



UBA
Universidad de Buenos Aires

SUPLEMENTO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Chorroarín 280 (C1427CWO) Bs. As., Argentina. Tel.(54 11) 4524 8400. www.fvet.uba.ar



Facultad de Ciencias
VETERINARIAS
Universidad de Buenos Aires



FOLÍCULOS PORCINOS VITRIFICADOS: ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES MORFOLÓGICAS PRODUCIDAS POR DIFERENTES AGENTES CRIOPROTECTORES

Gabriel, P.¹, Torres, P.¹, Boviez, J.², Cisale, H.¹, Lombardo, D.², Fischman, M.L.¹

Introducción

Los bancos de germoplasma han adquirido una gran importancia, no sólo en la clínica médica sino también como herramienta para salvaguardar material genético de especies en peligro de extinción o de individuos con genotipo destacable para su especie ya que permiten el almacenamiento de gametas y embriones con vistas a su utilización futura.

En animales domésticos, la obtención de embriones para su criopreservación implica costos de producción sumamente elevados. A la vez, la repetición de tratamientos de estimulación hormonal puede ocasionar en las hembras dadoras de embriones diversos trastornos y, en algunos casos, se observa una respuesta variable en la cantidad de embriones colectados por animal. Por otra parte, en animales muy jóvenes o en especies en peligro de extinción, resulta imposible obtener embriones.

Por estas razones numerosos investigadores han intentado optimizar la criopreservación de ovocitos en diferentes estadios de maduración meiótica, aunque hasta el momento los resultados han sido aleatorios. Los ovocitos son células de gran tamaño (80-120 μm , según la especie), lo cual dificulta el proceso de deshidratación. Su membrana citoplasmática es menos permeable a los agentes crioprotectores -APC- que los blastómeros de un embrión, lo que dificulta que el agua intracelular sea reemplazada por los APC permeables. A su vez, el enfriamiento y exposición a APC puede alterar diferentes estructuras celulares: gránulos corticales, zona pelúcida, huso meiótico, cromosomas.

La criopreservación de tejido ovárico constituye una alternativa que permite conservar gran

cantidad de gametas contenidos en folículos preantrales -FPA-. A diferencia de los ovocitos que ya han completado su crecimiento, las células germinales contenidas en los FPA son menos vulnerables al daño criogénico. Estos ovocitos tienen menor tamaño, están rodeados por menor cantidad de células de la granulosa, presentan baja tasa metabólica, carecen de zona pelúcida y gránulos corticales, y están detenidos en la profase de la primera división meiótica, lo que disminuye los riesgos de alteraciones genéticas. Otra ventaja relevante es que la obtención de la muestra es independiente de la edad del animal y del momento del ciclo estral, y puede llevarse a cabo aún en ovarios de hembras muertas.

La criopreservación de tejido ovárico, asociada a técnicas de autotransplante o xenotransplante ha sido exitosa en muchas especies, incluyendo ratón, oveja, cabra, bovino, primates y humano, entre otras. En la especie porcina existen pocos trabajos referidos a la criopreservación de tejido ovárico, sea por técnicas de congelamiento gradual o por vitrificación.

Trabajo realizado

Si bien históricamente los trabajos de investigación del Laboratorio de Calidad Seminal y Criopreservación de Gametas, perteneciente al INITRA, se han centrado en la criopreservación de semen, en los últimos años hemos incorporado una línea de investigación relacionada con la criopreservación de tejido ovárico.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de dos agentes crioprotectores permeables, Etilenglicol (E) y Dimetilsulfóxido (D), o la mezcla de ambos (ED) combinados con un ACP no permeable como la sacarosa, en la preservación de

Cátedras de ¹Física Biológica y de ²Histología y Embriología, ^{1,2} INITRA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. fischman@fvet.uba.ar

Proyectos UBACyT V008 y 20020100100811

la estructura histológica de FPA porcinos vitrificados.

