

Effect of L-carnitine concentration on freezing of ovine semen

Efecto de la concentración de la L-carnitina en congelación del semen ovino

Autores:

Valdez-Pinargote, Girabel

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Egresado
Cuenca – Ecuador



girabelvaldez@gmail.com



<https://orcid.org/0000-0002-9349-8340>

Moscoso-Piedra, Andrés

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Egresado
Cuenca – Ecuador



amoscosop@ucacue.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-4017-0165>

Maldonado-Cornejo, Manuel

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Egresado
Cuenca – Ecuador



mmaldonadoc@ucacue.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-1507-2280>

Fechas de recepción: 15-NOV-2024 aceptación: 15-DIC-2024 publicación: 15-DIC-2024



<https://orcid.org/0000-0002-8695-5005>

<http://mqrinvestigar.com/>



Resumen

La criopreservación espermática es una técnica fundamental en la reproducción animal, especialmente en rumiantes. Dicha técnica consiste en congelar el semen colectado por una vagina artificial para su posterior uso y así facilitar la reproducción asistida, causando un impacto beneficioso en la medicina veterinaria. La L-Carnitina es un aminoácido resultante de la síntesis de la lisina y metionina que desempeña un papel importante en la preservación de la integridad de la membrana y función mitocondrial. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la adición de L-carnitina en dosis de 1M, 0.750mM, 0.500mM y 0.100mM sobre la calidad espermática de tres líneas de ovinos (Dorper, Kathadin y Pelibuey). En el análisis se procedió colectando semen de cada uno de los ovinos participantes en varias montas dando en total tres eyaculados de cada animal, nueve en total, dejando una prueba de testigo semen libre de L-Carnitina entre cada eyaculado, las cuales se evaluaron a través de pruebas de laboratorio Eosina-Nigrosina, Yoduro de Propidio y Rodamida con cada una de las dosis. También, gracias al sistema CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis System*) se pudo analizar parámetros de PR, NP, IM, VCL, VAP, VSL, STR, LIN, ALH y BCF. Todas estas evaluaciones resultaron a favor de la dosis de 1M (dosis mayor) tanto en las Pruebas de Permeabilidad, viabilidad y cinética. Se identificaron que entre los valores de LIN y STR existió una diferencia estadística, respetándose el mismo patrón a favor de las concentraciones de 1M frente a la del testigo.

Palabras clave: Criopreservación; L-Carnitina; Ovino; Espermatozoides



Abstract

Sperm cryopreservation is a key technique in animal reproduction, particularly in ruminants, enabling assisted reproduction and benefiting veterinary medicine. L-Carnitine, an amino acid derived from lysine and methionine, plays a crucial role in preserving membrane integrity and mitochondrial function. The aim of this study was to assess the effect of L-carnitine supplementation at doses of 1M, 0.750mM, 0.500mM, and 0.100mM on the sperm quality of three sheep breeds (Dorper, Kathadin, and Pelibuey). Semen was collected from each sheep over multiple mounts, resulting in three ejaculates per animal, with a total of nine samples, and a control test with semen free of L-carnitine. These samples were evaluated through laboratory tests (Eosin-Nigrosin, Propidium Iodide, and Rodamine) and analyzed using the CASA system to measure parameters such as PR, NP, IM, VCL, VAP, VSL, STR, LIN, ALH, and BCF. The results favored the 1M dose (highest concentration) across permeability, viability, and kinetics tests. Statistical differences were found in the LIN and STR values, consistently favoring the 1M concentration compared to the control.

Keywords: Cryopreservation; L-Carnitine; Sheep; Spermatozoa



Introducción

Aspectos y generalidades

La producción ovina es una de las más extensas a nivel mundial, debido principalmente a un exiguo consumo de alimento y fuerza de trabajo simple. Es una alternativa atractiva para pequeños agricultores porque los ovinos se ajustan a distintos sistemas agrícolas (Paraskevopoulou, y otros, 2020).

Los katahdin son una especie rústica, fáciles de mantener, se adaptan casi a cualquier terreno, poseen un gran contenido de carne y poca grasa. Se ajustan a varias formas de manejo, el peso en adultos oscila entre 60-65 kg en hembras, y los machos entre 100-125 kg (Manzanilla Pech, y otros, 2012).

Los dorper son resistentes y adaptables a distintos terrenos, aun en climas duros y entornos hostiles como las tierras áridas de Sudáfrica, las hembras tienen un enérgico instinto materno, prolongada etapa productiva y parto sencillo, esto deriva en un excelente peso al nacimiento y destete.

Llegan a 36 - 45 kg cerca de los cuatro meses, su carne es muy suave, magra, y su sabor ocupa posiciones estelares en calidad y rendimiento (González Godínez, Urrutia Morales, & Gámez Vázquez, 2014).

