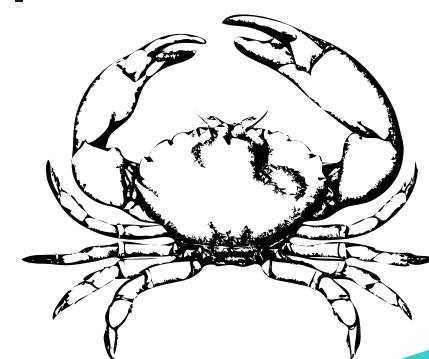
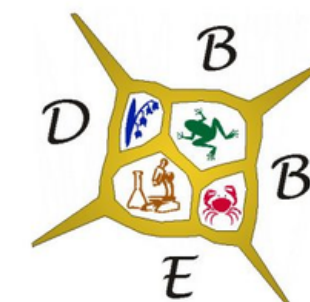


Alteración de la reacción acrosómica de los espermatozoides, por exposición al fármaco diclofenac a concentraciones ambientalmente relevantes, en el cangrejo de estuario *Neohelice granulata*

Ramirez, Rocio D.¹; Zanitti, Marina^{1,2}; Rodríguez, Enrique M.^{1,2}; Canosa, Ivana S.^{1,2}

¹ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Laboratorio de Fisiología de Crustáceos.

² CONICET-UBA, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA).



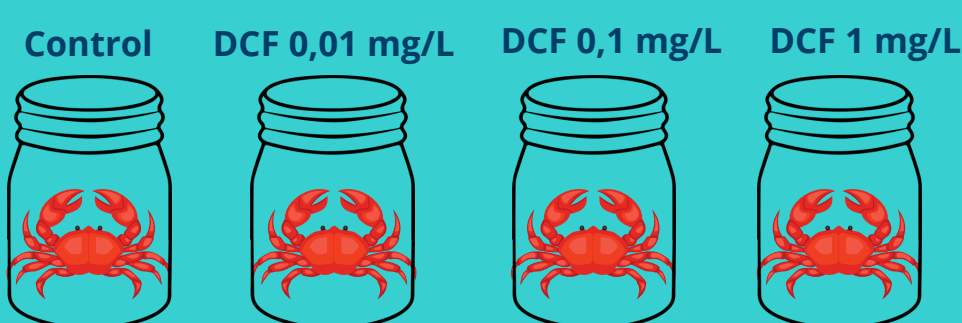
Introducción

El **diclofenac (DCF)**, uno de los **anti-inflamatorios no esteroideos** más utilizados tanto en medicina humana como veterinaria, ocupa uno de los **primeros puestos en presencia ambiental en cuerpos de agua** alrededor del mundo. Existen **evidencias** en la literatura que indican que este fármaco **puede afectar la funcionalidad reproductiva de organismos acuáticos**.

Materiales y métodos

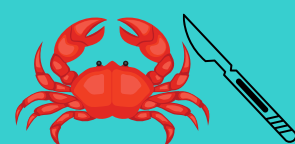
Se realizó un **ensayo *in vivo*** con un **diseño semi-estático**:

Tratamientos



Tiempo de exposición = 75 días
Individuos por tratamiento = 15
Medio: Agua salina 12 g/L
Recambio cada 72 hs
Condiciones controladas de alimentación, fotoperíodo y temperatura, con aireación constante

Disección



Vaso deferente derecho

Vaso deferente izquierdo

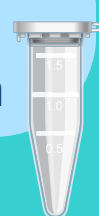


Índice vasosomático izquierdo

Contenido homogeneizado en solución salina libre de calcio (SSLC)

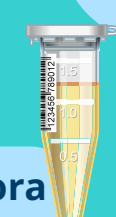
Centrifugación (500 x g por 7 min), recuperación de la fase con los spz y resuspensión en SSLC

Obtención de la solución espermática



Inducción de la RA

125 µL ionóforo de calcio A23187 (Sigma®) 100 µg/mL + solución salina con calcio 0,6 M



