

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES FRESCOS A TIEMPO FIJO: ALGUNAS VARIABLES QUE AFECTAN LA TASA DE PREÑEZ*

Méd. Vet. Javier Mariano Irouléguy. 2009. Engormix.

*Tesina de la Orientación de Producción Bovinos de Carne, presentada como parte de los requisitos del alumno para optar al grado de Veterinario. Fac. de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina.
www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Trasplante embrionario y clonación](#)

RESUMEN

La Transferencia Embrionaria (TE) es una técnica que permite lograr un mayor aprovechamiento de los animales genéticamente superiores, como toda técnica posee muchas ventajas, y algunas desventajas. Algunas de las ventajas que trae aparejada su utilización son: mayor progreso genético, multiplicación de los llamados fenotipos deseables, comercialización de embriones, etc. El desarrollo de tratamientos de sincronización que posibilitan efectuar la transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF), ha sido un aporte significativo ya que no sólo mejora el manejo de las receptoras debido a la omisión de la detección de celo, sino que también posibilita un mayor aprovechamiento de las mismas. El resultado de la TE se ve influenciado por distintas variables que las podemos agrupar como, relacionadas con el embrión, con la receptora y con la transferencia propiamente dicha. El objetivo de este trabajo fue analizar la incidencia del estadio de desarrollo embrionario, de la calidad del embrión y de la época de transferencia sobre el porcentaje de preñez en un programa de TETF. Se analizaron los resultados de 137 transferencias de embriones frescos que se realizaron en dos épocas del año (Otoño-Invierno y Primavera). El porcentaje de preñez que se obtuvo con la transferencia de Mórulas compactas 48,4% (30/62), resultó similar al logrado con Blastocistos 55,0% (22/40). De manera similar, no se observaron diferencias entre distintos grados de calidad embrionaria definidas por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria: Grado 1, 52,9% (27/51); Grado 2, 53,1% (26/49) y Grado 3, 43,2% (16/37). En cambio, el porcentaje de preñez obtenido en Otoño-Invierno, 71,4% (30/42) difirió ($p < 0,01$) del logrado en Primavera, 41,1% (39/95). Se concluye que, en un programa de TETF, el porcentaje de preñez que se obtiene con la transferencia de embriones frescos es afectado por la época del año. No obstante, estos resultados preliminares deben ser corroborados sobre un mayor número de animales

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia de la transferencia embrionaria

La tecnología de la transferencia de embriones (TE) en bovinos requiere de la selección y el manejo, tanto físico como farmacológico, de las donadoras y las receptoras, y también de la recolección y transferencia de los embriones dentro de un periodo corto y específico después del estro (Mapletoft, 2006).

La TE se realiza desde hace más de treinta años (Merton *et al.*, 2003, citado por Mollo *et al.*, 2007). Hoy en día es muy utilizada en todo el mundo (Cutini, *et al.*, 2000; Duica, *et al.*, 2007) y tiene como principal objetivo la obtención de crías a partir de donadoras genéticamente superiores, utilizando el útero de receptoras de menor valor económico para llevar la gestación a término (Bó, 2000).

Dentro de las ventajas que presenta la técnica podemos mencionar (Duica *et al.*, 2007):

- ◆ Obtención de una descendencia genéticamente superior.
- ◆ Disminución del riesgo de contagio de enfermedades infecciosas.
- ◆ Mejoramiento genético de un grupo de animales a corto plazo.
- ◆ Multiplicación de las características de una hembra genéticamente superior.
- ◆ Rescate genético de animales accidentados o enfermos permanentes de los que se pudieran obtener embriones antes de que el animal muera.
- ◆ Movimiento nacional e internacional de animales de alto valor genético (importación y exportación).
- ◆ Maximiza el uso de material seminal de alto valor.
- ◆ Permite hacer una planificación de los cruzamientos.

1.2. transferencia de embriones a tiempo fijo

Uno de los principales inconvenientes que posee la técnica de TE es la detección de celos en las receptoras, sobre todo en animales *Bos Indicus* (Peres *et al.*, 2006). Esto se debe a la baja eficiencia que existe en la detección del celo hecho que influye en el costo de mantenimiento de una receptora hasta que queda preñada y en consecuencia en el costo de la preñez lograda siendo considerado uno de los puntos críticos de la técnica de TE (Beal y Hinshaw, 2000, citado por Peres *et al.*, 2006). Entre los factores que afectan la detección de celos se puede nombrar a la persona encargada de la misma, en cuanto al tiempo que utiliza en realizar dicha actividad. Otro factor que influye es la cantidad de vacas que conformen el rodeo, debido a que si hay muchas vacas en celo al mismo tiempo ellas se agruparán formando el grupo sexualmente activo y facilita dicha actividad. Con el fin de evitar la detección de celos se desarrollaron métodos de sincronización de la ovulación para facilitar la TE en forma sistemática, o también llamada transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF) en donde se mejora no solo el manejo del rodeo debido a la omisión de la detección de celo, sino que también se obtiene un mayor aprovechamiento de las receptoras que inician el programa de sincronización.

Dichos métodos corresponden a tratamientos mediante el uso de GnRH, administrada al día 0, un agente luteolítico (PGF) en el día 7 y una segunda dosis de GnRH en el día 9 (Protocolo Ovsynch) que ha dado resultados aceptables. Un método alternativo al mencionado es el uso de dispositivos con P4 combinado con estradiol, permitiendo esta una efectiva sincronización de la nueva onda folicular. En el momento de retirar el dispositivo se administra PGF. Luego de retirado el dispositivo se aplica estradiol o hCG resultando en una efectiva sincronización de la ovulación y en aceptables tasas de preñez. Además, adelantando el momento de la aplicación de la PGF y administrando una dosis de eCG se ha logrado incrementar las tasas de preñez en receptoras de embriones tratadas con dispositivos con P4 y estradiol (Bó *et al.*, 2006).