Los pelibuey cuyo peso es 35 - 80 kg (pequeña-mediana) no tienen lana, sino pelaje con tres coloraciones básicas: café, blanca y pinta; pocas veces con pelaje negro. Su fortaleza es acoplarse a cualquier zona agroecológica, su eminente fertilidad que radica entre 1,2-1,8 corderos en cada parto, y su reproducción se da en el transcurso del año; su talón de Aquiles radica en la poca producción de carne (Aguilar Martínez, y otros, 2017).

Eficiencia productiva

La producción de pequeños rumiantes tiene un papel socioeconómico y ambiental importante. Tradicionalmente se crían en sistemas de pastoreo donde las tierras más productivas se utilizan para alimentar a las vacas y, secundariamente, a las ovejas (Simões, y otros, 2021).

En los últimos años se han desarrollado dos enfoques a través de la selección genética para mejorar las explotaciones ovinas, basados en la existencia de heredabilidad de dos caracteres reproductivos principales. El primer enfoque es la mejora de la tasa de ovulación y el tamaño de la camada en ovejas, que es el principal factor de rentabilidad económica en las explotaciones de ovinos de carne. (Simões, y otros, 2021)

L-Carnitina

Es un aminoácido cuya concentración se da dentro del epidídimo y espermatozoide, también en el flujo seminal del eyaculado (Galarza, Lopez, & Moreno, 2019). Varios estudios in vitro revelan que la L-Carnitina robustece la motilidad de los espermatozoides, asimismo un



efecto crioprotector. Los análisis hechos en humanos y animales determinaron que la L-Carnitina protege contra las especies reactivas de oxígeno por la cualidad antioxidante.

La L Carnitina es un vehículo intramitocondrial para el grupo acilo, que en forma de acil-CoA funciona como sustrato en el proceso de oxidación, produce energía para la respiración y la motilidad espermática (Aliabadi, Soleimani Mehranjani, Borzoei, & Talaei-Khozani, 2012).

Para evaluar el efecto del antioxidante L Carnitina se puede usar en concentraciones de 1 (LC1), 5 (LC5), 7,5 (LC7,5) y 10 mm (LC10) para preservar el semen ovino congelado a largo plazo. (De Souza , 2019)

Criopreservación

Este método es muy desarrollado en bovinos, pues los estudios se han centrado en la sustitución de varios de los componentes que se usan en la congelación; no obstante, en ovinos la criopreservación no está desarrollada porque los espermatozoides son susceptibles a la congelación y descongelación de manera individual (Gomez , Estrada, Cuicas, Àvila , & Segura , 2018).

Entre los crioprotectores más utilizados tenemos el glicerol, dimetilsulforxido (DMSO), dimetilacetamida (DMA), entilenglicol, propilenglicol, polímeros (pilianfolitos), trehalosa, sacarosa, etc. Gran parte de estos traspasan las membranas lipídicas y sustituyen una fracción de su contenido de agua. Por otra parte, los polímeros y carbohidratos como la glucosa, trehalosa, sacarosa y manitol no penetran la membrana. Se clasifican en dos grupos: los que pueden atravesar la membrana y los que no tienen la capacidad de hacerlo (Frimpong Boafo, Thapa Magar, & Davis Ekpo, 2022).

Triladyl

Es un diluyente con yema de huevo utilizada para la congelación de semen en un solo paso (para reconstituir). Generalmente cada 250 g permiten preparar de 1250 ml de diluyente. Se compone de Tris, ácido cítrico, azúcar, tampones, glicerina, antibióticos (tilosina, gentamicina, espectinomicina y lincomicina). Se debe diluir con agua destilada o bidestilada (Molano Villamil & Lombana Portes, 2021).

Tinción

La congelación puede dañar la estructura espermática reduciendo su capacidad de fecundación (Iglesias Reyes, y otros, 2021).



En atención a lo expuesto, se han ejecutado otras pruebas generalmente realizadas en laboratorio como procedimiento de costumbre cuyo método es más asequible y solamente necesita de un microscopio de contraste de fases, entre las que se podrían nombrar: Yoduro de propidio, Eosina negrosina y rodamina (Iglesias Reyes, y otros, 2021).

Ioduro de propidio:

Es un colorante de ácidos nucleicos, impermeable a la membrana. Torna en fluorescencia roja a los espermatozoides que perdieron la integridad de su membrana plasmática (Puerta Suárez, Mayorga Torres, Ospina Medina, Berdugo Gutiérrez, & Cardona Maya, 2014).

