

**ABSTRACTS CORRESPONDENTS A LES COMUNICACIONS PRESENTADES A LA
XVII JORNADA DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓ**

Laura Álvarez-Cabrera¹, Cristian Muñoz-Gallego², David Vázquez³, Andreu Tardón-
Gallart^{1,2}, Aurora Pérez-Pérez^{1,2}

¹Departament de Biologia, (Ordenats per ordre alfabètic del primer autor) Autònoma de Barcelona,
Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain

²Genome Integrity and Instability Group, Institut de Biomedicina i Biomedicina, Universitat
Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain

³Sequencia Biotech, Barcelona, Spain

*Autor corresponent: laura.alvarez@uab.cat

Chromosomal conformation capture-based methods, such as Hi-C, allow the detection of cell-specific interactions within the nucleus of the cells. These contacts play an important role on gene expression and regulation, since they reveal how the three-dimensional (3D) genome works as a regulatory network. However, the structural, functional and evolutionary implications of cell-specific chromosomal interactions in particular are largely unexplored. Here, taking advantage of the information provided by Hi-C data and structural tools based on permutation tests, we detect the presence of cell-specific chromosomal interactions in the mouse germline paying special attention to regions involved in large-scale chromosomal reorganizations. We describe the presence of genomic regions with long-range intra-chromosomal contacts specific of post-meiotic cells (round spermatids) which are not present in pre-meiotic or meiotic stages. These long-range intra-chromosomal regions are not randomly distributed along mouse genome and hold unique structural features: they are located inside topological associated domains (TADs) in heterochromatic regions that during meiosis are activated. Regardless the low gene content detected in long-range intra-chromosomal regions, they contain differentially expressed genes in round spermatids related with immune response and response to external stimulus such as olfactory perception. Overall, we provide new insights into the functional and evolutionary plasticity of the higher-order chromatin organization of mouse spermatogenesis.

(Ordre per ordre alfabètic del primer autor)

CELL-SPECIFIC CHROMOSOMAL INTERACTIONS IN THE MOUSE GERM LINE: STRUCTURAL AND FUNCTIONAL IMPLICATIONS

Lucía Álvarez-González^{1,2*}, Cristina Marín-García^{1,2}, Covadonga Vara^{1,2}, Andreu Paytuví-Gallart^{1,2,3}, Aurora Ruiz-Herrera^{1,2}

¹ Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain

² Genome Integrity and Instability Group, Institut de Biotecnologia i Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain

³ Sequentia Biotech, Barcelona, Spain.

*Autor corresponent: lucia.alvarez@uab.cat

Chromosome conformation capture-based methods, such as HiC, allow the detection of cell-specific interactions within the nucleus of the cells. These contacts play an important role on gene expression and regulation since they reveal how the three-dimensional (3D) genome-wide topology regulates gene expression. However, the structural, functional and evolutionary implications of cell-specific chromosomal interactions in germline are largely unexplored. Here, taking advantage of the information provided by HiC data and statistical tools based on permutation tests, we dissect the presence of cell-specific chromosomal interactions in the mouse germline paying special attention to regions involved in large-scale chromosomal reorganizations. We describe the presence of genomic regions with long-range intra-chromosomal contact specific of post-meiotic cells (round spermatids) which are not present in pre-meiotic or meiotic stages. These long-range intra-chromosomal regions are not randomly distributed along mouse genome and hold unique structural features: they are located inside topological associated domains (TADs) in heterochromatin regions that during meiosis are activated. Regardless the low gene content detected in long-range intra-chromosomal regions, they contain differentially expressed genes in round spermatids related with immune response and response to external stimulus, such as olfactory receptors. Overall, we provide new insights into the functional and evolutionary plasticity of the higher-order chromatin organization of mouse spermatogenesis.

EDICIÓ GENÒMICA PER A L'ESTUDI DEL DESENVOLUPAMENT EMBRIONARI

Begoña Aran¹, Alba Morillas², Beatriz Carrasco³, Stefano Lazzarano², Montse Boada³, Angel Raya², Anna Veiga¹

¹Banc de Línies Cel·lulars. Programa de Medicina Regenerativa. IDIBELL. Hospital Duran i Reynals – 3^a planta, Gran Via de l'Hospitalet, 199-203. 08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona).

² Programa de Medicina Regenerativa. IDIBELL. Hospital Duran i Reynals – 3^a planta. Gran Via de l'Hospitalet, 199-203. 08908 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona).

³ Servei de Medicina de la Reproducció. Dexeus Dona. Hospital Universitari Dexeus. Gran Via Carles III 71-75 - 08028 Barcelona.

*Autor corresponent: baran@idibell.cat

Introducció: Les tècniques d'edició genòmica (EG) en embrions preimplantacionals es poden utilitzar per a dues finalitats diferents. En el cas d'embrions afectes de mutacions genètiques causants de malaltia, l'EG podria suprimir o modificar la mutació. Per altra banda, les tècniques d'EG permeten l'estudi del rol de determinats gens durant el desenvolupament embrionari, suprimint o alterant gens per demostrar la seva funció.

Objectiu: Validar la tècnica de CRISPR/Cas9 com a eina d'EG en zigots per estudiar la funció del gen OCT4 i altres gens d'expressió primerenca. Com a objectius secundaris, s'ha estudiat la morfocinètica embrionària, així com l'anàlisi de aneuploïdies mitjançant NGS i anàlisi molecular de les mutacions generades en els embrions editats.

Materials i mètodes: La microinjecció s'ha realitzat 1-2h post-descongelació. Quaranta-vuit zigots s'han injectat amb sgRNA-Oct4-Cas9 i 15 zigots només amb Cas9 (grup control).

Els embrions s'han cultivat a un incubador *time-lapse* fins l'estadi de blastocist o el bloqueig embrionari. S'ha amplificat el DNA mitjançant un kit WGA. Els productes de la PCR han estat seqüenciats mitjançant Sanger i els indels/insercions han estat verificats mitjançant inspecció visual de cromatogrames i anàlisi mitjançant software. S'ha correlacionat la morfocinètica embrionària i l'edició genòmica obtinguda.

