

2012 Noviembre, 3(2): 1-1

Maduración secuencial en dos pasos de ovocitos *in vitro*: Efecto DEL Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y de la Cisteamina como estimulador de la síntesis de glutatión.

Autores: Anchordoquy J.M.¹, Anchordoquy J.P.¹, Picco S.J.¹, Sirini M.A.¹, Errecalde A.L.²; Furnus C.^{1,2}.

(1) Instituto de Genética Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.

(2) Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A", Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

E-mail: cfurnus@med.unlp.edu.ar o ceciliafu@hotmail.com

Introducción

El VEGF y sus receptores se expresan en el citoplasma del ovocito y en las células del cúmulus durante el comienzo de la maduración *in vitro*. En estudios previos hemos encontrado que altos niveles de glutatión (GSH) intracelular en el ovocito bovino aumentan la tasa de desarrollo embrionario posterior hasta el estadio de blastocisto. En células de mamífero el estatus antioxidante general y particularmente los niveles intracelulares de GSH modulan el efecto del VEGF disminuyendo su funcionalidad. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue investigar el efecto del VEGF y de la cisteamina (conocido estimulador de la síntesis de GSH) sobre el desarrollo embrionario posterior hasta el estadio de blastocisto. Para ello, los ovocitos bovinos obtenidos a partir de ovarios de frigorífico se maduraron 24 horas *in vitro* en medio TCM 199 suplementado con 10% de suero bovino fetal y FSH, a 39°C con 5% CO₂ en aire y humedad a saturación. Luego se seleccionaron los ovocitos con el cúmulus expandido y se fertilizaron *in vitro* (FIV) con un toro de probada fertilidad. Los presuntos cigotos se cultivaron *in vitro* en medio SOF con aminoácidos y albúmina (BSA- FAF) durante 8 días. La tasa de clivaje se evaluó 48 h post-inseminación. Los porcentajes de desarrollo hasta el estadio de blastocisto incluyen aquellos embriones que progresaron hasta blastocisto expandido o eclosionado luego de 8 días de cultivo. Los datos se analizaron con ANOVA luego de la transformación angular y el test de Student-Newman-Keuls a posteriori (CSS: Statistica, module C-Stasoft, Tulsa, OK, USA), se trabajó con un nivel de significancia $p < 0.05$. Para estudiar el efecto del VEGF y la cisteamina se diseñó una maduración secuencial en dos pasos: Paso I (0-3 horas) con o sin agregado de 500 ng/ml VEGF (Human VEGF: Biotrend, Koln, Germany) y Paso II (4-24 horas) con o sin agregado de 100 μ M de Cisteamina. Los complejos ovocito-cúmulus se incubaron en: a) medio sin suplementar durante 24 horas (Control); b) Paso I: medio sin suplementar - Paso II: 100 μ M/ml Cisteamina (Cisteamina); c) Paso I: 500 ng/ml VEGF - Paso II: medio sin suplementar (VEGF); d) Paso I: 500 ng/ml VEGF - Paso II: 100 μ M Cisteamina (VEGF + Cisteamina) y e) Paso I + Paso II: 500 ng/ml VEGF + 100 μ M/ml Cisteamina, ambos suplementos durante las 24 horas de la MIV (VEGF + Cisteamina 24 h). Todos los valores correspondientes a las tasas de clivaje y desarrollo están expresados como el promedio \pm ES (1236 COCs, 6 repeticiones, días diferentes). Las tasas de clivaje y de blastocistos fueron significativamente más altas para ovocitos madurados con VEGF y/o Cisteamina con excepción del tratamiento combinado VEGF + Cisteamina 24 horas, en donde los valores fueron similares al Control. El porcentaje de blastocistos más alto se obtuvo con ovocitos madurados con VEGF + Cisteamina en dos pasos secuenciales.

Conclusión

En conclusión, este estudio indica que: a) el VEGF y la cisteamina agregados al medio de maduración aumentan la capacidad de desarrollo posterior hasta el estadio de blastocisto, b) el efecto combinado de ambos suplementos, cuando se los incorpora en forma secuencial durante la maduración *in vitro*, es aún mayor que la acción individual de cada uno de ellos y c) la permanencia del VEGF y la cisteamina durante 24 horas disminuyó la tasa de desarrollo a porcentajes similares al control sin suplementar.