



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



### Evaluación y distribución de la apoptosis en Complejos Ovocito *Cumulus* inmaduros de cerdas

Tello, M.F.; Lorenzo, M.S; Maruri, A.; Casiró S.; Cética P.; Gambarotta, M.C.; Lombardo, D.M.

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL (INITRA).  
mtello@fvet.uba.ar

#### Introducción

La evaluación de la calidad del ovocito ha adquirido en los últimos años gran relevancia, siendo ésta la clave del éxito en la producción *in vitro* de embriones. La cantidad y calidad de los Complejos Ovocito *Cumulus* (COCs) obtenidos por punción folicular están influenciadas por múltiples variables, intrínsecas (especie, raza, edad, momento del ciclo estral, estado nutricional, tratamientos hormonales recibidos, etc.) y extrínsecas del animal (tiempo transcurrido entre la faena y la extracción, la temperatura de conservación de los ovarios, el método de obtención de los COCs, la habilidad del operador). Dicha heterogeneidad hace necesaria una cuidadosa selección ovocitaria.

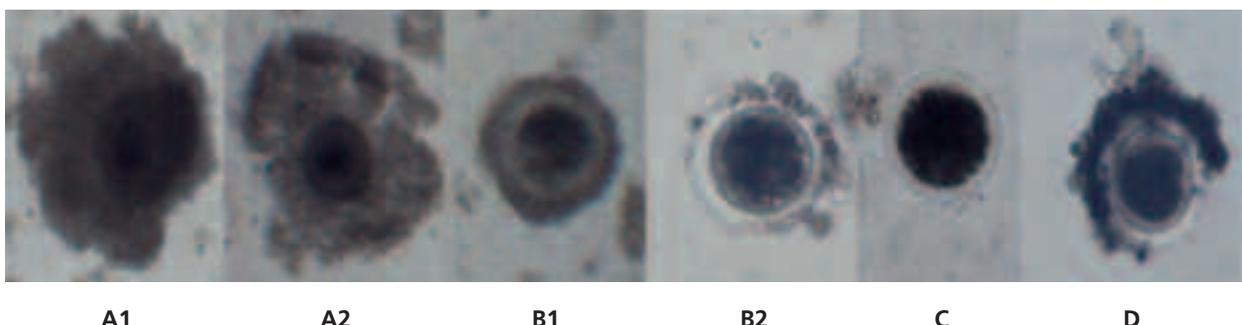
Tradicionalmente se correlaciona la morfología observada al momento de la recuperación con la competencia para el desarrollo posterior. Sin embargo, existen diversos métodos invasivos y no invasivos que tratan de predecir la calidad de los ovocitos para obtener mejores resultados en la producción *in vitro* de embriones. La detección de apoptosis (muerte celular progra-

mada) en el COC es un posible marcador de la calidad ovocitaria. Existen controversias acerca de cómo la apoptosis se vincula con la calidad, es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia y distribución de la apoptosis en COCs inmaduros de cerdas y su relación con la morfología evaluada al momento de la recuperación de los mismos.

#### Trabajo realizado

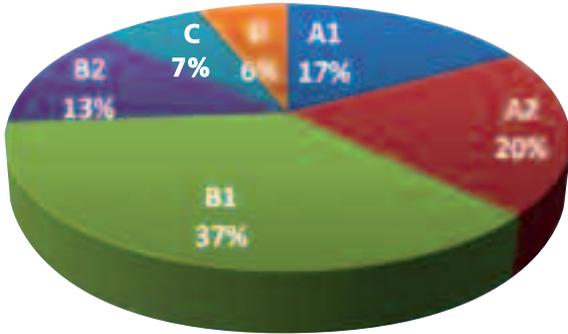
Se utilizaron ovarios de cerda provenientes de faena. Los COCs se obtuvieron por punción-aspiración de folículos de 3-8 mm. Bajo lupa estereoscópica se clasificaron (en función de su morfología) en seis categorías de calidad decreciente (A1, A2, B1, B2, C y D). Se evaluó en cada una de las subpoblaciones la presencia de apoptosis temprana por la técnica de Anexina V, cuantificando el porcentaje de ovocitos positivos. Se determinó para cada COC el porcentaje de células del cumulus positivas dentro de cuatro rangos: 0-25%, 25-50%, 50-75% y 75-100%. Para la evaluación de apoptosis tardía se utilizó el ensayo TUNEL cuantificando la cantidad de

Figura 1. Categorías de COCs inmaduros de cerda, según su aspecto morfológico (Álvarez y col., 2009).



