

## 65 Relación entre daño mitocondrial y producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en embriones bovinos producidos *in vitro* con alto y bajo potencial de desarrollo

César Serrano<sup>1</sup>, Martha Olivera Ángel<sup>2</sup>, Carlos Vélez<sup>3</sup>, Marlene Jiménez<sup>3</sup>

### PALABRAS CLAVE

BOVINO  
DESARROLLO EMBRIONARIO  
RADICALES LIBRES

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Los embriones producidos *in vitro* (EPIV) presentan bloqueo en el desarrollo en el momento de la activación del genoma (8-16 células en bovinos), limitando la producción de blastocitos (35%). Este fenómeno ha sido relacionado con la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO). Entre las fuentes de ERO se han descrito altas tensiones de oxígeno, exposición a la luz y alteración del metabolismo oxidativo (1). Los EPIV con baja competencia para superar el bloqueo presentan fallas en la funcionalidad mitocondrial (1) y nucleolar, exhibiendo un retardo en su tasa de clivaje (2). Algunos autores han relacionado el tiempo al primer clivaje con la cantidad relativa de ciertos transcriptos, como Glutatión (2), un limpiador de ERO, sugiriendo que los embriones incompetentes presentan fallas transcripcionales que les impiden defenderse contra las ERO producidas en cultivo, quizás manteniendo niveles elevados de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lo que los hace más susceptibles al daño celular.

Hasta el presente no se ha efectuado un estudio de cinética de producción de ERO, en EPIV bovinos con alta y baja competencia durante el desarrollo temprano, ni se ha logrado esclarecer el papel de la mitocondria en la generación de ERO (como fuente o como blanco).

Los objetivos de este estudio son determinar la cinética de producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en embriones con alta y baja competencia para superar el bloqueo y la relación de éstos con procesos de daño mitocondrial y mortalidad embrionaria.

### METODOLOGÍA

Embriones bovinos (n=600) producidos convencionalmente se evaluarán a las 32 horas post-inseminación (hpi), conformando el grupo de alta (clivaje < 32 hpi) y baja (clivaje > 32 hpi) competencia. De cada grupo a tiempos determinados (32, 40, 50, 100 y 168 hpi) se seleccionarán 50 embriones para determinar la cinética de los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el daño mitocondrial y la mortalidad embrionaria con la metodología de fluorescencia de 2'7' diclorodihidrofluoresceína diacetato (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), DiOC<sub>6</sub> (marcador mitocondrial) y naranja de acridina/bromuro de etidio (viabilidad celular).

### RESULTADOS ESPERADOS

Encontrar posibles mecanismos disparadores de los procesos de daño celular (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en embriones bovinos producidos *in vitro* y aproximarnos al conocimiento de los mecanismos responsables del bloqueo en el desarrollo.

### BIBLIOGRAFÍA

1. CAMARGO O, RAMIREZ JL, OLIVERA-ÁNGEL M. Radicales libres y desarrollo embrionario. *Rev Col Cienc Pec* 1999. 12: 108-118.
2. EDWARDS JL, KING WA, KAWARSKY SJ, EALY AD. Responsiveness of early embryos to environmental insults: Potential protective roles of HSP70 and glutathione. *Theriogenology* 2001; 55: 209-223.

Grupo Fisiología y Biotecnología de la Reproducción BIOGÉNESIS – Grupo NEUROCIENCIAS. Universidad de Antioquia

<sup>1</sup> Estudiante de Maestría. Ciencias Básicas Biomédicas – Universidad de Antioquia

<sup>2</sup> Coordinadora, Fisiología y Biotecnología de la Reproducción. Investigadora Asociada, Universidad de Antioquia

<sup>3</sup> Grupo NEUROCIENCIAS – Universidad de Antioquia  
mvzucc@yahoo.com

## 66 Caracterización del metabolismo energético y proteico, y de la actividad gluconeogénica y ovárica en vacas en lactancia temprana

Rubén Galvis<sup>1</sup>, Héctor Correa<sup>2</sup>, Guillermo Henao<sup>3</sup>, Hemerson Moncada<sup>4</sup>, Nicolás Ramírez<sup>5</sup> y Wilmer Soler<sup>6</sup>.

### PALABRAS CLAVE

VACAS LACTANTES  
LACTANCIA TEMPRANA  
NUTRICIÓN  
METABOLISMO  
ACTIVIDAD HEPÁTICA

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Frecuentemente se observa en sistemas de lechería especializada la incidencia de diversas disfunciones metabólicas y reproductivas a las que se les atribuye un origen nutricional. Por ello el objetivo de este proyecto es caracterizar algunas de las posibles relaciones entre el balance proteico y energético, su metabolismo, y las alteraciones en la actividad gluconeogénica y ovárica en vacas durante la lactancia temprana.

### METODOLOGÍA

Se seleccionaron 10 vacas Holstein cursando la segunda o tercera lactancia alimentadas con kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y concentrado comercial. Se tomaron biopsias hepáticas los días 12 preparto, 12, y 24 posparto para estimar la actividad gluconeogénica. El día 12 preparto, 12, 24, 35 y 100 posparto (periodos) se tomaron muestras de sangre para determinar el nitrógeno ureico (BUN), colesterol total (CT), la glucosa, la glutamato-oxaloacetato transaminasa (GOT), la insulina y el factor 1 de crecimiento insulinoide (IGF 1). Se midieron la ganancia de peso (GP) y la producción de leche (PL). Cada cuatro días entre los días 12 y 40 posparto se determinó la concentración de progesterona (p4) en sangre. Se hicieron comparaciones de medias por periodos y se estableció la relación entre metabolitos, hormonas, PL y GP mediante ecuaciones de regresión lineal. Los análisis estadísticos se realizaron en SAS (1).

### RESULTADOS PARCIALES

Hubo diferencias entre periodos para GOT (p<0,025), CT (p<0,0001), glicemia (p<0,001), IGF 1 (p<0,0001), GP (p<0,12) y PL (p<0,0001). Hubo relaciones lineales positivas para el CT en función de la GP (p<0,098), y para la GOT en función del CT (p<0,014), y una relación lineal negativa para la PL en función de la insulina (p<0,01).

### DISCUSIÓN

Las diferencias entre medias están acordes con los cambios esperados dadas las adaptaciones metabólicas reportadas para la lactancia temprana (2). La relación entre CT y GP se explica por un balance energético más apropiado para la GP y la síntesis de CT (3). El incremento en GOT posparto es respuesta a adaptaciones hepáticas ante incrementos en la actividad metabólica, parte de la cual tiene que ver con la síntesis de CT. La relación negativa entre la PL y la insulina se explica por el direccionamiento de nutrientes hacia el tejido mamario cuando la insulina disminuye (2).

### BIBLIOGRAFÍA

1. SAS USERS GUIDE: Statistics, Release. 6.03 Edition, 1988. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
2. BAUMAN DE, CURRIE WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci* 1980; 63: 1.514-1.529.
3. OVERTON TM. 1999. Update and new perspectives on interactions of nutrition and reproduction in lactating dairy cows. 6 p. <http://www.ansci.cornell.edu/dm/dm/html>

<sup>1</sup> Estudiante de Maestría en Bioquímica Nutricional, Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, bengalez@agronica.udea.edu.co

<sup>2</sup> Profesor, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia

<sup>3</sup> Profesor, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia

<sup>4</sup> Profesor, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia

<sup>5</sup> Profesor, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia

<sup>6</sup> Profesor, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.