XIX

TRANFERENCIA EMBRIONARIA EQUINA

Prof. Dr. D. Javier Mota Vargas
Académico Numerario

Dr. D. Javier Mota Vargas. Académico Numerario

HISTORIA

Desde la más remota antigüedad, desde que el hombre es consciente de su posición en la naturaleza, siempre se ha preocupado por cuanto le rodea, lo ha observado, experimentado, y ha aprovechado su conocimiento para convertirse en el eje predominante del planeta. Así pues, en su constante evolución y observación, se plantea cómo obtener descendencia de los animales de trabajo y de producción. Al domesticar los caballos, unos 5000 años atrás, el hombre limitó sus migraciones en busca de alimentos durante las diferentes estaciones del año, y así, comenzó a dirigir su reproducción. La reproducción equina, como rama de la medicina veterinaria tiene su origen en el propio origen del hombre.

Hay evidencias que demuestran que algunos pueblos de Asia Menor, alrededor del 2.500 AC, manejaban manadas de crías y castraban a los machos que no reunían las condiciones requeridas como reproductores, por lo que las biotecnologías reproductivas, no son una herramienta nueva en la relación del hombre con los animales.

La transferencia embrionaria, es una biotecnología reproductiva muy reciente, fue en el año 1890, cuando Walter Heape (Cambridge, Inglaterra), hizo la primera transferencia embrionaria con éxito. Heape, recolectó dos embriones de conejo después de lavar las trompas de una hembra fecundada horas antes; luego transfirió estos embriones a las trompas de una coneja de raza belga; después de algunos días, nacieron seis crías.

En 1974, se realizaron las primeras TE en equinos, en Inglaterra y Japón, demostrando que la técnica se podía hacer. (paradójicamente, ninguno de estos países ha liderado la TE en equinos en el mundo).

En la actualidad, los tres países que lideran esta práctica en el mundo son EEUU (Cuarto de milla), Brasil (Mangalarga) y Argentina (Polo),

países en donde la producción y cría de caballos es masiva. (caballos muy populares).

En Europa, los países que más transferencia embrionaria en equinos hacen son Francia y Alemania, y aquí en España, se está comenzando.

Es posible que aún nos choquen expresiones como ésta: El año pasado, mi yegua tuvo cuatro potros con distintos padres, y además estuvo rejoneando". Sin embargo, no se trata de ningún disparate. Con técnicas tan avanzadas como la TE, las limitaciones para la cría en yeguas deportivamente activas, con problemas reproductivos etc… ya no supone un problema.

Durante los primeros 15 años, el crecimiento fue lento, pues la técnica no lograba implantarse en los sistemas productivos, ni en las asociaciones de criadores, porque de hecho, era como el huevo y la gallina; no había demasiado dinero para poner las técnicas a punto, y no había técnicas a punto, porque el costo era excesivo. Posteriormente, cuando los resultados se hicieron competitivos a nivel comercial, el crecimiento fue expansivo y geométrico.

Hoy día en Argentina las transferencias embrionarias en caballo de polo, están en torno a las seis mil anuales.

Uno de los objetivos fundamentales de las biotecnologías aplicadas a la reproducción animal, es la de aumentar la Eficiencia Reproductiva.

DEFINICIÓN

La TE en equinos consiste básicamente en obtener embriones de una yegua denominada "**Donante**", y transferirlos al útero de otra yegua denominada " **Receptora**". El hecho principal, es que la "Donante", no gesta en el período de once meses, que lo podríamos llamar de inactividad, y sea la "receptora", la que se encargue de llevar la gestación a término.

Se sabe que el vientre de la "receptora", no va a influir en la genética de los embriones, siempre serán descendientes de la yegua que los fecundó en su útero con el esperma del semental elegido para ella.

Indicaciones de la Técnica

- Hembras que se encuentran desarrollando una labor deportiva (Salto, doma, rejoneo, acoso y derribo…).
- Yeguas subfértiles (por edad…)

- Potras de dos años de edad (disminución del intervalo generacional)
- En general, aquellas yeguas de calidad genética contrastada.
- Como herramienta en pruebas de progenie
- " " de conservación genética (Prezewasky)
- Aumento nº crías/yegua/año
- Disminución del riesgo gestación/parto

El record mundial de esta práctica, lo ostenta una yegua de la que se obtuvieron 16 embriones en una misma temporada, quedando todas las receptoras preñadas, y estando ella misma vacía durante ese período.