En conclusión, se puede optar según costos y posibilidades propias de cada establecimiento, por un tratamiento (con detección de celos) u otro (TETF). Un protocolo que resulta en una tasa de receptoras transferidas del 80 al 85% y una tasa de preñez final del 50% es económicamente eficiente, sobre todo teniendo en cuenta que elimina la necesidad de la detección de celos y disminuye el intervalo desde el tratamiento a la preñez (Bó *et al.*, 2006).

1.3. Factores que afectan el resultado de preñez

El éxito de un programa de TE se mide por el número de terneros que nacen vivos por hembra donante en un determinado lapso de tiempo (Peres *et al.*, 2006). Los resultados se ven afectados por una serie de factores inherentes a la donante, al embrión, a la aplicación de la técnica y a las receptoras, quienes reciben un embrión extraño a nivel uterino, permitiendo su desarrollo gestacional (Duica *et al.*, 2007; Peres *et al.*, 2006).

Factores como la raza de los animales a utilizar, selección de la donante así como la receptora, manejo de las hembras, respuesta de los animales a los tratamientos de sincronización, técnica para realizar la TE, día en que se efectúa la transferencia del embrión, calidad del embrión, respuesta de la receptora al embrión transferido, interacción embrión-hembra han sido estudiados tratando de estandarizarlos para obtener mejores resultados; pero sin duda uno de los factores más importantes en la obtención de resultados positivos, representados en preñeces y nacimientos, es la óptima selección de la hembra que va a recibir un embrión en su útero, de manera tal que pueda brindarle unas condiciones adecuadas que permitan la supervivencia, nidación y desarrollo de este. Esta gran cantidad de factores que afectan el éxito de la TE, explican la variabilidad de los resultados obtenidos.

Dentro de los **factores embrionarios**, la calidad influye claramente en el resultado de la transferencia, independientemente de que los embriones sean frescos, criopreservados, micromanipulados y/o producidos *in vitro* (Cutini *et al.*, 2000). La congelación afecta la viabilidad de los embriones producidos *in vivo*, no obstante, como las diferencias no son sustanciales se compensan con las ventajas que la técnica trae aparejada. La viabilidad post transferencia de los embriones producidos *in vitro* y/o micromanipulados es marcadamente inferior a la de los embriones producidos *in vivo*, tales diferencias se acrecientan cuando dichos embriones son criopreservados (Cutini *et al.*, 2000).

A continuación se describirán algunos factores relacionados con el embrión que afectan el resultado de la TE:

I. Estadio del desarrollo:

El efecto que causa el estadio del desarrollo del embrión no está del todo claro debido a que hay diferentes trabajos con resultados variables. En un trabajo realizado por Bó (2008), no observó diferencias en el porcentaje de preñez obtenido de embriones congelados en diferentes estadios de desarrollo (Tabla 1). Por otro lado, blastocistos tempranos y blastocistos resultaron en mayores porcentajes de preñez que mórulas, blastocistos expandidos y blastocistos protruidos (Hasler, citado por Cutini *et al.*, 2000).

Tabla 1.- Porcentaje de preñez obtenido transfiriendo embriones congelados en diferente estadio de desarrollo (Bó, 2008).

Estadio del Embrión	Mórula	Blastocisto Temprano	Blastocisto	Blastocisto expandido
Preñez embriones - Calidad I	48/108	22/41	28/54	2/5
%	44	54	52	40

Otros autores, obtuvieron mejores resultados con blastocistos que con mórulas; así, Dochi, *et al.* (Citado por Cutini *et al.*, 2000) observaron que mórulas y blastocistos tempranos resultaron en porcentajes de preñez más elevados que blastocistos o blastocitos expandidos. Contrariamente, Cutini *et al.*, 2000 no han hallado efecto del estadio de desarrollo.

II. Calidad Embrionaria:

La clasificación que se utiliza para los embriones en la mayoría de los casos sigue la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria que agrupa los embriones según su calidad en 4 grados: I (excelentes y buenos), II (regulares), III (pobres) o IV (degenerados). Existen diferentes trabajos que indican que embriones Grado I tienen más altas probabilidades de alcanzar la preñez que aquellos clasificados como de Grado II, tanto en TE en fresco, sin criopreservar (Tabla 2), como congelados (Tabla 3). Embriones clasificados como excelentes o buenos tienen una alta probabilidad de alcanzar la preñez. No obstante, debe considerarse que embriones calificados excelentes luego de ser transferidos normalmente, no terminan en preñez, mientras que embriones de buena calidad y transferidos con algún tipo de problema, resultan en preñeces y nacimientos normales (Cutini *et al.*, 2000).

Tabla 2. Efecto de la calidad de embriones producidos in vivo y transferidos en fresco sobre el porcentaje de preñez (Cutini, et al, 2000)

Autores	Calidad Embrionaria	Embriones Transferidos	Receptoras Preñadas	
			Nº	%
Wright(1981)	Buena	1748	1122	64,2 ^a
	Regular	438	198	45,2 ^b
	Pobre	100	33	33,0 ^c
Hasler et al.(1987)	Buena	5521	4037	73,1 ^a
	Regular	304	181	59,5 ^b
	Pobre	76	31	40,8 ^c

Valores con superíndices diferentes dentro de cada autor difieren: P<0,05

Tabla 3.- Efecto de la calidad de embriones producidos in vivo previo a la congelación sobre el porcentaje de preñez (Cutini, et al, 2000).