20 µL de la solución espermática

Incubación de 1 hora

Tinción con azul de Tripán 1%

Recuento de los espermatozoides al microscopio óptico

RA completa

RA en estadio temprano

Sin RA

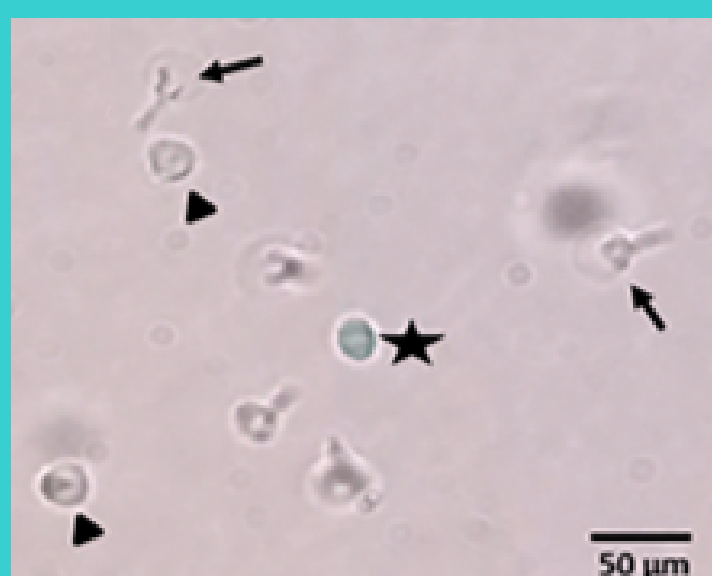


Figura 1. Fotografía de muestra control a aumento 100X. Las flechas indican spz que realizaron la RA completa, las cabezas de flecha señalan spz en estadio temprano de la RA, y la estrella un spz sin reaccionar.

Objetivo

Evaluar el **efecto** de distintas concentraciones de **DCF** sobre la viabilidad espermática, en términos de la **capacidad de los espermatozoides (spz) de realizar la reacción acrosómica (RA)**, en el cangrejo autóctono *Neohelice granulata*.

Resultados

- La **proporción de spz** que pudieron realizar la **RA completa** con **DCF 0,01 mg/L** fue **significativamente menor** ($p < 0,05$) que el control (Figura 2).
- La **proporción de spz** que pudieron realizar la **RA de manera incompleta aumentó de forma significativa** ($p < 0,05$) respecto al control (Figura 2).
- No se observaron diferencias significativas en el IVS izquierdo (Figura 3).

