

LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN BOVINOS SE UTILIZA DESDE HACE MÁS DE 40 AÑOS

Pedro García Herradón, Luis Quintela Arias, Juan Becerra González y Ana Peña Martínez. 2017. Albéitar.com 07.12.17. Departamento de Patología Animal, Universidad de Santiago de Compostela.

www.produccion-animal.com.ar

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

SE UTILIZA CON ASIDUIDAD DESDE HACE MÁS DE 40 AÑOS CON UNOS RESULTADOS MÁS QUE ACEPTABLES

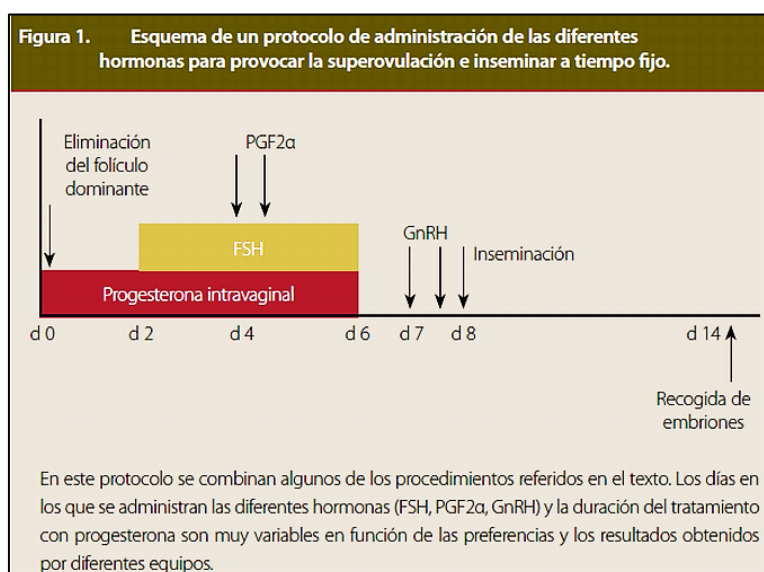
La técnica sirve para incrementar la intensidad de selección en los programas de mejora genética, ya que se obtiene un elevado número de descendientes por unidad de tiempo a partir de las hembras de mayor potencial genético.

La transferencia de embriones es una técnica que consiste en recoger los embriones de una hembra donante y transferirlos al útero de unas hembras receptoras, en las que se completará la gestación. Es una técnica plenamente consolidada, ya que se utiliza con asiduidad desde hace más de 40 años con unos resultados más que aceptables. Su evolución histórica a lo largo de este prolongado periodo puede consultarse en un detallado artículo publicado por Hasler [1].

La transferencia de embriones está ampliamente difundida a nivel global, aunque existen grandes diferencias entre regiones geográficas, tal y como se aprecia en las estadísticas publicadas por la IETS. Así, se observa que más del 75 % de los embriones fueron transferidos en Norteamérica y Europa.

La principal aplicación de esta técnica es incrementar la intensidad de selección en los programas de mejora genética, al permitir obtener un elevado número de descendientes por unidad de tiempo a partir de las hembras de mayor potencial genético. Además, cuando se combina con semen sexado, facilita la obtención de individuos del sexo deseado para la selección, con una eficacia del 90 %. Sin embargo, no debemos olvidar que también puede utilizarse con fines sanitarios, por ejemplo, para evitar la transmisión vertical de *Neospora caninum* transfiriendo los embriones obtenidos en donantes seropositivas a receptoras seronegativas [2].

La técnica se inicia con la estimulación hormonal de la función ovárica de la hembra donante para provocar una ovulación múltiple, en lugar de la ovulación simple propia de esta especie. La hembra es inseminada en el momento apropiado y, posteriormente, se permite a los embriones desarrollarse, en el oviducto y en el útero de la donante, hasta que se recogen mediante el lavado uterino (flushing), que suele efectuarse en el día 7 del ciclo. Los embriones recogidos pueden transferirse a las receptoras de manera inmediata, que llevarán la gestación a término, o conservarse a bajas temperaturas durante un periodo prolongado, proceso denominado criopreservación, que permitirá utilizarlos cuando se estime oportuno.



En el continente europeo se realizaron 20.497 lavados uterinos a lo largo de 2015, y se obtuvieron un total de 127.980 embriones transferibles (6,24 embriones transferibles/recogida). De ellos, fueron transferidos 112.306

(87,75 %), y se utilizaron el 41,78 % en fresco y el 58,21 % restante después de la congelación/descongelación [3].

