

ANÁLISIS POR MICROSCOPIA RAMAN DE LOS CAMBIOS EN LA ZONA PELÚCIDA DE OVOCITOS BOVINOS MADURADOS *IN VITRO* EN MEDIO ENRIQUECIDO CON EL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR-D.

Jimenez, Luis E.¹; Dominguez, Nicolás A.¹; Roldán-Olarte Mariela²; Álvarez Rosa M.S.¹

¹ INQUINOA (CONICET-UNT) Instituto de Química del Noroeste Argentino, Ayacucho 471, San Miguel de Tucumán, CP 4000, Tucumán, Argentina.

² INSIBIO (CONICET-UNT) Instituto Superior de Investigaciones Biológicas.

Contacto: emanueljime@hotmail.com

Introducción: Numerosos estudios se enfocan en la optimización de la producción *in vitro* (PIV) de embriones de animales de interés productivo, incluidos los bovinos. La maduración *in vitro* (MIV) de los ovocitos es la primera etapa de la PIV y puede determinar el rendimiento del proceso y la calidad del futuro embrión. Por tanto, la optimización de los medios MIV permitiría aumentar las tasas de fertilización y desarrollo embrionario. El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto del factor de crecimiento endotelial vascular-D (VEGF-D) en la zona pelúcida (ZP) de ovocitos bovinos durante la MIV, utilizando microscopía Raman.

Resultados: Los espectros se tomaron de la ZP de ovocitos inmaduros y de aquellos que fueron sometidos al proceso de MIV durante 18 y 22 h en ausencia (muestras control: 18H-C y 22H-C) y en presencia del factor (18H-F y 22H-F). En general, se observó que los ovocitos sometidos a MIV presentan intensas bandas de proteínas y un marcado debilitamiento/disminución de la altura de las señales específicas de azúcares. Al comparar entre sí los grupos madurados por distintos tiempos se observaron importantes diferencias: I) se intensificaron las bandas de proteínas y de ácido siálico en el espectro promedio 18H-F, con respecto al grupo 18H-C, presentando un perfil espectral similar a los ovocitos control madurados por 22h; II) en 22H-F la intensificación de la banda del ácido siálico fue aún mayor y se observan cambios sutiles en el contorno de la banda Aml. Tras la deconvolución de la banda Aml, se deriva que la presencia del VEGF-D en los medios de maduración produce un incremento en la proporción de estructura desordenada de las proteínas, induciendo cambios en la organización de las glicoproteínas presentes en la ZP. El análisis espectral se complementó con estadística; la Prueba-t determinó que la señal del ácido siálico presentó un incremento estadísticamente significativo en los grupos de ovocitos madurados en presencia del VEGF-D con respecto al grupo control; cabe mencionar que el ácido siálico es el receptor primario de los espermatozoides¹, por lo que su presencia en ovocitos madurados es muy importante.

Conclusiones: Los resultados confirman que la suplementación del medio de maduración con VEGF-D produce cambios bioquímicos y estructurales relevantes en la ZP y, por tanto, podría tener un impacto favorable en el rendimiento de la PIV.

Referencias:

1) Velásquez J.G., *Mol. Reprod. Dev., United States*, **2007**, 74, 617-628.