

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), enero-febrero 2025,
Volumen 9, Número 1.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i1

MICRODOSIS DE COENZIMA Q10 COMO POTENCIALIZADOR DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA DE SEMEN OVINO CRIOCONSERVADO

**MICRODOSES OF COENZYME Q10 AS A POTENTIAL
ENHANCER OF SPERM QUALITY IN CRYOPRESERVED
SHEEP SEMEN**

Mónica Daniela Quinche Guazhambo

Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

Andrés Leonardo Moscoso Piedra

Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

Manuel Esteban Maldonado Cornejo

Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

Juan Carlos Alvarado Alvarado

Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i1.16625

Microdosis de Coenzima Q10 como Potencializador de la Calidad Espermática de Semen Ovino Crioconservado

Mónica Daniela Quinche Guazhambo¹monica.quinche.46@est.ucacue.edu.ec<https://orcid.org/0009-0005-4226-8501>Universidad Católica de Cuenca
Ecuador**Andrés Leonardo Moscoso Piedra**amoscosop@ucacue.edu.ec<https://orcid.org/0000-0002-4017-0165>Universidad Católica de Cuenca
Ecuador**Manuel Esteban Maldonado Cornejo**mmaldonadoc@ucacue.edu.ec<https://orcid.org/0000-0002-1507-2280>Universidad Católica de Cuenca
Ecuador**Juan Carlos Alvarado Alvarado**jalvaradoa@ucacue.edu.ec<https://orcid.org/0000-0002-7240-179X>Universidad Católica de Cuenca
Ecuador

RESUMEN

La Inseminación Artificial con semen congelado no es muy común en ovinos debido a la bajas tasas de fertilidad, por lo que es necesario encontrar alternativas que potencialicen la calidad espermática y así permitan incrementar esta tasa, que se ve afectada principalmente durante el proceso de crioconservación, debido a que los espermatozoides están expuestos a condiciones desfavorables, haciéndolos susceptibles al choque térmico y al estrés oxidativo, provocando cambios estructurales y funcionales en los mismos. La Coenzima Q10 es un antioxidante que actúa a nivel celular y que es de uso común como complemento fisiológico. El objetivo de estudiar el efecto de la Coenzima Q10 en el semen ovino post congelación permite explorar nuevas alternativas que permitan corregir esta problemática, para lo cual se lo evaluó en tres dosis: 1uM; 2uM y 5uM en 5 repeticiones, aplicadas durante el procedimiento de congelación, hallandose que estas no favorecen, ni desfavorecen significativamente ($p>0,05$) la calidad del semen, tanto en las pruebas de vitalidad, viabilidad, permeabilidad y las tinciones, así como los parámetros cinéticos medidos mediante el sistema CASA, por lo que se puede concluir que sus efectos podrian ser obsesrvables a mayores dosis, tal como sucede con esta molecula en semen refrigerado.

Palabras clave: coenzima, sistema casa, choque térmico, estrés osmótico

¹ Autor principal

Correspondencia: monica.quinche.46@est.ucacue.edu.ec

Microdoses of Coenzyme Q10 as a Potential Enhancer of Sperm Quality in Cryopreserved Sheep Semen

ABSTRACT

Artificial insemination with frozen semen is not very common in sheep due to low fertility rates, so it is necessary to find alternatives that enhance sperm quality, thus increasing this rate, which is primarily affected during the cryopreservation process. This is because sperm are exposed to unfavorable conditions, making them susceptible to thermal shock and oxidative stress, leading to structural and functional changes. Coenzyme Q10 is an antioxidant that works at the cellular level and is commonly used as a physiological supplement. The objective of studying the effect of Coenzyme Q10 on post-freeze sheep semen is to explore new alternatives to address this issue. For this, it was evaluated in three doses: 1uM, 2uM, and 5uM in five repetitions, applied during the freezing procedure. It was found that these doses neither significantly favor nor harm ($p>0.05$) sperm quality, as measured by vitality, viability, permeability tests, staining, and kinematic parameters assessed through the CASA system. Therefore, it can be concluded that its effects may be observable at higher doses, as seen with this molecule in refrigerated semen.

Keywords: coenzima, casa sistem, thermal shock, osmotic stress

Artículo recibido 28 enero 2025

Aceptado para publicación: 20 febrero 2025



INTRODUCCIÓN

La crianza y producción de ovinos es de gran importancia en el País por ser una actividad social y económica para pequeños productores (Aibazov, 2022). A parte de su gran capacidad para adaptarse a diversos climas y sistemas de manejo, proporciona múltiples productos como carne y lana. La aplicación de biotecnologías en la reproducción asistida tiene como objetivo mejorar tanto la productividad como la conservación genética. La inseminación artificial se utiliza para transmitir las características deseables del carnero de alto valor genético. Por otro lado, la congelación de semen facilita la multiplicación y difusión de genes además que permite su conservación por un periodo ilimitado, así como facilita el transporte evitando el costo de traslado y disminuyen el riesgo sanitario (Yáñez et al., 2022).