Autores	Calidad Embrionaria pre-congelación	Embriones Transferidos	Receptoras Preñadas	
			Nº	%
Leibo(1986)	Excelente	173	84	48,6 ^a
	Buena	220	98	44,6 ^a
	Regular	83	20	24,1 ^b
Arreseigor et al.(1998)	Excelente	233	133	57,1 ^a
	Buena	276	146	52,9 ^a
	Regular	276	86	31,2 ^b
Munar et al.(1998)	Excelente	1633	996	60,9 ^a
	Buena	565	301	53,3 ^b
	Regular	123	49	39,8 ^c

Valores con superíndices diferentes dentro de cada autor difieren: P<0,05

Además los embriones de baja calidad tienen una mayor probabilidad de sufrir muerte embrionaria cuando se transfieren que aquellos que son morfológicamente normales (Cutini *et al.*, 2000).

La incapacidad de lograr la preñez por parte de algunos embriones clasificados como de buena calidad puede ser explicado en parte por el estudio realizado por Aguilar y Gallina (2002), en el cual encontraron que el 30% de los embriones clasificados como de buena calidad al ser evaluados por microscopía de luz y electrónica presentaron características de embriones en estado de degeneración, de esta forma demostraron que si bien hoy en

día la clasificación es muy subjetiva y se realiza por microscopia estereoscópica tiene sus errores y hacen que embriones sean transferidos o más grave aun congelados disminuyendo la posibilidad de una gestación.

Si bien la calidad embrionaria puede determinar los resultados obtenidos, otros factores relacionados con la receptora o con la transferencia podrían modificar dichos resultados.

Con respecto a los **factores relacionados con la receptora**, además de una variedad de parámetros que deben ser evaluados, como el factor racial, edad, estado fisiológico, sanidad, peso, integridad del tracto reproductivo y manejo, es de gran importancia hacer un seguimiento de las estructuras ováricas presentes durante la sincronización del estro, así, como de las etapas previa y posterior a transferir el embrión. De este modo, un óptimo desarrollo folicular será determinante para la formación de un cuerpo lúteo (CL) que genere concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) suficientes para ofrecer un medio ambiente uterino adecuado y favorecer el óptimo desarrollo embrionario (Duica *et al.*, 2007).

Al momento de la transferencia, la receptora ideal es aquella con sincronismo o con un asincronismo de +/- 24 h, en la que se ha comprobado la presencia del CL; además se debe relacionar el estadio de desarrollo embrionario con el día del ciclo de la receptora (Cutini *et al.*, 2000).

Las receptoras deben ser reproductivamente sanas para recibir un embrión y llevar la gestación a término, poseer un tamaño que les permita parir sin dificultades y deben ser de buena capacidad lechera para alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético.

A continuación se describirán algunos factores relacionados con la receptora que afectan el resultado de la TE:

I. Raza:

Generalmente se prefiere a las razas cruzas antes que a las puras, posiblemente porque las primeras sean más fértiles. Según algunos autores, las cruzas entre las razas británicas y la Holstein son preferibles a las cruzas continentales porque ellas son mas baratas, de tamaño medio y de buen potencial lechero (Cutini *et al.*, 2000).

En un estudio realizado con embriones congelados y vitrificados, no se hallaron diferencias de preñez entre receptoras de razas lecheras (46,0%), carniceras (43,2%) y doble propósito (43,9%) (Van Wagendonk-de Leeuw *et al.*, 1997, citado por Cutini *et al.*, 2000).

II. Categoría:

Hay criterios desentrañados respecto a si es mejor utilizar vaquillonas o vacas. Los que proponen el uso de vacas lo hacen argumentando que las mismas ya han parido alguna vez. Por otro lado, las vaquillonas son seleccionadas principalmente como receptoras por razones económicas, logísticas y técnicas, entre ellas podemos mencionar que es menos probable que se encuentren bajo estrés nutricional o que tengan una historia con problemas sanitarios, además el útero virgen es más apropiado para recibir un embrión transferido. Se considera que, así como en la inseminación artificial, en la transferencia embrionaria se obtiene mayor porcentaje de preñez en vaquillonas que en vacas.

En un trabajo en el cual se determinó la influencia de la categoría sobre el porcentaje de preñez concluyeron que las receptoras con mayores porcentajes de preñez fueron las vacas con cría, seguidas por aquellas vacas que destetaron sus crías ($P \leq 0,05$, Villarreal *et al.*, 2009). Posteriormente se ubicaron las vaquillonas y por último, las vacas secas. Estas, fueron vientres que no se habían preñado en el último servicio y quizás esa haya sido la causa de su baja fertilidad (Tabla 4).

Tabla 4: Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras (Villarreal, et al., 2009).

Categoría	Totales	Preñez (%)
1-Vaquillona	53	45,3 ^a
2-Vaca c/cría al pie	73	61,6 ^b
3-Vaca c/cría destetada	58	56,9 ^{ab}
4-Vaca seca	23	26,1 ^c
Totales	207	52,2

Valores con distintos superíndices difieren significativamente ($p \leq 0,05$)

III. Estado Nutricional:

La alimentación y el estado nutricional en una receptora es un factor muy importante, como ya se sabe cuando un animal entra en déficit alimenticio los primeros que se ven perjudicados son los parámetros reproductivos. Por este motivo este aspecto es de suma importancia más aun considerando que el embrión que se deposita en el útero de una receptora corresponde a un animal de alto valor genético.

