

## 07 Cinética de producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y su efecto sobre la actividad mitocondrial en embriones bovinos producidos in vitro

César Serrano, Carlos Vélez, Marlene Jiménez,  
Martha Olivera-Ángel

### OBJETIVOS

Durante la producción de embriones in vitro, una gran proporción (70-80%) detiene su ciclo celular durante un periodo determinado para cada especie coincidiendo con la activación del genoma embrionario, lo cual en bovinos ocurre en el paso de 8 a 16 células (1). Con el ánimo de aportar al estudio de este fenómeno, se determinaron la cinética de producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la función mitocondrial, aspectos relacionados con el mismo (2), en embriones bovinos producidos in vitro (EBPIV) con alto y bajo potencial de desarrollo.

### PALABRAS CLAVE

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
IVF  
BOVINO  
EMBRIÓN  
MITOCONDRIA

### METODOLOGÍA

EBPIV que completaron su primer ciclo celular antes o después de 32 horas post-inseminación (hpi) fueron clasificados como competentes y no-competentes respectivamente. De cada grupo se tomaron embriones a las 32, 40, 50, 72 y 100 HPI para evaluación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y función mitocondrial mediante epifluorescencia, incubando con dihidrorrodamina 123 (DHR) (1mM) por 15 minutos y con JC-1 (5mM) por 30 minutos respectivamente. La fluorescencia para DHR se consideró como positiva para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La función mitocondrial se determinó como la proporción de fluorescencia con respecto al

control positivo (oocito maduro). Un total de 362/290 embriones competentes y 345/310 no-competentes fueron evaluados para DHR y JC-1 respectivamente durante tres cohortes. Los datos (promedio/proporción +/- D.E) entre puntos de corte y entre grupos se compararon mediante pruebas de hipótesis.

### RESULTADOS

Se observó un aumento progresivo en la frecuencia de eventos positivos a DHR en ambos grupos a partir de las 32 HPI, relacionado más con el estado de desarrollo que con el tiempo postinseminación; esta tendencia disminuyó a partir del momento en que una mayor proporción de embriones alcanzó el estadio de 8 células. Sin embargo, estos eventos fueron mayores en el grupo no-competente. Se evidenció muy poca actividad mitocondrial durante el desarrollo embrionario temprano en ambos grupos de estudio.

### CONCLUSIONES

La mayor proporción de embriones no-competentes que presentan elevación en los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, podría estar relacionada con el bloqueo en el ciclo celular observado en condiciones in vitro. Dichas elevaciones no parecen relacionarse con la actividad mitocondrial, ni ésta con la generación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. De otro lado, la actividad mitocondrial no parece ser un factor de competencia para superar la detención en el ciclo celular y su depresión estaría relacionada con algunos arreglos metabólicos observados por otros investigadores (3).

### BIBLIOGRAFÍA

1. BETTERIDGE KJ. Phylogeny, ontogeny and embryo transfer. *Theriogenology* 1995; 44: 1.061-1.098.
2. CAMARGO O, RAMÍREZ JL, OLIVERA-ÁNGEL M. Radicales libres y desarrollo embrionario. *Rev Col Cienc Pec* 1999; 12: 108-118.
3. THOMPSON JG, MCNAUGHTON C, GASPARRINI B, MCGOWAN LT, TERVIT HR. Effect of inhibitors and uncouplers of oxidative phosphorylation during compaction and blastulation of bovine embryos cultured in vitro. *J Reprod Fertil* 2000; 118: 47-55.