Resultats: S'ha observat EG en el 72,1% dels embrions del grup estudi: en un sol al·lel en el 26%, pèrdua del locus OCT4 en un 10% i mosaïcisme en el 64%. En aquest grup es va observar una taxa de blastocist del 45,2%, en front d'un 60% en el grup control.

Conclusions: La metodologia CRISPR/Cas9 representa una eina molt útil per l'estudi de les bases moleculars i el mecanismes genètics del desenvolupament embrionari preimplantacional.

GENOME EDITING FOR THE STUDY OF EMBRYO DEVELOPMENT

Introduction: Genome Editing (GE) techniques in preimplantation embryos can be used for two different purposes. In the case of embryos affected by disease-causing genetic mutations, GE may suppress or alter the mutation. On the other hand, GE techniques allow the study of the role of specific genes during embryo development suppressing or altering genes to demonstrate their function.

Objective: To validate the CRISPR/Cas9 technique as an EG tool in zygotes to study the function of OCT4 and other early expressed genes. As secondary objectives, the embryo morphokinetics, the analysis of aneuploidies using NGS and molecular analysis of mutations generated in edited embryos have been studied.

Materials and methods: Microinjection was performed 1-2 hours after thawing. Forty-eight zygotes were injected with sgRNA-Oct4-Cas9 and 15 zygotes with Cas9 alone (control group).

Embryos have been cultured in a time-lapse incubator until the blastocyst stage or embryo arrest.

DNA was amplified using a WGA kit. PCR products have been sequenced using Sanger and indels/inserts have been verified by visual chromatogram inspection and software analysis. Embryonic morphokinetics have been correlated with GE.

Results: GE was observed in 72.1% of the embryos in the study group: in a single allele in 26%, loss of the OCT4 locus in 10% and mosaicism in 64%. A blastocyte rate of 45.2% was observed in this group, versus 60% in the control group.

Conclusions: The use of CRISPR/Cas9 to study the role of specific genes in early human embryos represents a unique opportunity to explore and further clarify basic molecular and genetic mechanisms of human pre-implantation embryo development.

HOW DOES MICROGRAVITY AFFECT HUMAN SPERM?

Marta Ballester¹, Antoni Perez-Poch^{2,3}, Marta Tresanchez¹, Daniel V. González³, Nikolaos P. Polyzos¹, Montserrat Boada^{1*}

¹Women's Health Dexeus. Reproductive Medicine Service, Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Dexeus. Avinguda Carles III 71-75, ES08028 Barcelona, Spain.

²Universitat Politècnica de Catalunya, UPC BarcelonaTech, EEBE Campus Diagonal-Besòs, C. E. Maristany 16, ES08019 Barcelona, Spain.

³Barcelona-Sabadell Aviation Club, Sabadell Airport, Carretera de Bellaterra s/n, ES08205 Sabadell, Barcelona, Spain.

*Corresponding author : monboa@dexeus.com

Introduction: It is known that microgravity alters physiological processes in living organisms. Consequences on human reproductive capabilities are barely known. The aim of this study is to investigate the effects on human sperm samples.

Material and Methods: Thirty samples (15 fresh and 15 frozen) from healthy donors were exposed to microgravity conditions obtained by parabolic flights. Each sample was split in two: microgravity (study group) and ground conditions (control group). A total of five parabolic flights were conducted between 2018-2021. A specific container carrying the sperm samples was located in the aircraft cockpit. Analysis of concentration, motility, vitality, morphology, sperm DNA fragmentation, apoptotic concentration and oxidative stress were performed in both splits.

Results: Comparing the mean values between fresh samples exposed to microgravity and those maintained on Earth gravity, statistically significant differences were found in vitality ($69,7 \pm 9,9$ vs $72,4 \pm 9,7$ %), motile sperm concentration ($23,7 \pm 15,3$ M/ml vs $31,5 \pm 25,1$ M/ml), grade "a" sperm concentration ($8,7 \pm 6,5$ vs $11,7 \pm 9,9$ M/ml), percentage of spermatozoa with progressive motility ($30 \pm 12,9$ vs $36 \pm 14,3$ %) and curvilinear motility-VCL ($45,7 \pm 12,8$ vs $47,7 \pm 13,3$ μ m/s).

Analysis performed with frozen samples showed no statistically significant differences in any of the parameters analyzed.

Conclusions: The lack of differences obtained in frozen samples between those exposed to microgravity conditions and those in ground opens the possibility of considering transporting human male gametes to space safely and creating a human sperm bank outside the Earth. Nevertheless, significantly decreased motility and vitality observed after low exposure to microgravity of fresh sperm samples suggests that negative effects will probably be stronger with longer exposure. Further research is needed to confirm the results and in order to devise how human reproduction will be in space.

REPROGRAMMING OF EPIGENETIC MARKS DURING EARLY DEVELOPMENT ACROSS VERTEBRATES

Silvia Beato^{1*}, Núria Sánchez Baizan¹, Alicia Felip², Francesc Piferrer¹

¹ Institut de Ciències del Mar (ICM), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Passeig Marítim, Barcelona, Spain.

² Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (IATS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Ribera de Cabanes, Castellón, Spain.

* silviabeato@icm.csic.es

Epigenetics concerns mechanisms such as DNA methylation that modify gene expression independent of changes in DNA sequence. DNA methylation, commonly associated with gene expression silencing, has important roles in vertebrates, being associated with phenomena such as genome imprinting and reprogramming. This implies changes of inherited epigenetic marks during embryo development, since they can be transmitted throughout mitotic and meiotic division, influencing the development of a new individual. Reprogramming is well studied in mammals, characterized by a wave of demethylation during first cleavage stages, whereas the second allowed reprogramming of future primordial germ cells (PGCs). Nevertheless, in fish, information is available only for a few species. In zebrafish (*Danio rerio*) reprogramming was detected in oocyte genes to resemble paternal methylome, allowing zygotic genome activation (ZGA). Given that, future PGCs inherit from germplasm the signals necessary for their specification, demethylation is not required. In medaka (*Oryzias latipes*), strategies similar to mammals seem to be adopted, since in both early embryo and PGCs, methylation reprogramming occurred. Finally, in *Kryptolebias marmoratus*, a self-fertilizing hermaphroditic vertebrate, epigenome reprogramming is longer than other vertebrates, and global demethylation is achieved at a late embryonic stage. This scarce data seems to suggest that epigenome reprogramming could be species-specific in fish. Focusing attention on reproduction-related genes, our future perspectives are to determine the situation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), given that it is phylogenetically distant from medaka and zebrafish, and to improve knowledge about epigenetic inheritance to devise breeding strategies able to maintain certain traits in cultured species.

LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA IGUALAN LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE MUJERES Y HOMBRES PORTADORES DE TRANSLOCACIONES RECÍPROCAS

Jaime Bolívar¹, Mónica Parriego^{1*}, Lluç Coll¹, Montserrat Boada¹, Sandra García¹, Nikolaos Polyzos¹, Joan Blanco².

¹Servicio de Medicina de la Reproducción. Departamento de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. Dexeus Mujer. Gran Vía de Carles III 71-75, 08028, Barcelona, Cataluña, España.

²Grupo de Genética de la Fertilidad Masculina. Unidad de Biología Celular. Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Facultad de Biociencias, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Cerdanyola del Vallès, Cataluña, España.

*Autor correspondiente: monpar@dexeus.com

En concepciones naturales, las mujeres portadoras de translocaciones cromosómicas recíprocas son más fértiles que los hombres. Como resultado, hay más mujeres portadoras con descendencia que hombres (ratio 60:40). El objetivo fue determinar si estas diferencias de fertilidad también se producen en reproducción humana asistida, cuando en parejas portadoras se aplica ICSI y los embriones resultantes se analizan mediante PGT-SR.

Se realizó un estudio retrospectivo con 67 ciclos de ICSI PGT-SR entre 2015 y 2021 diferenciando dos grupos en función del sexo del portador. Los ovocitos recuperados se inseminaron 40h post-descarga ovulatoria y se cultivaron en incubadores time-lapse trigas. La eclosión asistida se realizó en D+3. Los embriones que alcanzaron el estadio de blastocisto fueron biopsiados entre D+5/D+7 y, posteriormente vitrificados. El análisis genético se realizó mediante NGS.

El número de ovocitos recuperados fue comparable entre mujeres portadoras y fértiles (Zscore=0.73). Sin embargo, el porcentaje de varones oligozoospermicos fue superior en portadores respecto la población control (28% vs 5%). Tras el ICSI, no observamos diferencias entre hombres y mujeres portadores en tasa de fecundación (73.3% vs 68.9%), tasa de blastocisto (43.7% vs 54.9%) y tasa de embriones transferibles (27.5% vs 28.6%). La segregación alternante fue la más frecuente independientemente del sexo del portador (43% varones vs 41.4% mujeres; NS). Los embriones transferibles presentaron similar potencial de embarazo entre hombres y mujeres portadores (47.8% vs 77.8% respectivamente; NS).

La aplicación de ciclos ICSI PGT-SR en portadores de translocaciones recíprocas supera los sesgos naturales de género observados en concepciones naturales.

PODRIA SER EL QUEFIR UN SUBSTITUT DELS ANTIBIÒTICS EN DILUENTS DE SEMEN DE PORCÍ ?

Maria Dolors Briz González¹, Arnau Peral Gifre¹, Eva Bussalleu Muntada^{1*}

¹Àrea de Biologia Cel·lular, Departament de Biologia - Institut de Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, 17003 Girona, Catalunya

*Autor corresponent: eva.bussalleu@udg.edu

En les últimes dècades, la bacteriosemina s'ha convertit en un gran problema en la indústria porcina a causa de l'alt percentatge de bacteris resistents als antibiòtics més comuns utilitzats en els diluents de semen. Per aquest motiu, s'estan cercant alternatives als antibiòtics, essent el quefir un possible candidat, ja que s'ha demostrat que té propietats antimicrobianes.

L'objectiu d'aquest estudi era testar si el quefir de llet o d'aigua té algun efecte antimicrobià contra els bacteris que es troben més comunament en el semen de porc (per exemple, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus* spp.). Amb aquesta finalitat es van realitzar antibiogrames usant quefir; com a control positiu es van utilitzar discos de gentamicina (200 µg) i d'estreptomicina (300 µg). El control negatiu va ser la llet o l'aigua ensucrada sense quefir. Es van deixar grànuls de quefir d'aigua i de llet en el diluent de semen de porcí Beltsville Thawing Solution (BTS) durant diferents temps (24, 48, 72 i 96h) a una temperatura constant de 24°C±2°C; posteriorment es van separar els grànuls de la porció líquida i cada part es va utilitzar per realitzar els antibiogrames.

Els resultats van demostrar que el quefir, tan d'aigua com de llet, és eficaç per inhibir el creixement d'aquests bacteris, especialment quan s'utilitzen els grànuls, sense que s'observessin diferències significatives entre les diferents espècies. Els diàmetres d'inhibició del quefir es trobaven en general en un rang de 0.9-1.8 cm vs els 1.1-2.1 cm en el cas dels antibiòtics.

En conclusió, els resultats obtinguts indiquen que el quefir pot ser una alternativa viable als antibiòtics en diluents de semen per reduir-ne l'ús a la indústria porcina, tot i que es necessiten més estudis per analitzar com es podria aplicar de forma òptima i eficient.

ASSOCIACIÓ ENTRE LA INGESTA D'ÀCIDS GRASSOS OMEGA-3 I ALIMENTS RICS EN OMEGA-3 EN DONES I HOMES I ELS RESULTATS DE TÈCNiques DE REPRODUCCIÓ ASSISTIDA

Jorge E. Chavarro ^{1,2,3}, Mariel Arvizu ¹, Lidia Mínguez-Alarcón ^{2,4}, Makiko Mitsunami ¹, Jennifer B. Ford ⁴, Irene Souter ⁵, Jordi Ribas-Maynou ^{6,7}, Marc Yeste ^{6,7}, Albert Salas-Huetos ^{1,6,7,8,*}, for the EARTH Study Team

¹ Department of Nutrition, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA

² Channing Division of Network Medicine, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

³ Department of Epidemiology, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA

⁴ Department of Environmental Health, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA

⁵ Massachusetts General Hospital Fertility Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁶ Biotechnology of Animal and Human Reproduction (TechnoSperm), Institute of Food and Agricultural Technology, University of Girona, Girona, Spain

⁷ Unit of Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Girona, Girona, Spain

⁸ Consorcio CIBER, M.P., Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain

*Autor corresponent: albert.salas@udg.edu

Objectiu: Investigar l'associació entre la ingesta d'àcids grassos ω -3 i aliments rics en ω -3 en dones i homes, la qualitat del semen i els resultats dels tractaments de la infertilitat amb tècniques de reproducció assistida (TRA).