Igualmente diremos, que en Argentina el 90 % de los embriones son de yeguas de Polo que tienen 15-16 años de edad, y que están jugando en el mismo equipo con su hija y nieta; cuentan con cuarenta y dos hijos y nunca han gestado a ninguno de sus hijos.

Por otro lado, desde el punto de vista de la **prueba de progenie** es impresionante, debido a que se pueden obtener diferentes potros de diferentes sementales, nacidos todos el mismo año; por lo tanto, la potencialidad de la TE en la mejora equina también es sorprendente ***si se tienen los objetivos claros*** y definidos. Ojo, objetivos claros y definidos, porque la TE actúa como una herramienta multiplicadora tanto para bien como para mal.

Hoy en día, en la yegua, la mayoría de las transferencias se realizan a "**celo natural**", queriendo decir con esto, que no se suelen tratar con hormonas para inducir mayor respuesta ovárica (superovulación), debido a que aún no existen tratamientos hormonales óptimos. No obstante, las yeguas que tienden a tener ovulaciones dobles, son las que mejores tasas de recogida de embriones dan cuando se las somete a esta técnica.

LA TE EQUINA, CONLLEVA LAS SIGUIENTES FASES:

- Selección de las hembras Donantes.
- " " " " Receptoras.
- Sincronización Donante-Receptora.
- Recogida de embriones de la donante.
- Catalogación y Selección del embrión.
- Transferencia al útero de la Receptora.

Selección de las hembras Donantes.

Una yegua donante, surge del compromiso entre dos personas: una es el cliente o propietario de la yegua, que la selecciona por su calidad zootécnica, por su calidad deportiva o por su afectividad por el animal. El propietario siempre tiene la potestad de elegir una yegua como donante, aunque ésta no reúna los requisitos médico-reproductivos apropiados. La otra es el veterinario que examinará a la yegua, para ver si ésta reúne las condiciones reproductivas que la hacen apta como donante de embriones (estado de salud general, actividad ovárica, antecedentes de fertilidad…..) para asegurarnos que es capaz de producir embriones viables de la mejor calidad posible.

Selección de las hembras Receptoras.

Deberán ser fértiles, cíclicas y con buen estado de carnes, de entre cuatro y once años, y se elegirán de entre las que han tenido al menos un parto. Así mismo, se buscarán animales dóciles y con buen manejo, para disminuir el efecto del estrés sobre la fertilidad tras la transferencia del embrión. Una hembra con un carácter difícil que va a criar un potro, seguramente, va a transmitir parte de su temperamento a la cría.

Debe ser una yegua de primera clase, pues se va a poner un embrión muy valioso en ella.

Su tamaño debe ser igual o superior al de la yegua donante.

Debe pasar un examen histopatológico del útero que la haga apta como receptora en un programa de TE.

Se realizará así mismo un examen clínico básico (tacto rectal, ecografías, competencia cervical, bioposias, citología y cultivos), y un examen sanitario (desparasitaciones, Inmunizaciones…)

Sincronización de la hembra Donante con las Receptoras.

Es una fase de la técnica que pretende evitar que el embrión se "pierda" en el útero de la receptora, porque éste sea inadecuado, demasiado distinto al útero de origen.

Es importantísimo, la sincronía que tenga la actividad ovárica de donante-receptora, ya que la sincronía entre el ambiente uterino de la receptora y la edad del embrión es un factor que influye en los resultados, por lo que la ***selección de la receptora, es uno de los puntos más críticos del programa.***

La sincronización entre la Donante y la Receptora puede llevarse a cabo usando Prostaglandinas F 2alfa sola o combinada con progesterona exógena. Las yeguas en celo son controladas diariamente por ecografía y palpación rectal para determinar el crecimiento folicular y detectar la ovulación. La yegua receptora puede ovular un día antes y hasta tres días después de la donante.

En general, son aptas como receptoras las yeguas que a los 4-5 días postovulación presentan en uno de los ovarios un CL, no tiene ningún tipo de contenido en el útero y el tono uterino y cervical son los adecuados a esta fase.

Recogida o recuperación del embrión de la donante.