Eosina nigrosina:

Es una tinción usada para contar espermatozoides vivos o muertos, tiñendo los muertos de color rosa, los vivos permanecen incoloros (Mallma Marca, 2019).

Rodamina:

Analiza la funcionalidad mitocondrial de los espermatozoides. Penetra las mitocondrias con actividad respiratoria y se acumula dentro de las células. Al influir la luz del láser esta tiñe a los espermatozoides con mitocondrias activas de color verde fluorescente (Córdova Izquierdo, y otros, 2016).

Evaluación espermática

La motilidad masal se rige por la velocidad con la que se hacen y deshacen las ondas. La motilidad espermática progresiva se da en espermatozoides con ciertas cualidades estructurales y fisiológicas inmensamente involucrados con la fertilidad (Dinatolo, 2011). Motilidad individual es la facultad de movimiento de la célula espermática. Este tradicional criterio se ha utilizado como única prueba para la contrastación seminal del eyaculado ovino, apenas colectado o luego de rendirlo a diferentes procesos de conservación.

Color: Es buena si es de color crema y consistencia espesa; regular si es de tonalidad grisácea; y mala cuando su coloración es blanco diluido. El color rosáceo implica presencia de sangre, el semen gris implica una posible contaminación del tracto reproductivo, el amarillento y diluido implica contaminación con orina.

Olor: El semen es inoloro. En caso de urospermia, se nota por el olor a orina en el eyaculado. (Dinatolo, 2011)



pH: Tiene un pH que ronda 6,7 a 6,9. (Simonetti, Lynch, & McCormick, 2014)

Volumen: va acorde al método de recolección, edad y condición del ovino, las estaciones, habilidad del operador y frecuencia de obtención de muestras. El volumen es de 0,5 a 2 ml en animales maduros, y de 0,5 a 0,7 ml en los jóvenes (Dinatolo, 2011)

Material y métodos

El escenario fue el laboratorio de reproducción de la Universidad Católica de Cuenca, en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, ubicada en la provincia del Azuay, cantón Cuenca, en el kilómetro 2 ½ de la vía Panamericana Norte. Inició en septiembre del 2024, su duración fue de aproximadamente tres meses donde se estudió el tema “Efecto de la concentración de la L Carnitina en la congelación del semen ovino”. Se utilizó tres razas de ovinos donantes: Pelibuey, Dorper y Katahdin con tres eyaculados por ejemplar, dando un total de nueve muestras a las que se aplicó L-Carnitina en dosis de 1M, 0.750mM, 0.500mM y 0.100mM, y se procedió a congelar a -196°C.

Proceso de campo

Se utilizó una vagina artificial que contenía entre 40-60ml de agua caliente (40-45 °C) y se adaptó por el agregado de aire hasta que la luz interior de la camisa de látex encoja su diámetro a un centímetro. Es fundamental mantener 36-38 °C en el transcurso de salida del laboratorio y la operación de colecta de semen. Luego se ubica un tubo Falcon de 15 ml estéril y rotulado en el cuello de la vagina artificial.

Una borrega estrogenizada provocó el reflejo de Flehmen en los machos quienes procedieron a la monta. El operario, al lado derecho de los ovinos, sostenía la vagina artificial con su extremo abierto frente al prepucio. Se obtuvo el “golpe de riñón” del animal indicando el momento de la eyaculación. Se protegió la muestra con la mano a fin de conservar la temperatura corporal hasta regresar al laboratorio. Se dispuso el semen en baño maría a 37 °C, resguardándolo de cambios bruscos de temperatura, luz solar directa y contacto con el agua.

Proceso de laboratorio

Motilidad

Se colocó 5 µl de semen puro en un portaobjeto previamente calentado en la platina térmica a 37 °C y se colocó el cubreobjeto también calentado. Se evaluó la motilidad masal (MM) en



el microscopio con un lente de 10x, y la motilidad individual con el lente 40x (MI) que debe estar por encima del 80 %.

Concentración espermática

Aquí se utilizó un fotómetro SMD de alta precisión diseñado especialmente para la medición de concentración espermática en la cual se colocó 30 μ l de semen limpio en una microcubeta de manera uniforme hasta quedar sin burbujas a fin de lograr mayor precisión de resultados.

Dilución

Se la hizo rápidamente después de analizar la motilidad y concentración espermática, ya que la muestra no debe pasar largos periodos en baño María a 37 °C porque podría alterar su motilidad; por eso se hizo una pre-disolución con relación 1:1 (1 parte del volumen total de la muestra obtenida de semen puro y 1 parte del mismo volumen del diluyente, yema de huevo y agua pura, este último con relación 1:1:3 dependiendo del volumen seminal a diluir), así se extendió el tiempo de la muestra dentro del baño maría.

