



ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES OBSERVADAS EN ESPERMATOZOIDES FELINOS (*Felis silvestris catus*) CONGELADOS-DESCONGELADOS EN UN DILUYENTE TRIS BASE CON EL AGREGADO DE TREALOSA Y DODECIL SULFATO DE SODIO

María Candela Bonaura^(1, 2); Susana Jurado⁽¹⁾; Patricia Sarmiento⁽³⁾; Roxana Peralta⁽¹⁾; Alejandra Stornelli⁽¹⁾

⁽¹⁾Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 118 s/n. La Plata. Argentina. B1900AVW. ⁽²⁾CONICET., ⁽³⁾Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido. Fac. Cs. Naturales y Museo. UNLP.

E-mail: sjurado@fcv.unlp.edu.ar

Las estructuras celulares tienen diferente susceptibilidad frente a distintas condiciones fisicoquímicas causantes de estrés celular (1). Las pruebas rutinarias de contrastación seminal brindan información acerca de la cantidad y calidad de los espermatozoides de una muestra; sin embargo, estas no ofrecen información completa sobre el potencial fertilizante del material seminal (2). Se han observado diferentes alteraciones mediante el uso de microscopía electrónica de transmisión (MET) y microscopía electrónica de barrido (MEB) en el semen congelado-descongelado en distintas especies (3). Debido a que aún no se encuentran estandarizados los protocolos de congelación para la preservación de espermatozoides felinos (EF), la utilización de la microscopía electrónica podría brindar datos que permitan mejorar los protocolos de congelación con el consecuente aumento de la supervivencia espermática al descongelado. Es así que el estudio ultramicroscópico resultaría de gran valor para evaluar el tipo y frecuencia de daño para determinar el comportamiento de un diluyente en los diferentes compartimentos celulares. La formulación de diluyentes que combinen la acción de más de un protector permite a los espermatozoides soportar las injurias durante la criopreservación. De esta manera se podría conservar la estructura y ultraestructura espermática pos-descongelación. El objetivo de este trabajo fue estudiar los daños presentes en los espermatozoides felinos luego del proceso de congelación-descongelación con diferentes diluyentes (DIL). Se utilizaron 4 gatos mestizos, entre 24-36 meses, sometidos a electroeyaculación cada 15 días. Se obtuvieron un total de 12 muestras, 3 por cada animal. El semen se congeló con dos DIL diferentes: un DIL Tris Base y un DIL Tris con el agregado de 0,25% de Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) y 0,312% (3,3 mOsm) de Trealosa (TREA). Una muestra de semen congelado-descongelado fue estudiada en un MEB Joeel JSM 636 LV. El semen fresco y congelado-descongelado se procesó y examinó con un MET JEM 1200 EX II. Se evaluaron 100 cabezas y 100 colas por tratamiento. Al MEB se observaron los siguientes daños asociados al proceso de criopreservación como: colas dañadas, acrosomas dañados, alteración de la pieza intermedia (ausencia de mitocondrias). Así mismo se pudieron observar algunas morfoanomalías como cola enrollada, cola doblada, cabeza desprendida. Al MET se observó un porcentaje significativamente mayor de espermatozoides con cabezas y colas normales en las muestras de semen fresco en comparación con el semen congelado-descongelado ($41,61 \pm 4,14$ vs $20,5 \pm 1,29$; $73,83 \pm 2,87$ vs $63,5 \pm 2,93$; $p < 0,05$). Las alteraciones observadas en los espermatozoides al descongelado fueron: hinchazón y formación de pliegues en la membrana plasmática, hinchazón de la membrana acrosomal, formación de vesículas en la membrana acrosomal externa y plasmática, alteración del contenido acrosomal, pérdida de acrosoma y vacuolización mitocondrial. Este estudio reveló una tendencia a proteger más las colas en las muestras congeladas-descongeladas con TREA-SDS ($67,32 \pm 5,2$ vs $59,69 \pm 2,95$). Podemos concluir, que los procesos de congelación-descongelación producen alteraciones ultraestructurales en la célula espermática. Conjuntamente, pudo observarse una tendencia del DIL TREA-SDS a proteger los espermatozoides felinos durante la congelación.

1. Blottner S y col. Anim Reprod Sci (2001) (65) (75-88).
2. Jurado S y col. Analecta Veterinaria (2008) (28) (7-14).
3. Alvarenga MA y col. Equine Vet J (2000) (32) (541-5).

