OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE DESCELULARIZACIÓN EN EL OVIDUCTO PORCINO

Gómez-Moreno*, S.E., Martínez-López, C.R. y García-Vázquez, F.A.
Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria,
Universidad de Murcia, Murcia 30100, España
*sergio.gomezm@um.es

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de estrategias para la obtención de andamios biológicos ha cobrado gran relevancia en el campo de la ingeniería de tejidos. La descelularización permite obtener estos andamios al eliminar los componentes celulares mientras preserva la arquitectura de la matriz extracelular (Abaci y Guvendiren, 2020). Se trata de una técnica versátil con amplias aplicaciones, ya que la matriz resultante conserva los factores para favorecer la migración, proliferación y diferenciación celular (Hellström *et al*., 2017). En el ámbito reproductivo, su aplicación es prometedora para mejorar las técnicas de reproducción asistida (TRA). En este contexto, el modelo porcino es clave para optimizar la eficiencia reproductiva en la industria. El objetivo principal del presente estudio fue optimizar el proceso de descelularización en oviductos porcinos de cerdas prepúberes y cerdas adultas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El proceso de descelularización se realizó en oviductos porcinos de hembras prepúberes (*n*=4) y adultas en fase folicular temprana (*n*=3) obtenidos de un matadero local (El Pozo Alimentación S.A, Murcia, España). Previo al proceso de descelularización, se tomaron medidas de peso y longitud para asegurar la mayor homogeneidad posible entre las muestras. Como tratamiento inicial, los oviductos fueron sometidos a un proceso de congelación a –20 °C, seguido de una descongelación a temperatura ambiente. Posteriormente, se incubaron en agitación con detergentes (dodecilsulfato sódico [SDS] al 0,1% y Tritón X-100 al 1%) durante 2, 3 o 4 ciclos. Cada ciclo tuvo una duración de 24 h, en las cuales el tejido se expuso secuencialmente a SDS (18 h), agua destilada (30 min), Tritón X-100 (30 min) y PBS (5 h). Tras someter a los oviductos a los ciclos de descelularización (2, 3 o 4 ciclos), se aplicó un tratamiento con DNasa (24 h) y lavados finales con PBS (48 h). Como grupo control se utilizaron oviductos nativos no descelularizados. Para el análisis histológico, se tomaron muestras de la región del istmo y la ampolla, las cuales se fijaron en formol al 4% a 25 °C (24 h) y se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento, que incluyó deshidratación en alcoholes, sustitución con xileno e inclusión en parafina para la obtención de los bloques. De cada bloque se obtuvieron secciones de 5 µm, que se tiñeron con hematoxilina de Harris y eosina alcohólica Y. El recuento de núcleos se realizó de forma manual en 10 campos aleatorios por muestra con un aumento de 400x.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis histológicos revelaron una reducción significativa en el número de núcleos en los oviductos de cerdas prepúberes sometidos a dos ciclos de descelularización (0,025 ± 0,025) en comparación con el grupo control (860,2 ± 19,62) (p = 0,007). En los oviductos de cerdas adultas, dos ciclos de descelularización eliminaron completamente los núcleos en la ampolla (0,00 ± 0,00), pero no en el istmo, donde permanecieron elevados (91,33 ± 79,47). Esta diferencia podría estar relacionada con un mayor peso y longitud de los oviductos de cerdas adultas (3,45 ± 0,56 g y 304,5 ± 26,54 mm, respectivamente) en comparación con las cerdas prepúberes (1,79 ± 0,26 g y 202,5 ± 14,83 mm, respectivamente). Tras tres ciclos de descelularización, tanto la ampolla como el istmo mostraron valores cercanos a 0 (0,00 ± 0,00 y 1,16 ± 1,67, respectivamente), manteniéndose esta tendencia en los tejidos expuestos a cuatro ciclos de descelularización (0,00 ± 0,00 en ambas regiones).

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran la eficacia del proceso de descelularización en oviductos de cerdas prepúberes, evidenciando una reducción significativa en el número de núcleos tras dos ciclos de tratamiento. En el caso de las cerdas adultas, se requiere un mayor número de ciclos para lograr una descelularización homogénea de todo el órgano. La comparación entre la ampolla y el istmo en cerdas adultas indica que el istmo presenta una mayor resistencia, lo que sugiere que al menos tres ciclos son necesarios para asegurar la descelularización completa del órgano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Abaci y Guvendiren, 2020. Adv Healthc Mater 9(24): 2000734. • Hellström *et al*. 2017. Ann Biomed Ing. 45(7): 1718-30.