



ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS: UNA ESTRATEGIA PARA MEJORAR LA CALIDAD OVOCITARIA Y ESPERMÁTICA EN OVINOS DE PELO

V. M. Meza-Villalvazo¹, J. Herrera Camacho², A. J Chay Canul³

¹Instituto de Biotecnología, Laboratorio de Biotecnología Animal, Universidad del Papaloapan, Circuito Central 200, Col. Parque Industrial, CP 68301, Tuxtepec, Oaxaca, México. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ³División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carr. Villahermosa-Teapa, km 25, CP 86280. Villahermosa, Tabasco, México.

RESUMEN

Los AGPI son nutrientes claves para múltiples funciones biológicas en el organismo, desde el almacén de energía, componente de membranas celulares, precursores de sustancias metabólicamente activas, y hasta activación de genes o factores de transcripción. Sin embargo, no pueden ser sintetizados por los tejidos animales, por lo tanto, deben ser incorporados en la dieta y se les denomina como esenciales. En caso específico del ovocito forman parte importante de la membrana celular (en forma de fosfolípidos) y del fluido folicular, lo que les permite afectar notablemente el microambiente del ovocito y jugar un papel fundamental en la calidad, en caso particular de los espermatozoides ovinos los AG son importantes para la integridad de la membrana del espermatozoide, motilidad y viabilidad, así como para contrarrestar la sensibilidad al frío, ya los espermatozoides de esta especie son más sensibles al choque frío durante la criopreservación y dicho proceso conduce a un daño mitocondrial, pérdida de la integridad de la membrana plasmática y acrosómica, asociándose con la interrupción de los lípidos de la membrana, los cuales generan una pérdida y disminución de la motilidad, viabilidad, capacidad de fertilización. En conclusión, los AGPI son nutrientes importantes que pueden afectar el desempeño del ovocito y el espermatozoide en cuanto su maduración y calidad, y por lo tanto la fertilidad. Entender los procesos mediante el cual los AGPI influyen en estas células es fundamental para realizar estrategias de alimentación que garanticen células de mejor calidad destinadas a ser utilizadas en biotécnicas reproductivas.

Palabras clave: AGPI, espermatozoide, ovocito.

ABSTRACT

PUFAs are also key nutrients for multiple biological functions in the body, from energy store, to component of cell membranes, precursors of metabolically active substances and activate on genes and transcription factors. However, they can not be synthesized by animal tissues, therefore, they must be incorporated into the diet and referred to as essential. In the specific case of the oocyte, they form an important part of the cell membrane (in the form of phospholipids) and of the follicular fluid, they allows them to significantly affect the microenvironment of the oocyte and play a fundamental role in quality, in particular the case of ovine sperm cells. AG are important for sperm membrane integrity, motility and viability, as well as to counteract cold sensitivity, sperm are more sensitive to cold shock during cryopreservation and this process leads to mitochondrial damage, loss of the integrity of the plasma and acrosomic membrane, associated with the disruption of the



membrane lipids, which have a loss and decrease of motility, viability, fertilization capacity. In conclusion, PUFAs are important nutrients that can affect oocyte and sperm performance in terms of maturation and quality, and therefore fertility. Understanding the processes where PUFAs influence these cells is essential for feeding strategies that guarantee better quality controlled cells to be used in reproductive biotechniques