Sin embargo, la inseminación con semen congelado sigue siendo insatisfactoria en el ganado ovino debido a la baja tasa de fertilidad (Ruiz et al., 2015). Esto se debe a los daños ocasionados en la membrana del espermatozoide durante el proceso de crioconservación, ya que se altera la función metabólica del mismo, por lo que reduce el número de células viables provocando una capacitación espermática prematura (Sharafi et al., 2019). Estos daños pueden reducirse al controlar la velocidad de congelación, utilizando un diluyente adecuado y añadiendo los agentes crioprotectores.

El uso de antioxidantes como la coenzima Q10 que es una molécula liposoluble que actúa en la cadena de transporte de electrones mitocondrial, contribuye a la protección celular y a la mejora de la viabilidad espermática (Rodríguez, 2024). Se encuentra en todas las células del cuerpo y se sintetiza a partir de tirosina, fenilalanina y acetil CoA y la mayor concentración se da en las membranas celulares, especialmente en las mitocondrias. Esta molécula existe en dos formas; reducida (ubiquinol) u oxidada (ubiquinona) y su estructura consiste en un anillo de benzoquinona y una cadena lateral isoprenoide lipofílica la cual tiene un papel importante en la cadena de transporte de electrones utilizada para la síntesis de ATP.

La aplicación de un diluyente es importante ya que preserva las características funcionales de los espermatozoides, asegurando un nivel de fertilidad adecuado. Están compuestos por diferentes sustancias como: crioprotectores, azúcares, antibióticos y electrolitos que cumplen las funciones de: proveer nutrientes como fuente de energía, mantener un adecuado equilibrio del pH, mantener una



adecuada presión osmótica y balance electrolítico, proteger a los espermatozoides de la bajada de temperatura e inhibir el crecimiento bacteriano, un diluyente específico para ovinos es el Ovixcell que esta formulado por lecitina de soya, incluyendo las sustancias mencionadas anteriormente.

Existen varios parámetros para evaluar (Whitesell et al., 2020) , los cuales se clasifican en macroscópicos (color, volumen, pH) y microscópicos (motilidad masal, motilidad individual, concentración, integridad de la membrana, vitalidad).

La cantidad de espermatozoides en el eyaculado determina la coloración en la muestra: blanquecina-amarillenta (buena calidad), leche acuosa (baja calidad), rojizo indica presencia de sangre, así como, grises o marrones (contaminación o infección). El semen debe tener un aspecto cremoso-lechoso y uniforme.

El volumen de un eyaculado, es esencial para asegurar una cantidad suficiente de espermatozoides, se mide en mL y oscila entre 1.5 y 5 ml sin embargo puede variar según la edad, tamaño, método de colecta, etc. Su pH esta esta relacionado con la concentración espermática

En cuanto a la movilidad espermática, esta se refiere a la capacidad de los espermatozoides para moverse de manera adecuada (movimientos circulares y rectilíneos), se analiza mediante observación macroscópico y microscópico los cuales son indicados en porcentajes mediante un método subjetivo (90%), por otro lado, la vitalidad y mortalidad se analiza por medio de un microscopio utilizando una prueba de tinción (eosina-nigrosina) donde los espermatozoides vivos no se tiñen y los muertos sí .

Para el análisis de la funcionalidad mitocondrial se utiliza Rodamina 123, este es un reactivo permeable fluorescente, este compuesto atravieza la membrana, por lo que se introduce en las mitocondrias activas y genera fluorescencia verde, siendo un indicador de las células con actividad mitocondrial, en cambio el Youduro de propidio evalúa la viabilidad, este no puede atravesar la membrana celular intacta por lo que solo penetra a la membrana dañada emitiendo con una fluorescencia roja.

Test hipoosmótico (host), se emplea para evaluar la integridad funcional de la membrana, determinando la capacidad de la misma para mantener el equilibrio entre el esperma y su entorno, se trata de poner los espermatozoides en un medio hipotónico, lo que provoca un desequilibrio osmótico entre el medio extracelular e intracelular, los espermatozoides vivos, provocan que la cola se enrolle y los muertos muestran la cola lisa (Kahwage et al., 2018).



El sistema CASA (Computer Assisted Semen Analysis) permite un análisis confiable además de cambios en las características de los espermatozoides, que no se pueden identificar mediante el análisis convencional (Whitesell et al., 2020). Este sistema evalúa parámetros cinéticos como vitalidad, concentración, velocidad promedio de los espermatozoides (osilación, rectitud y linealidad) así como la frecuencia de batida de flagelo y el movimiento lateral de la cabeza (Choi et al., 2022).

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de 1uM, 2uM y 5uM de coenzima Q10 sobre los parámetros de calidad y cinéticos de semen post congelación de carneros de tres diferentes razas. Para determinar la dosis óptima de CoQ10 sobre el semen ovino y por ende garantizar la viabilidad durante el proceso de crioconservación, aplicando antioxidantes como la CoQ10 y empleando un diluyente sintético (Ovixell).

METODOLOGÍA

El presente estudio fue experimental comparativo de corte transversal se propuso a través de un Diseño Completamente al Azar, la evaluación cuantitativa de diferentes dosis de CoQ10 frente a un Testigo. Se realizó en el laboratorio de reproducción de la Unidad académica de Ciencia Agropecuarias de la UCACUE que tuvo una duración de seis meses. Para la colecta de semen, se utilizaron 3 machos de razas Katahdin, Pelibuey y Dorper, a los cuales se les estrajo 5 muestras a cada uno. Ana

Para este fin se empleó una vagina artificial (IMV Technologies), cargada con 40-60 ml de agua a una temperatura de 45-50°C hasta proceder a la extracción. El semen se colectó en un tubo Falcón de 15 ml graduado.

