

## Variaciones que se producen en el contenido de fructosa y ácido láctico en la esperma de bovinos in vitro

A. BIDOT FERNÁNDEZ.

*Dpto. de Biología de la Reproducción, Rama Agropecuaria,  
Centro Nacional de Investigaciones Científicas,  
La Habana, Cuba*

*Recibido: 18 de marzo de 1977*

**ABSTRACT.** As in all cells oxidation-reduction processes exist in nemasperm. The energy which is necessary for the intense motility is obtained through the decomposition of sugars. Therefore this process in the sperm depends not only on the mobility of the spermatozooids but on their quantity. When the secretion of the accessory glands is united to the cells, the enzymatic system of the same acts on the fructose and it glucolizes it, transforming it into lactic acid. In order to determine the variations which are produced in the content of these substances when they are incubated at 37°C, the sperm of 23 stud bovines was studied at different incubation periods (0, 10, 20, 30, and 60 minutes), and the fructolysis index, the curves of lactic acid production, the consumption of fructose, and the specific activity were obtained.

**RESUMEN.** Como todas las células, en los nemaspermos existen procesos óxido-reductores. La energía necesaria para la intensa motilidad, la obtienen a través de la descomposición de los azúcares. Por tanto, este proceso en el esperma depende tanto de la motilidad de los espermatozooides como del número de ellos. Cuando la secreción de las glándulas accesorias se une a las células, el sistema enzimático de las mismas actúa sobre la fructosa y la glucolizan, transformándose en ácido láctico. Con el objetivo de determinar las variaciones que se producen en el contenido de estas sustancias cuando se incubaba a 37°C, fue que estudiamos la esperma de 23 sementales bovinos a diferentes tiempos de incubación (0, 10, 20, 30 y 60 minutos), obteniéndose el índice de fructolisis, curvas de producción de ácido láctico y de consumo de fructosa, así como la actividad específica. Se aplicó análisis de varianza por bloques al azar y superposición de intervalos de confianza entre los diferentes tiempos estudiados, expresándose los resultados en las tablas.

## INTRODUCCION

Las primeras referencias de la posible existencia de fructosa en el semen de bovinos fueron de Yamada en 1929, sin embargo, el azúcar del semen fue aislado e identificado por primera vez por Mann en 1945.

Existen diferentes factores que actúan de forma importante sobre la cantidad de fructosa en el eyaculado, tales como características anatómicas, tamaño, capacidad de almacenaje y capacidad secretora de las vesículas seminales, las cuales son las encargadas de producir dicho azúcar seminal (*Mann, 1964*). Como en todas las células, en los nemaspermos existen procesos óxido-reductores. La energía necesaria para la intensa motilidad de los espermatozoides la obtienen a través de la descomposición de los azúcares. De aquí que este proceso en la esperma depende tanto de la motilidad de los espermatozoides como del número de ellos.

Cuando la secreción de las glándulas accesorias se une a los nemaspermos, el sistema enzimático de las células actúa sobre la fructosa y la glucolizan, transformándose ésta en ácido láctico.

Se ha demostrado que el metabolismo *in vitro* de los espermatozoides en diversas especies de mamíferos incluyendo el hombre, carnero y toro, es predominantemente de naturaleza glicolítica.

Bajo las condiciones de almacenaje del semen para la IA, en ausencia de  $O_2$ , los espermatozoides cuentan con el metabolismo de los carbohidratos como fuente principal de energía. La proporción de desaparición del azúcar reductor y de aparición de ácido láctico (glicolisis) se usa como un método para la estimación del semen (*Ivanov, 1931; Westgren, 1946*).

Cuando se incuba anaeróbicamente el semen eyaculado, el contenido de fructosa disminuye progresivamente con una acumulación simultánea de ácido láctico. En presencia de un tampón adecuado, el proceso de la fructolisis en el semen de buena calidad progresa linealmente hasta que todo el azúcar sea gastado.

El objetivo por tanto de este trabajo consistió en la determinación de los valores de fructosa y ácido láctico al momento de la extracción, así como determinar las variaciones que se producen en las concentraciones

de dichos componentes a diferentes tiempos de incubación (10, 20, 30 y 60 minutos) a 37°C.

### MATERIALES Y METODOS

Se estudió la esperma a un total de 23 sementales bovinos, de diferentes razas, dedicadas a la inseminación artificial, en buen estado de salud. El método de extracción de esperma fue el de la vagina artificial.

Se hallaron los valores medios de fructosa, ácido láctico y proteínas posteriores a la recogida, así como después de incubación a 37°C a los 10, 20, 30 y 60 minutos en tampón fosfato 7,4 y la actividad específica del semen.

Además, se realizaron las determinaciones del espermiograma, utilizando los métodos tradicionales.

Para la fructosa se aplicó el método de Roe's (1934); para el láctico la técnica de microdifusión de Conwey (Natelson, 1964) y para las proteínas totales el método de Biuret (Henry, 1964).

A los resultados se les aplicó el test de análisis de varianza por bloques al azar y superposición de intervalos de confianza entre los valores a los diferentes tiempos estudiados.

### RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores medios encontrados para la fructosa a los diferentes tiempos de incubación aparecen expresados en la Tabla I.

Como puede observarse, la fructosa presente en el esperma en el momento de la extracción muestra valores superiores a los encontrados después de la incubación de la misma a 37°C, obteniéndose una curva que a los 60 minutos presenta valores que han disminuido significativamente ( $p < 0,01$ ). Gráfico 1.