Index words: PUFAs, oocyte, spermatozoa.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de rumiantes en las áreas tropicales dependen en gran medida de los recursos forrajeros locales, los cuales aportan el 90% de los nutrientes requeridos por los animales. La mayoría de los pastos establecidos presentan variaciones en el contenido de nutrientes, siendo la principal limitante la disponibilidad de energía (De Pablos *et al.*, 2009). La deficiencia de energía genera un impacto negativo en la producción y surge la necesidad de implementar estrategias de alimentación para contrarrestar este déficit. La estrategia más difundida entre las explotaciones pecuarias es la incorporación de granos en la ración (principalmente maíz y sorgo), los cuales por su alto costo de producción resultan poco rentables para el productor; ante este panorama Otra estrategia que se ha propuesto es la utilización de fuentes lipídicas en las raciones, ya sea que contengan ácidos grasos saturados, grasas protegidas (por ejemplo, jabones cálcicos o grasas hidrogenadas) o aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), los cuales han demostrado tener efectos específicos en diferentes tejidos con beneficios potenciales sobre la fertilidad. Se han reportado diferentes efectos de los AGPI en el aspecto reproductivo in vitro e in vivo. Sin embargo, en el contexto de las investigaciones actuales, los resultados sobre AGPI y su papel como proveedores de energía de los ovocitos y espermatozoides en ovinos no son del todo claros, ya que la composición de ácidos grasos de diferentes fuentes varía en su perfil e impacta en la calidad de las células, por lo que resulta interesante esclarecer como estos cambios ejercen su efecto sobre la calidad-funcionalidad de ovocitos y espermatozoides. Por lo que el objetivo de la presente revisión es abordar de manera breve las investigaciones relacionadas al efecto de los AGPI sobre los aspectos que influyen en la calidad de ovocitos y espermatozoides en ovinos.

AGPI-composición, líquido folicular y calidad ovocitaria

Los AGPI son nutrientes claves para múltiples funciones biológicas en el organismo, desde el almacén de energía, componente de membranas celulares, precursores de sustancias metabólicamente activas, y hasta activación de genes o factores de transcripción. Sin embargo, no pueden ser sintetizados por los tejidos animales, por lo tanto, deben ser incorporados en la dieta y se les denomina como esenciales (Jenkins *et al.*, 2008). En caso específico del ovocito, forman parte importante de la membrana celular (en forma de fosfolípidos) y del fluido folicular, lo que les permite afectar notablemente el microambiente del ovocito y jugar un papel fundamental en la calidad (Meza *et al.*, 2014). A nivel ovocitario, los AGPI son incorporados en la membrana celular o pueden ser incorporados a través de gotas lipídicas sintetizadas en el citoplasma, estas gotas de grasa se originan de los ácidos grasos extracelulares (provenientes de la circulación sanguínea) o de los sintetizados “de novo”. En el caso del ovocito el origen de los ácidos grasos permanece



incierto, aunque cada día existen más evidencias que permiten aseverar que esta célula es capaz de incorporar AG provenientes de su alrededor (Aardema, 2014).

La composición de los AG almacenados en el ovocito, ha sido correlacionada con el desarrollo de las capacidades de esta célula (Kim *et al.*, 2001). El líquido folicular es el producto de la trasudación del plasma sanguíneo a través de la barrera folicular y de la actividad secretora de las células de la granulosa y la teca, genera un microambiente que influye sobre la morfología, desarrollo y maduración del ovocito (Shaaker *et al.*, 2011). Los AG en líquido folicular pueden mediar e influenciar el nivel de expansión de células del cumulus y tiempo de reanudación de la maduración nuclear en los ovocitos, aspectos críticos para el desarrollo embrionario después de la fecundación (Marei *et al.*, 2010). La presencia de ácido palmítico en el líquido folicular se asocia con morfología deficiente del Complejo Ovocito Cumulos (COCs), mientras que el oleico favorece la morfología de los mismos (Aardema *et al.*, 2011). En un estudio realizado por Meza *et al.* (2014) reporta que la concentración de ácido oleico en líquido folicular de ovejas que consumieron 6% de aceite de maíz fue mayor, siendo estos animales quienes presentaron un mayor número de ovocitos de excelente calidad en comparación a las ovejas que consumieron 3% y 0% de aceite.