A pesar de los notables avances logrados, la principal limitación a la que se enfrenta este procedimiento es el reducido número de embriones transferibles obtenidos en cada recogida, lo que repercute en el coste de cada uno de ellos. En un artículo de revisión, publicado por Hasler en 1992 [4] se indicaba que “las técnicas de superovulación no han logrado mejorar los resultados de forma significativa en los últimos 15 años”. 25 años más tarde, esta afirmación continua siendo válida, ya que ha aumentado muy poco el número medio de embriones transferibles obtenidos por recogida, y permanece estabilizado en un rango de seis a siete embriones transferibles por recogida, con ligeras diferencias entre las razas de aptitud cárnica (6,86 embriones/recogida) y las de aptitud láctea (6,12).

PRINCIPALES AVANCES DE LA TÉCNICA

A pesar de los grandes avances logrados en cuanto al conocimiento de la dinámica de crecimiento folicular y de la bioquímica de las gonadotropinas, existen todavía grandes lagunas respecto a los efectos de algunos factores intrínsecos de la hembra donante sobre la respuesta superovulatoria. Por este motivo la respuesta sigue siendo poco predecible, el número de embriones transferibles por recogida continúa siendo bajo y el rendimiento comercial de la técnica escaso. A continuación haremos un breve repaso por las principales líneas de trabajo que se están siguiendo para tratar de solventar este problema.

ADAPTACIÓN DEL TRATAMIENTO A LA DINÁMICA DE CRECIMIENTO FOLICULAR

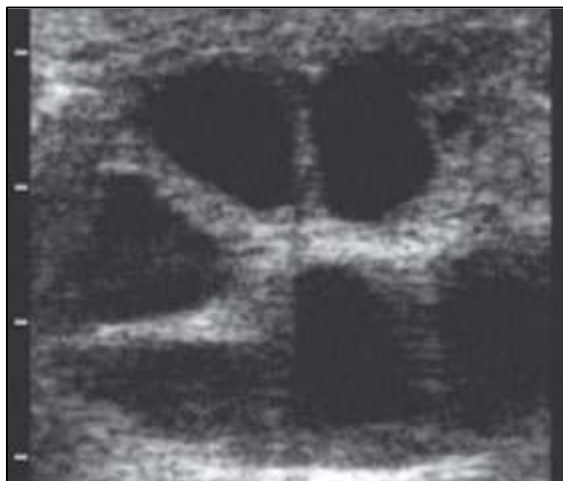


Figura 2. Imagen ecográfica del ovario de una vaca tratada antes de la ovulación (se observan varios folículos preovulatorios).

Diversos estudios demostraron que las mejores respuestas se lograban cuando el tratamiento de estimulación ovárica se iniciaba en la mitad del ciclo estral (entre los días 8 y 12). El uso de la ecografía permitió conocer cuál era la causa: en estos días se produce el inicio de la segunda oleada de crecimiento folicular en las hembras con dos oleadas por ciclo, aunque no sucede lo mismo en las de tres oleadas, ya que en estas la segunda oleada se adelantaba en uno o dos días. También se demostró que únicamente se producía una respuesta ovárica óptima cuando coincidían el inicio del tratamiento y la emergencia de la oleada de crecimiento folicular o, lo que es lo mismo, cuando el tratamiento se iniciaba en ausencia de un folículo dominante. Por todo ello, diversos equipos de trabajo se implicaron en la búsqueda de procedimientos para controlar las oleadas de crecimiento folicular.

La posibilidad de inducir artificialmente la emergencia de una oleada de crecimiento folicular permitiría iniciar el tratamiento en cualquier momento del ciclo estral. Para ello se emplearon diferentes combinaciones de estrógenos y progestágenos, aplicados mediante dispositivos intravaginales. Los preparados de estradiol suprimen la liberación de FSH e inducen atresia folicular y, una vez que la hormona ha sido metabolizada, se restablece la liberación de FSH y al cabo de cuatro días se iniciará una nueva oleada de crecimiento folicular, momento en el que se puede comenzar el tratamiento con FSH exógena.

La prohibición europea del uso de estrógenos obligó a buscar otras alternativas para eliminar el efecto supresor del folículo dominante, una de ellas es la aspiración transvaginal. En los primeros ensayos se eliminaban todos los folículos cuyo diámetro superaba los 5 mm, pero posteriormente se comprobó que era suficiente eliminar los dos folículos de mayor diámetro para lograr el efecto deseado, esto es, promover el inicio de una nueva oleada de crecimiento folicular uno o dos días más tarde. A pesar de que con suficiente práctica la aspiración pueda realizarse a ciegas, se obtienen mejores resultados cuando se realiza aspiración transvaginal guiada por ecografía.