El procedimiento de extracción implicó sujetar a una oveja receptora (hembra) mientras un operador se ubicaba a la derecha del carnero macho para colocar la vagina artificial en posición frente al prepucio en un ángulo de 45°C, un movimiento hacia arriba y adelante denominado “golpe de riñón” indicó la eyaculación, en seguida se protegió la muestra con la mano para evitar cambios bruscos de la temperatura y se colocó en un baño termostático a 37°C.

Se realizó el análisis de volumen y concentración antes de su utilización, para evaluar volumen utilizamos una micropipeta de 100-1000µl y para evaluar la concentración se tomó 30 µl de semen fresco y se colocó en una microcubeta, la cual se llevó al fotómetro SDM 1 minitube específico para ovinos.



Con una micropipeta, se tomaron 5 µl de semen puro y se depositó en un portaobjeto y cubreobjeto previamente temperados a 37°C. Posteriormente, se evaluó utilizando un microscopio optimo: como el objetivo de 10x motilidad masal (M.M) y con el de 40x motilidad individual (M.I). En base a lo observado, se le asigno un porcentaje utilizando una escala subjetiva de 0 a 100, siendo optima 90%.

Con el propósito de que el semen mantenga sus características se realizó una pre – dilución dentro de la cabina de flujo: Oxivell y agua ultra pura (1:1). Para determinar la dosis de semen correcta, se preparo una solución madre considerando: volumen x concentración x Motilidad Masal (90%). Se calculó para la concentración deseada (50 millones), reflejando el resultado en µl el cual se dosifico para pajuelas de 0,25cc y se resto la predilución; posteriormente se colocó 800ul de solución en cuatro tubos Eppendorf (1,5mm) previamente añadida la coenzima Q10 en dosis de 1uM, 2uM, 5uM y un testigo.

El material finalmente fue empajillado, 12 pajuelas (3 por cada tratamiento) con un total de 180 pajuelas para el estudio completo. Para esto se utilizó alcohol polivinílico y se rotulo por raza, tratamiento y fecha.

Para la congelación se consideró un tiempo de estabilización. Para esto se colocó las pajuelas en refrigeración durante 2 horas a 5°C para su proceso de adaptación.

A continuación, se agrego nitrógeno a una altura de 5.5 cm en la rampa de congelación durante unos 3-5 minutos para que tome temperatura con el nitrógeno toda la rampa, pasado de 3-5 min introducimos las pajuelas durante 15 min, una vez sumergidas con la ayuda de una pinza se colocó en globets previamente rotulados, los mismos que fueron introducidos en el termo para su criopreservación a -196°C.

La descongelación del semen se realizó mediante un termo con agua a temperatura de 37°C se colocaron las pajillas previamente congelas y se las dejo por 60 segundos, se las secó meticulosamente para evitar el contacto del semen con el agua. Se realizó cortes en ambos lados de la pajilla y se lo tranfiere a un tubo Eppendorf rotulado y se coloca en la platina térmica (37°C).

Por otro lado, se evaluó la integridad de la membrana, se realizó una mezcla de 20µl de semen en 100µl de Host en un tubo Eppendorf y se incubo en la platina térmica a 37°C durante 45 minutos. Para el análisis microscópico, se colocaron 10µl de la muestra en un portaobjeto y se cubrió con un cubreobjetos, se observa con un lente de 40x.

Los espermatozoides que presenten una torsión en el flagelo helicoidal son positivos al Test de Host. Con respecto, a la prueba de vitalidad, se tomó 3µl de la tinción eosina-nigrosina y 3µl de semen. Posteriormente, se colocaron en un portaobjetos donde se incorporaron mediante un frotis, el mismo se lo dejó secar por unos minutos y se procedió al análisis microscópico en el cual se observó un mínimo de 100 espermatozoides en diferentes campos. Los espermatozoides muertos presentan la coloración fucsia o rosada y los vivos de color transparente.

Para la prueba de viabilidad se empleó una tinción fluorescente. En un tubo Eppendorf cubierto con papel aluminio se añadió 50µl de semen y 1µl de yoduro de propidio, el cual se lo incubó durante 5 minutos. A continuación, con una micropipeta se tomó 5 µl de la mezcla y se realizó un frotis, el cual se analizó mediante un microscopio de fluorescencia con lente de 40x y con disco 1. Los espermatozoides que se tiñen de rojo son los que presenta problemas en la integridad de la membrana. De la misma manera se evaluó funcionalidad mitocondrial, se colocó en un tubo Eppendorf 50 µl de semen y 1µl de rodamina 123, lo cual se dejó incubar por 15 minutos en la platina térmica, se realizó un frotis con la preparación y se examinó mediante un microscopio fluorescente (lente 40x y disco 3), los que se tiñen de verde presentan funcionalidad mitocondrial.

Finalmente, se evaluaron diversos parámetros de la calidad del semen mediante el sistema CASA (Motilidad, VCL, VAP, VSL, STR, LIN, WOB, ALH Y BCF) , para este análisis se utilizó un portaobjetos en el cual se colocó 5µl de cada muestra y se cubrió con un cubre objetos, capturando 3 campos por muestra.