células positivas en relación al área del COC. Para la captura y análisis de imágenes se utilizó una cámara digital DC180 y el software IM50 (Leica Co). *Figura 1 y Figura 2.*

**Figura 2.** Distribución de COCs según las diferentes categorías utilizadas.



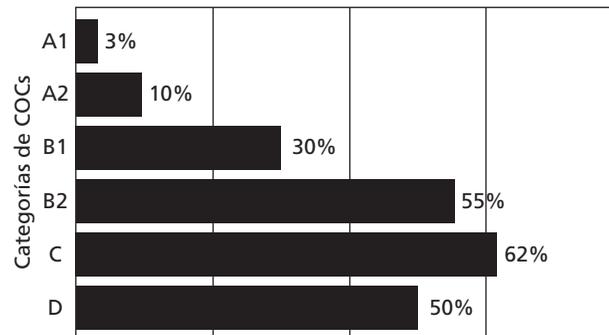
### Anexina V (apoptosis temprana)

#### Anexina V en ovocitos

El porcentaje de ovocitos apoptóticos (positivos a la tinción de Anexina V) aumenta a medida que disminuye la calidad evaluada morfológicamente. Por otro lado, la viabilidad de los mismos

evaluada por la tinción de contraste de yoduro de propidio (IP), se vio afectada por igual en todas las categorías. *Figura 3.*

**Figura 3.** Porcentaje de Apoptosis en ovocitos (Anexina V positivos) según las categorías de COCs.



### Anexina en células del cumulus

La distribución depende de la categoría, sin embargo no existen diferencias entre las categorías A1, A2 y B1. La mayor parte de los COCs quedan incluidos en el rango entre 0-25%. Se observó un comportamiento similar en cuanto a los porcentajes de células dañadas (IP positivas). *Figura 4.*

Ecógrafos Veterinarios

## Ecógrafos veterinarios HONDA - 100% Japoneses -

### HONDA HS 101 V

El panel de comandos tiene un diseño simétrico ambidiestro de muy fácil operación y sellado contra salpicaduras. Gracias a su increíble nivel tecnológico, muchas de las funciones se manejan aumentadas y se reduce drásticamente la cantidad de teclas necesarias. Su diseño incluye un anillo con tres puntos de fijación que lo hace muy cómodo y una protección elástica que absorbe impactos, y protege tanto el puerto USB como la batería.

Debido a las típicas incómodas con las pantallas ocasionadas por el reflejo ambiental, HONDA Electrónica incorporó la última tecnología QLCD japonesa de alta definición. Las principales ventajas de esta pantalla son su extraordinario brillo y contraste que contrarresta el reflejo ambiental, la calidad de imagen no se ve afectada por el ángulo de visión y su muy reducido peso.

El diseño utilizado es realmente revolucionario, ya que mantiene la excelente calidad de imagen que caracteriza a los productos HONDA Electrónica (AIPÓN) en una unidad de tan solo 2 kg de peso. La combinación de su reducido peso, pequeñas dimensiones y excelente calidad de imagen, dan por resultado un equipo muy práctico para trabajar en todo tipo de entornos con la mejor imagen disponible.

[www.imgadvantage.com.ar](http://www.imgadvantage.com.ar) - [info@imgadvantage.com.ar](mailto:info@imgadvantage.com.ar) - 011 4751.5920

Figura 4. A, ovocito anexina positivo (verde). B, células del cumulus anexina positivas (verdes) e IP positivas (rojas)

