



## **Efecto de las características bioquímicas del plasma seminal sobre la supervivencia espermática del semen congelado**

*Effect of biochemical characteristics of seminal plasma on sperm survival of frozen semen*

**María Alejandra Stornelli**

Instituto de Investigaciones en Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; B1900AVW La Plata, Argentina

### **Resumen**

Es bien conocido el alto porcentaje de morfoanomalías espermáticas presentes en gatos fértiles. Estudios recientes han demostrado que el semen de buena calidad tiene una alta concentración de colesterol (CHOL) y triglicéridos (TAG) en gatos. Sin embargo, en el gato doméstico hay escasa información sobre el efecto de la composición bioquímica del plasma seminal y la morfología espermática sobre la resistencia del semen a la congelación. Estudios recientes sugieren que concentraciones plasmáticas seminales más altas de CHOL y TAG podrían mejorar la capacidad de congelación del semen. Sin embargo, la morfología del espermatozoide no parece tener efectos perjudiciales sobre la capacidad de congelación del semen felino.

**Palabras clave:** semen, criopreservación, gato

### *Abstract*

*The high percentage of sperm morphoanomalies present in fertile cats is well known. Recent studies have shown that good quality semen has a high concentration of cholesterol (CHOL) and triglycerides (TAG) in cats. However, in the domestic cat, there is little information on the effect of the biochemical composition of seminal plasma and sperm morphology on semen resistance to freezing. Recent studies suggest that higher seminal plasma concentrations of CHOL and TAG could improve the freezing capacity of semen. However, sperm morphology does not appear to have detrimental effects on the freezability of feline semen.*

**Keywords:** semen, cryopreservation, cat

### **Introducción**

Durante el proceso de congelación celular existen varios factores que producen daño sobre los espermatozoides como el estrés térmico, los efectos tóxicos provocados por los diferentes crioprotectores y la formación de hielo en el medio extra e intracelular. Es así que el proceso de congelación-descongelación puede dañar las membranas, el citoesqueleto, aparato motor y núcleo del espermatozoide, reduciendo la viabilidad de la población espermática y provocando la disminución de la fertilidad. Obtener al descongelado una calidad de semen que permita un porcentaje de preñez y tamaños de camada aceptables mediante inseminación artificial es vital cuando se implementa criopreservación de semen.

### **Particularidades del semen felino**

El semen de gatos domésticos muestra un alto porcentaje y una variabilidad considerable de anomalías espermáticas. (Axné y Linde Forsberg, 2007; Howard 1990; Jewgenow y col. 2009; Long 1996; Prochowska 2016). En el gato doméstico la mayoría de los estudios sobre morfología espermática se han realizado mediante microscopía óptica. Sin embargo, se ha comprobado que el uso de microscopía electrónica nos permite observar alteraciones ultraestructurales de los espermatozoides, permitiendo detectar alteraciones morfológicas no observables en un microscopio óptico (Jurado 2008; Pedersen y Fawcett, 1976; Zamboni, 1987; Zamboni, 1991; Dadoune, 1988, Rodríguez Martínez, 1993).

Varios estudios han relacionado, en especies de producción, el daño sufrido por los espermatozoides durante la criopreservación con el contenido de lípidos de las membranas espermáticas. Sin embargo, existe poca información que relacione las características bioquímicas del plasma seminal con los procesos de criopreservación. En humanos, se ha observado una correlación positiva y significativa entre la composición de ácidos grasos del plasma seminal y los parámetros seminales después de la descongelación (Martínez Soto 2013). En el gato doméstico recientemente se han realizado estudios que

relacionen el efecto y la composición bioquímicas del plasma seminal y la influencia de morfología espermática con la resistencia espermática a la congelación. Dicha información resulta interesante para optimizar e implementar protocolos de criopreservación tanto en el gato doméstico como en felinos silvestres en riesgo de extinción.

