

Impacto del tamaño folicular y la morfología citoplasmática del ovocito en la maduración nuclear: un estudio en bovinos

Romero-Monteleone S.I.^{1*}, Ynsaurralde-Rivolta E.A.², Yostar E.J.¹, Navarro-Krilich L.M.¹, Capellari A.¹

¹ Cátedra de Producción Bovina FCV - UNNE

² Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción, EEA - INTA Mercedes, Corrientes

*saitromo2014@gmail.com

Introducción

En el mundo de la reproducción animal, la calidad de los ovocitos desempeña un papel crucial en el éxito de la fertilización y el desarrollo embrionario (Blondin y Sirard, 1995). Un gran número de folículos en crecimiento en los ovarios bovinos ofrecen una gran reserva de ovocitos para que la producción *in vitro* produzca embriones de animales genéticamente valiosos (Huang *et al.*, 2013). El objetivo de este ensayo fue determinar la influencia del tamaño folicular y la morfología citoplasmática del ovocito en su maduración nuclear.

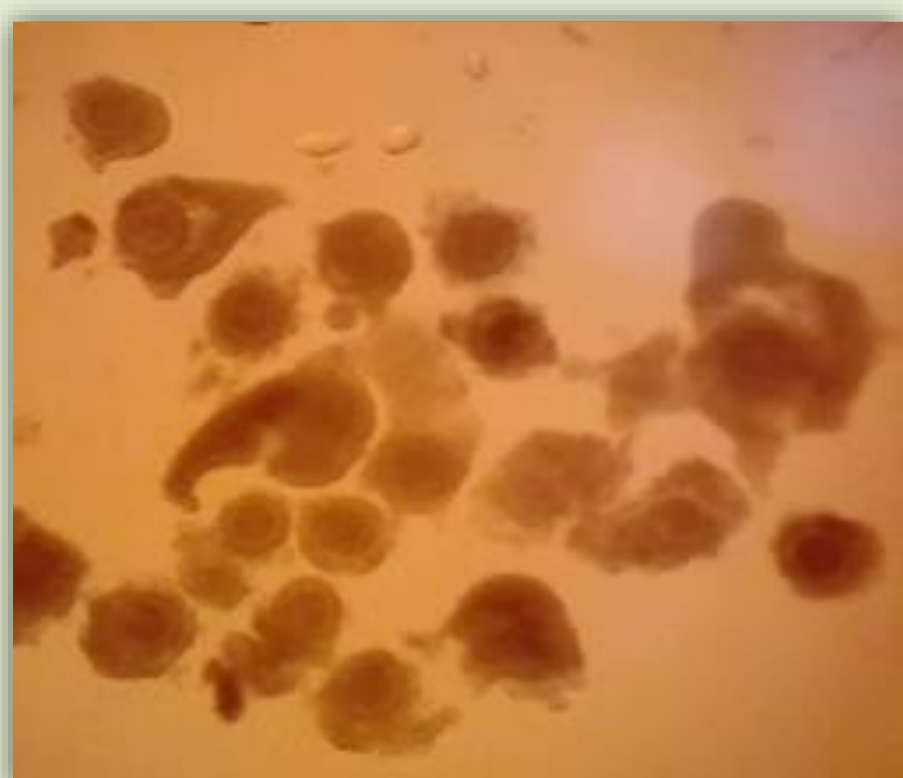


Foto 1. COCs obtenidos de punción folicular con al menos tres capas de células de la granulosa.

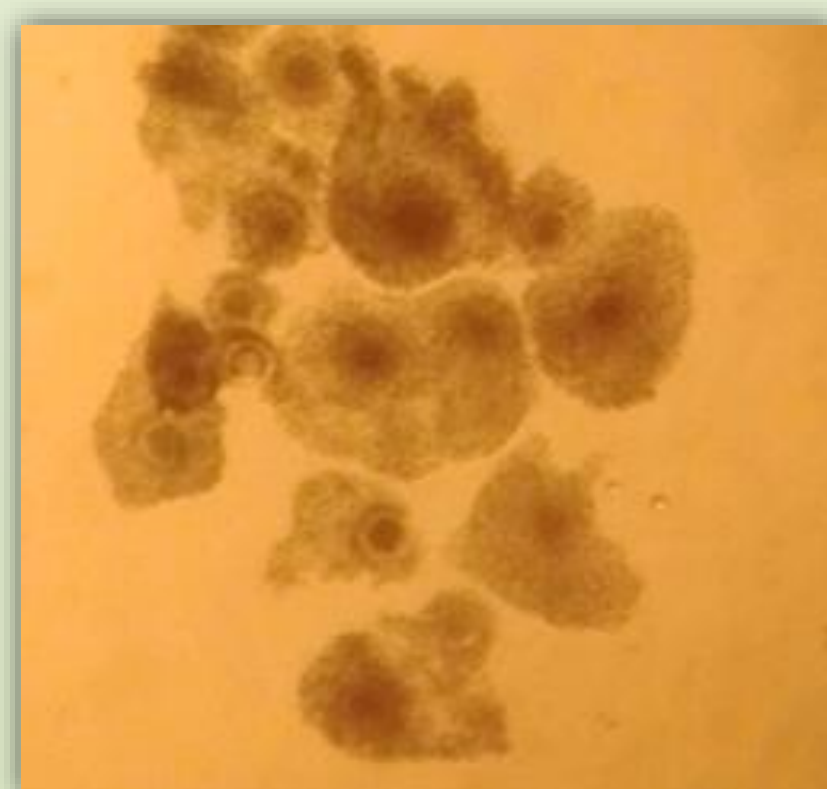


Foto 2. COCs luego de la MIV con expansión de células de la granulosa.