La condición corporal (CC) de las receptoras y el contenido energético de la alimentación que estas reciben son los factores más importantes. El cambio que se produce en la CC entre el parto y la transferencia, guarda estrecha relación con el contenido energético de la alimentación que la receptora recibe en dicho periodo. Si se produce una disminución marcada de la CC se afectan el intervalo parto-celo y los porcentajes de preñez y parición (Cutini *et al.*, 2000).

Mapletoft *et al.*, 1986, citado por Cutini *et al.*, 2000, obtuvieron mayor porcentaje de preñez con receptoras de CC 2 y 3, que con aquellas de condición ≤ 1 o ≥ 4 (Tabla 5).

Tabla 5: Tasa de preñez según CC de las receptoras

Condición Corporal	Receptoras Transferidas	
	Nº	Preñez (%)
≤ 1	230	44 ^a
2	460	53 ^b
3	633	55 ^b
≥ 4	175	47 ^a

Valores con superíndices diferentes difieren: $P < 0,05$

IV. Sincronismo donante/receptora y embrión/receptora:

El grado de sincronización que se establece entre la donante y la receptora es otro de los factores importantes que influyen en el resultado final de una TE. Cuando el intervalo entre la ovulación y el lavaje de la donante es igual al comprendido entre la ovulación y la transferencia de la receptora, se habla de una transferencia sincrónica. Este se mide en términos positivos (+) o negativos (-). Si el intervalo entre la ovulación-transferencia en la receptora es un día mayor que el intervalo ovulación-lavaje de la donante, se habla de un asincronismo de + 24 h. Por el contrario -24 h significa que el intervalo de la receptora es un día más corto que el de la donante.

Tabla 6.- Estudio de desarrollo embrionario codificado y edad estimada (Lindner y Wrigth, 1983).

Estadio	Código de desarrollo (estimado en días)
Mórula temprana (Mt)	5
Mórula compacta (Mc)	6
Blastocisto temprano (Bt)	7
Blastocisto (B)	7
Blastocisto expandido (Be)	8
Blastocisto protruido (Bp)	9

El sincronismo entre el momento del ciclo de la receptora y el estadio en que se encuentra el embrión parece constituir un índice más válido de las posibilidades de éxito de la transferencia, razón por la cual deberá ser tenido en cuenta al hacer transferencia. En la Tabla 6 se describe el código de desarrollo, estimado en día, según el estadio embrionario y en la Tabla 7 el efecto de la sincronidad donante/receptora y embrión/receptora sobre la tasa de preñez (Lindner y Wrigth, 1983).

Tabla 7.- Efecto de la sincronidad donante/receptora y embrión/receptora sobre la tasa de preñez (Lindner y Wrigth, 1983)

Sincronicidad en días	Sincronicidad Donante/ receptora			Sincronicidad receptora/embrión		
	Nº	Nº	%	Nº	Nº	%
+ 2	27	11	(41)	76	20	(26) ^c
+1	87	41	(47)	148	73	(49) ^d
0	158	64	(41)	204	107	(52) ^d
-1	175	86	(49)	98	45	(46) ^d
-2	137	56	(41)	58	13	(22) ^c

^{c,d} porcentajes en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ($p < 0,001$)

V. Número y tamaño del o los Cuerpo/s lúteo/s y concentración sérica de progesterona:

Como ya se ha mencionado, para que el embrión transferido logre una preñez, en el útero de la receptora deben darse ciertas condiciones, las mismas están dadas entre otros factores por la existencia de agentes luteotrópicos y la inhibición de los factores luteolíticos.

Rodríguez, *et al.* (2007) citan en su trabajo que para que exista el reconocimiento materno, el embrión debe encontrar un medio uterino apropiado, influido por la P4 lútea, ya que ésta estimula la producción de una variedad de secreciones endometriales tales como el MUC-1 (mucin glycoprotein-1), lactógeno placentario, osteopontinas, necesarias para el adecuado desarrollo de los embriones (Spencer *et al.*, 2004, citado por Rodríguez *et al.*, 2007). Por lo tanto, debe detenerse el proceso luteolítico mediante la expresión de interferon-tau por parte del embrión, evitando la muerte embrionaria temprana (Demmers, 2001 citado por Rodríguez *et al.*, 2007), o favoreciendo la acción de la P4 sobre el endometrio que conlleva a la inactivación de la producción de prostaglandina F2 α (PGF2 α) de forma prematura evitando la formación de cuerpos lúteos de corta duración (Spencer *et al.*, 2004 citado por Rodríguez *et al.*, 2007).

El efecto de la cantidad de cuerpos lúteos o del área total de CL todavía está en discusión y diversos autores indican que es uno de los factores que debería seguir investigándose debido a la variabilidad que existen en los diferentes trabajos.

Según Duica *et al.* (2007), un folículo preovulatorio de 1,3 cm de diámetro genera luego de la ovulación un cuerpo lúteo que el día siete mide 5 mm y produce niveles de P4 plasmática de 1,22 ng/ml y al día 14, el CL mide 6 mm y genera concentraciones plasmáticas de P4 de 2,48 ng/ml. Asimismo, un folículo preovulatorio de mayor tamaño (1,6 cm) da paso a un CL que al día 7 mide 6 mm y produce niveles de P4 plasmática de 1,61 ng/ml y el día 14 el mismo cuerpo lúteo mide 9 mm, generando concentraciones plasmáticas de 3,05 ng/ml (P<0,05); así, al haber una mayor producción de P4 plasmática se esperaría generar unas condiciones uterinas más favorables para el desarrollo embrionario temprano. Por eso es importante determinar el tamaño de las estructuras ováricas antes de realizar la transferencia del embrión a la receptora.