Se utilizaron ovarios de faena (n=10), se tomaron muestras para ensayos de toxicidad (Tox) y de vitrificación (Vit). Las muestras control fueron fijadas directamente para su procesamiento histológico, los grupos Tox y Vit se expusieron primero a una solución de equilibrio con 15% de ACP permeable y 0,25M de sacarosa y luego a la solución de vitrificación conteniendo 30% E, 30% D ó 15% E + 15% D y 0,25M de sacarosa en todos los casos. Las muestras Tox fueron lavadas y fijadas. Las muestras Vit fueron llevadas a nitrógeno líquido durante una semana y luego fijadas.

La evaluación morfológica se realizó sobre cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina, con microscopía de campo claro (400X). Los folículos primordiales y primarios se clasificaron en normales o degenerados, cuando el ovocito y/o células de la granulosa se encontraban dañados. Para esto se tuvo en cuenta el grado de picnosis nuclear, la integridad de la membrana nuclear, el grado de vacuolización del citoplasma, así como el grado de picnosis e integridad de las células de la granulosa.

En el Gráfico 1 se observan los resultados obtenidos en FPA primordiales para los grupos control, ensayos de toxicidad y de vitrificación con las distintas combinaciones de ACP. La presencia de D y ED redujo significativamente el porcentaje de FPA primordiales normales. En el Gráfico 2 se observan los resultados correspondientes a los FPA primarios. En este caso, si bien el tratamiento con E resultó menos tóxico, el grupo ED respondió mejor al proceso de vitrificación.

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos concluir que la sola exposición a las soluciones de vitrificación (grupo Tox) produjo alteraciones morfológicas sobre los folículos preantrales primordiales y primarios. Los folículos primordiales resultaron más resistentes que los primarios, tanto en las pruebas de toxicidad como frente a la vitrificación. En el caso de los folículos primordiales porcinos, el Dimetilsulfóxido tendría un efecto deletéreo mayor, mientras que el Etilenglicol sería el agente crioprotector permeable de elección, ya que

Gráfico 1. Observar mejor folículos primordiales histológicas en función del tratamiento utilizado. El tratamiento con Etilenglicol fue significativamente superior tanto en ensayos de toxicidad como en los de vitrificación.

Folículos Primordiales Sanos en cada Tratamiento

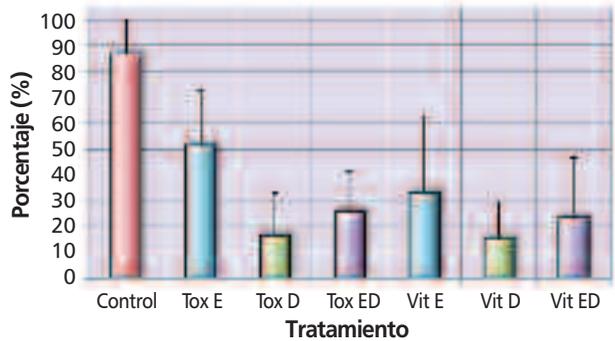
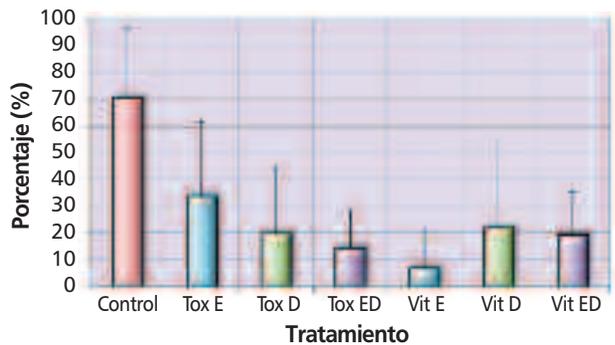


Gráfico 2. Porcentaje de folículos primarios sanos en función del tratamiento utilizado. No se observaron diferencias significativas entre los ensayos de toxicidad ni entre los de vitrificación.

Folículos Primarios Sanos en cada Tratamiento



49 AÑOS
VILLAY MORENO
PROVEEDORES AGROPEDAGOGOS

Tel: (011)4957-0661
info@villaymoreno.com.ar
www.villaymoreno.com.ar

PRECIO SURTIDO **CONSULTENOS AHORA!** CALIDAD CONFIANZA

PRODUCCIÓN INSTRUMENTAL CARI IWSG
DEFICCIÓN DE COLA TRANSPARENCIA SANGRENTA ESTERILIZACIÓN PRODUCCIÓN DE OVO