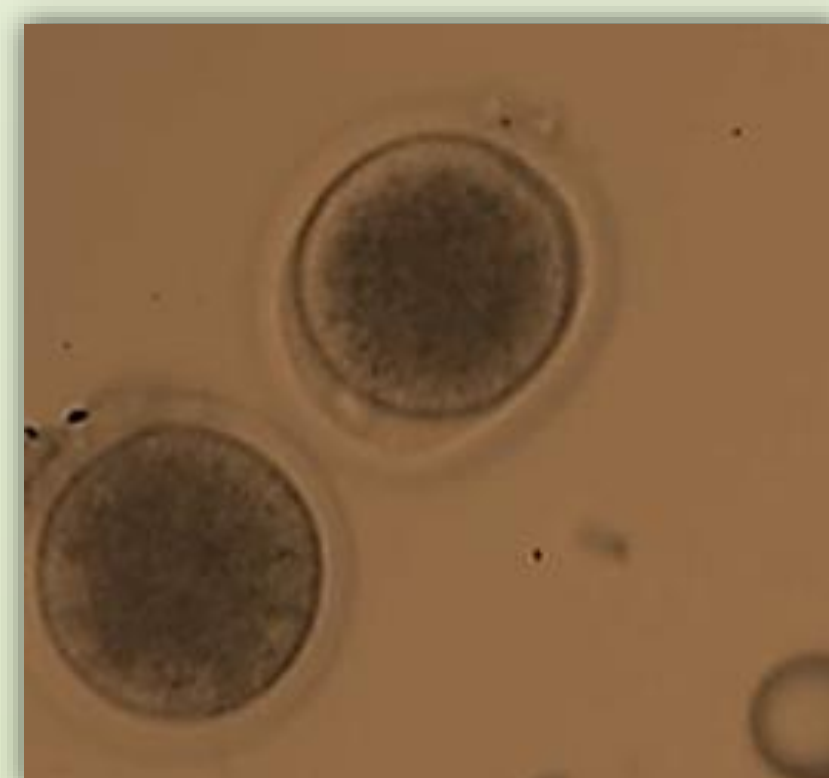


Foto 3. Ovocitos maduros desprovistos de las células de la granulosa con presencia del 1° CP.

Metodología

- Lugar de trabajo: Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción EEA-INTA Mercedes Corrientes.
- Materiales: ovarios de matadero de hembras bovinas.
- Métodos: -Transporte de ovarios al laboratorio en una solución de NaCl al 0,9% a 30°C. -Aspiración de folículos antrales para recuperar los complejos cumulus ovocitos (COCs) (foto 1) rodeados por al menos tres capas de células para someterlos a maduración *in vitro* (MIV). -En 100 µl del medio comercial TCM 199, protegidos con aceite mineral, en incubadora a 38,5°C con 6,5% de CO₂ en aire humidificado durante 22 horas.
 - Experimento 1: folículos clasificados según diámetro (n=210): menores a 2 mm (n=89) y entre 2-8 mm (n=121).
 - Experimento 2: ovocitos (de folículos entre 2-8 mm) (n=130), catalogados según la homogeneidad de su citoplasma en homogéneo (CitHo) (n=89) y heterogéneo (CitHet) (n=41).
 - Tras la MIV (foto 2) las células del cumulus se eliminaron (enzima hialuronidasa), y se observó la presencia del primer corpúsculo polar (1° CP) (foto 3).
- Análisis estadístico: se realizó mediante tabla de contingencia utilizando la Prueba de Fisher.

Resultados

En las tablas 1 y 2 se encuentran los resultados de la MIV de ovocitos bovinos del Experimento 1 y 2 según diámetro folicular y estado del citoplasma, respectivamente.

Tabla 1. Número y % de ovocitos maduros e inmaduros según diámetro folicular.

Diámetro de folículos	n	Maduros n (%)	Inmaduros n (%)	p-valor
<2 mm	89	47 (53)	42 (47)	0,9999
>2 a 8 mm	121	63 (53)	58 (47)	
Total	210	110 (52)	100 (48)	

Tabla 2. MIV de ovocitos bovinos provenientes de folículos >2 a 8 mm clasificados según citoplasma.

Citoplasma de ovocitos	n	Maduros n (%)	Inmaduros n (%)	p-valor
CitHo	89	47 (53)	42 (47)	0,3539
CitHet	41	18 (44)	23 (56)	
Total	130	65 (50)	65 (50)	

CitHo: homogéneo. CitHet: heterogéneo.

Conclusiones

Estos hallazgos pueden tener importantes implicancias en la biotecnología de la reproducción bovina, ya que en función de los resultados obtenidos, aportan evidencias relevantes sobre la independencia de la maduración nuclear de los ovocitos respecto al tamaño del folículo y la homogeneidad citoplasmática en bovinos.

BIBLIOGRAFÍA

Blondin, P., & Sirard, M. A. (1995). Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Molecular reproduction and development*, 41(1), 54-62.
Huang, W., Nagano, M., Kang, SS, Yanagawa, Y. & Takahashi, Y. (2013). Efectos de la duración del cultivo de crecimiento *in vitro* y el cultivo de prematuración sobre las competencias de maduración y desarrollo de ovocitos bovinos derivados de folículos antrales tempranos. *Teriogenología*, 80 (7), 793-799.