LAS CITOQUINAS IFG-1, LIF Y FGF-2 NO MEJORAN LA CALIDAD DE LOS EMBRIONES PORCINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*

Piñeiro-Silva[1,2], C., Navarro-Serna[1,2], S., Gadea[1,2], J., Romar[1,2], R.
[1]Dept. Fisiología. Universidad de Murcia. [2]IMIB-Arrixaca; rromar@um.es

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de reproducción asistida en la especie porcina han permitido la producción de cerdos con fines tanto productivos como biomédicos. Las condiciones de maduración *in vitro* (MIV) y desarrollo embrionario son factores que juegan un papel clave en la eficacia de estas técnicas. Para mejorar la calidad embrionaria, recientemente se han empleado diversas citoquinas, denominadas embriokinas por su papel en la regulación del desarrollo embrionario (Tríbulo *et al*., 2017), como *fibroblast growth factor 2* (FGF2), *leukemia inhibitory factor* (LIF) e *insulin-like growth factor 1* (IGF1) (Yuan *et al*., 2017). Estos factores, añadidos como suplemento al medio de MIV mejoran la calidad embrionaria (Yuan et al, 2017) aunque se desconoce si este efecto es mayor si además se añaden durante el cultivo embrionario. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar si la adición de estas embriokinas durante la maduración y cultivo embrionario *in vitro* mejora la tasa y calidad de los blastocistos obtenidos tras un proceso de fecundación *in vitro* (FIV).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los complejos cúmulus-ovocito (COCs) fueron obtenidos de ovarios de cerdas prepúberes y madurados *in vitro* 42h en medio NCSU-37 suplementado o no con FGF2, LIF e IGF1 (40, 20 y 20 ng/ml; grupos FLI *vs*. Control). Tras la MIV, los COCs fueron parcialmente denudados e inseminados en medio TALP (Cánovas *et al*., 2017). Una pajuela de semen congelado de un verraco con fertilidad testada se descongeló durante 30 s a 38ºC y los espermatozoides se seleccionaron mediante swim-up (NaturARTs-PIG sperm swim-up, EmbryoCloud, Murcia, España). Los presuntos cigotos se cultivaron en medio NCSU23 suplementado o no con FGF2, LIF e IGF1 (mismas concentraciones que en MIV) (Cánovas *et al*., 2017). El día 2 post-inseminación (pi) se evaluó la tasa de primera división embrionaria (%Div) y a día 6 pi la tasa de formación de blastocistos (%Blast) que fueron fijados y teñidos con Hoechst para realizar recuento celular. 272 cigotos fueron evaluados en dos réplicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tasas de desarrollo embrionario (%Div, %Blast) y su calidad, evaluada como número de células por blastocisto, fue similar para los grupos FLI y control (n=162 y 110; 51,23% vs. 44,55%; 26,54% vs. 20,91% y 52.36±3.03 vs. 58.83±10.67 células/blastocisto, respectivamente). Estos resultados no coinciden con los reportados en la especie porcina (Yuan *et al.* 2017) pero si en la bovina (Stoecklein *et al*., 2021). Esta discrepancia puede estar basada en los distintos medios de MIV empleados (TCM-199 en el estudio de Yuan *et al*.; NCSU-37 con 10% fluido folicular porcino en nuestro estudio) y la baja tasa de maduración nuclear (~60%) reportada por Yuan *et al.* (2017) que en nuestro caso se sitúa por encima del 90% y dificulta detectar mejorías en el sistema de maduración. Además, el fluido folicular porcino contiene FGF2 (Schams *et al*., 2009), LIF (Arici et al*.,* 1997) e IGF1 (Howard *et al.,* 1992). Por otro lado, sí hemos observado de forma subjetiva un aumento en la expansión de las células del cúmulus y del espacio perivitelino de los ovocitos madurados con FLI respecto al grupo control, como describen Yuan *et al*., (2017). Aunque no se hayan encontrado diferencias en las tasas de desarrollo embrionario, deben explorarse en el futuro otros parámetros de calidad embrionaria como la criotolerancia, expresión de genes en el embrión o el rendimiento de la transferencia embrionaria.

CONCLUSIÓN

En nuestras condiciones experimentales, la adición de las citoquinas IFG-1, LIF y FGF-2 no mejoran la calidad de los embriones porcinos producidos *in vitro*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Arici, A., *et al.* 1997. Hum. Reprod. 12: 1233-1239. • Cánovas, S., *et al*. 2017. ELife. 6: e23670 • Howard, H., *et al.* 1992. Biol. Reprod. 47:193-201. • Schams, D., *et al*. 2009. Reproduction. 138: 141-149. • Stoecklein, K.S., *et al.* 2021. PLoS One.16(2):e0243727. • Tríbulo, P., *et al*. 2017. J. Dairy Sci. 101: 690-704. • Yuan, Y., *et al.* 2017. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 114: E5796-E5804

Agradecimientos: Proyectos MINECO AGL2015- 66341-R y Fundación Seneca Región de Murcia 20040/GERM/16 y 21105/PDC/19