Por su parte, Aardema *et al.* (2013) informan que la presencia de ácido oleico es inofensiva en altas concentraciones y puede compensar los efectos lipotóxicos de los ácidos grasos saturados mejorando la competencia de los ovocitos. Sin embargo, una acumulación excesiva de ácidos grasos provoca hiperlipidemia reduciendo su desarrollo a estadios embrionarios avanzados (Leroy *et al.*, 2010) debido a que aumentan su vulnerabilidad al estrés oxidativo. Durante su crecimiento y maduración, el metabolismo energético se acelera e incrementa la presencia de especies reactivas al oxígeno (Valco *et al.*, 2007). En este sentido, algunos estudios reportan la presencia de ácido linoleico conjugado (CLA) (Cis-9, Trans-11 y Trans-10, Cis-12) en líquido folicular de ovejas alimentadas con aceite de maíz (Meza *et al.*, 2014), y mencionan que la presencia de dicho ácido pudiera poseer una capacidad atrapante de radicales libres (Yu *et al.*, 2001) inhibiendo su efecto y favoreciendo la calidad ovocitaria *in vivo*, ya que se ha demostrado que el CLA posee dicha actividad cuando es comparado con antioxidantes sintéticos convencionales. Estudios *in vitro* demuestran que la adición en los medios de cultivo del isómero Trans-10, Cis-12 reduce la acumulación excesiva de lípidos, disminuyendo la hiperlipidemia que caracteriza a los embriones cultivados *in vitro*, mejorando su resistencia y tolerancia a la manipulación (Pereira *et al.*, 2008) aumentando la competencia de ovocitos para convertirse en embriones de mejor calidad (Lapa *et al.*, 2011).

Diversas investigaciones se han realizado con el propósito de evaluar el efecto de los AGPI sobre la calidad ovocitaria *in vivo* e *in vitro* en ovinos. Zeron *et al.* (2002), al suplementar ovejas con jabones cálcicos de aceite de pescado reportaron una mayor calidad ovocitaria, mejor integridad de las membranas del ovocito y un incremento de la proporción de ácidos grasos poliinsaturados en el plasma, líquido folicular y células del cumulus, pero no en los ovocitos, de igual manera McEvoy *et al.* (2012) observaron que la inclusión del 3 % de aceite pescado en la dieta de ovejas puede proporcionar un efecto benéfico para producción de ovocitos y el desarrollo subsecuente del embrión *in vivo*, mientras que *in vitro* concentraciones altas pueden ser contraproducentes, por su parte Wonnacott *et al.* (2010) no reportan diferencia alguna en cuanto a



calidad y composición de ácidos grasos de ovocitos provenientes de ovejas alimentadas con 4.5 % de diversas fuentes de aceite (linaza, salmón, girasol) en la ración; sin embargo, la relación de ácidos grasos poliinsaturados n - 3 / n - 6 difiere significativamente entre dietas.

Meza *et al.* (2013) al alimentar ovejas de pelo con niveles del 3 y 6 % de aceite de maíz presentan un mayor porcentaje de ovocitos de excelente y buena calidad, efecto favorecido por las mayores proporciones de C18:1 en líquido folicular, ya que dicho ácido graso favorece la morfología de los complejo ovocito cumulos (COCs) (Aardema *et al.*, 2011) y es inofensivo en altas concentraciones, el cual puede compensar los efectos lipotóxicos de los ácidos grasos saturados mejorando la competencia de los ovocitos (Aardema *et al.*, 2013). Sin embargo, una acumulación excesiva de ácidos grasos provoca hiperlipidemia reduciendo su desarrollo a estadios embrionarios avanzados (Leroy *et al.*, 2010) posiblemente debido a que aumentan su vulnerabilidad al estrés oxidativo. Sin embargo, se sabe poco acerca de la captación específica de ácidos grasos específica del ovocito al interior del folículo y cómo éste puede ser alterado por la dieta. Numerosos estudios *in vitro* en diversas especies han demostrado que el perfil lipídico de los ovocitos es dinámico y es influenciado por su ambiente externo permitiéndole a éste desarrollar un proceso selectivo para garantizar su protección y evitar el riesgo de daño celular (Santos *et al.*, 2008).