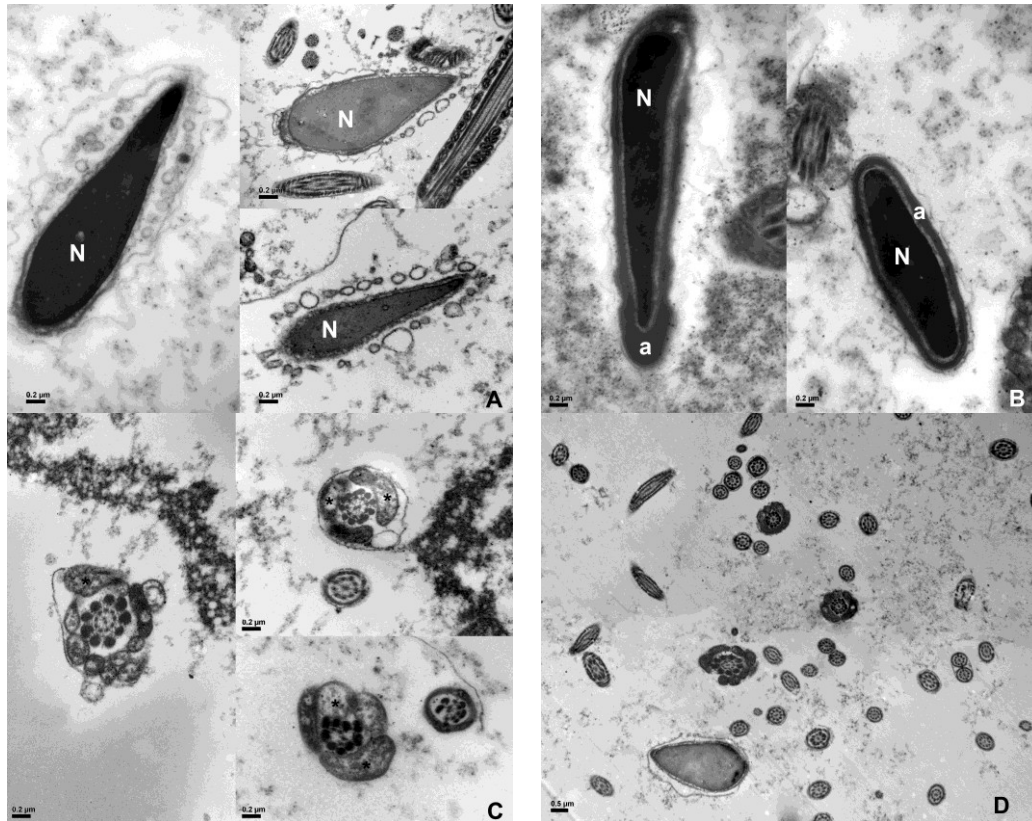


Figura 1: **A:** Vesiculación de la membrana plasmática y acrosomal de espermatozoides felinos (EF) congelados con Tris; **B:** Cortes de cola y cabeza normales de EF congelados con TREA-SDS; **C:** Vacuolización mitocondrial (*) de EF congelados con Tris; **D:** cortes de cola normales de EF congelados con TREA-SDS. N: núcleo. a: acrosoma

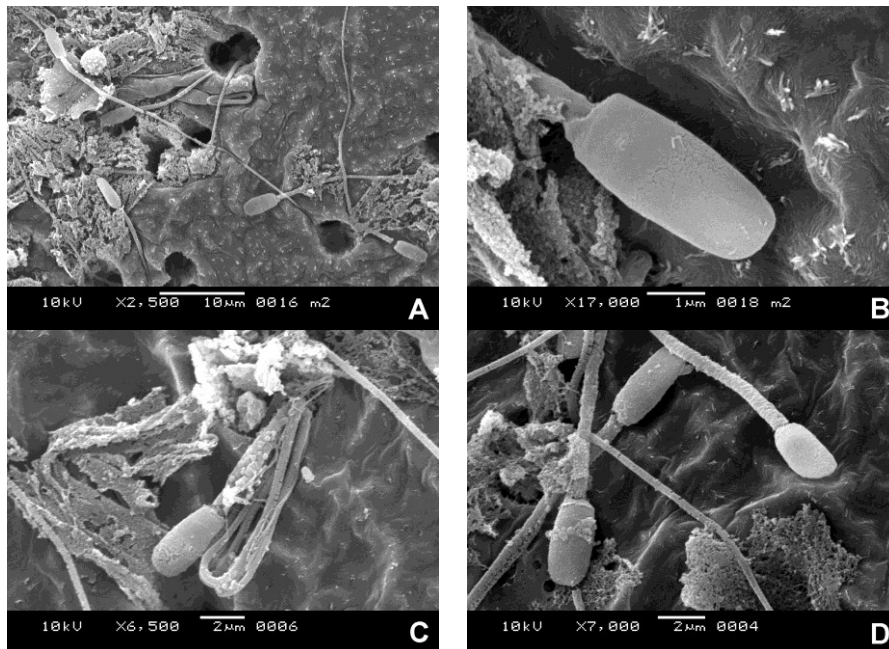


Figura 2: **A:** Cabeza desprendida y colas dañadas de EF congelados con TREA-SDS; **B:** Daño acrosomal de EF congelados con TREA-SDS; **C:** Cola enrollada y dañada de EF congelados con Tris; **D:** Colas dañadas y cuello desprendido de EF congelados con Tris.