Baruselli *et al.* 2001, citado por Duica *et al.*, 2007 relacionaron el tamaño del CL, la concentración de P4 y el porcentaje de preñez (Tabla 8).

Tabla 8.- Relación tamaño del cuerpo lúteo/producción de P4 y porcentaje de preñez

Tamaño de CL	Concentración de P4	Preñez (%)
>2 cm	2,44 ng/ml	58
>1,5 cm	1,75 ng/ml	41
<1,5 cm	1,19 ng/ml	31

En concordancia con este trabajo Spell (2001, citado por Duica *et al.*, 2007), al encontrar un CL de 2,36 cm de diámetro en receptoras a las que se les fue transferido el embrión el día 7 postcelo, detectó una concentración plasmática de P4 de 4,2 ng/ml y una tasa de preñez del 70%.

Cutini *et al.*, (2000) mostraron la gran variabilidad que existe en los diferentes trabajos realizados por distintos autores, indicando que no es posible establecer una relación entre la calidad del CL y la preñez.

La Tabla 9 muestra el efecto de la calidad del cuerpo lúteo, estimada en función de su tamaño y consistencia a la palpación, sobre la tasa de preñez después de la transferencia embrionaria.

Tabla 9.- Tasa de preñez según la calidad del cuerpo lúteo (Cutini et al, 2000).

Autores	Calidad	Receptoras transferidas (n)	Receptoras Preñadas (n)	Receptoras preñadas (%)
Donaldson (1985)	Excelente	-	-	62,5
	Buena	-	-	59,2
	Regular	-	-	61,3
	Dudosa	-	-	47,7
Hasler y col. (1987)	1	1193	911	76,4
	2	348	251	72,1
	3	58	46	79,3
Liebrich. (1991)*	Muy buena	155	76	49,0
	Buena	78	40	51,3
	Regular y mala	98	51	52,0
Bó y col. (1999)**	1	107	55	51,4
	2	220	112	50,9
Lagomarsino (1999)***	1	378	183	48,4
	2	196	110	56,1

Referencia - (no consignado), * Embriones producidos in vitro, ** Embriones frescos, *** Embriones congelados.

VI. Historia reproductiva de la receptora:

En un trabajo realizado por Peres *et al.*, (2006) en el cual se analizaron las diferentes variables que influyen en el resultado de preñez de las TETF, observaron que había un efecto significativo ($P < 0,05$) de la variable historia reproductiva, en donde se consideraba que las receptoras podían tener dos historias reproductivas, una opción era haber quedado vacía en una TE previa y la otra opción era la de ser receptora por primera vez. Los resultados obtenidos (Tabla 10), concordaban con lo informado por Looney *et al.*, (2006), citado por Peres, *et al.*, 2006, quienes encontraron una reducción del 10% en la tasa de preñez en las receptoras previamente utilizadas.

Tabla 10.- Porcentaje de preñez obtenido en receptoras con diferente historia reproductiva.

Antecedente Reproductivo	Preñada/Transferida	Porcentaje (%)
Vacía en una TE anterior	49/109	44,9 ^a
Vacas utilizadas primera vez	322/562	57,3 ^b

^{a,b} Valores con superíndices diferentes difieren: $P < 0,05$.

VII. Empleo reiterado:

Según se mencionó está claro que hay una diferencia significativa a favor de animales utilizados por primera vez por sobre aquellas receptoras que hayan quedado vacías en una TE previa. Con respecto a este factor surge la duda de cuanto influye el uso reiterado de las mismas. Se ha observado que la tasa de preñez no es afectada hasta la tercera transferencia y que luego tiende a disminuir progresivamente (Cutini *et al.*, 2000). Esto ocurre tanto en vaquillonas como en vacas y con embriones producidos *in vivo* e *in vitro*. En base a esta información se ha establecido un criterio donde se señala que cada receptora podrá tener tres oportunidades de quedar preñada, luego de haber sido transferida correctamente con un embrión de buena calidad (Alberio, 1993).

En la Tabla 11 se pueden apreciar los porcentajes obtenidos por distintos autores luego de efectuar transferencias sucesivas (Cutini, *et al.*, 2000).

Tabla 11.- Efecto de las transferencias reiteradas en receptoras

Autores	Transferencias			
	1°	2°	3°	4°
Donaldson (1985)	58.8 %	52.6 %	56.4 %	50.2 %
Hasler y col (1987)	73 %	72 %	67 %	50 %
Liebrich (1991)*	56 %	46 %	37 %	-

*Embriones producidos *in vitro*

Dentro de los **factores relacionados con la aplicación de la técnica de** transferencia de embriones hay que tener en cuenta que hay diferencias numéricas y en algunos casos significativas según el técnico que realice la transferencia. Tal es el caso del trabajo realizado por Bó *et al.*, 2003, citado por Duica *et al.*, 2007 en donde se evidenciaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en los resultados, representados en tasa de preñez, después de realizar TE, cuatro diferentes operarios que aplicaron la técnica, evaluando también la calificación de la transferencia (Buena, regular, mala) en un grupo experimental, conformado por 867 receptoras. De esta manera, la aplicación de la técnica afectó directamente la eficiencia del programa de TE (Duica *et al.*, 2007).

La obtención de los embriones debe ser realizada por un profesional con experiencia en este tipo de actividades ya que se realiza una gran manipulación del útero y cualquier imprecisión en el manejo de este órgano causaría disminuciones en la obtención de buenos resultados debido a la liberación de prostaglandinas a nivel uterino (Bó *et al.*, 2003, citado por Duica *et al.*, 2007).