Solución madre

Se multiplicó el volumen total de semen en ml x la concentración seminal x motilidad masal (MM) x motilidad individual (MI); los dos últimos datos los manejamos con el 80 % en todas las muestras.

El valor conseguido se dividió para la concentración deseada en la pajuela, aquí se manejó con 50 millones, el resultado completo señaló el número de pajuelas a congelar; luego, el número de pajuelas adquiridas se dividió en cuatro para cada dosis logrando un total de 16 pajuelas en cada eyaculado, puesto que es el número de pajuelas en las que almacenamos 0,25 cc.

En la solución madre alcanzada, se restó la cantidad de pre-disolución ya que esta se aplicó previamente. Para finalizar, se calculó una relación 1:1:3 (Triladyl[®], Yema de huevo y Agua Pura) de la solución obtenida y se mezcló en un tubo Falcon de 50 ml. Los componentes para hacer la relación de Triladyl[®] estuvieron previamente en baño María en tubos Falcón de 15 ml para evitar un choque térmico con la muestra pre- diluida, la cual se mezcló al final con la solución madre obtenida.

Adición de L-Carnitina



Con una balanza analítica se extrajeron los gramos deseados de L-Carnitina para su posterior cálculo. Estas dosis se dividieron en cuatro alícuotas de agua bidestilada y el crio preservante, creando así las soluciones madre. Cada una fue rotulada con su respectiva dosis para su uso durante el análisis. En los tubos eppendorf se añadió 5 µl de la solución madre y 1000 µl de semen diluido, repitiendo el proceso con cada una de las dosis.

Empajuelado

Diluidas las dosis de 1M, 0.750mM, 0.500mM y 0.100mM, se envasó en pajuelas de 0.25 ml rotuladas con su respectiva dosis, el envasado fue por succión y, con la ayuda de una jeringa, se extrajo un poco de semen de un extremo de la pajuela a fin de dejar una burbuja de aire para impedir que esta reviente al momento de la descongelación, y se sellaron con alcohol polivinílico.

Estabilización de muestras

Dimos a las células el tiempo y ambiente aptos para que esta elimine toda el agua intracelular y la sustituya por el diluyente para que, al momento de la congelación y descongelación, no se formen cristales de hielo que pudieran abrir la membrana celular y deteriorar así al espermatozoide.

Congelación de muestras

En el cooler se agregó 2 cm de nitrógeno líquido y, con la ayuda de una rampa, se intervino al primer descenso de temperatura por 10 minutos en vapores de nitrógeno. Realizado este descenso, se sumergieron las pajillas en el nitrógeno líquido para su enfriamiento.

Evaluación

Las pajuelas fueron sumergidas en un termo con agua a 35-37 °C durante 30-40 segundos donde se secó y se cortó un extremo para verter en tubo eppendorf rotulados con las respectivas dosis y se colocó en la platina térmica calentada a 37 °C.

Análisis del sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis)

Se dispuso en un portaobjeto una gota de 5 µl de la muestra del testigo y una gota de cada dosis de L-Carnitina, con este sistema se pudo estudiar varios parámetros cinemáticos como: espermatozoides progresivos (PR), no progresivos (NP), inmóviles (IM), velocidad



curvilínea (VCL), velocidad media (VAP), velocidad lineal (VSL), índice de rectitud (STR), índice de linealidad (LIN), amplitud lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batida (BCF).

Eosina-Nigrosina

Se colocó 3 μ l de las muestras de semen diluidos y 3 μ l de Eosina-Nigrosina, ambos juntos en un extremo del portaobjetos. Con otro portaobjetos se combina suavemente el semen con la tinción y se hace un barrido uniforme hasta tapar la mayor parte del portaobjetos. Se evalúa luego de dos minutos de reposo. Se contaron las células en el microscopio usando un lente de 40x; se observaron tres campos de la muestra contando espermatozoides vivos y muertos, así se pudo determinar el porcentaje de vitalidad.

Yoduro de Propidio

Utilizando un tubo Eppendorf de 1,5 ml, se vertió 3 μ l de Yoduro de Propidio junto a 50 μ l de la muestra seminal, se dejó en reposo 15 minutos en la platina térmica para, posteriormente, llevar la muestra fuera del alcance de la luz, se realizó el respectivo barrido y evaluación. Esta se analizó gracias a un microscopio de fluorescencia con un lente de 40x y con el disco número 1, recopilando así datos de 100 espermatozoides de diferentes campos, es decir, los teñidos que representan un color rojo fosforescente (muertos) y los no pintados (vivos) con el ADN intacto.