Estudios realizados recientemente han comprobado que las concentraciones de colesterol (COL) y los triglicéridos (TRIG) del plasma seminal son significativamente mayores en eyaculados de buena calidad en comparación con aquellos de mala calidad ( $18.97 \pm 1.50$  vs  $6.94 \pm 1.21$ ,  $101.77 \pm 9.26$  vs  $21.19 \pm 7.45$ , respectivamente  $P < 0.0001$ ). Sin embargo, no ocurre lo mismo con la concentración proteica del plasma seminal al comparar ambos grupos (buena y mala calidad seminal,  $P > 0.14$ , García 2019). Estos estudios nos permitieron hipotetizar que la concentración de COL y TRIG del plasma seminal tendría un efecto protector sobre la supervivencia espermática del semen congelado-descongelado en el gato doméstico. Estudios recientes han permitido observar que si bien los porcentajes de motilidad progresiva (MI), vigor (VI), vivos (PV) y acrosomas intactos (AI), son significativamente más bajos en el semen congelado-descongelado en comparación con el semen fresco como es ampliamente conocido (Stornelli 2005, Stornelli 2006), el semen que posee mayores concentraciones de COL y TRIG resiste mejor los procesos de congelación-descongelación (García 2022). Este hecho pudo evidenciarse a través de la comparación de los porcentajes de MI, VI, PV, AI en semen fresco y congelado descongelado ( $P \leq 0.05$ ) y la correlación positiva y significativa entre los índices de congelabilidad y las concentraciones de COL y TRIG del plasma seminal ( $r 0.99$ ,  $r 0.98$ ,  $P < 0.0001$ ; respectivamente).

Previamente a estos estudios hemos podido confirmar la presencia de gran variabilidad en el tipo y porcentaje de anomalías en el semen fresco del gato doméstico (Nuñez Favre 2015, Nuñez Favre 2012). Se ha comprobado que gatos que poseen gran cantidad de morfoanomalías espermáticas, la cual puede oscilar entre el 40 y el 60%, son fértiles y obtienen buenos porcentajes de preñez y tamaños de camada (Axner 2007, Blottner 2007, Wildt 1983). Aquellos animales con más del 60% de espermatozoides anormales morfológicamente son considerados teratospermicos (Axner 2007). A pesar de haberse realizado varios estudios sobre morfología espermática en felinos, hay escasa información sobre el efecto de las morfoanomalías espermáticas sobre la criopreservación seminal. Nuestros estudios han demostrado que la morfología espermática no afecta la supervivencia del semen al descongelado ya que no se observó correlación entre la morfología espermática del semen fresco y la viabilidad espermática al descongelado lo cual muestra que la morfología espermática no influye sobre la congelabilidad del semen fresco (García 2021).

## Referencias

- Axner E y Linde Forsberg C.** Sperm morphology in the domestic cat, and its relation with fertility: a retrospective study. *Reprod Domest Anim.* 2007; 42: 282-291.
- Blottner S, Jewgenow K** (2007) Moderate seasonality in testis function of domestic cat. *Reprod Domest Anim* 42: 536-540.
- Howard JG, Brown JL, Bush M, Wildt DE.** Teratospermic and normospermic domestic cats: ejaculate traits, pituitary-gonadal hormones, and improvement of spermatozoal motility and morphology after swim-up processing. *J Androl.* 1990; 11:204-15. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1990.tb03229.x>.
- García MF, Nuñez Favre N, Stornelli MC, Rearte R, García Mitacek MC, de la Sota RL, Stornelli MA.** Relationship between semen quality and seminal plasma cholesterol, triacylglycerols and proteins in the domestic cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery.* Noviembre 2019 <https://doi.org/10.1177/1098612X19889072>
- García MF, Nuñez Favre R, García Mitacek MC, Stornelli MC, Stornelli MA.** Implicancia de la morfología espermática en la evaluación seminal del gato doméstico (*Felis silvestris catus*). VI Jornadas internacionales. Instituto de Investigación y tecnología en reproducción animal (INITRA) FCV.UBA. 2021.
- García MF, Nuñez Favre R, García Mitacek MC, Rearte R, Juado S, Stornelli MA.** Cholesterol and triglycerides seminal plasma concentration and semen freezability in cat. 24th EVSSAR Congress. 9th Quadrennial International Symposium on Canine and Feline Reproduction, Milan. 2022, 105.
- Jewgenow K, Zahme J.** Preservation of female genetic resources in feline species. *Theriogenology*, 2020, 156: 124-129.
- Jurado S, Sarmiento P, Stornelli MA.** 2008. La microscopía electrónica como herramienta en la evaluación de semen canino. *Analecta Veterinaria.* 28(1): 7-14. ISSN 15142590.
- Long JA, Wildt DE, Wolfe BA, Critser JK, De Rossi RV, Howard J.** Sperm capacitation and the acrosome reaction are compromised in teratospermic domestic cats. *Biol Reprod.* 1996; 54:638-46.

