

Efecto de un antagonista de los opioides (naloxone) en la maduración ovocitaria, clivaje y desarrollo embrionario en bovino.

Effect of an opioid antagonist (Naloxone) on bovine oocytes maturation, cleavage and embryos development.

Veronika Niedhammer^{1,2*}, Clara Noelia Amarilla², Zulma González², Oscar Valiente³, María Paz Benítez Mora², Rosa Minoia²

¹Tesista de Posgrado, Maestría en Zootecnia con énfasis en sistemas pecuarios, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. ²Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción. Programa PROCIENCIA, CONACYT, Paraguay ³ Maestría en Zootecnia con énfasis en sistemas pecuarios, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

*E-mail: veroniedhammer@gmail.com

INTRODUCCION

El estrés es uno de los factores que afecta negativamente a la maduración ovocitaria y al desarrollo embrionario, tanto en vivo como *in vitro*. En una situación de estrés, los niveles de opioides endógenos circulantes (sobre todo de beta endorfina) se elevan y se ligan a sus receptores específicos (mu opioid receptor); este sistema ligando receptor, bloquea los canales L y D del calcio, afectando así todas las funciones calcio mediadas y dependientes. El Naloxone utilizado a la concentración de 10^{-8} M, rompe la unión de beta endorfina-receptor μ opioide, reactivando las funciones mencionadas (Minoia P et al. 2001) Se ha demostrado que gametos y embriones expresan los receptores opioides mu, como también que el uso del naloxone durante la maduración de ovocitos bovinos mejora significativamente los porcentajes y la calidad de la maduración (Dang-Nguyen TQ et al. 2013).

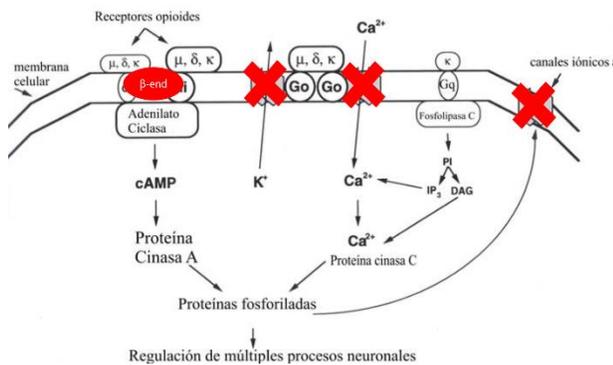


Fig. 1: Efecto de beta endorfina sobre los canales de calcio.

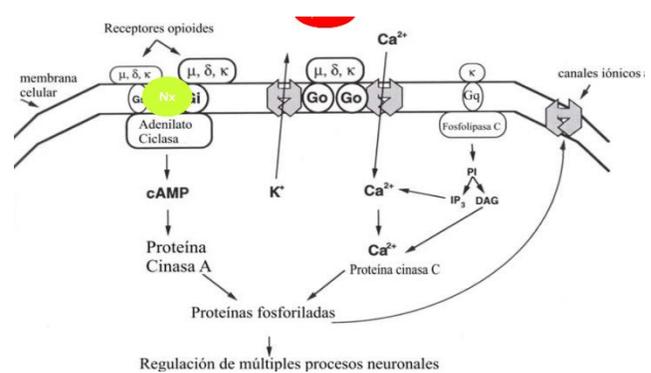


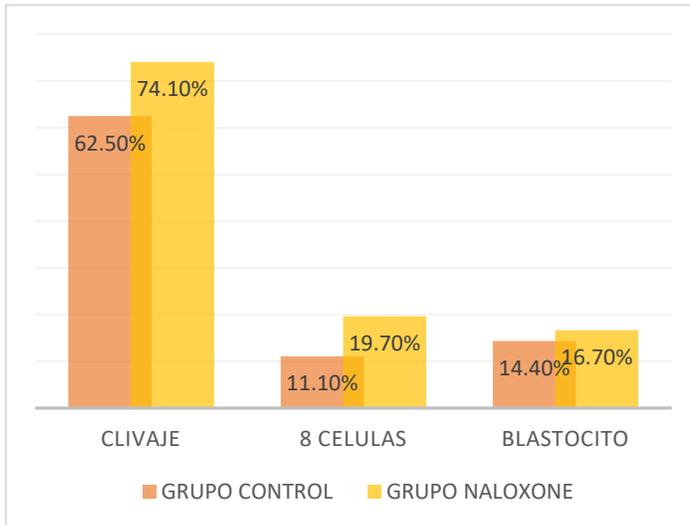
Fig. 2: Efecto del naloxone sobre la beta endorfina.

