

DESARROLLO DE MODELOS *IN VITRO* BASADOS EN LA ESPECIE OVINA

Larrañaga*, N., Gómez, J., Sola, D., Marco, P., Sevilla, E., Badiola, J.J., Otero, A. y Bolea, R.

Facultad de Veterinaria, C/Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

*nlarranaga@unizar.es

INTRODUCCIÓN

En la investigación biomédica y veterinaria, los modelos *in vitro* desempeñan un papel crucial en la comprensión de procesos fisiológicos, el desarrollo de nuevos tratamientos y la reducción del uso de animales en experimentación. Sin embargo, la mayoría de los modelos *in vitro* disponibles se han desarrollado a partir de especies como ratones, cerdos y humanos, dejando un vacío en la representación de otras especies de interés, como la ovina. Tradicionalmente, se han utilizado ratones modificados para expresar características ovinas en la investigación de enfermedades, como el scrapie, una encefalopatía espongiforme transmisible cuya investigación se basa mayoritariamente en estudios *in vivo*. En contraste, desarrollar modelos *in vitro* basados directamente en células ovinas permitiría un estudio más preciso y relevante de esta enfermedad, facilitando la identificación de mecanismos patológicos y la evaluación de posibles tratamientos en un entorno controlado y, además, se podría reducir la necesidad de estudios *in vivo* y promover un enfoque más ético, eficiente y representativo en la investigación veterinaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo del modelo *in vitro*, concretamente cultivos celulares tridimensionales del sistema nervioso central para enfermedades neurodegenerativas como el scrapie, se utilizarán encéfalos de animales adultos. A partir de estos, se extraerán las células madre neuronales adultas localizadas en la zona subventricular (Zeuner *et al.*, 2018), con el objetivo de obtener esferas formadas a partir de estas células. Dichas células serán sembradas a una densidad de 100.000 de células por mililitro de medio y cultivadas durante 30 días en medio de cultivo enriquecido con factores de crecimiento que impidan la diferenciación celular prematura. A medida que las neuroesferas que se formen alcancen las 100 micras de diámetro, el cultivo será sometido a una tripsinización para favorecer que las células se separen y multipliquen en mayor cantidad y tamaño de neuroesferas, tantas veces como sea necesario hasta obtener un cultivo homogéneo de esferas con aproximadamente el mismo tamaño y libre de restos celulares (Ahmed *et al.*, 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La neuroesfera es una estructura tridimensional formada por diferentes tipos celulares que es susceptible de diferenciarse en distintas células presentes en el sistema nervioso central (Rojo Salvador *et al.*, 2022). Mediante la metodología antes expuesta, este estudio demuestra que es posible obtener neuroesferas a partir de la zona subventricular del encéfalo de ovejas adultas. Esto supone la posibilidad de obtener decenas de sujetos de estudio *in vitro* a cambio de un solo animal. Además, la obtención de neuroesferas podría constituir el primer paso para desarrollar estructuras tridimensionales más complejas, como podría ser un organoide de encéfalo (Pineau y Sim, 2021).

CONCLUSIÓN

El cultivo de neuroesferas a partir del encéfalo de ovejas adultas es un método viable para el desarrollo de un modelo *in vitro* tridimensional propio en la especie ovina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, A.K.M.A., Isaksen, T.J., Yamashita, T. 2021. Protocol for mouse adult neural stem cell isolation and culture. *STAR Protocols* 2(2): 100522. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100522>
- Pineau, H. y Sim, V.L. 2021. From Cell Culture to Organoids-Model Systems for Investigating Prion Strain Characteristics. *Biomolecules* 11(1): 106. <https://doi.org/10.3390/biom11010106>
- Rojo Salvador, C., Galicia Guerrero, M.D.L., Sánchez Maldonado, B., González Gil, A., Picazo González, R.A. 2022. Morphological and ultrastructural characterization of neurospheres spontaneously generated in the culture from sheep ovarian cortical cells. *The Anatomical Record* 305(9): 2265-2280.
- Zeuner, M.T., Didenko, N.N., Humphries, D., Stergiadis, S., Morash, T.M., Patel, K., Grimm, W.D., Widera, D. 2018. Isolation and Characterization of Neural Crest-Derived Stem Cells From Adult Ovine Palatal Tissue. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 6.

Agradecimientos: A Daniel Romanos, Sandra Felices y Catarina Martinho por ayudarnos siempre.