Otro método para promover el inicio de una oleada de crecimiento folicular es provocar la ovulación del folículo dominante administrando GnRH. Esta se iniciará de 1,5 a 2 días después del tratamiento. No obstante, la

administración de GnRH a vacas cuya fase del ciclo se desconoce solamente provocará ovulación entre el 44 % al 60 % de los animales, dependiendo de su edad y de su aptitud productiva (carne-leche), por lo que la posterior respuesta del ovario a la estimulación hormonal será poco satisfactoria. Un procedimiento alternativo consiste en aplicar previamente alguno de los métodos usados para la sincronización de la ovulación de cara a la inseminación a tiempo fijo. El protocolo recomendado por Carballo y col. [5] consiste en administrar PgF2 α al mismo tiempo que se aplica un dispositivo intravaginal con progestágenos, siete días más tarde (manteniendo aún el dispositivo intravaginal) se administra GnRH para provocar la ovulación del folículo persistente y 36 horas más tarde se inicia el tratamiento con FSH.



Figura 3. Imagen del ovario de la misma vaca en el momento de la recogida (se observan varios cuerpos lúteos).

Durante el transcurso de una oleada de crecimiento folicular normal los folículos subordinados comienzan a sufrir atresia como respuesta a la bajada de la concentración de FSH, inducida por los estrógenos y la inhibina secretados por el folículo dominante. Algunos estudios han intentado evitar esta situación tratando de incrementar el número de folículos susceptibles de responder al tratamiento superovulatorio (diámetro entre 2-4 mm). Uno de los procedimientos propuestos para ello es el pretratamiento con FSH o eCG [6].

MODIFICACIÓN DE LOS PROTOCOLOS DE ADMINISTRACIÓN DE LAS GONADOTROPINAS

Se ha estimado que la duración de la vida media de la FSH en la vaca está en torno a las 5 horas, lo que obliga a administrarla dos veces al día durante cuatro o cinco días hasta una dosis total de 28 a 50 mg Armour o 400 mg de FSH purificada. Al cabo de 48 o 72 horas de iniciar el tratamiento se inyecta PgF2 α para inducir la luteolisis. El celo se produce a las 36 a 48 horas, y las ovulaciones comienzan entre 24 y 36 horas más tarde. A partir de este esquema básico se han desarrollado múltiples variantes con resultados variables: administración de FSH en dosis decrecientes, alargamiento del periodo de administración de la FSH o retraso en la administración de la PgF2 α hasta las 72 o 96 horas.

Recientemente se ha comprobado que prolongando el tratamiento con FSH durante siete días, en lugar de los cuatro habituales, sin incrementar la cantidad total de FSH (400 mg), aumenta el número de ovulaciones y el grado de sincronía entre las mismas, lo que se traduce en un mayor número de embriones transferibles [7].

Otra posibilidad investigada es la de simplificar la administración de FSH reduciendo del número de inyecciones, lo que disminuye las posibilidades de error y reduce el estrés generado durante el manejo de los animales. En las vacas de carne con buena condición corporal es posible conseguir una buena respuesta ovárica con una única inyección subcutánea de FSH. Sin embargo, estos resultados no se repitieron en vacuno de leche, al tener menos tejido adiposo subcutáneo. No obstante, en estos animales se han logrado resultados satisfactorios al fraccionar la dosis, de forma que el 75 % de la misma se administra al iniciar el tratamiento y el 25 % restante al cabo de 48 horas, coincidiendo con la PgF2 α . Otra posible alternativa consiste en combinar la FSH con agentes que ralenticen su liberación para que se produzca a lo largo de varios días. El más utilizado es el hialurónico al 2 %, pero este procedimiento complica su administración intramuscular por la elevada viscosidad de la solución. Ello ha llevado a buscar soluciones intermedias, consistentes en reducir la concentración de ácido hialurónico y realizar dos inyecciones subcutáneas de la mezcla, espaciadas 48 horas [8].

Los preparados comerciales más utilizados en la actualidad contienen FSH procedente de extractos hipofisarios, que suelen contener LH en concentraciones variables. A pesar de que durante mucho tiempo han existido opiniones contrapuestas, recientemente se ha comprobado que cuanto menor sea el contenido en LH mejor es la

respuesta superovulatoria. Además, se ha demostrado que la utilización de FSH bovina de origen recombinante induce una elevada respuesta superovulatoria, lo que indica su futuro potencial.