MATERIALES Y METODOS

En nuestro estudio evaluamos el efecto del naloxone en la maduración ovocitaria bovina y su posterior clivaje y desarrollo embrionario. Un total de 240 ovocitos fueron asignados aleatoriamente entre dos grupos: grupo control (150 ovocitos), grupo naloxone (90 ovocitos). Luego de las 20 horas de maduración los ovocitos fueron fertilizados *in vitro* con semen descongelado de pajuelas, posteriormente, después de 9 horas, los cigotos fueron transferidos al medio de cultivo embrional.

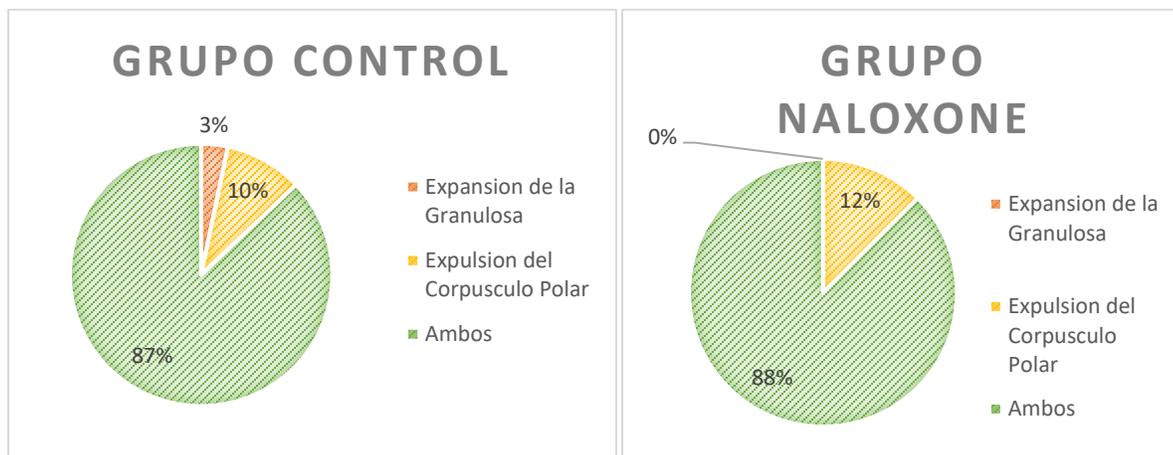
RESULTADOS

En el grupo control, el 62,5% de los ovocitos demostró el clivaje a las 24h contra el 74,1% del grupo naloxone. Al quinto día el 11,1% del grupo de control presentaba más de 8 células contra el 19,7% del grupo naloxone. Al sexto día el 14,4% del grupo de control presentaba morfología de blastocisto contra el 16,7% del grupo naloxone. No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de clivaje, y desarrollo embrionario entre los grupos.



Graf. 1: Porcentaje de desarrollo embrionario en función al tiempo.

Aunque confrontando los porcentajes de ovocitos con completa expansión de la granulosa, a través de la prueba de chi cuadrado, la diferencia es significativa por $p < 1,944$ de manera que podría existir una influencia del naloxone, de tipo cualitativa más que tipo cuantitativo. Efectivamente, el grupo control presentaba los ovocitos en diferentes grados de expansión de la granulosa, por el contrario, el grupo naloxone presentaba ovocitos o con nula o con buena expansión, sin presentar grados intermedios. Comparando los porcentajes del clivaje entre grupos, la diferencia resulta significativa por $p < 0,001$ resultando que en el grupo naloxone hay menos ovocitos no fertilizados. Nuestros resultados preliminares confirman la influencia de los receptores mu para los opioide a nivel de ovocitos y en los primeros estadios de desarrollo embrionario, además que confirman un efecto positivo del naloxone sobre la cualidad de la expansión de la granulosa.



Graf. 2: Evaluación de ovocitos maduros según criterios de maduración considerados con y sin naloxone.

CONCLUSION

En conclusión, el receptor mu para los opioides participa en las señales cumulus-ovocitos asociadas con la maduración ovocitaria; con un efecto positivo sobre la fertilización. En futuros ensayos proponemos aumentar el número de ovocitos evaluados además de focalizar nuestra atención en la calidad de la maduración, fertilización y desarrollo embrionario investigando con métodos cualitativo como evaluación de núcleo apoptótico (TUNEL), condición mitocondrial, y calidad del blastocisto.

Palabras clave: maduración in vitro, naloxone, estrés.

Keywords: in vitro maturation, naloxone, stress.

Agradecimientos: A la Dra. Karina Meza y Dra. Elisangela Ayala por su colaboración en las pruebas laboratoriales.