Rodamina

Se realizó depositando 3 μ l de Rodamina en 50 μ l de la muestra, en un reposo de 37 °C por diez minutos, se dispuso una gota de 5 μ l en el portaobjeto y se analizó en un microscopio de fluorescencia con el disco 3. Finalmente, se siguió el mismo procedimiento, es decir, recopilación de datos tal como se describió en líneas anteriores.

Análisis estadístico

Para el análisis de las diferencias estadísticas en los parámetros de calidad espermática entre razas se realizó un ANOVA de una entrada a partir de un diseño completamente al azar (DCA), evaluando así las variables dependientes como la viabilidad, integridad de la membrana, a través de las pruebas (Eosina-nigrosina, Yoduro de Propidio y Rodamida), así como las variables de progresividad que analiza el sistema CASA.



Resultados

Una vez definido que las repeticiones fueron estadísticamente homogéneas y que las razas de los ovinos no afectaron la calidad espermática, se procedió a realizar el análisis de varianza ($p \leq 0,05$), de una sola entrada a partir de las diferentes dosis de L carnitina utilizadas.

Cuadro 1. Evaluación de las pruebas de permeabilidad frente al uso de L-Carnitina

TRATAMIENTO		N	Media	DE	Valor p	
EOSINA	TESTIGO	(a)	9	18.44	18.688	0.035
	1M	(b)	9	39.20	6.800	
	0.750 mM	(a)	9	33.01	9.937	
	0.500 mM	(b)	9	35.14	15.033	
	0.100 mM	(a)	9	27.66	11.822	
YODURO	TESTIGO	(a)	9	18.93	16.886	0.015
	1M	(b)	9	44.44	7.044	
	0.750 mM	(b)	9	41.31	8.199	
	0.500 mM	(b)	9	38.69	12.006	
	0.100 mM	(b)	9	41.39	8.490	
RODAMINA	TESTIGO	(a)	9	11.99	10.289	0.001
	1M	(b)	9	44.16	9.999	
	0.750 mM	(b)	9	39.24	5.826	
	0.500 mM	(b)	9	39.31	5.694	
	0.100 mM	(b)	9	38.34	8.529	

El cuadro 1 refleja la variación de la media con respecto al uso de L-carnitina, donde se pudo observar que, frente a mayor molaridad, la respuesta es más favorable tanto para las pruebas de Yoduro como para las de Rodamina, siendo el uso de L-Carnitina siempre superior al testigo ($p \leq 0,05$).

Cuadro 2. Evaluación de las pruebas de viabilidad frente al uso de L-Carnitina

TRATAMIENTO		N	Media	DE	Valor p	
PROGRESIVO	TESTIGO	(a)	9	20.13	4.049	0.005
	1M	(b)	9	28.36	7.859	
	0.750 mM	(ab)	9	26.16	6.814	
	0.500 mM	(ab)	9	33.07	12.687	
	0.100 mM	(ab)	9	34.06	11.378	
NO PROGRESIVO	TESTIGO	(a)	9	66.74	10.669	0.401
	1M	(a)	9	63.51	10.953	
	0.750 mM	(a)	9	66.25	6.358	
	0.500 mM	(a)	9	60.62	14.837	



INMÓVILES	0.100 mM	(a)	9	58.30	10.801	
	TESTIGO	(a)	9	13.13	10.772	
	1mM	(a)	9	8.12	8.106	
	0.750 mM	(a)	9	7.59	6.119	0.636
	0.500 mM	(a)	9	6.31	5.726	
	0.100 mM	(a)	9	7.64	6.129	

Las pruebas de viabilidad de L-Carnitina reflejadas en el cuadro 2 permiten observar que existen diferencias estadísticas en la progresividad a favor de la dosis 1mM, ($p < 0.05$) siendo las diferencias siempre superiores para el uso de la L-Carnitina sobre el testigo. En los datos NP e inmóviles no hay diferencias ($p \geq 0,05$).