I. Estación del año en que se realiza la transferencia de los embriones bovinos:

El estrés calórico producido en ciertas estaciones del año reduce la fertilidad tanto en vacas productoras de leche (Wolfenson *et al.*, 1988; Sartori *et al.*, 2002 citado por Barati *et al.*, 2006) como en vacas productoras de carne (Dunlap y Vincent, 1971, citado por Barati *et al.*, 2006).

Al igual que como se ve afecta la fertilidad en las vacas, el estrés calórico tiene un efecto perjudicial sobre los embriones sobre todo en las etapas tempranas del desarrollo (en el día 1 después de la inseminación, Ealy *et al.*, 1993; Edwards y Hansen, 1997 citado por Barati *et al.*, 2006). Se produce un aumento de la concentración de radicales libres (Ealy *et al.*, 1993 citado por Barati *et al.*, 2006) y una disminución en las proteínas de shock térmico (Edwards y Hansen, 1997 citado por Barati *et al.*, 2006)

Además, se ha reportado que los animales Bos Indicus son más resistentes al estrés térmico comparados con los Bos Taurus (Paula-Lopes *et al.*, 2003, citado por Barati *et al.*, 2006).

Investigaciones que han tratado de determinar la influencia de la estación del año sobre la reproducción de la hembra bovina demostraron su efecto sobre la edad a la cual llegan a la pubertad y sobre la fertilidad. Estos

efectos están asociados con el fotoperiodo, la nutrición y el estrés térmico (Tucker, 1982, citado por Weaver *et al.* 1986).

El estado nutricional y sanitario de las receptoras han sido reconocidos como factores que afectan significativamente el resultado de preñez en receptoras (Scidel, *et al.*, 1980, citado por Weaver *et al.* 1986).

Jared McNaughtan, (2004) en su trabajo señala tres causas de cómo el estrés térmico afecta el resultado de preñez en TE en vaquillonas:

- a) Es más dificultoso de detectar el estro en animales que están sujetos a estrés térmico, debido a que lo expresan alrededor de 4,5 h menos que aquellos que no están estresados. Además la frecuencia de las montas decrece durante los meses más calurosos del año. Una probable razón para la baja expresión del celo es el cansancio físico sufrido por el animal en estrés. Otra posible razón puede tener origen hormonal ya que los animales estresados tienen bajos niveles circulantes de 17β -estradiol, y en algunos casos tienen niveles altos de adrenocorticotropinas, que pueden inhibir el comportamiento causado por el estradiol.
- b) El estrés calórico puede afectar la reproducción, reduciendo los porcentajes de concepción. La disminución en los porcentajes de concepción puede ser el resultado de las variaciones de temperatura y/o una reducción en el flujo sanguíneo al tracto reproductivo. Como resultado del aumento de temperatura y de la variación en el volumen de sangre que llega al útero, la probabilidad de que se produzca muerte embrionaria temprana aumenta.
- c) El estrés calórico eleva los niveles de $PGF2\alpha$. Animales productores de carne y leche han tenido un incremento de la concentración en plasma de $PGF2\alpha$ durante el padecimiento de estrés calórico. Niveles elevados de $PGF2\alpha$ tuvieron un efecto perjudicial en el desarrollo del embrión.

En conclusión, existen numerosos factores que afectan el éxito de la transferencia embrionaria por lo cual es lógico de encontrarse variabilidad en los resultados obtenidos.

2. OBJETIVO

Analizar la incidencia del estadio del desarrollo embrionario, la calidad del embrión y la época de transferencia sobre el porcentaje de preñez en un programa de transferencia de embriones frescos a tiempo fijo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar

El trabajo se realizó en el establecimiento "Quequen Grande", perteneciente a la firma "Quequen Grande S.A." situada en el partido de Necochea, Buenos Aires.

3.2. Animales:

Se utilizaron como receptoras 137 vacas Aberdeen Angus o cruza por Hereford, con una condición corporal promedio de 5,7 (escala 1-9), los animales se encontraban en una pradera cultivada (pastura consociada con base de alfalfa).

Las vacas eran animales adultos pluríparas, con actividad sexual cíclica, siendo negativas a brucelosis, y en perfecto estado sanitario.

3.3. Obtención y transferencia de embriones

Los embriones fueron obtenidos mediante el método no quirúrgico de recolección de embriones, con circuito cerrado de flujo discontinuo. Se emplearon filtros estériles con malla de acero inoxidable de 60-90 μ m de diámetro de poro para el filtrado del medio (medio de flushing Sintex[®]) recuperado directamente del catéter (durante el lavaje) y vaciándose por su parte inferior, quedando los embriones en el medio filtrado.

El volumen de la solución conteniendo los embriones (40-50 ml) se colocó en placas de petri cuadradas. Los embriones encontrados fueron transportados a una placa más chica con medio Bovi Pro Holding (Minitube) a fin de lavar los embriones antes de la transferencia. Una vez que los embriones fueron lavados se realizó la evaluación morfológica de los mismos mediante el uso de lupa estereoscópica (40x).

Los embriones transferidos frescos fueron clasificados teniendo en cuenta el estadio de desarrollo en: Mórula, Blastocisto temprano y Blastocisto, y en grados según las normas de la IETS en: G I (excelentes y buenos), G II (regulares) y G III (malos).

La transferencia de embriones frescos fue llevada a cabo mediante el método de transferencia no quirúrgica.

