

## Nuevas tendencias en la valoración de la calidad seminal

Cisale, H.O.<sup>1</sup>

La inseminación artificial (IA) bovina ha sido la técnica de reproducción asistida más empleada desde mediados del siglo XX debido a las ventajas que presenta en 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.

El éxito de la IA depende de múltiples factores, siendo uno de los principales la calidad seminal, utilizada para estimar la capacidad fecundante de las dosis comercializadas. Ningún examen *in vitro* 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, permitiendo revelar defectos compensables y no compensables. Los primeros pueden subsanarse por el aumento de la concentración de espermatozoides en las dosis seminales, mientras que los segundos no, siendo éstos los más graves porque pueden ser causa de subfertilidad en los rodeos.

Las técnicas de rutina empleadas hasta el momento presentan algunas desventajas como la subjetividad en las mediciones, la escasa cantidad de células analizadas en cada muestra y el hecho de no evaluar la presencia de defectos espermáticos no compensables.

Nuevas investigaciones permiten describir mejor este tipo de alteraciones a partir de dos áreas principales: 1) evaluación del ADN espermático y 2) mediciones más precisas de la morfología de la cabeza. En ambos casos, puede mejorarse fuertemente la efectividad de la valoración a través de la incorporación de pruebas que analizan la calidad nuclear y las nuevas tecnologías automatizadas (*Computer Assisted Semen Analysis - CASA*). Éstas proporcionan una metodología fiable, y de elevada repetibilidad, permitiendo estandarizar y objetivar el análisis de las características seminales.

En nuestro país, las dosis comerciales de semen deben cumplir con las condiciones de calidad establecidas en el Decreto Reglamentario N° 4.678/73. Sin embargo, las mismas resultan insuficientes para predecir la calidad seminal o la fertilidad del donante. Este hecho, sumado a los requisitos impuestos por el mercado internacional, pone en evidencia la necesidad de implementar un protocolo que permita la certificación de la calidad seminal con mayores exigencias a las impuestas por la legislación vigente. Para aumentar el valor agregado de sus productos, Argentina debería adaptarse a las demandas del mercado internacional establecidas en países como Alemania, Canadá, Italia o Estados Unidos, países en los cuales se

<sup>1</sup>Cátedra de Física Biológica, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

están efectuando Programas de Certificación de Calidad de semen criopreservado para el ganado bovino que incluyen la incorporación de nuevas tecnologías como el análisis computarizado, la citometría de flujo y marcadores moleculares, que aseguran la trazabilidad del material y garantizan la objetividad de los resultados.

El análisis computarizado de la morfología espermática ha tenido, y tiene, una amplia difusión en la caracterización de eyaculados humanos. Una de las preguntas a responder en este sentido es si la misma correlación encontrada en humanos se repite en animales de producción. Se ha intentado establecer valores de referencia para las diferentes variables morfométricas y morfológicas de los espermatozoides de toro empleando diferentes sistemas computarizados. No obstante, aunque en los trabajos publicados a la fecha no han definido valores estándar, queda claro que la incidencia de morfologías anormales más allá de los valores esperables es indicio de problemas reproductivos. Un análisis ajustado de la morfología en nuestro laboratorio ha demostrado que, contra lo descrito en la bibliografía, los problemas de cuello espermático son los más evidentes en dosis seminales aprobadas por los centros productores.

Las pruebas de calidad del ADN espermático, han ganado amplia difusión en los últimos tiempos vista la necesidad de encontrar metodologías que permitan evaluar algunas anomalías no compensables. Estas pruebas permiten detectar problemas de subfertilidad en los rodeos, así como explicar, en algunos casos, las pérdidas embrionarias tempranas. Las coloraciones estequiométricas del ADN permiten el estudio de las anomalías morfológicas, del contenido de ADN y de la distribución de la cromatina. Otras técnicas evalúan la maduración y compactación de la cromatina, la respuesta a la exposición a agentes decondensantes y la integridad del ADN (TUNEL, ISNT, COMETA, DBD-FISH, SCDt y SCSA). Muchas de las técnicas referidas requieren equipos sofisticados y son costosas limitando su aplicación en los laboratorios de control de calidad seminal. Esta situación

ha ameritado desarrollar y poner a punto pruebas nucleares alternativas, que sean rápidas, repetibles y económicas para que se incorporen a la rutina de control de calidad espermática en los centros de IA de nuestro país.

Dentro de las tendencias internacionales, más allá de la diversidad de criterios en la valoración de los resultados de laboratorio, se entiende que debe existir una normativa que lleve a estandarizar el material genético a utilizar en el sistema pecuario, no solo desde el punto de vista sanitario, sino también en cuanto a la calidad propia de las muestras seminales, nacionales o importadas, que permitan una Certificación de la Calidad Seminal. Este hecho permitiría que los laboratorios que cumplan con estas normas tengan un producto con valor agregado, que, a la postre, se traslade a la genética nacional, permitiendo una mejor inserción en los mercados regionales e internacionales.

Basados en esta propuesta, nuestro laboratorio ha establecido un protocolo de valoración de dosis seminales que incorpora el análisis de diversas características del espermatozoide a través de técnicas de la máxima objetividad, fundadas en los modelos internacionales y la bibliografía disponible, al nivel de los centros internacionales de la mayor envergadura. Esto nos permite poner a disposición del productor una serie de estudios no convencionales en el espermograma permitiendo una mayor precisión en la predicción de las características de fecundidad de las dosis analizadas.

Nuestros espermogramas incluyen el uso de sistemas de valoración objetivo de a través de CASA, viabilidad a través de la medición de fluorescencia específica por citometría de flujo, pruebas que incluyen la valoración de la funcionalidad de la membrana, la integridad del acrosoma, y la morfología espermática. Sumado a esto, creemos que el análisis del núcleo espermático tiene una importancia fundamental en la detección de problemas de subfertilidad, por lo que incorporamos diversas pruebas nucleares (morfología nuclear, maduración y decondensación de la cromatina), y estamos desarrollando un nuevo test de fragmentación nuclear.

La eliminación de toros o partidas por la valoración de las dosis preparadas necesita de parámetros claros y estandarizados internacionalmente, los que hoy no existen. Solo algunos países tienen controles centralizados de la calidad seminal, y lo hacen a través de la valoración con Citometría de flujo y CASA. El uso de estos equipos tiene la ventaja de permitir la repetición de estudios sobre las mismas partidas seminales en diversos lugares, la

comparación de datos, y, finalmente, permitirá el acuerdo internacional sobre los parámetros mínimos de calidad que deberán tener las dosis en el mercado internacional. La nueva tendencia incluye el análisis de la calidad de núcleo espermático como medio de predecir posible subfertilidad. La suma de estas pruebas medidas en forma objetiva permitirá en un futuro la certificación de dosis comercializadas, dándole valor agregado a la genética nacional.