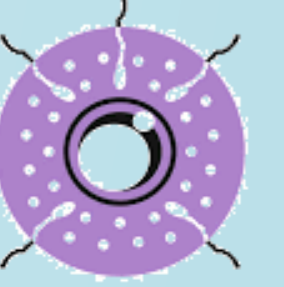


Recuperación de tejido testicular criopreservado en membrana corion-alantoidea: modelo biotecnológico para la preservación de especies aviares de interés productivo

González F.J.^{1*}, Gross E.¹, Olea G.B.¹, Flores-Quintana, C.,¹ Lombardo D.²

¹ Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. ² Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

*frangonzalez.vet@gmail.com



INITRA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
Y TECNOLOGÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL
Facultad de Ciencias Veterinarias UBA

INTRODUCCIÓN

Dado que el modelo de MCA proporciona una herramienta útil para estudiar la viabilidad a corto plazo y la vascularización del tejido testicular criopreservado después de la implantación esto permite evaluar la viabilidad y la vascularización de los implantes rápidamente y dilucidar la eficacia de los protocolos de criopreservación. Sin embargo, el modelo de MCA está limitado por el período de incubación del embrión del huésped y la falta de una evaluación de la capacidad fecundante de las células germinales provenientes del tejido criopreservado. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la arquitectura testicular pre y post criopreservación de *Gallus gallus domesticus* en membrana corion-alantoidea (MCA).

MATERIALES Y MÉTODOS

De cada polluelo de 15 días post eclosión se extrajeron 3 muestras, una se utilizó previamente como tejido control y se fijó en formol al 10% para procesamiento histológico. A 2 muestras se les aplicó el protocolo de vitrificación. Posterior al atemperado, una muestra quedó como tejido control y la tercera fue implantada en la MCA. La solución de vitrificación usada consistió en medio base MEM/Glutamax 1 suplementado con 25 mg/mL de seroalbúmina bovina con el agregado de Dimetilsulfóxido 2,8 mol/L y Ethilenglycol 2,8 mol/L como crioprotectores. Se deshidrató por pasajes crecientes en solución de vitrificación. Luego se transfirieron a crioviales y se almacenaron en nitrógeno líquido por 48 h. Al día tres de incubación a los huevos embrionados de pollo se les practicó una ventana de 1 x 1,5 cm en la cáscara y se extrajo 2 cm³ de albúmina. A los 8 días de incubación se le practicó el método del injerto en la MCA en donde explantos de tejido testicular atemperados se colocaron directamente sobre la MCA. Los huevos se mantuvieron en incubación por 5 días y posteriormente fueron evaluados. Las muestras tanto de tejido control como de tejido testicular post vitrificado y de tejido injertado se fijaron en formol al 10 % y por técnica histológica convencional se obtuvieron preparados a partir de los cuales se evaluó la morfología testicular. Las imágenes fueron capturadas usando un microscopio Optika Italy-B-290 con una cámara incorporada (Figura 1 a 3).

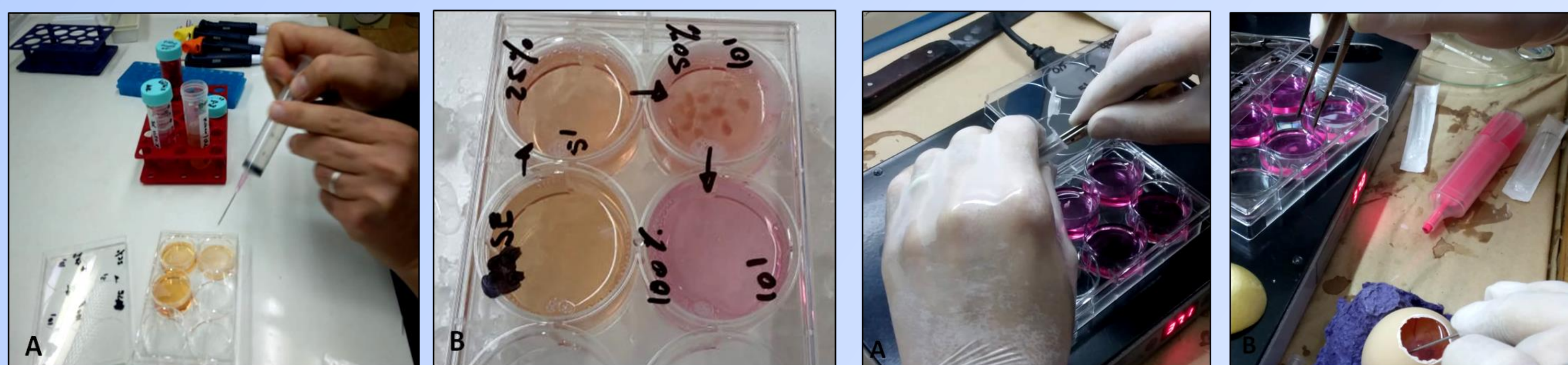


Figura 1: A- preparación de la solución de vitrificación. B- pasajes crecientes en solución de vitrificación.

