

## *Plasma Seminal*

El plasma seminal consiste en una compleja mezcla de secreciones que se originan principalmente en el epidídimo y las glándulas sexuales accesorias del macho (Töpfer – Petersen *et al.*, 2005). Este cumple un rol protector de los espermatozoides dentro del tracto reproductivo de la hembra: modula la respuesta inflamatoria tras la monta (suprime la activación del sistema del complemento, la quimiotaxis de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) y la fagocitosis) (Troedsson *et al.*, 2005), sus proteínas protegen selectivamente a los espermatozoides vivos para no ser fagocitados por los PMN presentes en el útero y juega un rol importante en el transporte y eliminación de espermatozoides muertos (Loomis, 2006). Participa de manera importante en la maduración final del espermatozoide a través de cambios hormonales, enzimáticos y modificación de la superficie de membrana espermática; además de servir como vehículo para los espermatozoides eyaculados (Muiño – Blanco *et al.*, 2008). La enorme variación que existe entre distintos machos de una misma especie en la calidad espermática del semen refrigerado puede atribuirse en parte a diferencias en la composición de su plasma seminal (Muiño – Blanco *et al.*, 2008).

La eyaculación del macho se lleva a cabo en distintas fracciones, que varían de seis a ocho, siendo su composición determinada por el aporte en distintos momentos de las glándulas sexuales anexas. Las distintas fracciones de este eyaculado pueden ser más o menos dañinas para la preservación del semen refrigerado. Las secreciones pre seminales son las que tendrían un mayor efecto nocivo sobre la calidad espermática, siendo la tercera fracción la que ofrece una mejor protección a los espermatozoides (Katila *et al.*, 2001). Esta variación en la composición del eyaculado dada por los distintos aportes de las glándulas sexuales anexas sería una de las causas existentes para la gran variabilidad en la preservación de semen que existe entre los distintos machos de una misma especie (Muiño – Blanco *et al.*, 2008).

Una alta concentración de plasma seminal en el semen equino extendido se considera deletérea para su almacenamiento refrigerado. La centrifugación y remoción de

todo el plasma seminal resulta en una reducción significativa en la motilidad de los espermatozoides almacenados en refrigeración cuando se utilizan diluyentes estándar. La centrifugación y remoción parcial del plasma seminal previo a su almacenamiento a 5°C resulta en una mejoría en las características de motilidad. Esto sugiere que es esencial una baja concentración de plasma seminal, o el uso de un sustituto de éste, para mantener las características de motilidad espermática (Rigby *et al.*, 2001; Akcay, 2008). No se describen diferencias en motilidad total ni integridad de membrana espermática al separar el plasma seminal de las distintas fracciones de un mismo eyaculado, por lo que todas las fracciones de plasma seminal tienen un efecto similar sobre los espermatozoides tras almacenarlos durante 24 horas a 5°C (Kareskoski *et al.*, 2006).

En los últimos 20 años se determinó que el plasma seminal bovino (BSP: *bovine seminal plasma*) contiene una familia de proteínas que son secretadas por las vesículas seminales. Se han descrito homólogos de estas proteínas presentes en el semen de todos los mamíferos, variando sus concentraciones entre las distintas especies. En el toro, estas proteínas del plasma seminal representan el 65% del total de proteínas del semen y en el potro el 1,1% (Bergeron y Manjunath, 2006). En el potro se han caracterizado 8 proteínas de plasma seminal (HSP – 1 a HSP – 8), siendo las más abundantes HSP – 1 y HSP – 2, (renombradas SP1 y SP2) que representan entre un 70 y un 80% del total de proteínas BSP presentes en el plasma seminal (Kareskoski y Katila, 2008). Ha sido demostrado que estas BSP se involucran en el establecimiento del reservorio espermático a nivel oviductal, modulan la capacitación (Thérien *et al.*, 1997) y participan en algunos eventos centrales dentro de la fertilización (por ejemplo en la fusión entre el espermatozoide y el ovocito) (Töpfer – Petersen *et al.*, 2005).