Material i mètodes: Es van incloure parelles infèrtils de l'estudi cohort prospectiu EARTH (2007-2020). La dieta de les parelles es va avaluar mitjançant un qüestionari de freqüència de consum d'aliments validat de 131-ítems. Els desenllaços principals van ser: probabilitat d'implantació, d'embaràs clínic i naixements vius. Els desenllaços secundaris van incloure: pèrdua total i pèrdua clínica de l'embaràs i paràmetres convencionals de qualitat espermàtica. Es va estimar la relació entre la ingesta d'àcids grassos ω -3, fruita seca i peix amb la probabilitat dels desenllaços mitjançant GLMM (SAS 9.4).

Resultats: Es van analitzar un total de 229 parelles i 410 cicles de TRA. També es van incloure 343 homes (896 mostres de semen) per les anàlisis de qualitat espermàtica. En dones, la ingesta d'EPA+DHA es va associar positivament amb la probabilitat de nascuts vius; les probabilitats ajustades (IC del 95%) en els quartils inferiors i superiors de la ingesta d'EPA+DHA van ser de 0.36 (0.26-0.48) i 0.54 (0.42-0.66), respectivament (P-valor=0.02). La ingesta d'EPA+DHA es va relacionar inversament amb el risc d'avortament, que va ser de 0.53 entre les dones del quartil més baix d'ingesta i de 0.05 entre les dones del quartil més alt (P-valor=0.01). En homes, la ingesta d'àcids grassos ω -3 total estava relacionada positivament amb el recompte d'espermatozoides, la concentració i la motilitat, però no amb cap resultat de TRA. Es van observar associacions similars en avaluar la ingesta de fruita seca i peix.

Conclusions: En dones, el consum d'àcids grassos ω -3 i aliments rics en ω -3 pot millorar la probabilitat de concepció en disminuir el risc de pèrdua durant l'embaràs. A més, la ingesta d'àcids grassos ω -3, en homes, pot influir positivament en la qualitat del semen.

Finançament: Projectes NIH R01-ES009718, P30-DK046200 i IJC2019-039615-I.

ELS NIVELLS ESPERMÀTICS DE GSTM3 ES RELACIONEN AMB LA FERTILITAT *IN VIVO* DELS TOROS

Ferran Garriga-Font¹, Marc Llavenera¹, Rodrigo Muño², Carlos O. Hidalgo³, Sergi Bonet¹, Marc Yeste^{1*}

¹ Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm), Departament de Biologia, Universitat de Girona, Girona, Espanya.

² Departamento de Patología Animal, Universitat de Santiago de Compostela, Galicia, Espanya.

³ Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Astúries, Espanya.

*Autor corresponent: marc.yeste@udg.edu

La glutatió S-transferasa Mu 3 (GSTM3) és un enzim antioxidant que s'ha descrit com a biomarcador de qualitat espermàtica i fertilitat, tant en l'espècie humana com porcina. Tanmateix, el seu paper com a biomarcador espermàtic en boví no s'ha investigat prèviament. El present estudi té com a objectiu determinar el rol de la GSTM3 espermàtica com a biomarcador de qualitat espermàtica i fertilitat en l'espècie bovina. Es van utilitzar mostres seminals de dotze toros Holstein. La seva fertilitat *in vivo* es va determinar a través de la taxa de no retorn als 90 dies després de la inseminació artificial. Els paràmetres de qualitat i funcionalitat espermàtiques es van analitzar mitjançant citometria de flux i anàlisi computeritzada del semen (CASA). Per tal de determinar la presència i la localització de la GSTM3 en espermatozoides de l'espècie bovina, es van utilitzar anàlisis d'immunotransferència i immunofluorescència, respectivament. Els resultats d'aquestes anàlisis van mostrar que la GSTM3 és present en espermatozoides de toro i que es localitza al llarg de la cua dels mateixos. Pel que fa a la qualitat i funcionalitat espermàtiques, no es van obtenir correlacions significatives entre els diversos paràmetres i els nivells de GSTM3 ($P > 0.05$). Tot i això, es va observar una correlació negativa entre els nivells de GSTM3 i la fertilitat *in vivo* ($R = -0.60$; $P < 0.05$). En resum, aquest estudi mostra una relació entre els nivells de GSTM3 espermàtica i la fertilitat *in vivo* en l'espècie bovina, la qual cosa suggereix que la GSTM3 es podria utilitzar com un biomarcador molecular de fertilitat en aquesta espècie.

UN MÈTODE INNOVADOR BASAT EN LA COMBINACIÓ DE MALDI-TOF MS I INTEL·LIGÈNCIA ARTIFICIAL PER A L'AVALUACIÓ DE LA QUALITAT ESPERMÀTICA EN PORCÍ

Daniela Hernández-Moliner^{1,2}, Meritxell Deulofeu¹, Marc Llavaneras², Pere Boadas-Vaello^{1,2,*}, Elisabeth Pinart^{2,1,*}

¹Grup de recerca en Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA), Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona, Emili Grahit 77, 17003, Girona.

²Grup de Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm). Departament de Biologia i Institut de Tecnologia Agroalimentària (INTEA), Universitat de Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona.

¹Participació equivalent com a últims autors.