ANÁLISIS DE DATOS

Para la comparación de los tratamientos se utilizó un análisis de varianza (ADEVA) a un nivel de significancia 5% en las variables y una prueba multiparamétrica (post-hoc) de Tukey. Se analizaron dos modelos de una entrada. El primero considera el momento (Fresco x Descongelado) y segundo el efecto de los tratamientos (1µM, 2µM y 5µM) post congelación. Todas las pruebas estadísticas fueron procesadas en el paquete estadístico Jamovi (Jamoviproject, 2022).

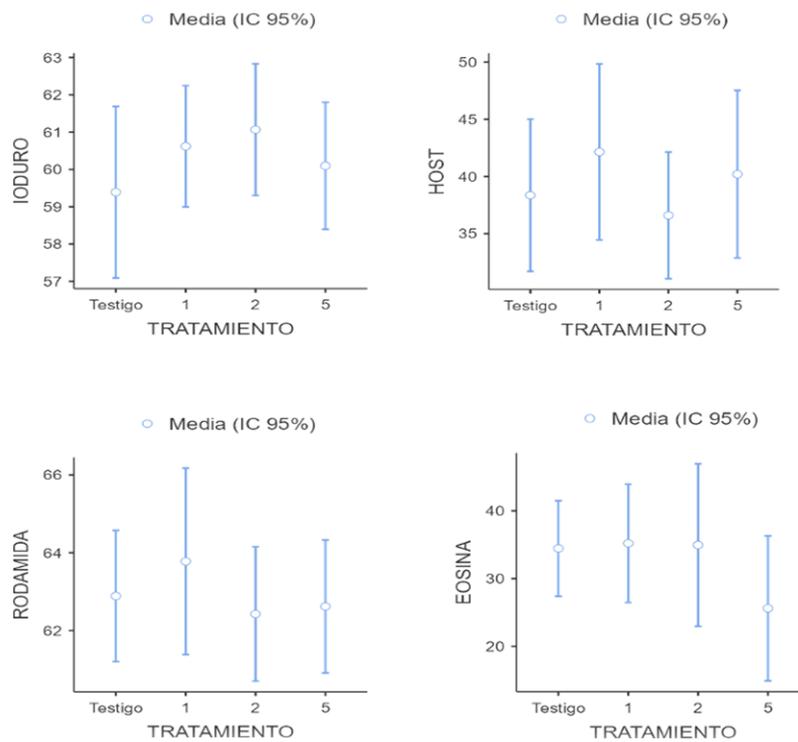
RESULTADOS Y ANÁLISIS

Tabla 1. Análisis de varianzas, entre Tratamientos y entre Momentos

| Tramiento | | Testigo | | 1 uM | | 2uM | | 5uM | | Valor p | Valor p |
|--------------------|----------|---------------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|---------|--------------|
| Momento | | Fresco | Descongelado | Fresco | Descongelado | Fresco | Descongelado | Fresco | Descongelado | Momento | Tratamientos |
| | | EOSINA | Promedio | 81.9 | 34.5 | 78.2 | 35.2 | 81.7 | 35.0 | 78.5 | 25.6 |
| | DE | 15.4 | 12.7 | 25.6 | 15.8 | 25.4 | 21.7 | 27.3 | 19.3 | | |
| HOST | Promedio | 29.4 | 38.4 | 24.2 | 42.1 | 19.7 | 36.6 | 25.8 | 40.2 | < .001 | > .05 |
| | DE | 20.6 | 12.0 | 15.8 | 13.9 | 9.87 | 10.00 | 10.3 | 13.2 | | |
| IODURO | Promedio | 65.8 | 59.4 | 61.3 | 60.6 | 62.1 | 61.1 | 64.9 | 60.1 | 0.009 | > .05 |
| | DE | 5.44 | 4.15 | 9.01 | 2.93 | 12.8 | 3.19 | 6.32 | 3.07 | | |
| RODAMIDA | Promedio | - | 62.9 | - | 63.8 | - | 62.4 | - | 62.6 | | > .05 |
| | DE | - | 3.05 | - | 4.32 | - | 3.12 | - | 3.08 | | |
| PROGRESIVOS | Promedio | 32.0 | 17.6 | 40.3 | 19.7 | 30.6 | 17.5 | 31.6 | 17.7 | < .001 | > .05 |
| | DE | 10.1 | 8.40 | 30.0 | 8.72 | 12.0 | 9.07 | 9.99 | 7.71 | | |
| NO | Promedio | 56.2 | 25.3 | 59.8 | 31.3 | 53.2 | 24.8 | 55.5 | 28.3 | < .001 | > .05 |
| PROGRESIVOS | DE | 10.8 | 10.3 | 28.6 | 12.0 | 12.8 | 8.24 | 10.1 | 11.9 | | |
| INMOVILES | Promedio | 11.8 | 57.1 | 17.5 | 49.0 | 16.3 | 57.6 | 13.0 | 53.9 | < .001 | > .05 |
| | DE | 8.85 | 12.6 | 17.8 | 15.3 | 8.23 | 14.8 | 7.82 | 18.9 | | |
| VCL | Promedio | 90.0 | 49.0 | 89.0 | 50.4 | 81.7 | 47.5 | 82.0 | 48.3 | < .001 | > .05 |
| | DE | 24.1 | 16.9 | 33.0 | 12.2 | 23.8 | 21.5 | 30.5 | 24.1 | | |
| VAP | Promedio | 46.3 | 24.1 | 45.9 | 24.9 | 42.6 | 23.8 | 42.1 | 23.0 | < .001 | > .05 |
| | DE | 13.0 | 8.39 | 17.1 | 4.21 | 14.9 | 11.3 | 16.0 | 12.2 | | |
| VSL | Promedio | 30.9 | 15.8 | 30.9 | 16.3 | 28.8 | 16.6 | 27.1 | 15.8 | < .001 | > .05 |
| | DE | 10.2 | 7.18 | 14.7 | 3.67 | 14.5 | 9.42 | 12.6 | 9.95 | | |
| STR | Promedio | 59.1 | 53.8 | 58.5 | 56.0 | 55.1 | 53.7 | 55.6 | 55.2 | 0.194 | > .05 |
| | DE | 6.65 | 10.1 | 11.5 | 9.62 | 11.1 | 10.6 | 11.1 | 10.4 | | |
| LIN | Promedio | 33.2 | 29.5 | 33.3 | 32.3 | 30.8 | 30.8 | 31.2 | 30.0 | 0.444 | > .05 |
| | DE | 6.14 | 12.2 | 9.56 | 13.2 | 8.58 | 13.5 | 8.38 | 11.7 | | |
| ALH | Promedio | 2.30 | 1.38 | 2.23 | 1.43 | 2.05 | 1.32 | 2.11 | 1.36 | < .001 | > .05 |
| | DE | 0.494 | 0.340 | 0.631 | 0.278 | 0.403 | 0.392 | 0.579 | 0.470 | | |
| BCF | Promedio | 10.9 | 5.01 | 10.8 | 5.31 | 10.2 | 5.08 | 10.2 | 5.29 | < .001 | > .05 |
| | DE | 3.27 | 2.16 | 3.87 | 1.51 | 3.83 | 2.89 | 4.18 | 3.43 | | |

