



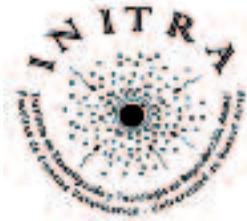
UBA  
Universidad de Buenos Aires

## SUPLEMENTO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Chorroarín 280 (C1427CWO) Bs. As., Argentina. Tel.(54 11) 4524 8400.  
www.fvet.uba.ar



Facultad de Ciencias  
VETERINARIAS  
Universidad de Buenos Aires



## DETECCIÓN DE TOROS SUBFÉRTILES A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL NÚCLEO ESPERMÁTICO

Fischman, M.L.<sup>1,2</sup>; González, L.O.<sup>1,2</sup>; Ghirardosi, M.S.<sup>1,2</sup>; Cisale, H.O.<sup>1,2</sup>

La inseminación artificial (IA) bovina es la técnica de reproducción asistida de mayor difusión. Entre las ventajas que presenta se destacan el mejoramiento genético, la prevención y control de enfermedades de transmisión sexual, la posibilidad de emplear toros con facilidad de parto y la optimización del manejo reproductivo del rodeo. Además, los protocolos de congelamiento de semen, en el caso particular del bovino, son altamente eficientes.

El empleo de semen congelado para la IA permite el uso masivo de toros de alta calidad genética, produciendo cambios significativos sobre los rodeos, dado que un macho se utiliza para inseminar gran cantidad de hembras. Esto puede transformarse en un factor negativo en caso de transmitirse defectos a través del semen.

Si bien la fertilización es el resultado de una serie de eventos en los que intervienen múltiples factores de los cuales el factor macho representa sólo el 1%, el éxito de los programas de IA depende en gran medida del uso de semen de buena calidad.

Ningún examen de semen *in vitro* por sí solo presenta una correlación alta con la fertilidad, por lo cual debe desarrollarse un protocolo de control de calidad que estudie el mayor número posible de características de los espermatozoides<sup>(4)</sup>. Las técnicas de rutina empleadas han mejorado su eficiencia con la incorporación de métodos objetivos como el Análisis Computarizado de Semen (CASA) y la Citometría de Flujo<sup>(5)</sup>. Aun así,

muy pocos laboratorios pueden contar con toda esta tecnología y, por otro lado, estas determinaciones no evalúan en su totalidad la presencia de espermatozoides con defectos no compensables.

Los defectos compensables están estrechamente relacionados con las medidas de viabilidad de los espermatozoides, incluyendo la movilidad, la integridad acrosomal y la integridad de la membrana celular. En una muestra seminal con una moderada proporción de espermatozoides con uno o más defectos compensables, se podría revertir la disminución de la fertilidad, inseminando con dosis adicionales o aumentando el número de espermatozoides por dosis<sup>(1)</sup>. Por el contrario, los espermatozoides con defectos no compensables pueden fertilizar el ovocito, pero no son competentes para sostener el desarrollo embrionario temprano. En general, estos defectos reflejan problemas en la espermatogénesis y están asociados con alteraciones de la cromatina en células morfológica o aparentemente normales<sup>(6)</sup>. En el espermatozoide maduro, la cromatina se encuentra altamente condensada. Rupturas del ADN o defectos en el reemplazo de histonas por protaminas alteran la compactación y la configuración de la cromatina, pudiendo afectar la descondensación nuclear y, en consecuencia, el desarrollo embrionario temprano. Algunos trabajos han demostrado que existe asociación entre fertilidad y la presencia de núcleos reactivos a las diferentes pruebas nucleares<sup>(3,7)</sup>.

1. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Física Biológica, Laboratorio de Calidad Espermática y Criopreservación de Gametas, Av. Chorroarín 280, (1427) CABA, Buenos Aires, Argentina.
2. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina.

La elección de las pruebas complementarias que los centros de inseminación artificial realizan sobre cada muestra de semen depende de diversos factores, entre ellos, el tiempo que insu-me la técnica dentro del proceso de los contro-les de calidad, el costo de la misma en relación con el potencial beneficio que pueda obtenerse de la muestra y la necesidad de equipos y/o per-sonal especializado.

En el Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA) se trabaja con el objetivo de incorporar a los espermogramas de rutina las pruebas de evaluación de calidad del núcleo espermático que contribuyan a pre-decir la capacidad fertilizante de las dosis empleadas en IA. Esto permitiría también ayu-dar en la predicción del comportamiento de los toros en la IA, considerando el importante daño económico que un toro subfétil puede ocasionar en un rodeo, ya sea por muerte embrionaria temprana, aumento de la cola de parición, extensión del período de vaca seca o fallas en la Inseminación a Tiempo Fijo (IATF), entre otros.

En el INITRA hemos estandarizado diversas pruebas de análisis de la cromatina espermática. La morfología del núcleo se analiza mediante la Reacción de Feulgen, el control de la calidad de maduración y el grado de compactación de la cromatina espermática por medio de técnicas como *Nuclear Chromatin Decondensation Test* NCD test, la coloración de Azul de Anilina adap-tada para la especie bovina y la coloración de Azul de Toluidina. Estas técnicas son asequibles y de fácil implementación. Sin embargo, las pruebas para la determinación de la integridad nuclear que se encuentran actualmente en el mercado son de aplicación limitada ya que re-quieren de equipamientos no convencionales o bien los kits son costosos.

En la actualidad estamos trabajando en el desarrollo de una prueba de fragmentación nuclear basada en la respuesta del núcleo esper-mático frente a un tratamiento ácido y posterior lisis reductora, que será contrastada con la téc-nica de TUNEL ya aceptada para la evaluación de la integridad del núcleo de espermatozoides humanos<sup>(2)</sup>. Esta validación se realizará en forma conjunta con el Centro de Reproducción Asistida de Alta Complejidad, Sección de Esterilidad del Servicio de Ginecología del Hospital de Clínicas,

Facultad de Medicina, y el Laboratorio de Fertilidad Masculina, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, ambos dependientes de la UBA.

El resultado de este trabajo nos permitirá plan-tear un protocolo complementario a la evaluación de la calidad espermática que pueda utilizarse en todos los centros de IA, a los efectos de estandarizar una dosis seminal de calidad uniforme que permita acceder a los mercados internacionales.

## Bibliografía

1. Amann, RP and DeJarnette, JM. Impact of geno-mic selection of AI dairy sires on their likely utili-zation and methods to estimate fertility: A para-digm shift. *Theriogenology*, 77 (2012) 795-817.
2. Chenlo, PH; Curi, SM.; Pugliese, MN et al. Fragmentation of sperm DNA using the TUNEL method. *Actas Urol. Esp.* 38:9. (2014) 608- 612
3. Evenson, DP. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmenta-tion tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility. *Animal Reproduction Science* Volume 169 (2016), Pages 56-75.
4. Olivera, LZ, Paes de Arruda, R, de Andrade, A et al. Assessment of in vitro sperm characteristics and their importance in the prediction of conception rate in a bovine timed-AI program *Animal Reproduction Science* 137 (2013) 145-155
5. Peña, F. Computer assisted sperm analysis in ani-mal andrology: where are we now and where should we go? *Proceedings Association for Applied Animal Andrology Conference - Vancouver* (2012) 42 - 50. <http://www.ivis.org>
6. Saacke, RG. Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompensable traits in semen *Theriogenology* 70 (2008) 473-478.
7. Thundathil, JC, Dance, AL, Kastelic, JP. Fertility management of bulls to improve beef cattle pro-ductivity. *Theriogenology* Volume 86:1 (2016), 397-405.