	

Los valores representan las medias ± desviaciones estándar
Literal diferente entre columna son significativos (p<0.05).
Error estándar de la media (EEM)

Se observa que el porcentaje de motilidad del T_C (24.66 ± 7.66%) es más alto que los tratamientos, los cuales presentan un porcentaje menor al 20% (17.00 ± 3.16, 16.66 ± 4.08, 11.66 ± 3.08% respectivamente), sin mostrar diferencias (p> 0.05) entre el T_C y los T₁ y T₂. El porcentaje de motilidad del T_C es similar a lo obtenido

por Malo *et al.* 2010 (24.66%) mientras que los tratamientos con adición de trehalosa, difieren con estos autores, ya que consiguen un 26% mientras que en este trabajo se consiguen valores por debajo del 20%, sin embargo, estos no emplean SLO y la trehalosa esta extracelularmente.

En el Cuadro 2 se aprecia que hay diferencia significativa (p< 0.05) entre los T₁, T₂, T₃ y el T_C con respecto al daño en membrana plasmática (Figura 1). Con respecto al daño acrosomal (Coomassie, Figura 2), se observa que entre T_C, T₁ y T₂ no existe diferencia (p>0.05). El T₃ disminuye la viabilidad espermática con respecto al T_C y T₁ (p< 0.05). Existe menos daño acrosomal, como lo mencionan Pocognoni *et al.*, 2012 ya que la SLO solo ejerce efecto sobre la membrana plasmática y no acrosomal.



Figura 1. Tinción Eosina N.

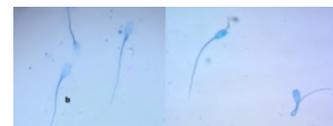


Figura 2. Ticion Azul de Coomassie

Cuadro 2. Efecto de la viabilidad de espermatozoides incubados con SLO y trehalosa al posdescongelamiento.

Tratamiento de incubación en SLO y trehalosa	Viabilidad (%)	
	Eosina-Nigrosina	Coomassie
Control	32.49 ± 11.24 ^a	33.70 ± 16.18 ^a
5 min	24.32 ± 8.92 ^b	32.27 ± 7.43 ^a
15 min	21.46 ± 9.99 ^b	29.27 ± 7.29 ^{ab}
30 min	19.95 ± 11.12 ^b	24.09 ± 4.80 ^b
E.E.M 1.89		E.E.M 1.81

Los valores representan las medias ± desviaciones estándar
Literal diferente entre columna son significativos (p<0.05).
Error estándar de la media (EEM)

Conclusión.

La viabilidad y motilidad posdescongelamiento no se vio incrementada por la incubación en SLO y trehalosa previo al proceso de criopreservación y el tiempo de incubación no es un factor determinante en la viabilidad y motilidad posdescongelamiento.

Referencias

- 1.- Bamba K. 1998. Theriogenology. 29(6): 1245-1251.
- 2.- Brito JL *et al.*, 2008. Journal of Immunological Methods. 333:147-155.
- 3.- Cossart, P. 2011. Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A. 108:19484-19491.
- 4.- Hotze E, Tweten R, 2012. Biochimica et Biophysica Acta. 1818: 1028-1038.
- 5.- Malo C *et al.*, 2010. Cryobiology. 61: 17-21.
- 6.- Pocognoni CA. 2012. Fertility and Sterility. 99(1): 99-106.
- 7.- Walev, I. *et al.*, 2001. Proceedings of the National Academy of Sciences. U. S. A. 98: 3185-3190.
- 8.- Westendorf, P *et al.*, 1975. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 82:261-267.
- 9.- Yunes, R *et al.*, 2000. Biology Reproduction. 62(4): 1084-1089