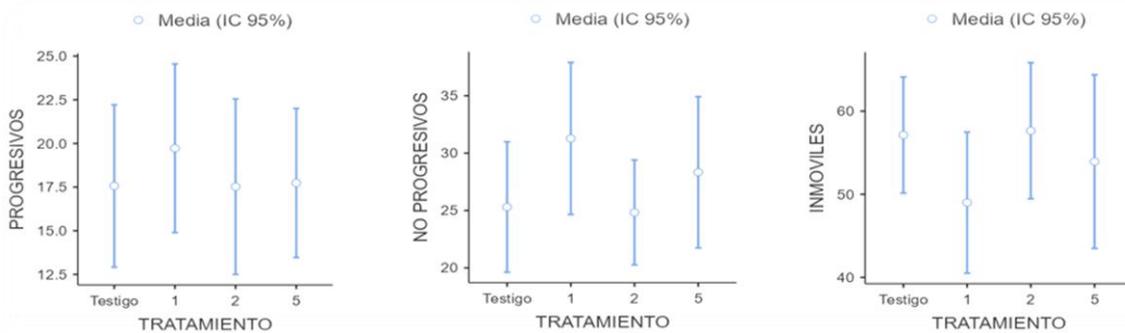
El cuadro 1 nos enseña las diferencias estadísticas para las pruebas de cinética, permeabilidad y progresividad tanto para momento como tratamiento. Donde existen diferencias significativas para los momentos en permeabilidad, progresividad y en algunos de la cinética. un análisis preliminar de los mismos. Por otro lado, cuando comparamos entre tratamientos vemos que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) tanto para cinética, permeabilidad y progresividad.

Figura 1: Distribución de la respuesta de tinciones.