Los embriones equinos, son transportados a través del oviducto hasta el útero, llegando al mismo a los 5.5-6 días post-ovulación, encontrándose en estadio de desarrollo de "mórula compacta" (masa compacta de blastómeros con zona pelúcida prominente) a blastocito temprano (zona pelúcida más delgada, comienza la formación de fluido que llena la cavidad del blastocele).

Después de entrar en el lúmen uterino, el embrión crece exageradamente hasta blastocito expandido (la cavidad del blastocele está totalmente formada y el macizo celular interno (futuro embrión) se diferencie de la capa trofoblástica externa (futura placenta)

La recogida embrionaria se realiza mediante lavado uterino transcervical.

Después de introducir la yegua en el potro de contención, la zona del periné es lavada exhaustivamente, usando un detergente suave, se enjuaga con agua limpia y se seca. El técnico con mano enguantada, coloca el catéter o sonda estéril con balón de taponamiento en el cerviz. A continuación, se perfunde el liquido de lavado atemperado (solución fisiológica tamponada) de 1 a 2 litros por lavado.

Normalmente, los embriones aparecen en el primer lavado uterino, aunque a veces aparecen en el segundo y raramente en el tercero. Por tanto, por cada donante, se recomienda hacer hasta tres lavados uterinos, si no aparece el embrión en el primero.

Empleando material adecuado de un solo uso, y manipulando correctamente el útero, las posibilidades de daño a la donante, son muy reducidas o nulas. El mismo día del lavado, se haya recogido o no el embrión,

la donante se trata para inducir otro ciclo cuanto antes y volver a repetir la TE.

Una vez perfundido el líquido de lavado al útero y masajeado el mismo vía rectal, se le permite salir y pasar a través de un filtro para embriones de 0.75 micras. Así mismo, el líquido es recolectado para evaluar cuanto se recuperó (debe recuperarse más del 90%) y el aspecto que tiene (opaco ……endometritis, sangre, células de descamación….).

Finalizado el lavado, es buscado el embrión bien en el filtro, o en una placa petri. Los embriones de 8 días se ven a simple vista. Cuando un embrión es identificado, es lavado como mínimo tres veces por pases sucesivos en medio DPBS con 10 % de suero bovino fetal.

Catalogación y selección del embrión

Después de los lavados, es calificado usando una escala de 1(excelente) a 4 (pobre) que se correlacionan con un determinado porcentaje de gestación en la receptora si se transfiere.

Grado 1.- Excelente, produce hasta un 65% de gestaciones.
Grado 2.- bueno
Grado 3.- regular
Grado 4.- pobre.

Posteriormente, son envasados entre columnas de aire en pajuelas de 0.25-0.5cc para transferirlos a la receptora.

Transferencia al útero de la yegua receptora

Es una de las fases más delicadas de la técnica. Existen dos posibilidades: Quirúrgica y no Quirúrgica

- Quirúrgica. Se realiza mediante incisión en el flanco del ijar, para acceder a un cuerno del útero. Da resultados del 65-75%. Evidentemente, tiene el riesgo de toda técnica quirúrgica.
- No Quirúrgica. Fácil de realizar vía transvaginal; resultados entre 50-75%.

Actualmente, se realizan más las técnicas no quirúrgicas o vaginales, introduciendo el embrión en el cuerpo uterino de la yegua receptora, vía cerviz, con la ayuda de un catéter de inseminación.

Por ultimo, ya existe la posibilidad de transferir embriones que previamente han sido conservados, lo que posibilita el comercio nacional e

internacional, crear bancos de material genético de hembras de mucho valor y, en general, disminuir el costo de los programas de transferencia de embriones, ya que el embrión se descongela y transfiere sólo cuando la receptora elegida este preparada para ello.

