EFECTO DE LOS IMPLANTES DE MELATONINA EN LA MOTILIDAD DEL SEMEN DE MORUECO DE RAZA RASA ARAGONESA EN EPOCA DE ANOESTRO

Casao, A.[a,b], Vega, S.[b], Palacín, I.[a], Pérez-Pé, R.[b], Cebrián-Pérez, J.A.[b], Muiño-Blanco, T.[b], Abecia, J.A.[a], Forcada, F.[a]

[a] Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, F. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. adriana@unizar.es
[b] Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, F. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El empleo de melatonina en ovino es un eficaz método para el control reproductivo. No obstante, hay menos estudios sobre el efecto del tratamiento con melatonina sobre la fertilidad del morueco. Un reciente estudio de nuestro grupo demostró un aumento del perímetro escrotal del morueco y la mejora de los parámetros reproductivos de las ovejas cubiertas con machos implantados con melatonina en anoestro (Palacin *et al.*, 2006), pero no hay estudios concluyentes del efecto de la melatonina en las características seminales.

MATERIAL Y METODOS

Los animales empleados son 4 moruecos raza Rasa Aragonesa, pertenecientes a la Unidad de Biología y Fisiología de la Reproducción y estabulados en el Servicio de Experimentación de la Universidad de Zaragoza. A dos de ellos se les colocaron tres implantes de melatonina de 18 mg el 23 de Febrero de 2006 (Melovine, Ceva Santé Animale, Libourne, France) en la oreja izquierda, y los otros dos constituyen el grupo control.

Se estudió el segundo eyaculado de estos animales, recogido en días alternos durante 120 días tras la colocación del implante, desde el 1 de Marzo al 23 de Junio de 2006, de forma separada. El semen se trasladó al laboratorio a 37ºC, donde se realizó una dilución 1/100 en medio bifase (sacarosa 0,25 M, Hepes 10 mM, hidróxido potásico 2 mM, glucosa 5 mM, sodio fosfato monobásico 0,5 M y EGTA 100 mM) para evaluar su motilidad.

Para estudiar los parámetros de motilidad se empleó un Sistema Computerizado de Análisis Seminal (PROISER): en un portaobjetos previamente atemperado se colocó una gota de 6 µl de la dilución seminal, se cubrió con un cubreobjetos también atemperado, y se estudió con un microscopio de contraste de fase con pletina térmica atemperada a 37ºC, que está conectado a una cámara de video, a su vez conectada a un ordenador con el programa de análisis seminal.

De cada muestra de semen se estudiaron dos gotas, y se tomaron cinco imágenes por cada gota, de forma que de cada muestra de cada grupo de animales se estudiaron 10 imágenes. En todas las imágenes se estudiaron los siguientes parámetros: porcentaje de espermatozoides estáticos, móviles progresivos y móviles, velocidad curvilinea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad media (VAP), índice de linearidad (LIN), índice de rectitud (STR), índice de oscilación (WOB), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batida de la cola (BCF).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento con melatonina en los machos produjo un aumento en el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos, sin que se aumentara el porcentaje de espermatozoides móviles totales. Este aumento comenzó la quinta semana tras el implante, y alcanzó un máximo entre las semanas 9 y 10 tras el implante. El efecto finalizó alrededor de la semana 12 tras el implante (Fig. 1).

Este aumento de la motilidad ya había sido observada en estudios anteriores (Kaya *et al.*, 2000), pero en este caso la medida de la motilidad se hizo de forma subjetiva, mientras que en nuestro caso se empleó un sistema computerizado de análisis seminal. Este aumento de motilidad progresiva debería estar relacionado con una mejora de la fertilidad in vivo, ya que sólo los espermatozoides con buena motilidad progresiva pueden atravesar el cuello del útero (Mortimer, 1997).

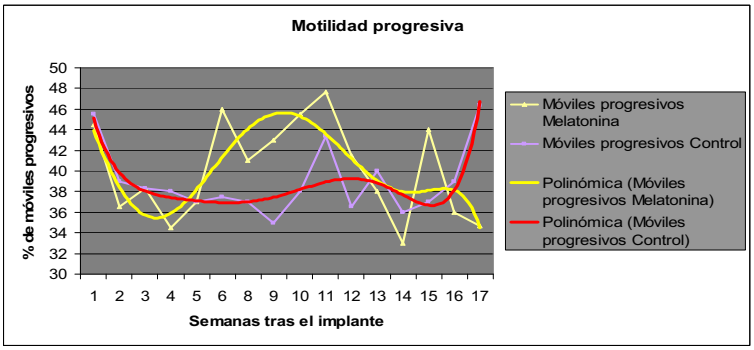


Figura 1: Evolución de la motilidad progresiva en función del tiempo.

De igual manera, el análisis computerizado nos permitió analizar las características del movimiento de los espermatozoides de ambos grupos de animales, y vimos que, junto con la motilidad progresiva, hubo un aumento de la VCL (Fig. 4) y la ALT (Fig. 2) de los animales tratados frente a los control, a la vez que se produjo un descenso de la VSL, VAP (Fig. 4), LIN (Fig. 3), STR y WOB, y no varió la BCF. Estos cambios se produjeron cuando la variación en la motilidad progresiva alcanzó su punto máximo, alrededor de las semanas 9 - 10, y se seguían manteniendo cuando finalizó el experimento; además, estas diferencias fueron debidas a los cambios en los espermatozoides clasificados como rápidos, pero no de los medios ni los lentos.