*Autors corresponents: pere.boadas@udg.edu / elisabeth.pinart@udg.edu

Les dosis seminals destinades a inseminació artificial (IA) porcina han de presentar una elevada qualitat espermàtica, que habitualment es determina a partir de l'anàlisi dels paràmetres convencionals de concentració, motilitat, viabilitat i resistència osmòtica. Les tècniques emprades en l'avaluació d'aquests paràmetres varien entre centres, i sovint els resultats no són extrapolables. L'objectiu d'aquest estudi va ser desenvolupar un mètode alternatiu ràpid i fiable, que combina l'anàlisi de perfils espectrals i la intel·ligència artificial. Amb aquesta finalitat, es va avaluar la qualitat espermàtica de divuit dosis seminals procedents de mascles reproductors de raça *Piétrain*, a partir de l'anàlisi de la motilitat i cinètica espermàtica pel sistema CASA, i de la integritat i permeabilitat de membrana plasmàtica, potencial de membrana mitocondrial i nivells intracel·lulars de calci, òxids i superòxids per citometria de flux. Paral·lelament, es van adquirir els espectres de masses mitjançant MALDI-TOF MS i es va aplicar una anàlisi de components principals (PCA). L'anàlisi de la distribució espacial de les dosis seminals va proporcionar dos clústers segons el percentatge de motilitat progressiva, $<70\%$ i $\geq 70\%$. Addicionalment, les empremtes espectrals es van utilitzar per a generar un model de classificació amb xarxes neurals artificials (ANNs). El model resultant va ser capaç de diferenciar amb un 100% d'èxit els dos clústers, seguint el mètode de validació *leave-one-out*. En conclusió, existeix una correlació entre la motilitat progressiva i els espectres de PCA/MALDI-TF MS, i això suggereix que aquest procediment pot ser una alternativa ràpida, senzilla i eficient d'avaluació de qualitat espermàtica en programes d'IA porcina.

ALTERATIONS IN PL PROTEINS PROPERTIES AND IN SPERM CHROMATIN AFTER EXPOSURE OF *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* TO MERCURY

Gennaro Lettieri^{1*}, Rosaria Notariale², Nadia Carusone¹, Caterina Manna², Marina Piscopo¹

¹ Department of Biology, University of Naples Federico II, Via Cinthia, 21, 80126 Naples, Italy; gennarole@outlook.com (G.L.); nadia.carusone@libero.it (N.C.); marina.prisco@unina.it (M.P.);

² Department of Precision Medicine, School of Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Via Luigi de Crecchio, 80138 Naples, Italy; notarialer@gmail.com (R.N.); caterina.manna@unicampania.it (C.M.)

*Autor corresponent: gennarole@outlook.com

Heavy metals are toxic environmental pollutants associated with serious ecological and human health risks. Among them is mercury (Hg), which is widespread in air, soil and water due to its peculiar geo-biochemical cycle. In marine environments, due to their benthic and sedentary lifestyle, bivalves are easily exposed to environmental pollution and bioaccumulate these toxic substances. For this reason, these organisms are typically used as models in the field of environmental toxicology. In particular, the mollusc *Mytilus galloprovincialis* has been identified as a good bioindicator of environmental pollution, with a wide spatial distribution.

This work aims to evaluate the effects of exposure of *Mytilus galloprovincialis* to 1, 10 and 100 pM HgCl₂ on spermatozoa and protamine-like (PL) proteins. PL (PL-II, PL-III and PL-IV) are the main basic nuclear protein component of *Mytilus galloprovincialis* sperm chromatin. To this purpose, PL were analysed by SDS-PAGE and AU-PAGE. SDS-PAGE revealed that exposure to HgCl₂ produced that a variable fraction of PLII protein (dependent on the dose of HgCl₂ exposure) comigrated with PLIII. Fluorescence analyses with the ANS probe detected possible alterations in protein structure from mussels exposed to HgCl₂. Moreover, these changes produced an altered DNA-binding of PL proteins from mussels exposed to HgCl₂, observed both by EMSA and by DNA absorption spectra after the addition of PL proteins. These changes in the binding of proteins to DNA were reflected in their lack of ability to protect DNA against oxidative damage, as revealed by protection assays, and in an altered structure of sperm chromatin as evidenced by its increased sensitivity to micrococcal nuclease in mussels exposed to this metal. All these results provide preliminary data of the potential toxicity of Hg on the reproductive health of this mollusc and a possible negative effect on the fertilization ability of *Mytilus galloprovincialis*

GWAS ON SPERM TOLERANCE TO CRYO-PRESERVATION IN SWINE

Yu Lian¹, Marta Gòdia^{1,2}, Joan Enric Rodríguez-Gil³, Sam Balasch⁴, Armand Sánchez-Bonastre^{1,5}, Alex Clop^{1*}

¹ Grup de Genòmica Animal, Programa de Genòmica Vegetal i Animal Centre de Recerca en Agrigenòmica (CSIC-IRTA-UAB-UB), C/ de la Vall Moronta sn, Edifici CRAG, Campus UAB, 08193 Cerdanyola del Vallès, Catalunya.

² Animal Breeding and Genomics group, Department of Animal Sciences, Wageningen University & Research, PO Box 338 6700AH Wageningen, Holanda.

³ Unitat de Reproducció Animal, Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Cerdanyola del Vallès, Catalunya.

⁴ Grup Gepork S.A., 08510 Les Masies de Roda, Catalunya.

Unitat de Genètica Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Cerdanyola del Vallès, Catalunya.

*Autor corresponent: alex.clop@cragenomica.es

Sperm cryo-preservation offers great advantages for both human health and animal breeding. However, the freezing-thawing process often has a detrimental effect on the function and viability of the sperm cell. Sperm cryo-tolerance has been linked to oxidative stress, DNA damage, calcium homeostasis, tyrosine phosphorylation, disulfide bridges of protamines, fluidity of the sperm membrane and mitochondrial function but its molecular basis still remains largely unknown. Shedding light into the molecular basis of sperm cryo-tolerance could help developing more efficient protocols that would benefit human health and animal breeding. As this trait has a genetic component, we carried a Genome-Wide Association Scan (GWAS) for sperm freezability in swine. We measured semen quality parameters on fresh and matched frozen-thawed aliquots of 99 ejaculates, each from a different boar. The traits included motility measured with the CASA system, viability and acrosome morphology after 5 and 90 minutes of incubation at 37 °C. For each phenotype, cryo-tolerance was assessed by calculating the ratio between the phenotypic value after freezing-thawing and the value of its matched fresh sample. The GWAS was carried with GCTA using the genotypes from 373,440 autosomal SNPs from the Axiom Porcine Genotyping array that passed the quality control. As the number of individuals was low, we set up a permissive p-value ($P < 1 \times 10^{-4}$), which resulted in 119 SNPs associated with any of these traits, 94 of which clustered in 8 genomic regions (at least 3 SNPs mapping less than 0.5 mega base-pairs away from each other). These regions harbored 17 genes, some of which related to calcium binding (*MEGF6*, *IQCE*), apoptosis and DNA damage (*TP73*, *DFFB*, *BRAT1*) and oxidative phosphorylation (*FARS2*, *LYRM4*).

