

2016 Septiembre, 6(4): 1-1

EVALUACIÓN DEL DAÑO GENÓMICO EN CÉLULAS DEL CÚMULUS INDUCIDO POR LA HORMONA GHRELINA

Sirini MA¹; Nikoloff N¹; Anchordoquy JP¹; Anchordoquy JM¹; Pascua AM¹; Testa JA¹; Furnus CC^{1,2}.

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

e-mail: masirini@igevet.gob.ar

Las células del cúmulus (CC), que rodean a los ovocitos durante la maduración, juegan un rol importante en su capacidad de desarrollo posterior hasta el estadio de blastocisto. Esto se debe a que las células se hallan unidas a través de uniones gap que conectan a las células del cúmulus entre sí y con el ovocito, interviniendo en el soporte metabólico del mismo. Si bien se ha demostrado, tanto en estudios in vivo como in vitro, que las células de la granulosa mueren a través del proceso activo de apoptosis, la información sobre este fenómeno en CC durante la maduración in vitro (MIV) es todavía muy limitada. El daño en el ADN puede ser el producto final del fenómeno de apoptosis o uno de los responsables de su desarrollo. La ghrelina es un péptido gastrointestinal sintetizado principalmente en las células oxínticas del estómago y el abomaso en los bovinos. Se descubrió que también puede ser sintetizada en otros tejidos, incluido los órganos reproductivos, ejerciendo tanto efectos endócrinos como parácrinos. Estudios en diferentes especies reportan que altas concentraciones de ghrelina podrían afectar negativamente la maduración de los ovocitos, afectando así el desarrollo preimplantacional de los embriones. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el daño del ADN de las CC expuestas a diferentes concentraciones de ghrelina durante la MIV de ovocitos bovinos. Los complejos ovocito-cúmulus (COCs) se obtuvieron de ovarios de vaquillonas faenadas en días diferentes (n=3 repeticiones) y en cada día se recogieron 200 COCs. Los 200 COCs se dividieron en 4 grupos de 50 COCs por tratamiento. El medio de maduración fue TCM 199 suplementado con 10% de suero fetal bovino, FSH y LH. Los tratamientos consistieron en el agregado de ghrelina al medio de maduración en concentraciones crecientes (20pM; 40pM y 60pM), quedando un tratamiento control (C) sin suplementar (0pM). Al finalizar la MIV, los ovocitos de cada tratamiento fueron separados de las CC por pipeteo. El daño en el ADN de las CC se determinó mediante la variante alcalina del ensayo cometa. Los cometas fueron analizados visualmente mediante un microscopio de fluorescencia y clasificados en 5 grados de daño: grado 0 (cola no visible), grado 1 (cometas con cola delgada), grado 2 (cometas con cola difusa), grado 3 (cometas con colas bien definidas), y grado 4 (cometas con una clara disminución en el diámetro de la cabeza y con una cola bien definida). Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorio, y se realizó una regresión logística con el procedimiento GENMOD de SAS 9.1. El modelo incluyó los efectos del frigorífico y del tratamiento. El agregado de 20pM y 60pM de ghrelina durante la MIV aumentó el porcentaje de CC que presentaron daño en su ADN (29% y 35%, respectivamente) con respecto al control (11,67 %, $p < 0,05$). Sin embargo, aquellas CC suplementadas con 40pM de ghrelina presentaron un porcentaje de células dañadas similares al control (40pM 15,33%; $p > 0,05$). En conclusión, la suplementación con 20pM y 60pM de ghrelina al medio de MIV, incrementa el número de CC que presentan daño en su ADN.

Palabras claves: Células del cúmulus; Ghrelina; Ensayo cometa.