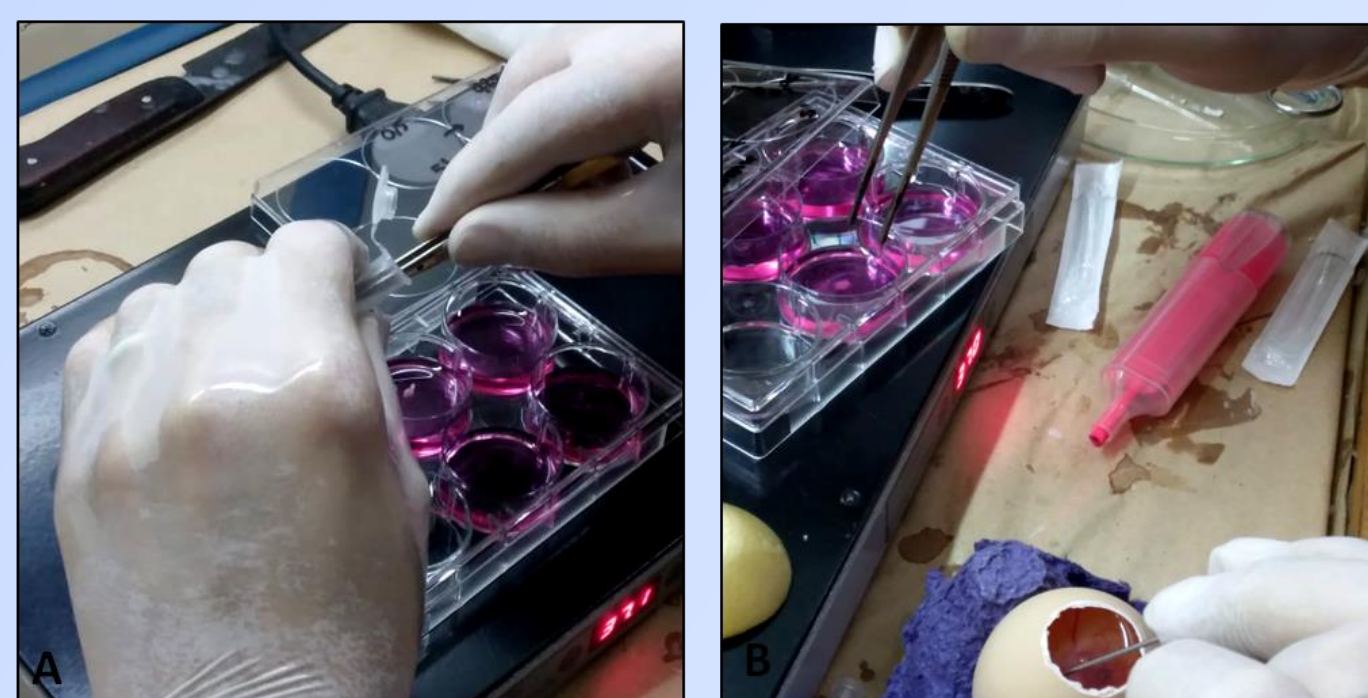


Figura 2: A- proceso de desvitrificación en solución a 37°C de Sacarosa (1 mol/L) en medio base. B- baños decrecientes en la concentración de sacarosa (0,5, 0,25 y 0,125 mol/L).

