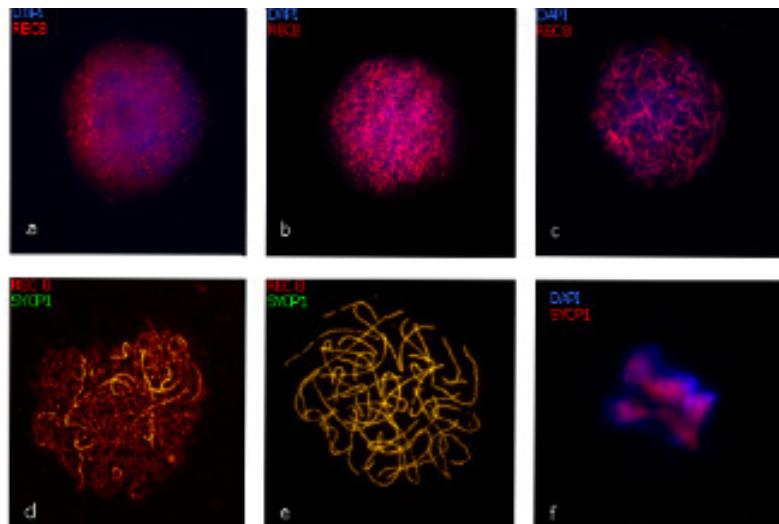


10/2010

Una nueva técnica permite el cultivo *in vitro* de ovocitos fetales humanos



Una de las dificultades que encuentra la reproducción asistida en humanos es la falta de conocimiento sobre los procesos que rigen la meiosis en los gametos femeninos. Hasta el momento, no han existido modelos *in vitro* que permitieran reproducir lo que ocurre *in vivo*. Un grupo del Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología ha desarrollado un trabajo que describe por primera vez una técnica que también permite cultivar ovocitos fetales humanos, gracias a un modelo que puede aplicarse en la evaluación de agentes tóxicos, permitiendo valorar su efecto en las primeras etapas de la reproducción humana.

A pesar de los grandes avances científicos y técnicos que han permitido el desarrollo de la reproducción asistida, la reproducción humana y en especial la formación de los gametos femeninos continúa siendo un campo muy poco explorado. Factores técnicos y éticos son sin duda uno de los mayores limitantes en el estudio de la meiosis femenina humana. Es importante señalar que una parte muy importante del proceso reproductivo en la mujer sucede durante su etapa fetal: es en este periodo que se configuran los ovocitos que serán fecundables en su vida adulta. La importancia de este proceso radica en que cualquier daño/problema que suceda durante esta etapa se verá reflejado en el proceso reproductivo. Hasta el momento actual, no

han existido modelos *in vitro* que permitieran evaluar como los cromosomas progresan a través de la profase meiotica, por lo que el modelo diseñado por nuestro grupo permite por primera vez lograr que ovocitos fetales humanos progresen en estas diferentes etapas, y que esta progresión "reproduzca" de manera estandarizada y fiable lo que sucede *in vivo*.

Se analizaron la progresión de los ovocitos mediante una serie de proteínas que se encargan del apareamiento y sinapsis (proteínas REC8, SYCP1 y SYCP3) así como de la recombinación de material genético entre los cromosomas (proteína MLH1) (Imagen 1). El estudio de estas proteínas se realizó mediante microscopia acoplada a fluorescencia. Para determinar el mejor método de obtención de ovocitos a partir de ovarios fetales, se emplearon 4 diferentes técnicas, 2 mecánicas (punción del ovario o fragmentación ovárica) y 2 enzimáticas (tratamiento del ovario con tripsina o colagenasa+hialuronidasa). Además de evaluar que método de disagregación era el más adecuado se evalúo tambien la eficacia de aplicar un factor de crecimiento de células madre al medio de cultivo. Los ovocitos fueron evaluados en fresco (T0), a los 7, a los 14 y a los 21 días de cultivo (T7, T14 y T21).

Una vez cultivados y procesados se observó que aquellos ovocitos disagregados con métodos mecánicos se mantenían en un número mayor que los ovocitos disagregados con métodos enzimáticos en todos los tiempos de cultivo. Al mismo tiempo se observó que el número de células degeneradas (ovocitos no viables) fue menor entre los ovocitos disagregados mecánicamente. Por otro lado, es importante señalar que en los cultivos en que se empleó el suplemento de factor de crecimiento de células madre los valores de ovocitos obtenidos fueron mucho mayores que en aquellos que fueron cultivados únicamente con medio de cultivo estándar. El factor de crecimiento disminuyó además el número de células degeneradas independientemente del método de disagregación empleado.

Además de estos importantes resultados metodológicos, se observó que el proceso de apareamiento y sinapsis se desarrollaba de forma equivalente a los procesos observados *in vivo* y que no se presentaron patrones anormales. En el caso de la recombinación, ésta solo se pudo observar en los ovocitos obtenidos con métodos de disagregación mecánica y que fueron cultivados con factor de crecimiento de células madre. La recombinación entre los cromosomas homólogos mimetizó lo descrito en *in vivo*.

Nuestro trabajo describe por primera vez una técnica que permite cultivar ovocitos fetales humanos y que estos emulen los patrones descritos tanto como para apareamiento y sinapsis como recombinación en *in vivo*. Los resultados obtenidos son reproducibles, fiables y estandarizados por lo que este modelo puede ser aplicado en la evaluación de agentes tóxicos y permite valorar su efecto en las primeras etapas de la reproducción humana.

Montserrat Garcia Caldés
montserrat.garcia.caldes@uab.es

Referencias

"A new culture technique that allows *in vitro* meiotic prophase development of fetal human oocytes". M.A. Brieño-Enríquez, P. Robles, R. García-Cruz, I. Roig, L. Cabero, F. Martínez, M. Garcia Caldés. Human Reproduction, Vol.25, No.1 pp. 74–84, 2010.

[View low-bandwidth version](#)