FUNCTIONAL AND EPIGENETIC IMPLICATIONS OF CHROMOSOMAL FUSIONS IN THE GERMLINE

Cristina Marín-García^{1,2}, Keren Yam^{1,2}, Carolina Buza^{1,2}, María Magdalena Garcías-Ramis^{1,2}, Laia Marín-Gual^{1,2}, Covadonga Vara^{1,2}, Jacint Ventura³, Aurora Ruiz-Herrera^{1,2*}

¹Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain. ²Genome Integrity and Instability Group, Institut de Biotecnologia i Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain. ³ Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Campus UAB, 08193, Barcelona, Spain.

The production of spermatozoa during spermatogenesis is a tightly regulated process, whose misregulation can lead to infertility. This includes the presence of structural genomic variants (i.e., chromosomal fusions) as they are linked to recurrent miscarriages, infertility, and aneuploid offspring in humans. Spermatogenesis includes several checkpoints to ensure success in the transmission of genetic information through generations. In particular, recombination and transcriptional silencing of sex chromosomes are key events. Here, we take advantage of wild mice populations carrying Robertsonian chromosomal fusions as a model system to study the impact of structural genomic variants in male fertility. To this aim, we performed a comprehensive cytological analysis of primary spermatocytes to analyze constitutively centromere heterochromatin patterns - detecting the H3K9me3 epigenetic mark- and recombination maps -through crossover (CO) immunostaining-, combined with an in-depth study of sperm head morphology, the product of spermatogenesis. Our results show differences between both wild populations studied, but even more critical differences between inbred and wild populations, in terms of sex chromosomes silencing, CO distributions, and sperm morphology. Taking it all together, our results give insight into functional consequences of chromosomal rearrangements affecting germline genetic regulation, affecting ultimately the fertility of the individual.

GERM LINE TELOMER

Laia Marín-Gual^{1,2}, Ga
Andrew Pask⁴, Marilyn

¹Departament de Biolog
Cerdanyola del Vallès

²Genome Integrity and
Autònoma de Barcelona

³Departamento de Biolo

⁴School of BioSciences

⁵School of Biotechnolo
2052, Australia.

*Corresponding author:

During spermatogenesis
process called meiosis
Meiosis regulation has
are notable differences
been mainly studied in
non-traditional model v
perspective. Due to the
unique opportunity to e
pairing strategies to me
previously uncharacteri
family Macropodidae)
Remarkably, we uncover
the fat-tailed dunnart,
elongation was accompa
heterologous chromoso
asynapsed telomeres. C
homeostasis, suggesting
cells, could play a role

GERM LINE TELOMERIC ELONGATION IN MARSUPIALS, A UNIQUE STRATEGY

Laia Marín-Gual^{1,2}, Gala Pujol^{1,2}, Laura Gonzalez-Rodelas^{1,2}, Covadonga Vara^{1,2}, Jesús Page³, Andrew Pask⁴, Marilyn Renfree⁴, Paul D Waters⁵, Aurora Ruiz-Herrera^{1,2*}

¹Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain.

²Genome Integrity and Instability Group, Institut de Biotecnologia i Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain.

³Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.

⁴School of BioSciences, The University of Melbourne, Victoria, Australia.

⁵School of Biotechnology and Biomolecular Sciences, Faculty of Science, UNSW, Sydney, NSW 2052, Australia.

*Corresponding author: aurora.ruizherrera@uab.cat

During spermatogenesis, genetically variable haploid gametes are generated in a tightly regulated process called meiosis. Errors in this process may lead to aneuploidy and infertility problems. Meiosis regulation has canonical features that are highly conserved across mammals, although there are notable differences between taxa. Since the mechanisms underlying meiotic cell division have been mainly studied in model species, our understanding of the dynamics of meiotic prophase I in non-traditional model vertebrates is still in its infancy, especially when viewed from a phylogenetic perspective. Due to their key basal position in the mammalian evolutionary tree, marsupials offer a unique opportunity to explore previously uncharacterized meiotic features, from sex chromosome pairing strategies to meiotic telomeric homeostasis. Here, we study the meiotic progression in two previously uncharacterized Australian marsupial species: the Tammar wallaby (*Macropus eugenii*: family Macropodidae) and the fat-tailed dunnart (*Sminthopsis crassicaudata*: family Dasyuridae). Remarkably, we uncover evidence for telomeric length reprogramming during meiotic prophase I of the fat-tailed dunnart, a unique telomeric elongation strategy within mammals. This telomere elongation was accompanied by: (i) the transcription of telomeres, (ii) telomeric associations between heterologous chromosomes, (iii) 'open' chromatin configuration at chromosomal ends and (iv) asynapsed telomeres. Overall, our results provide new insights into the regulation of telomeric homeostasis, suggesting that telomeric lengthening mechanisms previously only associated to cancer cells, could play a role in telomere homeostasis in mammalian germ cells.

ANALYSIS OF piRNA VARIATION ACROSS CLOSELY RELATED MOUSE SPECIES

Adrià Mitjavila Ventura¹, Tanya Vavouri^{1*}

¹Regulatory Genomics group, Josep Carreras Leukaemia Research Institute (IJC), Campus ICO-Germans Trias i Pujol, Ctra. Can Ruti, Camí de les Escoles s/n - 08916 Badalona - Barcelona, Spain.

*Autor corresponent: amitjavila@carrerasresearch.