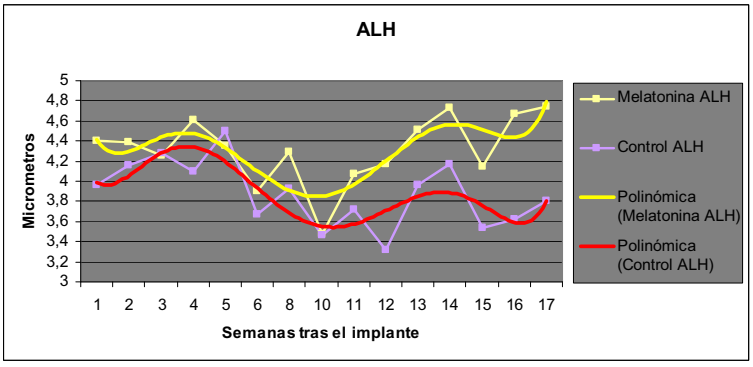


Figura 2: Variación del valor de ALH en función del tiempo.

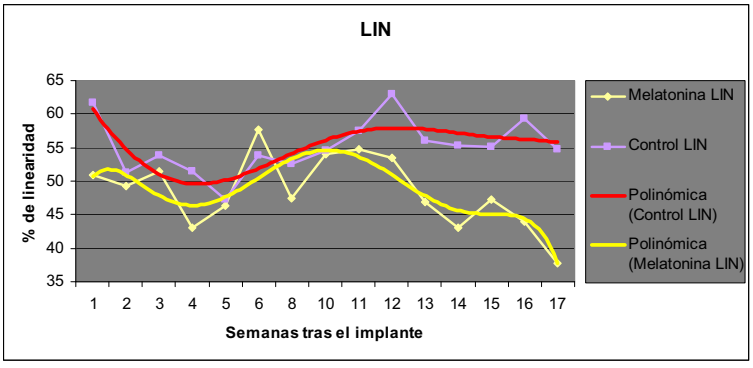


Figura 3: Evolución del porcentaje de linearidad en función del tiempo.

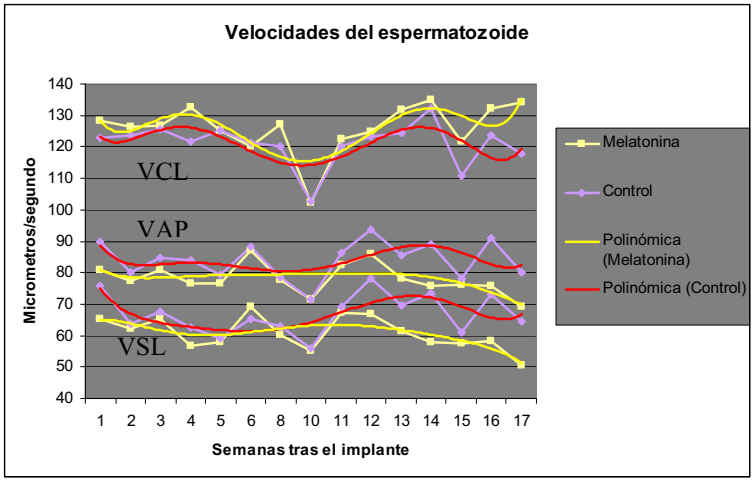


Figura 4: Variación de la VCL, VAP y VSL de los espermatozoides rápidos.

En un reciente estudio realizado con ganado caprino (Abdelwahab *et al.,* 2006), se observaron variaciones estacionales en las características cinemáticas del espermatozoide, de forma que en anoestro aumentan los valores de VAP y LIN, efecto que en nuestro caso parece ser revertido con el tratamiento con melatonina exógena.

Además, según Mortimer y Maxwell (1999), un espermatozoide se considera hiperactivado cuando su VCL > 250 µm/s, su VSL ≤ 100 µm/s, LIN ≤ 30% y ALHmax ≥ 9.0 µm. Es decir, que debe aumentar su VCL y su ALH, y disminuir su VSL y LIN, justo como ocurre con los espermatozoides de los animales tratados con melatonina. Esta hiperactividad se asocia con una disminución del riesgo de atrapamiento del espermatozoide en los pliegues de la mucosa del oviducto, mantiene el microambiente alrededor del espermatozoide, mejora de las posibilidades de contacto con el ovocito, y favorece la penetración del cúmulus y la zona pelúcida para la fertilización (Mortimer, 1997).

Los parámetros obtenidos en los espermatozoides de los animales implantados no alcanzaron los valores establecidos para considerarlos hiperactivados, ya que en condiciones normales (Mortimer *et al.,* 1998), sólo el semen incubado en condiciones de capacitación alcanza la hiperactividad, pero las variaciones producidas por la melatonina en los parámetros cinemáticos hacen que estos valores estén más cercanos a los parámetros de hiperactivación, y por tanto esta hiperactivación sea más fácil en el esperma de los animales tratados que en los control en época de anoestro, lo que podría explicar el aumento de fertilidad en condiciones de campo.

Trabajo financiado por los proyectos AGL 2004-00432 , AGL 2004-0282 y PIP 164/2005.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdelwahab, D., Rivera, M., Rodriguez-Gil, J. and Rigau, T. (2006). Reprod Domest Anim. **41**(Suppl 2): 103.

Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M. B. and Haliloglu, S. (2000). Revue Méd. Vét. **151**(12): 1143-1146.

Mortimer, S. T. (1997). Hum Reprod Update **3**(5): 403-439.

Mortimer, S. T. and Maxwell, W. M. C. (1999). Reprod. Fert. Dev. **11**(1): 25-30.

Mortimer, S. T., Swan, M. A. and Mortimer, D. (1998). Hum. Reprod. **13**(8): 2139-2146.

Palacin, I., Abecia, J. A., Forcada, F., Casao, A., Cebrian-Perez, J. A., Muino-Blanco, T., Palacios, C., Pontes, J. M., García, M. F. and Pontes García, J. M. (2006). SEOC XXXI, Zamora, Spain.