Cuadro 3. Evaluación de las pruebas de cinética frente al uso de L-Carnitina

	TRATAMIENTO		N	Media	DE	Valor p
VCL	TESTIGO	(a)	9	91.04	32.379	
	1M	(a)	9	85.86	12.608	
	0.750 mM	(a)	9	81.89	12.263	0.489
	0.500 mM	(a)	9	90.93	12.519	
	0.100 mM	(a)	9	79.10	17.706	
VAP	TESTIGO	(a)	9	49.63	18.431	
	1M	(a)	9	49.86	7.053	
	0.750 mM	(a)	9	46.63	8.524	0.583
	0.500 mM	(a)	9	54.38	9.790	
	0.100 mM	(a)	9	50.01	14.144	
VSL	TESTIGO	(a)	9	30.82	11.904	
	1M	(a)	9	33.97	5.409	
	0.750 mM	(a)	9	30.99	7.534	0.565
	0.500 mM	(a)	9	38.01	10.489	
	0.100 mM	(a)	9	34.88	10.249	
STR	TESTIGO	(a)	9	56.82	4.431	
	1M	(b)	9	61.43	5.738	
	0.750 mM	(b)	9	59.63	3.706	0.060
	0.500 mM	(ab)	9	64.21	7.873	
	0.100 mM	(ab)	9	64.54	6.700	
LIN	TESTIGO	(a)	9	32.69	4.652	
	1M	(b)	9	37.24	6.070	
	0.750 mM	(b)	9	35.15	3.578	0.065
	0.500 mM	(ab)	9	40.71	9.097	
	0.100 mM	(ab)	9	42.17	9.264	
ALH	TESTIGO	(a)	9	2.44	0.755	
	1M	(a)	9	2.13	0.295	0.493
	0.750 mM	(a)	8	2.07	0.210	



BCF	TESTIGO	0.500 mM	(a)	9	2.23	0.221	
		0.100 mM	(a)	9	2.07	0.455	
			(a)	9	9.47	3.182	
		1M	(a)	9	11.71	1.950	
		0.750 mM	(a)	9	10.85	2.294	0.332
		0.500 mM	(a)	9	12.38	2.545	
		0.100 mM	(a)	9	11.64	3.627	

Finalmente, las pruebas de cinética espermática evaluadas en el sistema CASA, observadas en el Cuadro 3, identificaron que, para los valores de LIN y STR, existen diferencias estadísticas ($p < 0,05$), respetándose el mismo patrón a favor de las concentraciones de 1M. Sin embargo, los otros valores analizados en el sistema no presentan diferencia con respecto al testigo ($p > 0,05$).

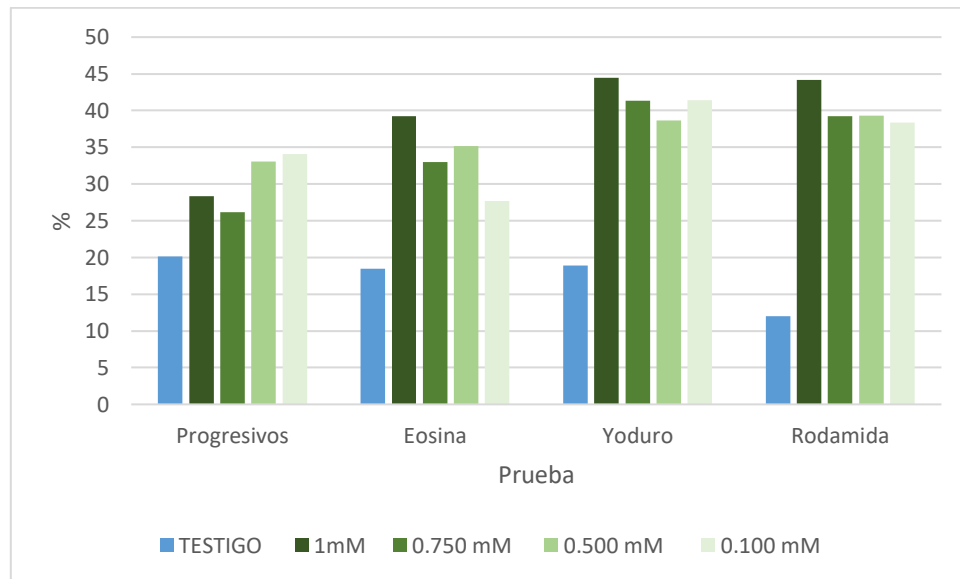


Figura 1. Medias del % de viabilidad y permeabilidad

Discusión

Gomez, et al (2018) indican que la cinética espermática analizada mediante el sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) y después de la descongelación es una herramienta vital para los análisis de calidad espermática, dado que estos presentan características específicas, que pueden ser mal interpretadas si solo nos enfocamos en valores de progresivida, motilidad individual y concentración. Los parámetros de caracterización seminal arrojados en las muestras de los reproductores eyaculados se hallan entre los valores normales en comparación con las otras razas. Al margen de los ritmos de extracción, no se encontraron



variaciones relevantes en cuanto a volumen, motilidad y concentración espermática (Carvajal, et al, 2018), por lo que esta investigación demostró la importancia del efecto de la L-Carnitina, en dosis de 1M, 0.750mM, 0.500 mM y 0.100 mM para la congelación espermática de semen ovino, produciéndose de manera general un efecto favorable y progresivo conforme la dosis aumenta.