Piwi-interacting RNAs (piRNAs) are small non-coding RNAs expressed in the germline of most animals whose main function is to silence transposable elements (TEs) through base-pair complementarity. Furthermore, the Piwi pathway is essential for fertility and some piRNA-producing loci (piRNA clusters) have a functional role in spermatogenesis. In the current work, we studied the piRNA expression and its variation in the male germ line of three closely related *Mus* species, providing the first small RNA datasets in two of these species. In addition, we evaluated factors that could influence piRNA expression and its diversity between species. First, we confirmed that our sequencing data was enriched in piRNAs. We also developed an approach to minimize length differences between orthologous regions that allowed performing multi-species differential expression analyses. In summary, we found that the piRNA clusters and its expression have great differences between species. On the other hand, the most conserved piRNA clusters across species were those with higher expression of piRNAs. Finally, although we could not find significant associations between TEs and piRNA expression, we provide some examples consistent with a model where TE insertions alter production of piRNAs. Our results suggest that presence of transposon insertions may be the origin of a subset of new piRNA clusters. However, there must be additional factors explaining the piRNA diversity between species. Thus far, this has been the first piRNA study comparing closely related species within the mammalian clade and it is a first step towards unraveling the mechanisms by which piRNA-producing genes evolve.

FRESHLY EJACULATED PIG SPERMATOZOA CARRY EXTRACELLULAR VESICLES ATTACHED TO THEIR MEMBRANES
ELS ESPERMATOZOIDES FRESCOS DE PORC TRANSPORTEN VESÍCULES EXTRACEL·LULARS UNIDES A LES MEMBRANES

Lorena Padilla^{1,2,3*}, Isabel Barranco⁴, Ana Parra¹, Marc Yeste^{2,3}, Jordi Roca¹

¹ Department of Medicine and Animal Surgery, Faculty of Veterinary Science, University of Murcia, Murcia, Spain

² Unit of Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Girona, Girona, Spain.

³ Biotechnology of Animal and Human Reproduction (TechnoSperm), Institute of Food and Agricultural Technology, University of Girona, Girona, Spain.

⁴ Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Ozzano dell'Emilia, Bologna, Italy

*Autor corresponent: lorena.padilla@udg.edu

Abstract

Extracellular vesicles (EVs), including exosomes and microvesicles, are lipid bilayer nanovesicles released by living cells into body fluids and involved in cell-to-cell communication. They are present in all reproductive fluids and are likely to be involved in many male and female reproductive (dys)functions. In pig seminal plasma, they are present in large numbers (Barranco et al., Sci Rep, 2019) and have the ability to bind sperm membranes when are co-incubated with them (Du et al., Oncotarget. 2016). The aim of this study was to assess whether freshly ejaculated pig spermatozoa already have EVs attached to their membranes. Three semen pools of entire ejaculates (three ejaculates per pool) collected from artificial insemination boars were centrifuged at 800 xg/10 min at room temperature, and the resulting sperm pellets were resuspended in PBS (20x10⁶ cells/mL). Sperm samples were prepared for examination by field-emission scanning electron microscopy (FESEM, Apreo S, Thermo Scientific™) and confocal laser scanning microscopy (CLSM, Stellaris 8, Leica Microsystems). For FESEM, sperm were fixed, dehydrated and mounted on aluminium stubs and coated with gold-palladium using a sputter coater; images were acquired with an accelerating voltage of 10.00 kV and working distances of 7.9-10 mm. For CLSM, sperm were fixed, permeabilized, incubated with an anti-CD63 monoclonal antibody conjugated with Alexa Fluor® 405 (1:10 diluted, MX-49.129.5, Novus Biological), counterstained with propidium iodide, mounted on glass slides and visualized using blue (405/425-475 nm) and red (559/557-675 nm) channels. The FESEM images revealed the presence of nanovesicles on the membrane surface of sperm in the three main regions (head, mid-piece and tail), which was confirmed by CLSM showing CD63-positive dots compatible with EVs in the sperm membranes. In conclusion, freshly ejaculated spermatozoa have EVs attached to their membranes. Research supported by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-113493RB-I00) and AGAUR, Catalonia (2020-FI-B-00412), Spain.

Resum

Les vesícules extracel·lulars (VEs), que comprenen els exosomes i les microvesícules, són nanovesícules amb bicapa lipídica que participen en diverses funcions reproductives i són alliberades per gairebé totes les cèl·lules vives als fluids corporals, inclòs el semen. En porcí, s'ha demostrat que les VE seminals (sVEs) expressen diferents perfils de tetraspanines, per exemple la CD63 (Barranco et al., 2019) i que les sEVs s'uneixen a la membrana plasmàtica quan es co-incuben amb els espermatozoides (Du et al., Oncotarget. 2016). L'objectiu d'aquest estudi fou avaluar si els espermatozoides de porcí ejaculats són portadors de sVEs. Es va obtenir tres *pools* d'ejaculacions senceres (tres ejaculacions per *pool*) a partir de mascles d'inseminació artificial mitjançant el mètode semiautomàtic (Collectis®, IMV). Els espermatozoides es van obtenir després de la centrifugació a 800xg/10 min a temperatura ambient i es van resuspendre en PBS (20x10⁶ cèl·lules/mL). Les mostres es van preparar segons la metodologia de la tècnica microscòpica i es van observar mitjançant l'ús de la microscòpia electrònica d'escaneig d'emissió de camp (FESEM, Apreo S, Thermo Scientific™) i la microscòpia d'escaneig làser confocal (CLSM, Stellaris 8, Leica Microsystems). En el cas del processament per FESEM, els espermatozoides es van fixar, deshidratar i muntar sobre alumini i van

ser recoberts amb or-pal·ladi (Divisió Polaron, Bio-Rad). En el processament de les mostres per CLSM, els espermatozoides es van fixar, permeabilitzar i posteriorment es van incubar amb un anticòs monoclonal anti-CD63 conjugat amb Alexa Fluor® 405 (1:10 diluït, MX-49.129.5, Novus Biològic). Finalment, es va realitzar una tinció de contrast amb iodur de propidi i es van muntar en portaobjectes de vidre. Les imatges es van adquirir en FESEM a una tensió accelerada de 10,00 kV i distàncies de treball de 7,9-10 mm. Per la observació al CLSM, es van utilitzar les longituds d'ona corresponents al blau (405/425-475 nm) i vermell (559/557-675 nm). Les imatges de FESEM van revelar la presència de nanovesícules a la superfície de la membrana espermàtica, concretament a les tres regions principals (cap, peça intermitja i cua), la qual cosa es va confirmar gràcies a la determinació de la l'expressió de CD63 avaluada mitjançant l'ús del CSLM. En conclusió, els espermatozoides ejaculats poden portar sEVs unides a la seva membrana.