- Martínez-Soto, J. C.; Landeras, J.; Gadea, J.** Spermatozoa and seminal plasma fatty acids as predictors of cryopreservation success. *Andrology*, 2013; 1:365-375.
- Núñez-Favre R, Bonaura MC, Tittarelli CM, Mansilla-Hermann D, de la Sota RL, Stornelli MA.** Effect of natural photoperiod on epididymal sperm quality and testosterone serum concentration in domestic cat (*Felis silvestris catus*). *Reprod Dom Anim*. 2012; 47(6): 232-234.
- Núñez Favre, R.; Bonaura, C.; Praderio, R.; Stornelli, C.; de la Sota, L.; Stornelli, M.A.** Effect of melatonin implants on spermatogenesis in the domestic cat (*Felis silvestris catus*). *Theriogenology*, 2014; 82 : 851-6.
- Núñez Favre R, Bonaura MC, García MF, Stornelli MC, de la Sota, RL, Stornelli MA.** Influencia del fotoperiodo natural sobre la morfología espermática en el gato doméstico (*Felis silvestris catus*). *Revista de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata*. 2015, 17(2): 10-15.
- Pedersen H, Fawcett DW.** Functional anatomy of the human spermatozoon. En: Hafez ESE Human semen and fertility regulation in men. Ed Mosby, St Louis, Estados Unidos, 1976.
- Prochowska, S.; Nizański, W.; Partyka, A.** Comparative analysis of in vitro characteristics of fresh and frozen-thawed urethral and epididymal spermatozoa from cats (*Felis domesticus*). *Theriogenology*, 2016; 86: 2063-2072.
- Rodríguez-Martínez H, Ekwall H, Linde-Forsberg C.** Fine structure and elemental composition of fresh and frozen dog spermatozoa. *J Reprod Fertil*. 1993; 47: 279-285.
- Yeste, M.** Sperm cryopreservation update: Cryodamage, markers, and factors affecting the sperm freezability in pigs. 2016; *Theriogenology*, 85: 47-64.
- Stornelli MC, Tittarelli CM, Savignone CA, Stornelli MA.** Efecto de los procesos de criopreservación sobre la fertilidad seminal. *Analecta veterinaria*. 2005; 25(2): 28-35. ISSN 15142590.
- Stornelli MA, de la Sota RL.** Fertilidad y supervivencia del semen canino criopreservado. *Analecta Veterinaria*. 2006; 25(2), 29-38. ISSN 15142590.
- Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Van Dyk A, Ebedes H, Brand DJ.** Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol Reprod* 1983; 29: 1019-1025.
- Zamboni L.** The ultrastructural pathology of the spermatozoon as a cause of infertility: the role of electron microscopy on the evaluation of semen quality. *Fertile Steril*. 1987; 48:711-34.
- Zamboni L.** Physiology and pathophysiology of the human spermatozoon: the role of electron microscopy. *J Electron Microscop Tech*. 1991; 17:412-36.
-