3.4. Sincronización de las receptoras

El tratamiento de sincronización de celos utilizado para implementar la TETF en las receptoras fue el siguiente:

Día 0: colocación de dispositivos intravaginales con 1 g de P4 (DIB, Sintex S.A) y administración intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Sintex S.A).

Día 7: retiro del DIB y administración de 150 µg de D (+) cloprostenol (CPTENOL, Lab. Prof. Capaul) + 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP, Laboratorios Köning).

Día 9: Se asumió día de celo.

Día 16: Palpación ovárica transrectal para determinar la presencia del CL y TETF, en el cuerno ipsilateral al ovario con CL.

3.5. Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía, a los 30 días de realizada la TETF, utilizando un transductor transrectal de 5 MHz (ecógrafo CHISON VET 500).

3.6. Variables analizadas y análisis estadístico

Se evaluó el efecto del estadio de desarrollo, de la calidad embrionaria y de la época en la que se efectuó la transferencia sobre el porcentaje de preñez; a tal efecto, se utilizó el Proc CATMOD del SAS (1989) y se fijó un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0,05$).

4. RESULTADOS

No se observaron diferencias entre los diferentes estadios de embriones transferidos (Tabla 13) y de la calidad embrionaria sobre el porcentaje de preñez (Tabla 14).

Tabla 13.- Porcentaje de preñez según el estadio de desarrollo embrionario

Estadio de desarrollo	N°	Receptoras Preñadas	
		N°	%
Mórula	62	30	48,4
Blastocisto temprano	35	17	48,6
Blastocisto	40	22	55

Tabla 14.- Porcentaje de preñez según la calidad de los embriones transferidos

Calidad del embrión	N°	Receptoras Preñadas	
		N°	%
Grado I	51	27	52,9
Grado II	49	26	53,1
Grado III	37	16	43,2

A diferencia de lo ocurrido con el estadio de desarrollo y la calidad embrionaria, el porcentaje de preñez fue afectado por la época del año en el que se efectuaron las transferencias. Así, en Otoño-Invierno se obtuvo mayor porcentaje de preñez que en primavera, 71,4% (30/42) vs 41,1% (39/95), respectivamente; $P<0,05$

5. DISCUSIÓN

Estadio:

Cuando se analizaron los resultados obtenidos según el estadio de desarrollo se observó que hay variedad de resultados citados en la bibliografía, así en algunos casos, blastocistos tempranos y blastocistos resultaron en mayores porcentajes de preñez que mórulas, blastocistos expandidos y blastocistos protruidos (Hasler, 1987, citado por Cutini *et al.*, 2000). Otros autores, obtuvieron mejores resultados con blastocistos que con mórulas; Dochi *et al.* 1998, citado por Cutini *et al.*, 2000 observaron que mórulas y blastocistos tempranos resultaron en porcentajes de preñez más elevados que blastocistos o blastocistos expandidos. Contrariamente, otros autores no han hallado efecto del estadio de desarrollo (Cutini *et al.*, 2000).

Según Cutini *et al.* (2000) los porcentajes de preñez para embriones frescos producidos *in vivo* y transferidos en estadio de mórula han sido muy variados oscilando entre 48 y 70%. Cuando los que se transfirieron fueron blastocistos, los porcentajes de preñez fueron del 65-70%.

Autores	Estadio embrionario	Embriones Transferidos	Preñez (%)
Ake López, <i>et al.</i> (1995)	Mórula	13	38,4 % ^a
	Blastocisto	75	53,3 % ^a
Peres <i>et al.</i> (2006)	Mórula	405	53,8 %
	Blastocisto temprano	446	59,4 %
	Blastocisto	291	51,8 %
	Blastocisto expandido	18	33,3 %
Bó <i>et al.</i> (2006)	Mórula	488	50,2 % ^b
	Blastocisto temprano	151	49,7 % ^b
	Blastocisto	171	37,4 % ^c
	Blastocisto expandido	50	34,0 % ^c

Valores con superíndices diferentes dentro de cada autor difieren: $P < 0.05$

Se debe tener en cuenta que al ser una técnica en la cual es multifactorial una sola variable por separado tampoco nos brinda mucha información.

Calidad:

En los trabajos publicados, se registran mayores porcentajes de preñez con embriones con Grados 1 y 2 en comparación con aquellos embriones considerados como de Grado 3.

Según Mollo *et al.* (2007), en su trabajo en donde analizaron diferentes variables para determinar cuáles eran las que afectaban significativamente al resultado de preñez observaron que la calidad era una de esas variables, ya que el resultado para los embriones de Grado 1 fue de 54,5% mientras que el porcentaje para aquellos embriones de Grado 3 fue de 31,9% ($P < 0,0001$).

En otro estudio realizado por Ake López *et al.* (1994), obtuvieron los siguientes resultados: con embriones de calidad excelente (63,4%), comparados con los embriones de calidad buena, regular (44,6% y 44,4 %, respectivamente: $P > 0,05$) y mala (22,2 %: $P < 0,05$).

La variación que existe en los diferentes trabajos publicados puede deberse en parte a que la evaluación que se realiza sobre los embriones es subjetiva y en muchas ocasiones cuesta definir de qué calidad son dichos embriones. De hecho el manual de la Sociedad Internacional de Embriones (1998) dice: "Se debe reconocer que la evaluación visual de embriones es una evaluación subjetiva de un sistema biológico y no es una ciencia exacta. Existen además otros factores, como las condiciones medioambientales, la calidad de las receptoras y la habilidad de los técnicos, que juegan un papel muy importante en la obtención de gestaciones a partir de los embriones transferidos. Se ha reconocido también que existen diferentes sistemas usados para "clasificar" embriones, siendo unos mas sofisticados que otros. El criterio para asignar un "código de calidad" en los formatos estandarizados, fueron simplificados para ser "amigables con el usuario".