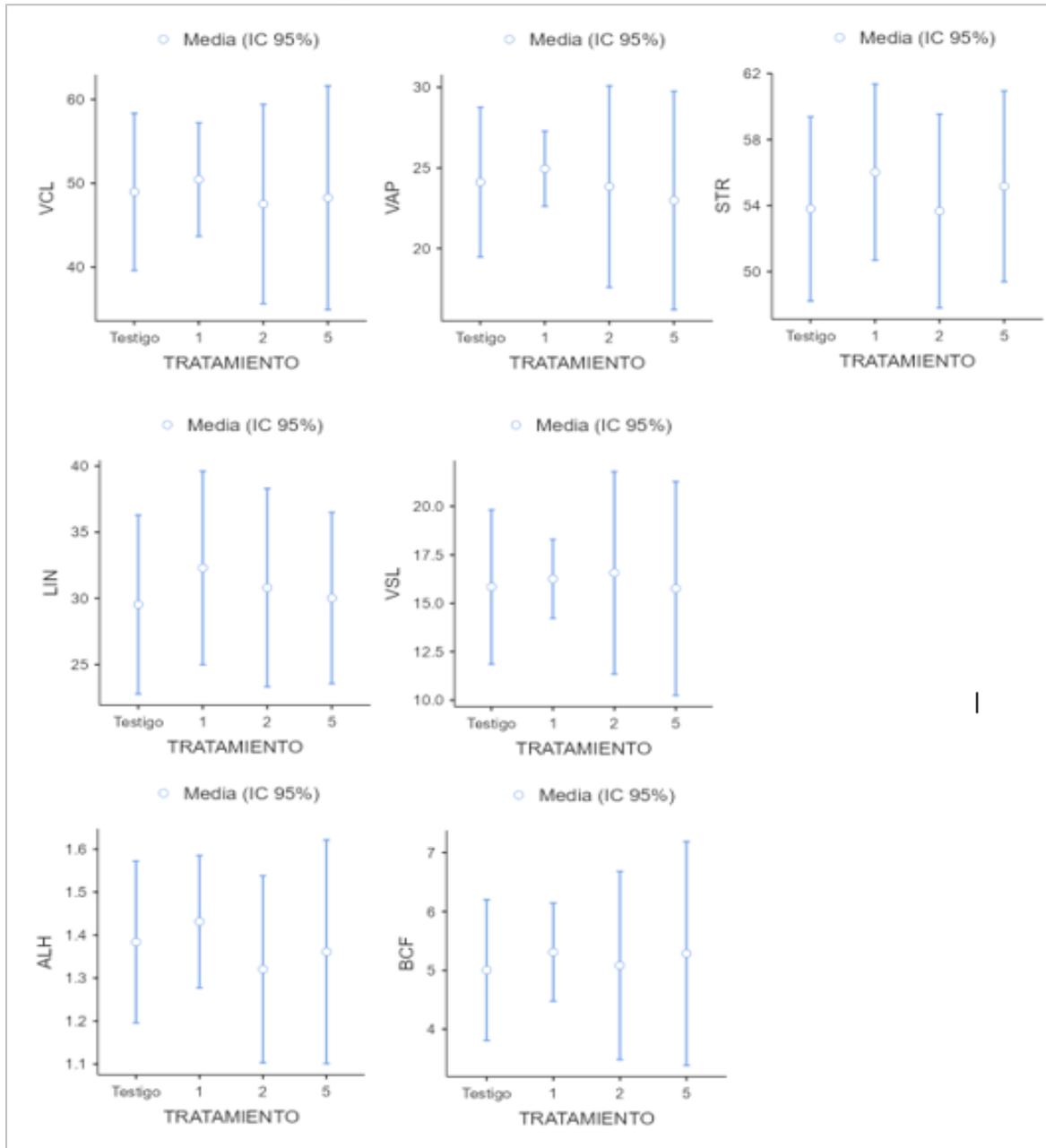
La figura 1 demuestra las tinciones Yoduro de Propidio, Host, Rodamina y Eosina, se observa que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) para los tratamientos por lo que los intervalos de confianza coinciden en la distribución observada.

Figura 2: Distribución de la respuesta de progresivos.



La figura 2 demuestra los progresivos, no progresivos e inmóviles y se observa que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) para los tratamientos por lo que los intervalos de confianza coinciden en la distribución observada.

Figura 3: Distribución de la respuesta del sistema CASA.



La figura 3 demuestra VCL, VAP, STR, LIN, VSL, ALH, BCF y se observa que no existe diferencias significativas para los tratamientos por lo que los intervalos de confianza coinciden en la distribución observada.

DISCUSIÓN

Una vez garantizado la homogeneidad de las muestras se pudo trabajar con todas las razas y compararlas debido a que no presentan diferencias significativas y sus parámetros coinciden con los de la especie.

La pruebas de permeabilidad sirven para poder observar el efecto de aditivos como los antioxidantes en

las células espermáticas

En este campo las pruebas de Yoduro de propidio (PI) utilizados para evaluar la integridad de la membrana celular, es decir la condición del espermatozoide, se da porque el reactivo penetra la célula y se tornara de color rojo, lo que indica la perdida de viabilidad, las muestras, donde la investigación demuestra que en todos los casos estos valores sobrepasan el 60%. Estos valores de viabilidad son superiores a lo reginales reportados por Payares et al., (2018) aunque difieren también con los de Carvajal et al., (2017), quienes reportan mejores valores que los que se presentan en este estudio y lo que conlleva a afirmar el buen estado reproductivo de los animales que se le tomo la muestra y la influencia que tiene la raza y el sistema de crianza sobre la calidad espermática (García, 2014).

El Test de Host (Prochowska et al., 2022), consiste en colocar los espermatozoides a un medio de presión hiposmótica más baja que la fisiológica, lo que causa entrada de agua hacia el interior de la célula, la misma que provoca un hinchamiento y enrollamiento del flajelo en los espermatozoides con la membrana plasmática integra.

Esosina-nigrosina se utiliza para determinar la viabilidad, a través de la integridad de la membrana, la eosina penetra las células únicamente cuando existe dano en la membrana, mientras que las intactas no adquieren color (Tanga et al., 2021).