MECHANOTRANSDUCTION OF HUMAN AND MOUSE EMBRYOS IMPLANTATION

Anna Seriola¹, Amélie Godeau¹, Marc Casals¹, Ester Aroca¹, Oren Tchaicheeyan²⁻³, Shahar Goren²⁻³, Anna Veiga⁴, Montse Boada⁵, Miquel Solé⁵, Mónica Parriego⁵, Ayelet Lesman²⁻³, Samuel Ojosnegros^{1*}.

¹ Bioengineering in Reproductive Health, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), 08028 Barcelona, Spain.

² School of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Tel-Aviv University, Tel-Aviv, 55 Chaim Levanon St., Ramat Aviv 69978, Israel.

³ Center for Physics and Chemistry of Living Systems, Tel Aviv University, Tel-Aviv, 55 Chaim Levanon St., Ramat Aviv 69978, Israel.

⁴ Barcelona Stem Cell Bank, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge, IDIBELL, 08908, L'Hospitalet del Llobregat, Spain.

⁵ Dexeus Mujer, Gran Vía Carles III, 08028 Barcelona, Spain.

*Autor corresponent: sojosnegros@ibecbarcelona.eu

The mammalian embryos initiate their development autonomously until they reach blastocyst stage. At that point, the embryo attaches to the endometrium and the blastocyst invades the thick maternal tissue and elongates, transitioning from a radial to a bilateral symmetry. We hypothesize that mechanical forces may be involved in the trophoblast invasion and axis elongation. However, due to the inaccessibility of implantation, we have limited insight on the mechanisms allowing the maternal tissue invasion and symmetry breaking.

To overcome that roadblock, we developed a novel *ex-vivo* method which allows post-implantation embryo development and is amenable to light microscopy. We combine this method with a Digital Volume Correlation algorithm (DVC) so we can perform traction force microscopy on live embryos. Mouse transgenic embryos were imaged using confocal microscopy and human embryos were imaged in a label-free set up using multiphoton illumination of autofluorescent signals.

We observed that mouse embryos applied tension on the matrix anisotropically, typically through 1-to-3 axes, in a pulsatile fashion. The tension created a rim of collagen around the embryo and remodelled the orientation of the surrounding fibres. The human embryos instead, exerted forces isotropically and embedded themselves in the collagen matrix by sinking in. This indicates that implantation is a remarkably mechanosensitive process. Moreover, the embryos aligned their implantation axis in the direction of a variety of external forces. The direction of the external force also determined the formation of the proximo-distal axis of the embryo, thus contributing to the symmetry breaking and the formation of the first developmental axis.

Altogether, we have observed the process of implantation of human and mouse embryos in 4D (x,y,z, and t) at unprecedented level of detail. Our results indicate a key role of mechanical forces during implantation, not only in guiding the invasion of the extracellular matrix, but also during patterning.

EFFECTE DE L'ALDOSA REDUCTASA B1 SOBRE LA QUALITAT I FUNCIONALITAT DE L'ESPERMA BOVÍ DESPRÉS DE LA CONGELACIÓ

Estel Viñolas-Vergés^{1,2}, Marc Llavanera^{1,2}, Sandra Recuero^{1,2}, Ariadna Delgado-Bermúdez^{1,2}, Jordi Ribas-Maynou^{1,2}, Isabel Barranco³, Marc Yeste^{1,2}, Yentel Mateo-Otero^{1,2*}

¹ Biotechnology of Animal and Human Reproduction (TechnoSperm), Institute of Food and Agricultural Technology, University of Girona, Girona, Spain

² Unit of Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Girona, Girona, Spain.

³ Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Italy.

*Autor corresponent: yentel.mateo@udg.edu

L'Aldosa Reductasa B1 (AKR1B1) és un enzim implicat en l'èxit reproductiu en diferents espècies. En boví, la seva activitat al tracte reproductor masculí s'ha associat amb la maduració espermàtica epididimària. Tot i això, no existeixen estudis que avaluïn la influència de l'AKR1B1 en la qualitat i funcionalitat espermàtiques. Per aquest motiu, l'objectiu de l'estudi va ser avaluar la relació entre els nivells d'AKR1B1 de l'esperma boví i la qualitat i funcionalitat espermàtiques després de la descongelació. Es van descongelar tres ejaculacions criopreservades d'un mascle i se'n va avaluar: i) la morfologia espermàtica; ii) la qualitat i funcionalitat espermàtiques (calci intracel·lular, nivells de peròxids i superòxids, integritat de l'acrosoma i desestabilització de la membrana) utilitzant un sistema d'anàlisi computeritzat (CASA) i la citometria de flux; i iii) els nivells d'AKR1B1 per Western Blot (WB). Els resultats del WB van determinar la presència de dues bandes específiques, una a 36 kDa i una a ~80 kDa. Es va calcular la ràtio de la banda de 36 kDa i la banda de ~80 kDa entre la suma de les dues bandes (36 kDa/AKR1B1 total i ~80 kDa/AKR1B1 total). Seguidament, es va avaluar la relació entre les ràtios i els diferents paràmetres utilitzant el coeficient de correlació de Pearson. Els resultats permeten observar una lleugera relació entre els nivells d'AKR1B1 i la funcionalitat espermàtica, ja que el percentatge d'espermatozoides viables amb l'acrosoma intacte (PNA/PI) estava correlacionat amb les ràtios calculades ($R=-0.592$ per 36 kDa/AKR1B1 total, i $R=0.592$ per ~80 kDa/AKR1B1 total, $P<0.05$). D'acord amb aquesta observació, l'AKR1B1 sembla tenir un efecte limitat sobre la qualitat i la funcionalitat espermàtiques després de la descongelació. Tot i això, com que s'ha descrit un efecte positiu de la proteïna sobre la fertilitat en porcí, no es pot descartar una influència positiva de l'AKR1B1 sobre la fecundació de l'oòcit o el desenvolupament embrionari en boví.

Finançat per: EC (H2020-MSCA-IF-2019-891382), MICINN, Spain (AGL2017-88329-R) and AGAUR, Catalonia (2017-SGR-1229; 2020-FI-B-00412).