

2014 Noviembre, 2(2): 2-2

## **EFFECTO DEL COBRE DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE OVOCITOS BOVINOS SOBRE EL CONTENIDO INTRACELULAR DE GLUTATIÓN EN OVOCITOS Y CÉLULAS DEL CÚMLUS**

Autores: Rosa DE<sup>2</sup>, Anchordoquy JP<sup>1,2</sup>, Anchordoquy JM<sup>1,2</sup>, Sirini MA<sup>1,2</sup>, Errecalde AL<sup>3</sup>, Mattioli G<sup>2</sup>, Furnus CC<sup>1,3,\*</sup>

(1) Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), UNLP/CONICET, Calle 60 y 118 s/n (1900) La Plata; (2) Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. (3) Cátedra de Citología, Histología y Embriología A, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP

### **Introducción**

El glutatión (GSH) es el principal compuesto sulfatado no proteico, que protege a las células de mamífero del daño oxidativo. En el ovocito, posee una función activa manteniendo la morfología del huso meiótico y protegiéndolo contra el daño oxidativo. El GSH se considera como un indicador de la maduración citoplasmática del ovocito ya que, durante el proceso de maduración, su concentración intracelular aumenta condicionando el desarrollo embrionario posterior hasta el estadio de blastocisto. El cobre (Cu) actúa como intermediario en la transferencia de electrones de las reacciones redox siendo un factor esencial para las enzimas reductoras y oxidativas. En consecuencia, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el contenido intracelular de GSH-GSSG en ovocitos y células del cúmulus madurados con distintas concentraciones de Cu.

### **Materiales y Métodos**

se utilizaron complejos ovocito-cúmulus (COCs) de bovino que se obtuvieron a partir de ovarios de frigorífico y se maduraron *in vitro* (MIV) en medio TCM 199 suplementado con 10 % SBF, 10 µg/ml LH, 1 µg/ml FSH y 1 µg/ml 17β-estradiol, a 39°C con 5% CO<sub>2</sub> en aire y humedad a saturación. Los COCs se maduraron en **a)** Control: 0 µg/ml Cu; **b)** 20 µg/ml Cu; **c)** 40 µg/ml Cu y **d)** 60 µg/ml Cu. Luego de la maduración las células del cúmulus fueron separadas de los ovocitos por pipeteo mecánico. La determinación de GSH se realizó mediante el empleo de un método enzimático colorimétrico a partir de una curva estándar de GSH. Los datos se analizaron con ANOVA y el test de Student-Newman-Keuls a posteriori, se trabajó con un nivel de significancia  $p < 0,05$ . Todos los valores están expresados como el promedio  $\pm$  ESM. Se utilizaron 800 COC colectados en cuatro días diferentes ( $n = 4$  repeticiones) y en cada repetición se incubaron 200 COC distribuidos en grupos de 50 COC por tratamiento.

### **Resultados**

la concentración de GSH-GSSG en ovocitos y en las células del cúmulus madurados con el agregado de Cu (Experimento 1) fue mayor que en el grupo Control ( $p < 0,01$ ). La concentración intracelular de GSH-GSSG en ovocitos y células del cúmulus no presentó diferencias significativas entre Cu 1, Cu 2 y Cu 3. Sin embargo en Cu3 la concentración de GSH-GSSG fue mayor ( $P > 0,05$ ) (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido intracelular de GSH-GSSG en ovocitos bovinos y células del cúmulus luego de la MIV con distintas concentraciones de cobre.

	Control	Cu1	Cu2	Cu3
GSH-GSSG (pmol/ovocitos)	3,0 $\pm$ 0,9a	4,2 $\pm$ 0,5a	4,7 $\pm$ 0,4b	5,0 $\pm$ 0,5b
GSH-GSSG (nmol/106 CC)	0,3 $\pm$ 0,05a	0,3 $\pm$ 0,02a	0,4 $\pm$ 0,04b	0,5 $\pm$ 0,05b

### **Conclusión**

el agregado de Cu al medio de maduración incrementó la concentración intracelular de GSH-GSSG en el ovocito y las CC. Esto podría deberse a un mejor estatus antioxidante de las células ya que cuando el estado redox de una célula se ve alterado, se produce un mayor consumo de GSH que conduce a un agotamiento intracelular de este compuesto.

Fecha de Recibido: 04-10-14

Fecha de Publicación: 1-11-14