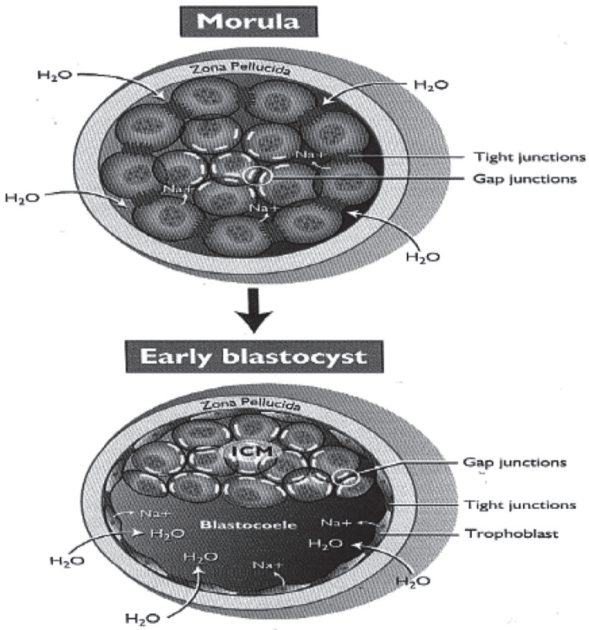
Los métodos de conservación de embriones abarcan:

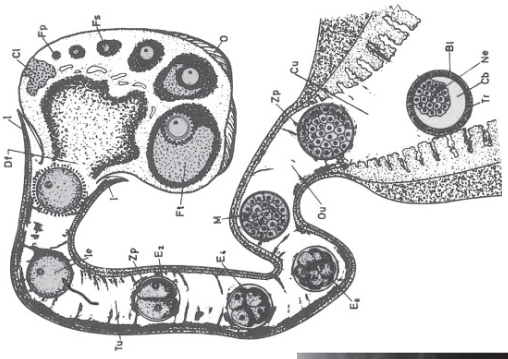
- Refrigeración
- Congelación
- Vitrificación.

Las técnicas de Refrigeración en primer lugar, reduce la presión en la sincronización en las receptoras, te da un margen mayor de operatividad. Así mismo, permiten poder transportarlos a largas distancias, pudiéndose obtener buenos porcentajes (50-64%) de gestación, hasta con 30 horas de almacenamiento y sin que se incrementen significativamente los porcentajes de pérdidas embrionarias hasta el día 50 de gestación (12-15%) comparando con embriones frescos.

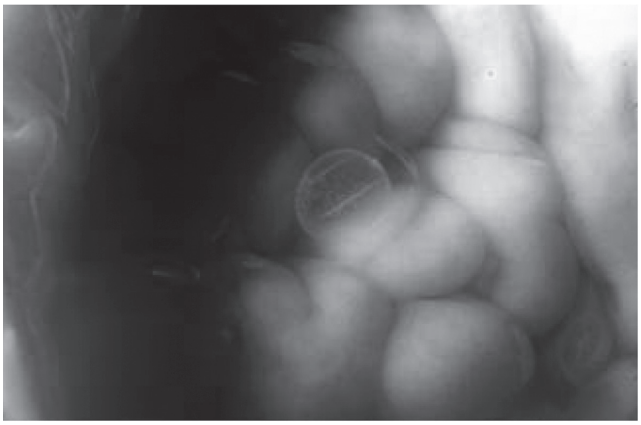
La congelación de embriones reduce su viabilidad y el éxito de la transferencia porque sólo los embriones jóvenes de 6 días son los que se congelan bien, y a esa edad el éxito de la recogida es menor que a los 7/8 días. El primer potro nacido data de 1983.

En cuanto a la vitrificación de embriones, es una variante de la crío preservación en la que se utilizan altas concentraciones de crioprotectores que evitan la formación de cristales. En general, los protocolos utilizan curvas de descenso térmico muy bruscas, que no necesitan equipos congeladores especiales, lo que disminuye notablemente los costes operativos de esta técnica; pero en la yegua no todos los embriones se pueden vitrificar con éxito, recomendándose recoger el día 6,5 días y aunque la técnica se encuentra en fase de desarrollo los resultados de viabilidad de embriones equinos vitrificados son similares a los obtenidos con los congelados (60-70%).