Estas BSP se unen a los fosfolípidos de colina de la membrana plasmática durante la eyaculación y estimulan el eflujo de colesterol y fosfolípidos desde la membrana espermática (Muiño – Blanco *et al.*, 2008). En el tracto reproductivo de la hembra, los espermatozoides unidos a BSP interactúan con los componentes del fluido oviductal y/o folicular y estimulan un segundo eflujo de colesterol, lo que resulta en el proceso de capacitación. Se ha determinado que en tracto reproductivo de la hembra se encuentran

heparina y lipoproteínas de alta densidad (HDL) que inducen el proceso de capacitación. Las BSP interactúan con estos componentes, potenciando de esta manera la capacitación inducida por estas moléculas (Ménard *et al.*, 2003).

A diferencia de su función positiva en la fertilidad, estas BSP pueden ser perjudiciales para el almacenamiento de los espermatozoides. El flujo de colesterol estimulado por estas proteínas es dependiente del tiempo de exposición y de su concentración. De esta manera, la exposición continua del semen a BSP causaría una remoción continua de colesterol desde la membrana plasmática, lo que puede dejar a los espermatozoides muy sensibles a las bajas temperaturas de almacenamiento (Bergeron y Manjunath, 2006). Al incubar espermatozoides previo a su enfriamiento a 5°C en metil- $\beta$ -ciclodextrina cargada con colesterol, que actúa como un transportador que incorpora el colesterol a la membrana plasmática, se obtienen mejores valores de motilidad espermática e integridad de membrana tras 24 y 72 horas de almacenamiento (Torres *et al.*, 2006), lo que sugiere que una mayor concentración de colesterol en la membrana plasmática mejora las características anteriormente mencionadas. Este incremento en motilidad e integridad de membrana se hace evidente en mayor medida al criopreservar espermatozoides en un medio de congelación que contiene ciclodextrinas cargadas con colesterol (Spizziri *et al.*, 2010).

Otro de los elementos perniciosos presentes en el plasma seminal es una enzima, posiblemente producida por las glándulas bulbouretrales, con actividad similar a la lipasa. Esta hidroliza triglicéridos liberando ácidos grasos, tales como el ácido oleico, que sería uno más de los mecanismos involucrados en la degradación de la calidad espermática, disminuyendo su motilidad, viabilidad e integridad acrosomal (Carver y Ball, 2002).

La composición del plasma seminal podría ser la causa principal en las variaciones de calidad espermática tras su almacenamiento a 5°C. Akcay *et al.* (2006) encontraron variaciones significativas en la motilidad total, motilidad progresiva, velocidad de desplazamiento lineal y curvilínea e integridad de membrana al intercambiar plasma seminal de distintos potros, respecto de los valores obtenidos al refrigerarlos con su propio plasma seminal. Esto indicaría que este elemento es responsable en gran medida de las

variaciones individuales entre machos. Similares resultados obtuvieron Katila *et al.* (2003) en parámetros de motilidad y viabilidad espermática.

Tras el proceso de refrigeración, así como el de congelación, el espermatozoide aún debe ser capaz de pasar por el proceso de capacitación. Debe mantener la capacidad de adherirse al epitelio oviductal, ser liberado de éste cuando el ovocito llegue, ser motil durante la penetración del ovocito, ser capaz de sufrir una reacción del acrosoma oportuna y finalmente fusionarse con la membrana celular del ovocito antes de ser engolfado (Crabo, 2001). Para lograr que el espermatozoide mantenga la capacidad de realizar los eventos mencionados anteriormente es que se han desarrollado distintos diluyentes de refrigeración de semen, existiendo en la actualidad una gran cantidad de diluyentes comerciales basados en distintos elementos para lograr la preservación adecuada de los espermatozoides.

*...por Catalina Sandoval.*