Cabe recalcar en este caso la importancia de realizar los tres test para poder afirmar que existe calidad espermática dado que la motilidad medida y no relacionada con la integridad de la membrana y la viabilidad conduce a errores en la interpretación de la muestra, donde nuestro estudio reafirma de manera integral que a estas dosis el efecto de la Coenzima Q10 es nulo, contrarrestando lo que Loja,(2024) ,encontró en sus muestras donde el semen perdió toda su vitalidad tras el uso de esta molécula, pudiendo afrimar que la CoQ10, no es citotóxica postcongelación a dosis menores y reafirmando lo que evaluó Cruz, (2024) en el efecto de la coenzima Q10 en dosis de (0,2mM; 0,4mM; 0,6mM; 0,8mM) y que indican que las concentraciones de 0,6mM Y 0,8mM de CoQ10 son óptimas para preservar la calidad del semen, lo que implica que no causa efectos nocivos o letales, aunque ella lo evaluó en refrigeración.

En cuanto a la Rodamina que es un método de tinción fluorescente que evalúa la actividad mitocondrial de los espermatozoides, que al ser permeable ingresa y emite fluorescencia verde indicando funcionalidad mitocondrial (Ávalos et al., 2018), en el caso de esta investigación no hubo diferencias entre tratamientos por lo que no podemos afirmar que la coenzima activo la mitocondria espermática pudiendo deberse a la baja concentración del aditivo o a la permeabilidad de la membrana. La permeabilidad de la membrana es la capacidad que tiene la membrana celular para permitir el paso de sustancias, esta es selectiva/permeable lo que quiere decir que permite el paso de algunas sustancias, (Nordzieke & Medraño-Fernandez, 2018), dado que la literatura indica que la mitocondria, situada en la pieza media (la parte intermedia del espermatozoide), es el organelo que debería reflejar actividad de la CoQ10.

La CoQ10 actúa a nivel orgánico y celular; y en los espermatozoides, su principal función es activar la producción de ATP en las mitocondrias, ya que optimiza la energía y mejora la motilidad y capacitación espermática. Sin embargo, depende de la absorción adecuada y la funcionalidad de los transportadores celulares, lo que puede variar entre especie (Tironi et al., 2024).

La membrana plasmática de los espermatozoides ovinos difiere de otras especies como bovinos y humanos, ya que el espermatozoide ovino posee niveles muy elevados de fosfolípidos y ácidos grasos poliinsaturados/saturados y niveles bajos de colesterol que podrían influir en la sensibilidad de la membrana plasmática al daño (Gautier & Aurich, 2022).

Por otro lado, tenemos que Masoudi et al., (2018) evaluó el efecto de diferentes concentraciones de CoQ10 (1, 2, 5 y 10 μM) en el extensor Lake para la crioconservación de semen de gallo. Los resultados indican que la suplementación del extensor Lake con 1 y 2 μM de CoQ10 mejora la calidad de los espermatozoides después del proceso de congelación-descongelación ya que resultó en una mayor viabilidad espermática, motilidad total y progresiva, la funcionalidad de la membrana, además redujeron la peroxidación lipídica de los espermatozoides congelados. En base a esto se justifica ahondar en los efectos de esta molécula en otras especies a través del tiempo, dosis y método de adición, como una biotecnología reproductiva prometedora, siendo este trabajo una línea base para generar nuevas variables.



En cuanto a la coenzima Q10 se ha demostrado sus beneficios sobre la función ovárica en un modelo de ratón con insuficiencia ovárica inducida por vinilciclohexeno ya que la CoQ10 no solo estimula la diferenciación de las células madre ovárica, sino que también mejora la calidad de los ovocitos, aumenta la producción hormonal y reduce el estrés oxidativo Lee et al., (2021), es decir que si cumple una funcionalidad en células germinales de mamíferos.

Además, Hernández-Camacho et al., (2024) demostró que la suplementación prenatal con coenzima Q10 puede prevenir la disfunción muscular en enfermedades mitocondriales, utilizó un modelo animal que representa la misma mutación genética que afecta a pacientes humanos, los ratones con esta mutación presentaban defectos en el desarrollo embrionario, una reducción del tamaño corporal y problemas musculares, como pérdida de estructura y disminución de función, que se agravaban con la edad.

Asimismo, la capacidad de respiración mitocondrial en el músculo de estos ratones estaba disminuida, con la consiguiente pérdida en la capacidad para obtener energía. Demostrando, que la administración prenatal de CoQ10 fue capaz de prevenir estos daños, permitiendo a los animales envejecer sin mostrar signos de disfunción muscular.

CONCLUSIONES

No Tras evaluar el efecto de las concentraciones de 1uM, 2 uM, y 5 uM de coenzima Q10 postcongelación se concluyó que estas dosis no tienen un impacto significativo tanto positivo como negativo sobre los parámetros que determinan la calidad espermática del ovino, y que de acuerdo a lo estudiado en otras investigaciones esta molécula puede ser aprovechada a mayores dosis aquellos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Aibazov, A.-M. M. (2022). Results and prospects of the USE of assisted reproductive technologies in reproductive of small ruminants's animal. *Sheep, goats, woolen business*, 2, 8-14.

<https://doi.org/10.26897/2074-0840-2022-2-8-14>

Ávalos, A., González, J., Vargas, A., & Herrera, J. (2018). *Recolección y manipulación seminal in vitro*.