Al indagar otras evidencias del uso de L-Carnitina se contrastó con los análisis con L-Carnitina de Souza (2019), quien utilizó la L-Carnitina y otros diluyentes a 0, 5 y 10 mM, halló que la suplementación de L-Carnitina de 10 mM afectó de manera positiva el parámetro VAP en TRIS y VSL en el diluyente. De hecho, la adición de L-Carnitina de 5 mM mejoró el parámetro STR en el extensor diluyente, es decir, el extensor con diluyente comprometió la cinética del espermatozoide y mostró un mayor estrés oxidativo en contraste con el extensor testigo, corroborando la afirmación de que esta molécula debe ser usada a mayores concentraciones, sin embargo se pudo también corroborar que el efecto no siempre es estadísticamente significativo.

La suplementación de la L-Carnitina en la criopreservación de semen se ha probado antes en búfalos por Longobardi, et al, (2017), logrando efectos satisfactorios. En este análisis la suplementación de la L carnitina promovería las características cinéticas de los espermatozoides post congelación, debido a su función como proveedor de energía y, al ser un facilitador para el transporte de ácidos grasos activado en la matriz mitocondrial para la oxidación β ., el porcentaje de 1M después de la descongelación fue superior a lo reportado en comparación con 0.750mM, 0.500mM y 0.100mM.

Por otro lado, Abdelonour, et al., (2022), reportaron efectos positivos en conejos con dosis de 2mM y 4mM, coincidiendo que a mayor dosis (1M) de L-Carnitina, tubo resultado beneficioso en la tinción de yoduro de propidio (PI) frente a la del testigo.

A partir de esto se comparó los estudios de extender que cita Fernandes, et al (2021), para comprender el efecto de otras moléculas en relación a los resultados obtenidos en nuestro estudio. En un estudio de (Tun, et al., (2023) se utilizó ácidos grasos con tres tratamientos y concentraciones estos provocaron actividad disímil en la mitocondria, que no guardan la consistencia con los resultados hallados en esta investigación, obteniéndose también valores superiores en la cinética y permeabilidad espermática en nuestra investigación.

Se analizó por otro lado el resultado de la adición de metil- β -ciclodextrina cargada de colesterol, sobre las características microscópicas del semen refrigerado y descongelado, de forma sinérgica con L-Carnitina, este reporte del uso de moléculas lipídicas junto a la L-Carnitina logro valores superiores al 60% en progresividad y cinética (Castillo Cevallos, Páucar Espinoza, & Alvarado Malca, 2019), siendo estos prometedores para abrir el campo de estudio en el uso de L-Carintia como agente sinérgico.

Conclusión

Después de analizar las respectivas muestras de las 4 dosis de LC de 1M, 0.750mM, 0.500mM y 0.100mM, se puede concluir que, a mayor dosis 1M, se demostró una mejoría en la progresividad, integridad de la membrana plasmática, viabilidad y cinética, siendo esta superior a la del testigo. También la dosis de 1M optimizó la movilidad espermática progresiva en la pos descongelación.

Referencias bibliográficas

- Abdelnour, S. A., Hassan, M. A., El-Ratel, I. T., Essawi, W. M., El-Raghi, A. A., Lu, Y., & Sheiha, A. M. (2022). Effect of addition of l-carnitine to cryopreservation extender on rabbit post-thaw semen parameters, antioxidant capacity, mitochondrial function, apoptosis and ultrastructure changes. *Reproduction in domestic animals*, 57(8), 902-911.
- Aguilar Martínez, C., Berruecos Villalobos, J., Espinoza Gutiérrez, B., Segura Correa, C., Valencia Méndez, J., & Roldán Roldán, A. (2017). ORIGEN, HISTORIA Y SITUACIÓN ACTUAL DE LA OVEJA PELIBUEY EN MÉXICO. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, pp. 2-10. Obtenido de Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93953814003.pdf>
- Aliabadi, E., Soleimani Mehranjani, M., Borzoei, Z., & Talaei-Khozani, T. (Marzo de 2012). Efectos de L-carnitina y L-acetil-carnitina sobre la motilidad de los espermatozoides testiculares y la calidad de la cromatina. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. Obtenido de Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4163266/#:~:text=Results%3A%20The%20results%20showed%20LC,sperm%20motility%20and%20chromatin%20quality>.
- Alvarado Malca, (2019), siendo estos prometedores para abrir el campo de estudio en el uso de L-Carintia como agente sinérgico.
- Córdova Izquierdo, A., Iglesias Reyes, A., Espinosa Cervantes, R., Guerra Liera, J., Inzunza Castro, J., Juárez Mosqueda, M., . . . Rodriguez Denis, B. (10 de 2016). Aplicación de la citometría de flujo en veterinaria. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* . Obtenido de Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/311335193>
- De Souza , C. (2019). EFEITO DA L-CARNITINA EM DILUENTE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN OVINO. *Dados do Trabalhos de Conclusão*.
- Dinatolo, E. (25 de ago de 2011). Efecto de la trehalosa en la viabilidad de semen ovino refrigerado. (F. d. Argentina, Ed.) UCA. Obtenido de Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/efecto-trehalosa-viabilidad-semen.pdf>



Fernandes, M., Hernández, P. R., Simões, J., & Barbas, J. P. (2021). Effects of three semen extenders, breeding season month and freezing–thawing cycle on spermatozoa preservation of portuguese Merino sheep. *Animals*, 11(9), 2619.