Tradicionalmente se estableció la necesidad de respetar un intervalo de 60 días entre dos recogidas consecutivas, sin embargo, algunos trabajos posteriores han demostrado que es posible acortar el intervalo a 30 días sin que ello repercuta negativamente en los resultados.

FACTORES INTRÍNSECOS DE LA HEMBRA DONANTE QUE AFECTAN A LA RESPUESTA

Hace ya bastante tiempo, algunos investigadores sugerían que la respuesta al tratamiento superovulatorio estaba condicionada por el número de folículos de más de 0,7 mm de diámetro presentes en el ovario en el momento de iniciarlo [9]. Estos datos, confirmados en estudios posteriores, abren la posibilidad de predecir la respuesta de una hembra donante cuantificando el número de folículos ováricos en el momento de la emergencia de la oleada utilizando la ecografía. Recientemente se ha comprobado que el número de folículos está estrechamente asociado a los niveles circulantes de la hormona anti-Mülleriana (AHM). Esta glucoproteína se produce en la granulosa de los folículos antrales sanos de pequeño diámetro, por lo que su concentración sérica permitirá conocer la reserva de folículos susceptibles de responder a las gonadotropinas en el momento de iniciar el tratamiento y, así, predecir la respuesta [10].

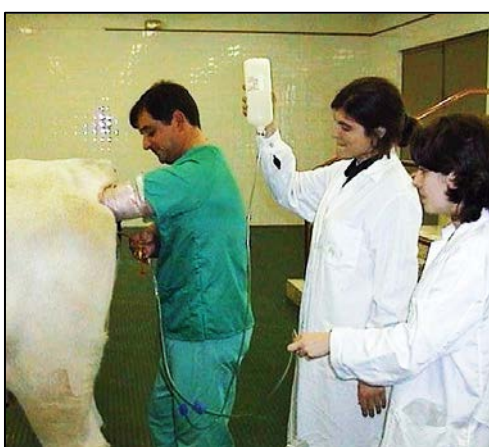


Figura 4. Imagen de archivo de una recogida.

AVANCES EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE LOS EMBRIONES

El desarrollo de los métodos de criopreservación ha incrementado notablemente la eficiencia de esta tecnología. La criopreservación permite conservar a bajas temperaturas células y tejidos vivos, paralizando sus procesos metabólicos, lo que facilita su almacenamiento durante periodos muy prolongados. Sin embargo, este proceso provoca algunos daños celulares que es necesario evitar, causados por la formación de cristales de hielo y por las elevadas concentraciones de solutos. Para reducirlos o evitarlos es preciso añadir crioprotectores y controlar la velocidad de enfriamiento. Los embriones bovinos han sido congelados con éxito durante muchos años utilizando el glicerol como crioprotector y congeladores programables. Sin embargo, el glicerol penetra lentamente en las células y además debe ser eliminado de forma lenta tras la descongelación, circunstancia que obliga a utilizar varias soluciones de descongelación y un microscopio para controlar el proceso. Por ello, se ha reemplazado el glicerol por otros crioprotectores, como el etilenglicol, con mayor capacidad de penetración, lo que permite descongelar los embriones y transferirlos directamente al útero de las receptoras. Este procedimiento logra que el crioprotector abandone con facilidad las células embrionarias en el interior del útero, sin que ello suponga un estrés osmótico y facilita la realización de la transferencia de embriones en condiciones de campo.

A pesar de que la congelación de los embriones es un procedimiento muy utilizado, es un método que consume mucho tiempo y, además, obliga a disponer de costosos equipos para ejecutarlo con éxito. Por ello, está siendo sustituido por la vitrificación, método que consiste en lograr el incremento de la viscosidad de la solución hasta llegar a un estado “vítreo” utilizando elevadas concentraciones de crioprotectores y un enfriamiento muy rápido. La vitrificación evita la formación de cristales de hielo, de tal forma que la solución que contiene al embrión se reajusta, toma la forma de las células y permite mantener intacta su estructura. Las posibilidades de que una solución vitrifique se incrementan en la medida que el volumen se reduce, lo que ha llevado a desarrollar diversos soportes en los que depositar los embriones durante el proceso [11]. Es un procedimiento muy efectivo, no solo por su simplicidad, sino también porque permite obtener unas elevadas tasas de supervivencia embrionaria tras el calentamiento.

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