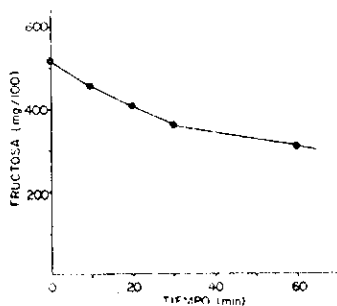
Esto reafirma el criterio de que el principal elemento de consumo del espermatozoide es la fructosa.

Calculamos el índice de fructolisis general, encontrando que concuerda con el expresado por otros autores (Mann, 1948; Georgiev, 1974), siendo

en nuestro caso de 2,32 mg. Este índice puede variar de acuerdo a la concentración y movilidad de los espermatozoides.

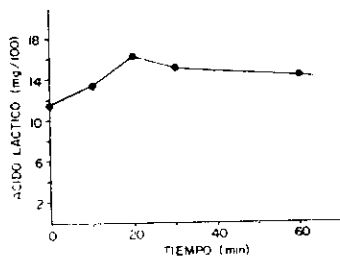
Los valores medios de ácido láctico encontrados al momento de la recogida y después de la incubación se expresan en la Tabla I.

Se puede observar un incremento inicial en el contenido de ácido láctico en los primeros 20 minutos de incubación (Gráfico 2) lo cual crea un medio nocivo para la célula espermática que influye en su muerte, lo cual se pudo apreciar ya que al cabo de una hora de incubación se encontró que ninguna célula es capaz de subsistir, no existiendo células vivas en la esperma al cabo de ese tiempo.



Gráf. 1

Gráf. 1. Curva de consumo de fructosa.



Gráf. 2

Gráf. 2. Curva de producción de ácido láctico.

Esta muerte celular ocurre a pesar de existir aún material energético en el medio. A esto contribuye la nocividad que para las células representan los productos de la fructolisis, el ácido láctico con la consiguiente caída del pH observado.

Las concentraciones de proteínas totales en los distintos tiempos de incubación se observan en la Tabla I.

Las variaciones encontradas no fueron significativas.

Se determinó además, la actividad específica de la esperma, hallándose el cociente entre fructosa y conc. de proteínas a los diferentes tiempos de incubación. Los mismos se expresan en la Tabla I.

TABLA I

*Concentraciones medias*

Tiempo (min)	Fructosa (mg/%)	Ac. láctico (mg/%)	Proteínas (mg/ml)	Actividad específica
0	523,5 ± 34,9	11,7 ± 7,1	57,3 ± 13,2	0,092
10	455,9 ± 36,1	13,5 ± 11,1	57,9 ± 13,3	0,079
20	410,0 ± 37,4	16,3 ± 9,2	58,3 ± 13,9	0,072
30	363,9 ± 41,4	15,2 ± 8,2	57,4 ± 13,1	0,062
60	312,9 ± 52,5	14,5 ± 8,8	60,2 ± 13,2	0,051

Además, fueron hallados los cocientes  $K_1$  (Fructosa/Ac. láctico) y  $K_2$  (Acido láctico/proteínas). Tabla II.

TABLA II

*Cocientes  $K_1$  (Fruct/lact.) y  $K_2$  (Lact/Prot.)*

Tiempo	0	10	20	30	60
$K_1$	68.9	44.2	33.4	30.8	29.7
$K_2$	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003

Para el análisis estadístico de los resultados se aplicó el test de análisis de varianza por bloques al azar y superposición de intervalos de confianza de la media, observándose los resultados en las Tablas III y IV. Las restantes comparaciones no fueron significativas.

Concluimos que cuando se hable de calidad espermática siempre debemos tener presente tanto el índice de fructolisis como la actividad específica

ya que ambas están ligadas íntimamente a la capacidad fertilizante de los eyaculados y que ambos parámetros expresan la intensidad del proceso metabólico de los espermatozoides contenidos en la esperma.

TABLA III

*Análisis de varianza por bloques al azar para la fructosa*

Tiempo	10	20	30	60
0	p < 0,05	p < 0,01	p < 0,01	P < 0,01
10	—	NS	p < 0,01	p < 0,01
20	—	—	NS	p < 0,01
30	—	—	—	NS

TABLA IV

*Análisis de varianza por bloques al azar para la actividad específica*

Tiempo	10	20	30	60
0	p < 0,05	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01
10	—	NS	p < 0,01	p < 0,01
20	—	—	p < 0,05	p < 0,01
30	—	—	—	NS

Por los resultados antes expresados podemos deducir que el incremento inicial de ácido láctico en la esperma crea un medio nocivo para la célula que influye en su muerte lo cual se hizo evidente en este estudio, ya que al cabo de una hora de incubación se encontró que ninguna célula es capaz de subsistir. Esto puede tenerse en cuenta en el proceso de manipulación de la esperma y su posterior congelación.

## REFERENCIAS

- GEORGIEV G. H. *Revista de la Academia de Ciencias Búlgara*, 27, 12, 1974.
- HENRY R. J. *Clinical Chemistry*, Horper and Row. 181, 1974.
- IVANOV E. E. *Z. Zücht.* 20, 1931.
- MANN T. *Biochem J.* 39, 451, 1948.
- MANN T. *Biochem of the sperm and of the mole* Reprod. Tract, London 1964.
- NATELSON S. *Microtécnicas de Química Clínica*, 1964.
- ROE'S J. H. *J. Biol. Chem.*, 107, 15, 1934.
- WESTGREN A. *Acta Physiol. Scand.*, 12, Suppl. 39, 1946.
- YAMADA W.C. *J. Morph*, 48, 475, 1929.