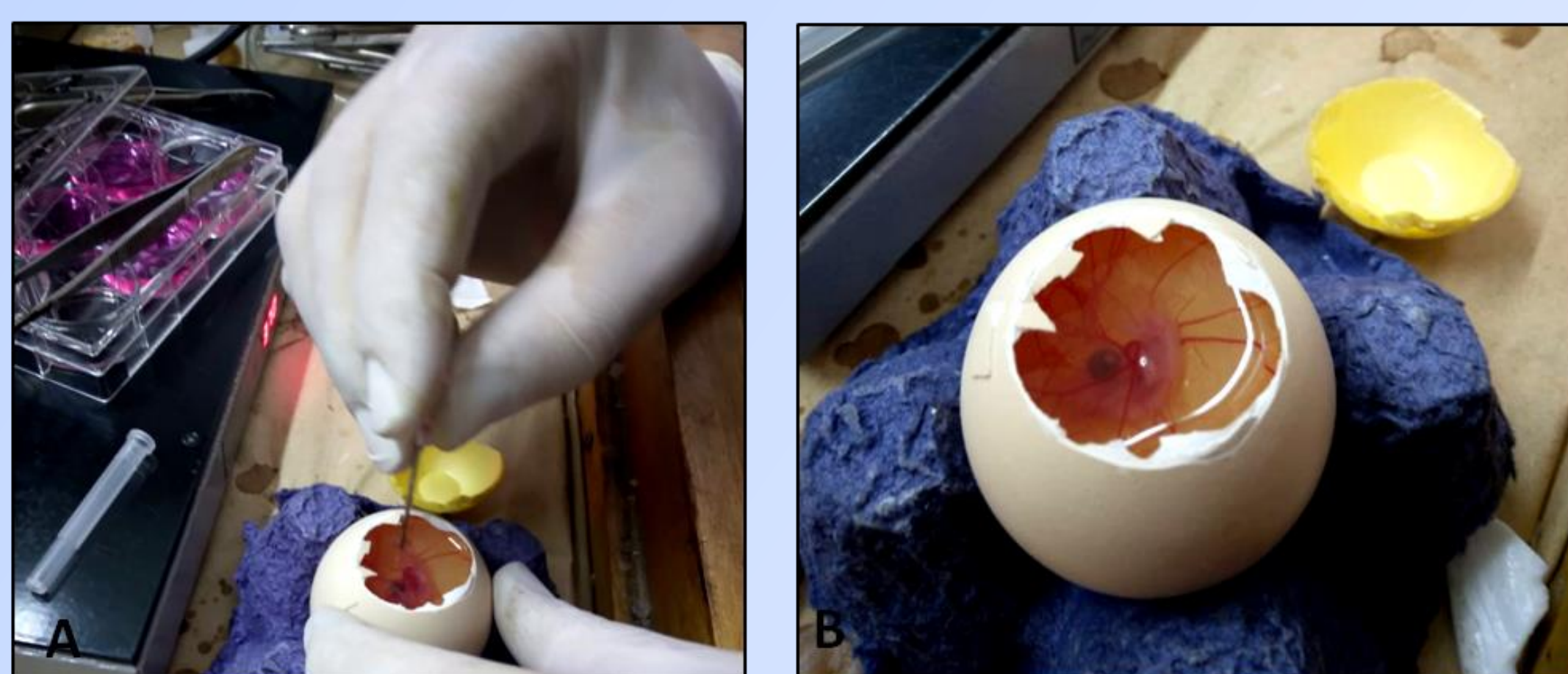


Figura 3: A-B método del injerto en la membrana corioalantoica en donde explantos de tejido testicular desvitrificados.

RESULTADOS

Todos los testículos injertados en los embriones de pollo que sobrevivieron estaban sostenidos por la MCA y tenían un suministro de sangre evidente. No se observaron diferencias en la mortalidad de los embriones huéspedes entre los tratamientos (embriones con y sin explantos) dado que la supervivencia de los mismos fue del 100% (Figura 4). En comparación con el tejido testicular tratado en MCA y los controles, el cambio en el desarrollo espermatogénico y en los túbulos seminíferos del injerto bien vascularizado es similar al desarrollo testicular normal, sin embargo se observan cambios en cuanto a la arquitectura testicular, tal como lo proponen otros autores ^{1, 2, 3, 4, 5} (Figura 5).