En el presente trabajo no se observaron diferencias significativas según la calidad del embrión transferido, siendo el bajo número de animales utilizado una de las posibles explicaciones.

Estación del año:

Con respecto a la estación del año en que se produjo la transferencia se observó una diferencia significativa que se obtuvo entre Otoño-Invierno y Primavera. Mas allá del estrés térmico de los animales al momento de la transferencia, se ha observado que el estrés térmico afecta mas al momento de la recolección de los embriones que a la transferencia, como en este caso fueron embriones frescos la calidad puede haberse visto afectada y de esta forma influir sobre el resultado final.

Además cabe mencionar que puede haber existido una influencia del balance energético en el cual se encontraban los animales, ya que el año en el cual se realizó el trabajo se produjo una importante sequía hídrica que afectó el establecimiento y la producción de forraje.

En un estudio realizado por Bó *et al.*, 2006, en el cual analizaron las diferentes variables que afectan o no un programa de TE encontraron que los mejores resultados se producían en Verano (165/321) seguidos por Otoño-Invierno (42/86) y por ultimo los producidos en Primavera (194/450) con unos porcentajes de preñez de 51,4%, 48,9% y 43,1% respectivamente. En consecuencia, posiblemente el factor nutricional haya sido una de las causa que expliquen el menor porcentaje de preñez obtenido en el presente trabajo cuando la transferencia se realizó en primavera; no obstante, futuros trabajos deberán clarificar este aspecto.

6. CONCLUSIÓN

Se concluye que, en un programa de TETF, el porcentaje de preñez que se obtiene con la TE frescos es afectado por la época del año. No obstante, estos resultados preliminares deben ser corroborados sobre un mayor número de animales.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M., Gallina, C. (2002). Comparison of stereoscopy, light microscopy and ultrastructural methods for evaluation of bovine embryos. *Reprod. Dom. Animal.*, 237, 1-6.
- Alberio, R.H. (1993). Manejo de donantes y receptoras. En G.A Palma & G Brem transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina. Editorial hemisferio sur. Buenos Aires, Argentina. 1ra. Edición 1993, 25-31.
- Ake Lopez, J.R., Alfaro Gamboa, M. E., Holy, L. (1994). Respuesta superovulatoria en Ganado Bos indicus y Bos Taurus bajo condiciones tropicales, y efecto del desarrollo y calidad del embrión sobre el porcentaje de gestación. *Vet. Mex* 26, 189-193.
- Barati, F., Niasari-Naslaji, A., Bolourchi, M., Razavi, K., Naghzali, E. y Sarhaddi, F. (2006). Pregnancy rates of frozen embryos recovered during winter and summer in Sistani cows. *Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz*, Vol. 8, N° 2, Ser. N° 19.
- Bó, G.A., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R.J., Tríbulo, H.E. (2006). transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. Educación Continua. UNCPBA
- Bó, G.A., (2008). Curso de Post grado en Reproducción Animal. Instituto de Reproducción Animal (IRAC). Córdoba.
- Cutini, A., Teruel, M., Cabodevila, J. (2000). Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. *Revista Taurus* N°7, 28-39 y N°8, 35-47.
- Duica, A., Tovio, N., Grajales H. (2007). Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de trasplante de embriones bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria*, julio-diciembre, numero 014. Universidad de La Salle, Bogota, Colombia. Pp 107-124
- Jared McNaughtan (2004). The effect of prostaglandin inhibitor on pregnancy rates of heifer embryo transfer recipients. Tesis de Master en Ciencias del Departamento de ciencias en plantas y animals. Brigham Young University 30
- Manual de la Sociedad Internacional de Embriones (IETS) (2005). Tercera Edición.
- Mapletoft, R. "transferencia de embriones bovinos" (2006). *IVIS Reviews in Veterinary Medicine*, I.V.I.S. (Ed). International Veterinary Information Service, Ithaca NY. Disponible en URL www.ivis.org, Última actualización 17-noviembre-2006.
- Merton, JS. A.P.W. de Roos, E. Mullaart, Ruigh L., Kaal L., P.L.A.M. Vos and S.J. Dieleman, (2003). Factors affecting oocyte quality and quantity in comercial applications of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, 59, 651-674.
- Mollo, A., Lora, M., Faustini, M., Romagnoli, S., Cairolì, F. (2007). Some factors affecting embryo transfer success in dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6, 496-499.
- Palma, G.A., Brem, G. (1993) "transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina". Editorial Hemisferio Sur.
- Peres, L.C., Pincinato, D., Cutaia, L., Bó, G.A. (2006). Simplificación de los programas de transferencia de embriones a Tiempo Fijo en Rodeos Comerciales. *Jornadas de Actualización en Biotecnologías de la Reproducción en Bovinos-IRAC*.
- Rodríguez, JM., Giraldo, C. Castañeda, S., Ruiz, T. Olivera, M. (2007). Análisis multifactorial de las tasas de preñez en programas de transferencia de embriones en Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 12 (2), 978-984.
- Villarreal, J., García Guerra, A., Brogliatti, G.M. (2009). Relación entre diferentes categorías de receptoras de embriones bovinos y la tasa de preñez: una experiencia en la provincia de Chubut. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal-IRAC
- Weaver, L.D., Galland, J., Sosnik, U., Cowen, P. (1986). Factors affecting embryo transfer success in recipient heifers under field conditions. *Dairy Sci* 69, 2711-2717.

[Volver a: Trasplante embrionario y clonación](#)