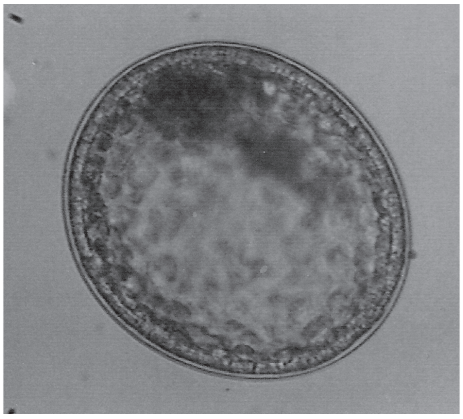




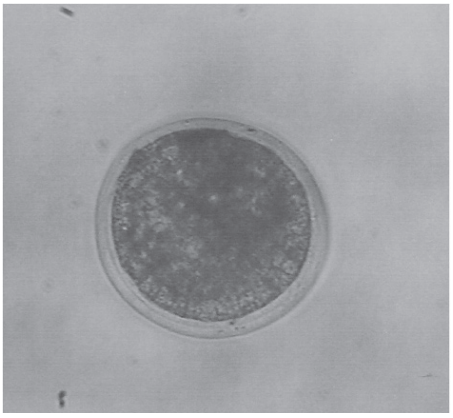
Recogida del Embrión. Los embriones equinos, son transportados a través del oviducto hasta el útero, llegando al mismo a los 5,5-6 días post-ovulación



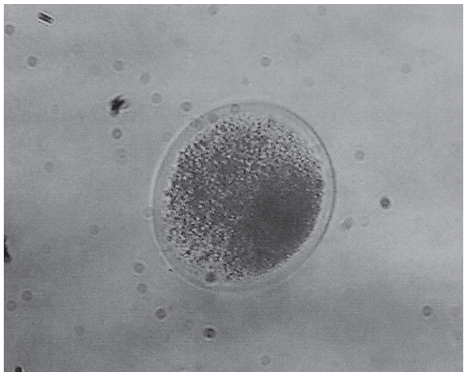
La recogida embrionaria se realiza mediante lavado uterino transcervical.



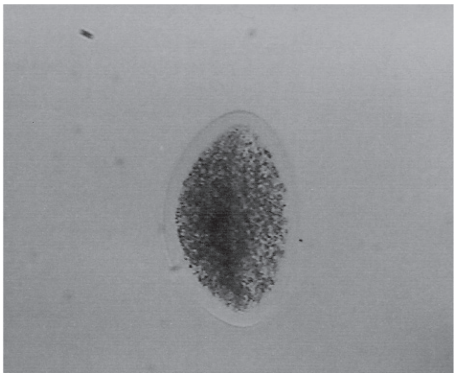
Grado 1 Excelente (hasta un 65% de gestaciones)