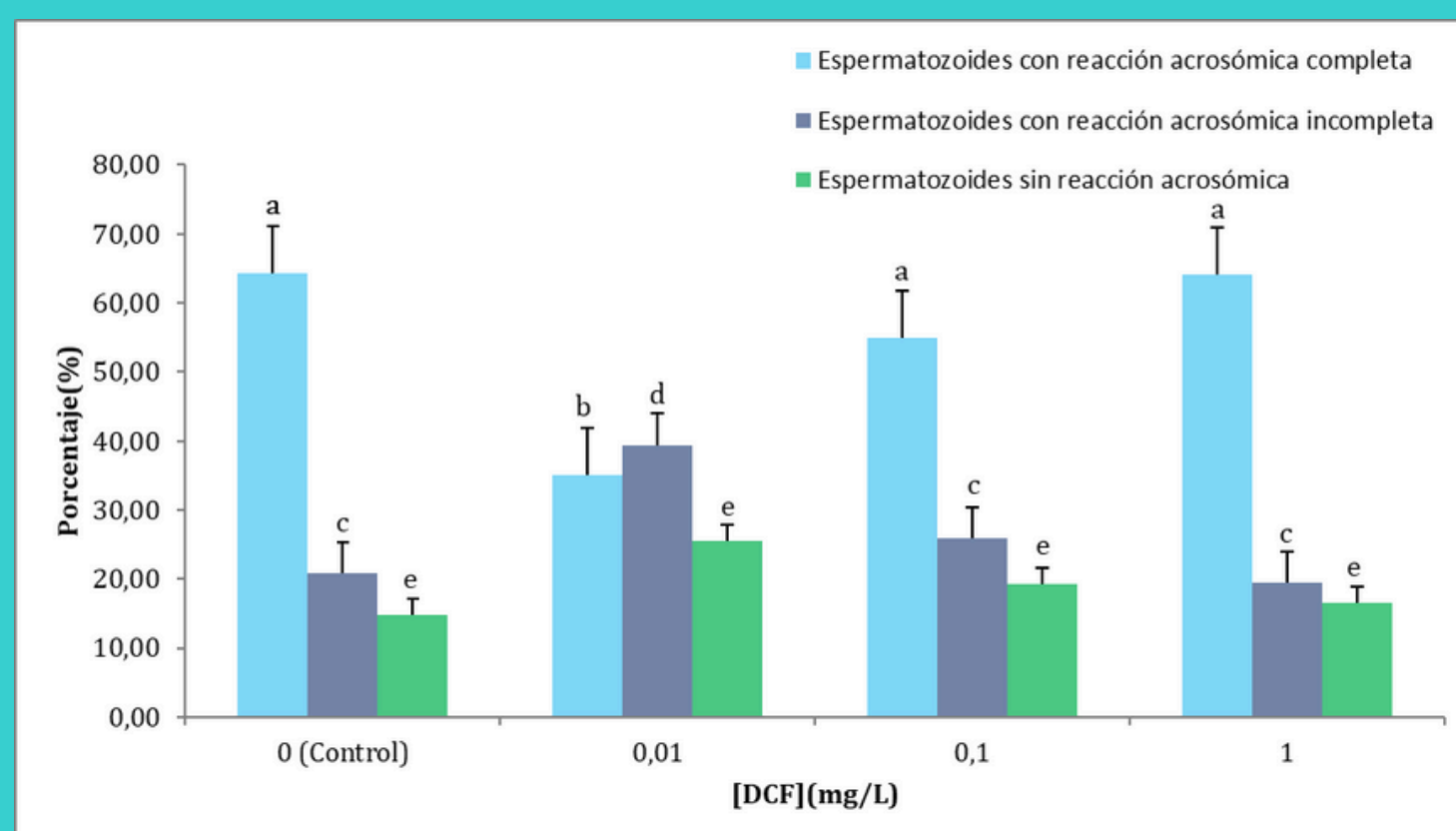


Figura 2. Porcentaje promedio de spz que lograron realizar la reacción acrosómica completa, incompleta y de aquellos que no pudieron realizarla, para los grupos control y tratados (DCF 0,01; 0,1 y 1 mg/L). Las barras representan promedio \pm error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

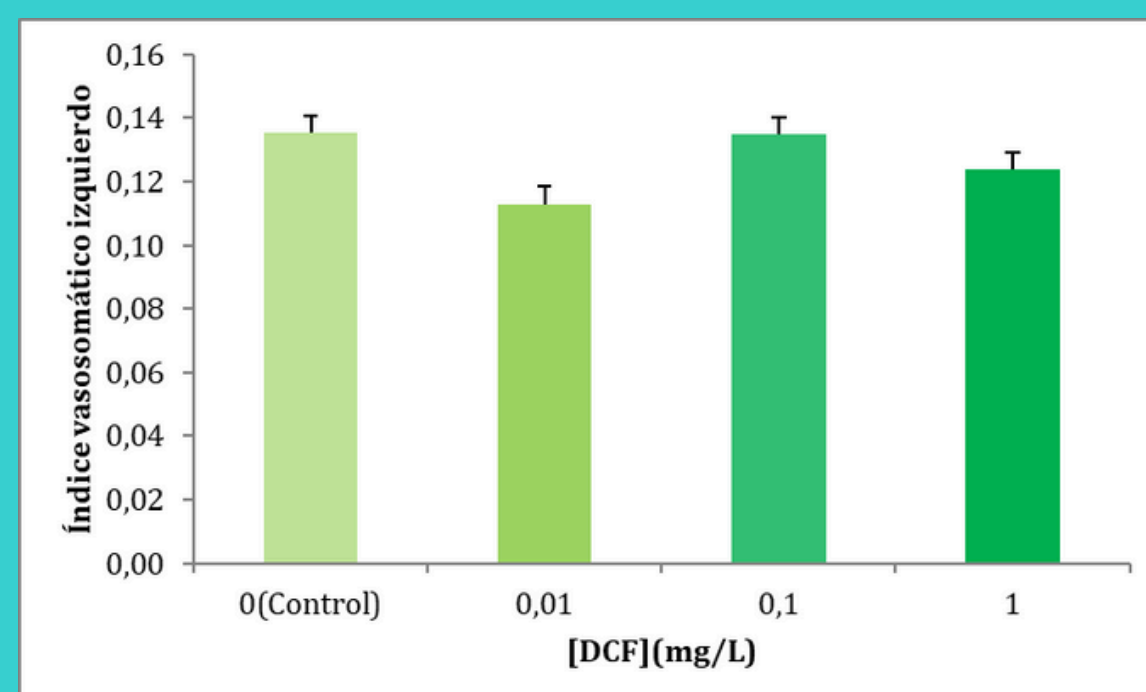


Figura 3. Índice vasosomático izquierdo promedio correspondiente al grupo control y a los expuestos a diferentes concentraciones de DCF: 0,01; 0,1 y 1 mg/L. Las barras representan promedio \pm error estándar.

Conclusión

Los resultados de este trabajo sugieren que, **a una concentración de diclofenac de relevancia ambiental** (DCF 0,01 mg/L), **la reacción acrosómica se ve afectada** en este modelo de estudio, lo que podría generar alteraciones en su funcionalidad reproductiva. Se requieren futuros estudios para dilucidar los mecanismos que subyacen las observaciones.