Frimpong Boafu, G., Thapa Magar, K., & Davis Ekpo, M. (15 de 10 de 2022). El papel de los agentes crioprotectores en la estabilización y conservación de los liposomas. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*. Obtenido de Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms232012487>

Galarza , D., Lopez , S., & Moreno, S. (2019). Efecto de la L Carnitina en un diluyente a abase de leche desnatada en la preservacion de membranas y de la actividad cinética de espermatozoides de moruecoe ne condiciones de refrigeracion. *AIDA*. Obtenido de Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/33275/1/documento.pdf>

Gomez , J., Estrada, E., Cuicas, R., Àvila , B., & Segura , J. (2018). Categorización de la criopreservación del semen ovino de acuerdo a la cinética espermática a la descongelación. *Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México*, pp. 359.

González Godínez, A., Urrutia Morales, J., & Gámez Vázquez, H. (2014). REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF DORPER AND KATAHDIN EWES BRED IN SPRING SEASON IN THE NORTHERN MEXICO. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, pp. 2-6. Obtenido de Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93930735010.pdf>

Iglesias Reyes, A., Guevara González, J., López Díaz, O., Guerra Liera, J., Huerta Crispín, R., Sánchez Sánchez, R., & Córdova Izquierdo, A. (2021). Evaluación de la técnica modificada de tinción Giemsa en la valoración acrosomal de espermatozoides de mamíferos. *Abanico veterinario*, 9. Obtenido de Disponible en: <https://doi.org/10.21929/abavet2019.927>

Mallma Marca, P. (2019). Colorantes Diff-Quik y Eosina-Nigrosina en la evaluación morfológica de espermatozoides antes y después de la criopreservación del semen del toro Holstein. *Abancay: UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC*.

Manzanilla Pech, C., Torres Vázquez, J., Borrayo Zepeda, A., Ríos Utrera, Á., Baeza Rodríguez, J., Martínez Velázquez, G., . . . Montañó Bermúdez, M. (2012). Estimación de parámetros genéticos para características de crecimiento en borregos Katahdin usando diferentes modelos. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(4). Obtenido de Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000400007

Molano Villamil, D., & Lombana Portes, H. (2021). Fundamentos y métodos para la dilución y congelación de semen en bovinos. *Repositorio Intitucional*.

Paraskevopoulou, C., Teodoridis, A., Johnson, M., Ragkos, A., Arguilé, L., Smith, L., . . . Arsenos, G. (12 de 04 de 2020). Evaluación de la sostenibilidad de las explotaciones



ganaderas de cabras y ovejas: una comparación entre países europeos. Producción Ganadera Sostenible. Obtenido de Disponible en: <https://doi.org/10.3390/su12083099>

Puerta Suárez, J., Mayorga Torres, J., Ospina Medina, L., Berdugo Gutiérrez, J., & Cardona Maya, W. (2014). Sperm quality analysis by non-conventional methodologies. Salud sexual y reproductiva, pp.2-8. Obtenido de Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2014/myl143-4d.pdf>

Simões, J., Abecia, J., Cannas, A., Delgadillo, J., Lacasta, D., Voigt, K., & Chemineau, P. (12 de 2021). Manejo de ovejas y cabras para una producción sustentable de alto rendimiento. ELSEVIER. Obtenido de Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731121001361?via%3Dihub>

Simonetti, L., Lynch, G., & McCormick, M. (2014). Aspectos reproductivos de los carneros. Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental, pp. 1-6. Obtenido de Disponible en: <http://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2014/07/aspectos-reproductivos.pdf>

Cabrera Jaime M., Medina Ferley., Sánchez Irlesa I. y Arias Juan M. El grado de manejo de las TIC para el aprendizaje de la física en ingeniería. Revista Espacios. Vol. 38, Año 2017, Número 45, Pág. 6. Recuperado de: <http://revistaespacios.com/a17v38n45/17384508.html>



Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés posible.

Financiamiento:

No existió asistencia financiera de partes externas al presente artículo.

Agradecimiento:

N/A

Nota:

El artículo no es producto de una publicación anterior.