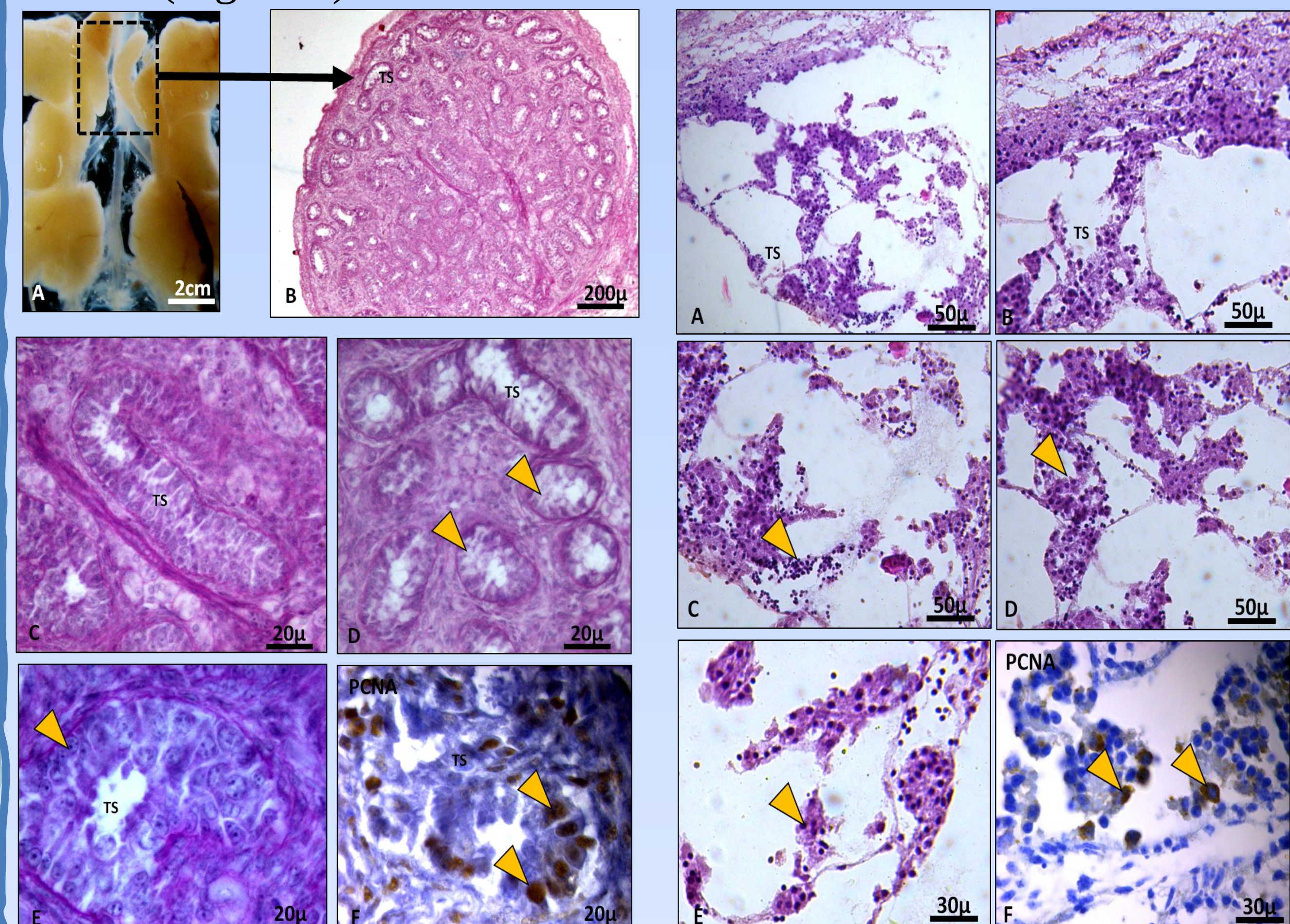


Figura 4: A- Fotografía macroscópica de los testículos en neonato de 15 días post eclosión de *Gallus gallus domesticus*. B- Microfotografía de corte transversal del testículo de neonato de 15 días post eclosión de *Gallus gallus domesticus*. C-E- Detalle de los túbulos seminíferos con células de la línea germinal. F- Inmunomarcación positiva para la proteína PCNA. **Referencias:** TS: túbulos seminíferos. Punta de flecha amarilla: espermatogonias.

Figura 5: A-E Corte transversal de testículos de neonatos de *Gallus gallus domesticus* post-vitrificación (tratados en MCA) con detalle en los túbulos seminíferos. F: Inmunomarcación positiva para la proteína PCNA. **Referencias:** TS: túbulos seminíferos. Punta de flecha amarilla: espermatogonias.

CONCLUSIONES

Estos hallazgos sugieren que la técnica es prometedora para la preservación de tejido testicular, siendo necesario optimizar las condiciones para mantener la integridad estructural del tejido injertado