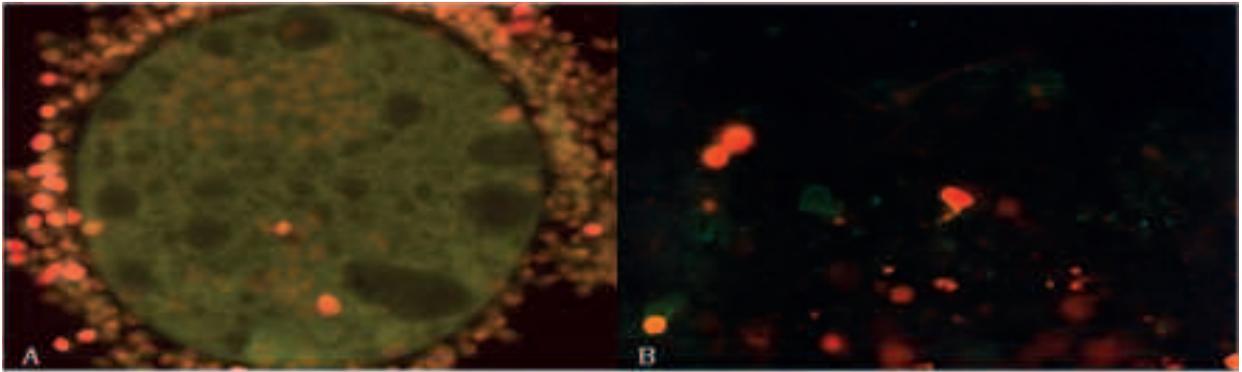
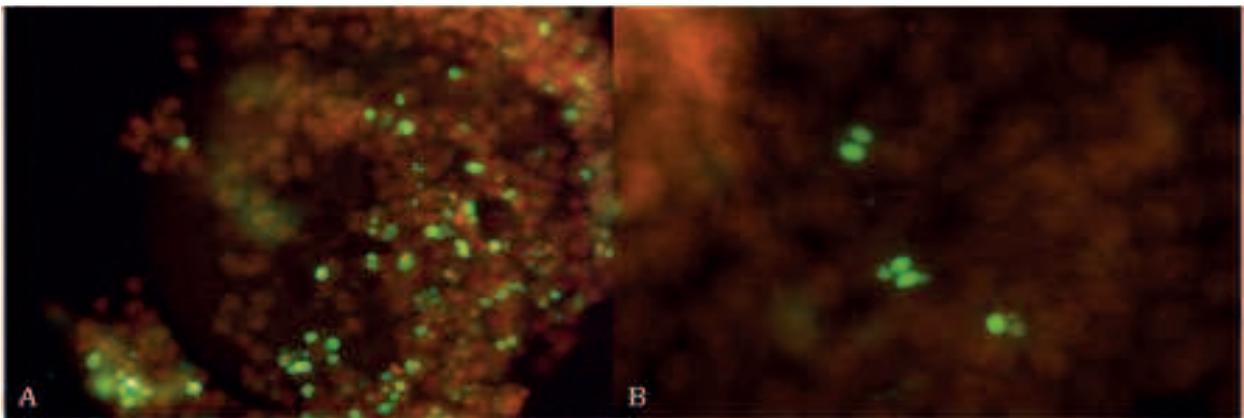


Figura 5. A, células del cumulus TUNEL positivas (verdes). B, los núcleos se visualizan verdes y en algunos casos fragmentados (cuerpos apoptóticos).



La importancia de trabajar siempre con calidad garantizada y confianza

# Laboratorio Azul

Líder en Diagnóstico Veterinario

Tel 02281-43.1770 líneas rotativas  
Av. 25 de Mayo n° 479/485 - B7300FXE Azul - Buenos Aires Argentina  
labazul@speedy.com.ar - www.laboratorioazul.com.ar

## TUNEL (apoptosis tardía)

### *TUNEL en ovocitos*

En los ovocitos no se observó apoptosis tardía, en ninguna de las categorías planteadas.

### *TUNEL en células del cumulus*

La distribución de la apoptosis no se comportó de la misma manera en las diferentes categorías. Se evidenció además un aumento en el número de células apoptóticas al disminuir la calidad observada morfológicamente bajo lupa estereoscópica (excluyendo a la categoría C, que no presenta células). *Figura 5.*

## Conclusiones

Dentro de la población de COCs obtenidos, el porcentaje de las diferentes categorías varía. Se comprobó la presencia de apoptosis tanto temprana como tardía en las células del *cumulus* de COCs inmaduros porcinos y solo apoptosis temprana en ovocitos. Existe una relación entre la presencia de la apoptosis y la morfología de los COCs pero no se condice exactamente con las categorías en las que fueron clasificados. En

todos los grupos se presentó una proporción de células del *cumulus* y ovocitos muertos (IP positivos), sin guardar relación con las características morfológicas de los COCs. La evaluación morfológica de los COCs bajo la lupa no permite seleccionar COCs sin daños y no apoptóticos. Desde el punto de vista morfológico y de la evaluación de la apoptosis las categorías de los COCs de elección para el desarrollo de biotecnologías reproductivas, son las A1 y A2, pudiéndose incluir la categoría B1.



**Linea Reproductiva Merial**  
Ya estamos planificando los Ciclos Reproductivos.

**Más Terneros**

**EMEFUR**  
Linea reproductiva

Dispositivo Intravaginal para Bovinos (Monousa) 0,6 g  
Dispositivo Intravaginal para Bovinos (Doble uso) 1,2 g  
Benzato de Estradiol  
Cipionato de Estradiol  
Prostaglandina  
GnRH

Merial Línea global de Atención al Cliente 0800-444-7587  
www.merial.com.ar