Carvajal, M., Cortés, H., Manrique, C., & Grajales, H. (2017). Evaluación de los parámetros de calidad seminal y cinemática espermática en tres razas ovinas de lana en condiciones de trópico alto colombiano. *Revista de Medicina Veterinaria*, 36, 49-61. <https://doi.org/10.19052/mv.5171>



- Choi, J., Alkhoury, L., Urbano, L. F., Masson, P., VerMilyea, M., & Kam, M. (2022). An assessment tool for computer-assisted semen analysis (CASA) algorithms. *Scientific Reports*, *12*(1), 16830. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20943-9>
- Cruz, S. V. (2024). *Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino*. Universidad Católica de Cuenca. <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/18466>
- García, W. C. (with Palomo Peiró, M. J.). (2014). *Optimización de los protocolos de crioconservación de semen ovino de las razas autóctonas en peligro de extinción xisqueta y aranesa*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Gautier, C., & Aurich, C. (2022). “Fine feathers make fine birds” – The mammalian sperm plasma membrane lipid composition and effects on assisted reproduction. *Animal Reproduction Science*, *246*, 106884. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106884>
- Hernández-Camacho, J. D., Vicente-García, C., Ardila-García, L., Padilla-Campos, A., López-Lluch, G., Santos-Ocaña, C., Zammit, P. S., Carvajal, J. J., Navas, P., & Fernández-Ayala, D. J. M. (2024). Prenatal and progressive coenzyme Q₁₀ administration to mitigate muscle dysfunction in mitochondrial disease. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *15*(6), 2402-2416. <https://doi.org/10.1002/jcsm.13574>
- Kahwage, P. R., Esteves, S. N., Jacinto, M. A. C., Barioni Junior, W., Machado, R., Romanello, N., Passeri, L. F., De Mendonça, K. L., & García, A. R. (2018). Assessment of body and scrotal thermoregulation and semen quality of hair sheep rams throughout the year in a tropical environment. *Small Ruminant Research*, *160*, 72-80. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.01.015>
- Lee, H. J., Park, M. J., Joo, B. S., Joo, J. K., Kim, Y. H., Yang, S. W., Kim, C.-W., & Kim, K. H. (2021). Effects of coenzyme Q10 on ovarian surface epithelium-derived ovarian stem cells and ovarian function in a 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced murine model of ovarian failure. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *19*(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s12958-021-00736-x>
- Loja, E. T. (2024). *Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post congelación*. Universidad Católica de Cuenca. <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/18008>



- Masoudi, R., Sharafi, M., Zare Shahneh, A., Kohram, H., Nejati-Amiri, E., Karimi, H., Khodaei-Motlagh, M., & Shahverdi, A. (2018). Supplementation of extender with coenzyme Q10 improves the function and fertility potential of rooster spermatozoa after cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 198, 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.019>
- Nordzicke, D. E., & Medraño-Fernandez, I. (2018). The Plasma Membrane: A Platform for Intra- and Intercellular Redox Signaling. *Antioxidants*, 7(11), 168. <https://doi.org/10.3390/antiox7110168>
- Payares, L., Hernández, W., Rugeles, C., & Vergara, O. (2018). Edad a la pubertad, desarrollo corporal y testicular del ovino criollo (*Ovis aries*) de pelo En Córdova-Colombia. XXVIII (2), 139-145.
- Prochowska, S., Nizański, W., & Fontbonne, A. (2022). Hypo-Osmotic Swelling Test (HOST) for Feline Spermatozoa: The Simplified Procedure and the Aspect of Sperm Morphology. *Animals*, 12(7), 903. <https://doi.org/10.3390/ani12070903>
- Rodríguez, S. (2024). Evaluación de la calidad espermática de semen porcino criopreservado en diferentes niveles de coenzima Q10. (2024). Escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias pecuarias. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/23037>
- Ruiz, L., Sandoval M., R., & Santiani A., A. (2015). Evaluación de la Calidad Espermática del Semen Ovino Posdescongelación al Emplear Dos Fuentes Energéticas y Dos Crioprotectores. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(1), 49. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10942>
- Sharafi, M., Shahneh, A. Z., & Masoudi. (2019). Effects of CoQ10 on the quality of ram sperm during cryopreservation in plant and animal based extenders. *Animal Reproduction Science*, 208, 106103. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.015>
- Tanga, B. M., Qamar, A. Y., Raza, S., Bang, S., Fang, X., Yoon, K., & Cho, J. (2021). Semen evaluation: Methodological advancements in sperm quality-specific fertility assessment — A review. *Animal Bioscience*, 34(8), 1253-1270. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0072>
- Tironi, S. M. T., Sitó-Silva, L., De Camillo, B. L., Denadai, R., Silva, A. L. A. D., De Paula Freitas-Dell'Aqua, C., Junior, J. A. D., De Oliveira, R. A., Souza, M. I. L., & Oba, E. (2024). Use of coenzyme Q-10 to improve the pregnancy rate in sheep. *Animal Reproduction Science*, 266, 107498. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107498>



Whitesell, K., Stefanovski, D., McDonnell, S., & Turner, R. (2020). Evaluation of the effect of laboratory methods on semen analysis and breeding soundness examination (BSE) classification in stallions. *Theriogenology*, *142*, 67-76.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.035>

Yáñez, I., Catalán, J., Rodríguez, J. E., Miró, J., & Yeste, M. (2022). Advances in sperm cryopreservation in farm animals: Cattle, horse, pig and sheep. *Animal Reproduction Science*,

246, 106904. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106904>