Grado 2 Bueno

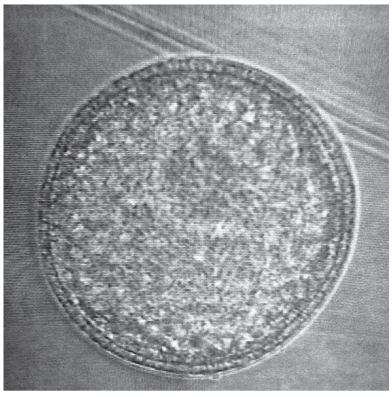


Grado 3 Regular

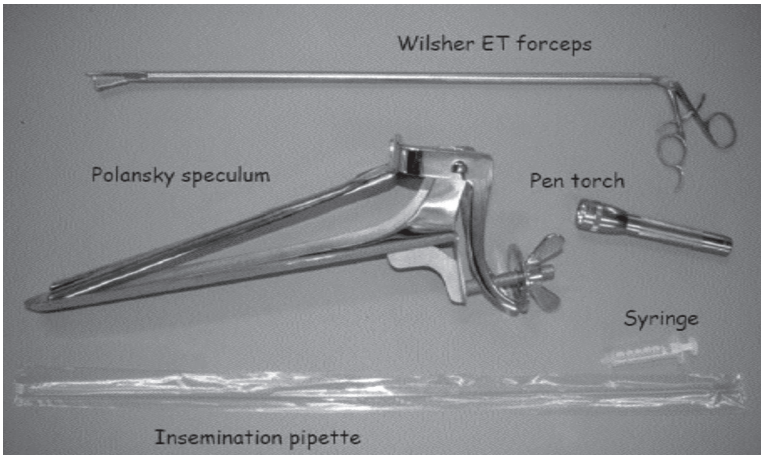


Grado 4 Pobre

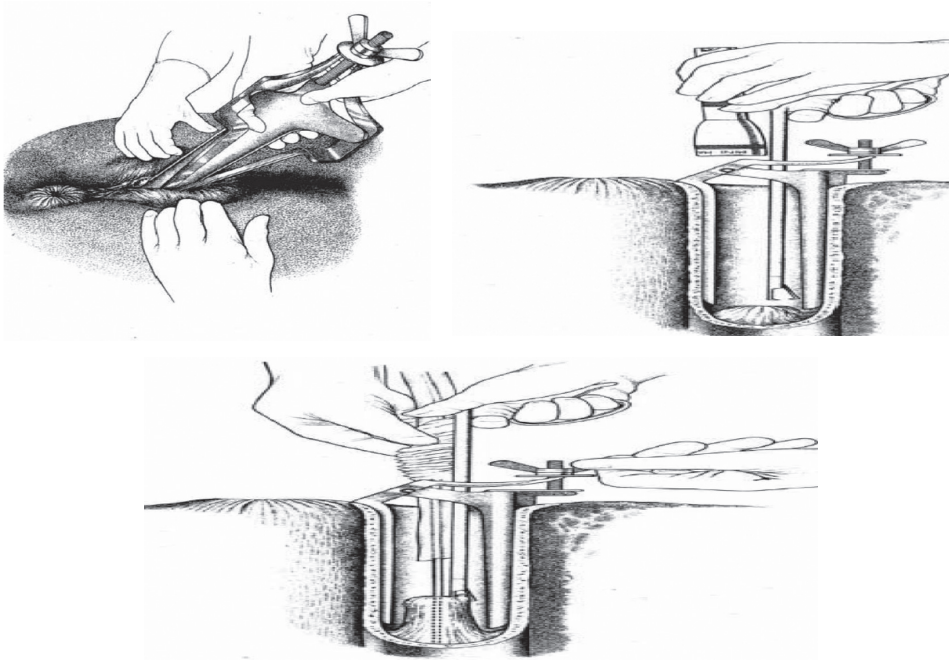
Después de los lavados, es calificado, usando una escala que se correlaciona con un determinado porcentaje de gestación en la receptora.



Blastocito Transferible



Transferencia transcervical



Transferencia transcervical

BIBLIOGRAFÍA CITADA

Ali J, Shelton JN (1993): Design of vitrification solutions for the cryopreservation of embryos, J Reprod Fertil **99:**471–477.

Carney NJ, Squires EL, Cook VM, Seidel GE Jr, Jasko DJ (1991): Comparison of pregnancy rates from transfer of fresh vs cooled transported equine embryos. Theriogenology 36:23-32.

Hochi S, Fujimoto T, Braun J, Oguri N (1994): Pregnancies following transfer of equine embryos cryopreserved by vitrification, Theriogenology **42**:483–488.

Hudson J, McCue PM, Carnevale EM, Welch S, Squires EL (2006): The effects of cooling and vitrification of embryos from mares treated with equine follicle-stimulating hormone on pregnancy rates after nonsurgical transfer. J Equine Vet Science 26 (2):51-54.

Meira C, Alvarenga MA, Pappa OF, Abba E, Landon E, Alvarenga FC (1993): Cryopreservation of equine embryos using glycerol and 1,2 propanediol as cryoprotectants. Equine Vet J 15(Suppl):64-66.

Riera FL, McDonough J (1993): Commercial embryo transfer in polo ponies in Argentina. Equine Vet J 15(Suppl):116-119.

Vogelsang SG, Vogelsang MM (1989): Influence of donor parity and age on the success of commercial embryo transfer. Equine Vet J 8(Suppl):71-73.

Young CA, Squires EL, Seidel GE, Kato H, McCue PM (1997): Cryopreservation procedures for day 7-8 equine embryos. Equine Vet J 25(Suppl):98-10

D. Vanderwall..- Recent advances in Equine Reproduction, B.A. Ball (Ed). International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA.

I. Rodríguez Artíles.- Transferencia de Embriones. Artículo del suplemento Veterinario, Revista Trofeo Caballo. Mayo 2008. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. España.

L.Losinno, J Aguilar.- Reproducción y Biotecnologías en la Producción Equina. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.

Robina A.- Fundamentos de la nidación y su fundamento en el Transplante Embrionario. Placentación. Fisiología de la placenta. Reproducción y Mejora del Vacuno de carne y leche, **1,** 109-122. 1984.

M.E. Cadario, M.H. Miragaya, L.Losinno.- Primeras Jornadas de Actualización en Medicina Reproductiva y T.E. equinas. Octubre de 2008. Córdoba. España.