AGPI-Calidad seminal

En las últimas décadas los AGPI han adquirido una importancia considerable como materia prima en la alimentación animal debido a su capacidad para proporcionar energía y aumentar la palatabilidad de la dieta. En los ovinos un mayor plano de nutrición aumenta el tamaño testicular y la producción espermática. Recientemente, una mayor comprensión del papel de AGPI y lípidos en general, han llevado a implementar diversas estrategias nutricionales con el objetivo de modificar el contenido de lípidos en la membrana del espermatozoide y la función del mismo. La idea alterar la membrana espermática *in vivo* a través de la ingesta dietética representa una alternativa atractiva para modificación exitosa de la membrana. En la mayoría de los mamíferos, el espermatozoide contiene una considerable cantidad de AG n-3, principalmente en forma de ácido docosahexaenoico (DHA) (C22: 6, n-3) (Parks y Lynch, 1992). Estos AG son importantes para la integridad de la membrana del espermatozoide, motilidad y viabilidad, así como para contrarrestar la sensibilidad al frío. Los espermatozoides del ovino son más sensibles al choque frío durante la criopreservación que otras especies, dicho proceso conduce a un daño mitocondrial, pérdida de la integridad de la membrana plasmática y acrosómica, se asocia con la interrupción de los lípidos de la membrana, los cuales generan una pérdida y disminución de la motilidad, viabilidad, capacidad de fertilización. La capacidad del espermatozoide para resistir el choque frío generado por el proceso de criopreservación está relacionada con la composición lipídica de la membrana espermática y depende de la especie (White, 1993).

La importancia de los ácidos grasos insaturados presentes en el plasma seminal en la funcionalidad y protección de las células reproductivas ha quedado en evidencia en algunas investigaciones, en particular los ácidos grasos del tipo omega 3 (Safarinejad *et al.*, 2011). En machos ovinos alimentados con aceite de pescado durante 70 días presentaron un efecto significativamente positivo en parámetros seminales tanto cuantitativa como cualitativamente.



Además, además estos efectos fueron observados durante un periodo de 60 aproximadamente posterior al término de la suplementación, también se encontró que el aceite de pescado produjo un aumento de DHA en los espermatozoides durante el periodo de suplementación (Alizadeh *et al.*, 2013). Por su parte, Masoudi *et al.* (2016), al suplementar con aceite de pescado a ovinos reporta una mejoría en los índices de calidad de los espermatozoides, motilidad, integridad de la membrana, viabilidad y capacidad de fertilización después criopreservación. La razón de esta mejora puede ser incremento de AGPI en la membrana espermática, especialmente en la cabeza y la cola de los espermatozoides provenientes de machos que fueron suplementados con n-3. En mamíferos, presencia de AGPI son cruciales para muchas actividades de los espermatozoides a partir de la espermatogénesis hasta la fertilización. La diferencia de entre los parámetros espermáticos pueden estar condicionados por la espermatogénesis, debido a que el DHA desarrolla un papel importante en la formación del espermatozoide y su funcionalidad (Samadian *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Los AGPI son nutrientes importantes que pueden afectar el desempeño del ovocito y el espermatozoide en cuanto su maduración y calidad, y por lo tanto la fertilidad. Entender los procesos mediante el cual los AGPI influyen en estas células es fundamental para realizar estrategias de alimentación que garanticen células de mejor calidad destinadas a ser utilizadas en biotécnicas reproductivas.

LITERATURA CITADA

- Aardema, H, F. Lolicato, C. H. A. Van de Lest, J. F. Brouwera, A. B. Vaandrager, H. T. A. Van Tol, B. A. Roelen, P. L. Vos, J. B. Helms and B. M. Gadella. 2013. Bovine cumulus cells protect maturing oocytes from increased fatty acid levels by massive intracellular lipid storage. *Biology of Reproduction* 88(6): 1-15.
- Aardema, H., L. A. M. Vos, F. Lolicato, A. J. B. Roelen, M. H. Knijn, B. A. Vaandrager, J. B. Helms and B. M. Gadella. 2011. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine Oocyte developmental competence. *Biology of Reproduction* 85: 62-69.
- Aardema, H. 2014. Impact of free fatty acid composition on oocyte developmental competence in dairy cows. PhD Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University. Netherlands. 159.
- De pablos, L., J. Ordóñez, S. Godoy y C. F. Chicco. 2009. Suplementación mineral proteica de novillas a pastoreo en los llanos Centrales de Venezuela. *Zootecnia Tropical* 27(3): 249-262.
- Jenkins, T. C., R. J. Wallace, P. J. Moate and E. E. Mosley. 2008. BOARD-INVITED REVIEW: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 86(2): 399-412.
- Lapa, M., C. C. Marques, S. P. Alves, M. I. Vasques, M. C. Batista, I. Carvalhais, P. M. Silva, A. E. Horta, R. J. Bessa and R. M. Pereira. 2011. Effect of trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid on bovine oocyte competence and fatty acid composition. *Reproduction in Domestic Animals* 46: 904-910.



