

DESCELULARIZACIÓN DEL OVIDUCTO PORCINO POR EL MÉTODO DE INMERSIÓN-AGITACIÓN

Martínez-López^{1*}, C.R., Izquierdo-Rico^{2,3}, M.J. y García-Vázquez^{1,3}, F.A.

¹Dpto. de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia 30100, España.

²Dpto. de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Murcia 30120, España. ³Instituto de Investigaciones Biomédicas de Murcia (IMIB-Arrixaca), Murcia, España
*cristina.martinez67@um.es

INTRODUCCIÓN

La descelularización es una técnica que consiste en la eliminación del material celular y nuclear de un órgano o tejido (Abaci & Guvendiren, 2020). Se trata de una técnica con múltiples aplicaciones, especialmente en el campo de la ingeniería de tejidos, ya que la matriz obtenida contiene todos los factores necesarios para promover la migración, proliferación y diferenciación celular (Hellström *et al.*, 2017). A nivel reproductivo se ha conseguido la descelularización completa de varios tejidos (Raya-Rivera *et al.*, 2014; Campo *et al.*, 2017; Frazão *et al.*, 2020). Sin embargo, hasta la fecha hay pocos estudios que demuestren las propiedades de los bioandamios obtenidos de oviductos descelularizados. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia de la técnica de descelularización en oviductos de la especie porcina (frescos vs. congelados) por el método de inmersión-agitación (ciclo 0-0 h vs. ciclo 1-24 h vs. ciclo 2-48 h) a través del estudio histológico de los componentes de la matriz extracelular.

MATERIAL Y MÉTODOS

El procedimiento de descelularización se llevó a cabo sobre un total de 8 oviductos ($n = 4$ para cada tratamiento: fresco y congelado), empleando dos detergentes: dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0,1 % y Tritón X-100 al 1 %. El protocolo utilizado consistió en dos ciclos idénticos de 24 horas de duración cada uno (Campo *et al.*, 2017). Una vez terminado el tiempo de descelularización correspondiente (ciclo 1 y ciclo 2) se tomaron muestras y se fijaron en formol (4 %, 24 h). Para contrastar los resultados obtenidos se utilizó como muestra control oviductos no sometidos a ningún tratamiento ($n = 8$). Tras el procesamiento histológico, las muestras se tiñeron con los siguientes colorantes: hematoxilina-eosina para el recuento nuclear, tricrómico de Masson para el recuento de colágeno y orceína para el recuento de fibras elásticas. El recuento se llevó a cabo en un total de 10 campos a 400x (recuento nuclear) y a 200x (recuento de colágeno y elastina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados histológicos demostraron una reducción significativa del número de núcleos entre el ciclo 0 ($793,09 \pm 35,99$) y el ciclo 2 en ambos tratamientos, órgano fresco y congelado ($0,63 \pm 0,25$, $p = 0,002$ y $0,29 \pm 0,12$, $p = 0,003$; respectivamente). En los oviductos sometidos a un tratamiento de congelación se observó una reducción más acusada del número de núcleos al final del primer ciclo ($10,1 \pm 5,41$) en comparación con los oviductos frescos donde el número de núcleos fue mayor ($218,09 \pm 138,69$). Por otro lado, el porcentaje de colágeno y de elastina al final del ciclo 2 (% colágeno: $32,56 \pm 3,40$ y $33,02 \pm 6,93$ para el tratamiento fresco y congelado, respectivamente; % elastina: $28,96 \pm 3,04$ y $22,75 \pm 2,90$ para el tratamiento fresco y congelado, respectivamente) fueron similares al de la muestra control (% colágeno: $39,43 \pm 6,16$; % elastina: $28,11 \pm 2,76$), no observándose diferencias significativas entre los ciclos ni entre los tratamientos ($p > 0,05$ en todos los casos).

CONCLUSIÓN

En conclusión, los hallazgos del estudio indican que el protocolo usado es efectivo para conseguir una descelularización completa de oviducto porcino, conservando al mismo tiempo los componentes de la matriz extracelular. Por otro lado, los resultados parecen señalar que el tratamiento de congelación-descongelación induce la lisis celular acelerando el proceso de descelularización del órgano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Abaci & Guvendiren. 2020. *Adv Healthc Mater.* 9(24): 2000734. • Campo *et al.* 2017. *Biol Reprod.* 96(1): 34-45. • Frazão *et al.* 2020. *Methods Cell Biol.* 157: 23-35. • Hellström *et al.* 2016. *Ann Biomed Ing.* 2017. 45(7): 1718-30. • Raya-Rivera *et al.* 2014. *The Lancet.* 384(9940): 329-336.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-106380RB-I00 MCIN/AEI/10.13039/501100011033).