- Leroy, M. R., V. V. Hoeck, M. Clemente, D. Rizos, A. A. Gutierrez, V. A. Soom, M. Uytterhoeven and P. E. Bols. 2010. The effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on in vitro bovine embryo quality. *Human Reproduction* 25(3): 768-778.
- Marei, W., D. Wathe and A. Fouladi-Nashta. 2010. Impact of linoleic acid on bovine oocyte maturation and embryo development. *Reproduction* 139: 979-988.
- Meza-Villalvazo, V., S. Magaña, C. Sandoval, M. Morales, A. Chay y A. Trejo. 2013. Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados sobre población folicular y calidad ovocitaria en ovejas Pelibuey. *Universidad y Ciencia* 29(3): 255-261.
- Meza-Villalvazo, V. M., C. A. Trejo, S. H. Magaña, C. C. Sandoval, A. Chay-Canul, G. A. Cavazos y S. C. Martínez. 2014. Perfil metabólico de isómeros de Ácido Linoleico Conjugado y calidad de ovocitos en ovejas de pelo. *Nova Scientia* 12(2): 287-303.
- Motemani, M., M. Chamani, M. Sharafi and R. Masoudi. 2017. Alpha-tocopherol improves frozen-thawed sperm quality by reducing hydrogen peroxide during cryopreservation of bull semen. *Spanish Journal of Agricultural Research* 15: e0401. 10.5424/sjar/2017151-9761.
- Parks, J. E. and D. V. Lynch. 1992. Lipid composition and thermotropic phase behaviour of boar, bull stallion and rooster sperm membrane. *Cryobiology* 29: 255-66.
- Pereira, R. M., M. C. Baptista, M. I. Vázquez, A. E. M. Horta, P. V. Portugal, R. J. B. Bessa, E. Chagas, J. Silva, M. S. Pereira and C. C. Marques. 2007. Cryosurvival of bovine blastocysts is enhanced by culture with trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid (t10, c12 CLA). *Animal Reproduction Science* 98: 293-301.
- Safarinejad, M. R. 2011. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Andrologia* 43(1): 38-47.
- Samadian, F, A. Towhidi, K. Rezayazdi and M. Bahreini. 2010. Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid composition of ovine sperm. *Animal* 4(12): 2017-2022.
- Santos, J. P. G., T. R. Bilby, W. W. Thatcher, C. R. Staples and F. T. Silvestre. 2008. Long chain fatty acids of diets factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction Domestic Animals* 43: 23-30.
- Shaaker, M., A. Rahimipour, M. Nouri, K. Khanaki, M. Darabi and L. Farzadi. 2012. Fatty acid composition of human follicular fluid phospholipids and fertilization rate in assisted reproductive techniques. *Iranian Biomedical Journal* 16(3): 162-168.
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur and J. Telser. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39: 44-84.
- White, I. G. 1993. Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: a review. *Reprod. Fertil. Dev.* 5: 639-658.
- Wonnacott, K., W. Y. Kwong, Hughes, A. M. Salter, R. G. Lea, P. C. Garnsworthy and K. D. Sinclair. 2010. Dietary omega-3 and -6 polyunsaturated fatty acids affect the composition and development of sheep granulosa cells, oocytes and embryos. *Reproduction* 139: 57-69.
- Yu, L. 2001. Free radical scavenging properties of conjugated linoleic acid. *J Agric Food Chem.* 49: 3452-3456.



Zeron, Y., D. Sklan and A. Arav. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction Development* 61: 271-278