



Perspectiva histórica y uso de las *técnicas embrionarias* y otras *biotecnologías reproductivas*, especialmente en América del Sur: pasado, *presente y futuro*

Ponencia presentada durante el 14 Simposio Internacional de Reproducción Animal. Instituto Reproducción Animal Córdoba –IRAC– Argentina 2022

Reuben J. Mapletoft
University of Saskatchewan
Saskatoon, Saskatchewan Canadá S7N 5B4

La industria de *transferencia de embriones* bovinos como la conocemos hoy en día surgió en América del Norte a principios de la década de 1970 (*Betteridge, 1981; 2003*). Las razas continentales de ganado importadas al Canadá eran muy valiosas y escasas debido a las restricciones internacionales en materia de salud y comercio.

La *transferencia de embriones* ofreció un medio para multiplicar rápidamente su número. Fueron los médicos veterinarios en la actividad privada y las pequeñas empresas comerciales quienes desarrollaron la tecnología para uso comercial; y llevaron las técnicas del laboratorio al campo. Estos pioneros encontraron innumerables dificultades prácticas y fundaron la *IETS* para facilitar el debate abierto que era necesario para avanzar.

La *IETS* fue fundada en 1974, con 82 miembros fundadores, investigadores, académicos y veterinarios de todo el mundo (Carmichael, 1980; Schultz, 1980). La *IETS* se convirtió en el principal foro de intercambio y debate científico y reglamentario en el campo de la *transferencia de embriones* y las tecnologías asociadas.

Con la fundación de organizaciones regionales de *transferencia de embriones*, muchos profesionales que trabajan con la *transferencia de embriones* comercial han dejado de ser miembros de la *IETS* en favor de sus organizaciones regionales. Por lo tanto, la *IETS* tiene muchos miembros que son investigadores básicos que representan a instituciones gubernamentales, industriales o académicas, incluida la medicina humana (Hasler, 2003). La *IETS* ha desempeñado un papel importante en la difusión de información básica y aplicada, permitiendo el rápido crecimiento de la industria de *transferencia de embriones*.

La aplicación de la transferencia comercial de embriones en el ganado

Mejoramiento del material genético

La *transferencia comercial de embriones* en la década de 1970 se utilizó principalmente para obtener la proliferación de los llamados “*fenotipos deseables*”. Sin embargo, la Universidad de Guelph en Canadá introdujo el concepto de *MOET* (*ovulación múltiple y transferencia de embriones*) en 1987 (Smith, 1988). Mostraron que los programas *MOET* podrían

resultar en una mayor intensidad de selección y una reducción de los intervalos de generación, lo que resulta en un aumento de las ganancias genéticas. El establecimiento de rodeos de núcleos y “*MOET juvenil*” en crías de vaquillonas resultó en ganancias genéticas que fueron el doble de las logradas con los esquemas tradicionales de *prueba de progenie*. Es de destacar que antes de esta investigación, la mayor parte de la *transferencia de embriones* realizada en Canadá se realizaba en ganado vacuno de carne, mientras que más del 80% del trabajo de *transferencia de embriones* realizado hoy en día es en ganado lechero.

La *transferencia de embriones* ahora se usa comúnmente para producir toros que luego son dadores de semen en los centros de IA, hijos de vacas y toros probados (Teepker y Keller, 1989). Además, las nuevas técnicas genómicas se están utilizando cada vez más para seleccionar donantes de embriones y el análisis genómico se ha vuelto esencial para la selección de las madres de toros que se utilizarán en la *transferencia de embriones* (Seidel, 2010). Aunque la economía parece impedir el uso de técnicas de *transferencia de embriones* para cualquier cosa que no sea la producción de reproductores, la industria ganadera comercial se ha beneficiado del uso de toros producidos a través de programas *MOET* bien diseñados (Christensen, 1991). El éxito de los programas *MOET* también ha llevado al uso de esta tecnología para probar genéticamente los toros de IA (Lohuis, 1995); los toros se probaron mediante la producción de hermanos en lugar de crías (Smith y Ruane, 1987). Se hizo posible probar genéticamente un toro en 3,5 años en lugar de 5,5 años utilizando esquemas tradicionales de *prueba de progenie*, al tiempo que se acortaron los intervalos de generación.

Control de enfermedades

Varios grandes estudios han demostrado que los *embriones bovinos in vivo* (*IVD*) no transmiten enfermedades infecciosas. De hecho, la *IETS* ha categorizado a los agentes patógenos en función del riesgo de transmisión por un

embrión bovino (Stringfellow y Givens, 2000; Mapletoft y Hasler, 2005). Las enfermedades de la categoría 1 incluyen agentes patógenos respecto de los cuales se han acumulado suficientes pruebas para demostrar que el riesgo de transmisión es insignificante, siempre que los embriones se manipulen adecuadamente entre la recogida y la *transferencia*. Esto incluye la inspección de la zona pelúcida con un aumento >50X y los procedimientos de lavado/tratamiento con tripsina. Las enfermedades de la categoría 1 incluyen la *leucosis enzootica bovina*, *fiebre aftosa (bovina)*, *lengua azul (bovina)*, *Brucella abortus (bovina)*, la *rinotraqueítis infecciosa bovina*, la *seudorrabia porcina* y la *encefalopatía espongiiforme bovina*. Las enfermedades de las categorías 2, 3 y 4 son aquellas para las que se ha generado menos información de investigación. Sin embargo, cabe señalar que los embriones bovinos *IVD* no han transmitido ninguna enfermedad infecciosa.

Importación-exportación de embriones

La capacidad de utilizar embriones para prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas los hace ideales para el movimiento internacional de germoplasma animal. Además de reducir el riesgo de transmisión de enfermedades y los costos de cuarentena, se puede transportar todo un rebaño, en forma de embriones congelados, por un precio inferior al de una sola tarifa de avión. Los beneficios adicionales de los embriones para el movimiento internacional de la genética animal incluyen una base genética más amplia a partir de la cual seleccionar, la retención de la genética original dentro del país exportador y la adaptación de los terneros nacidos en el país de origen a su nuevo medio ambiente. En los últimos años, se han simplificado las reglamentaciones para la importación de embriones en muchos países. En 2011, aproximadamente 30.000 embriones fueron congelados en América del Norte con fines de exportación (13.737 sólo de Canadá; Stroud, 2012).



Tecnología de transferencia de embriones

La industria de *transferencia de embriones* creció rápidamente a finales del decenio de 1970, tanto en número de profesionales como de donantes. *Seidel (1981)* informó que más de 17.000 preñeces resultaron de la transferencia de embriones bovinos en América del Norte en 1979. *Stroud (2012)* informó que 572.432 embriones bovinos IVD se transfirieron en todo el mundo en 2011; 54% se transfirieron después de la congelación y descongelación. Además, se transfirieron 373.836 embriones bovinos IVP, 85% de los cuales se encontraban en Brasil. América del Norte continuó liderando la actividad de transferencia de embriones comerciales con la recolección de 54.837 vacas donantes y la transferencia de más de 248.615 embriones (43% de todas las transferencias de embriones).

El presente

Aunque no ha habido un aumento apreciable en el número de embriones producidos por vaca donante superovulada en los últimos años, la importancia de la dinámica de las ondas foliculares (*Adams, 1994*) y los métodos para la sincronización de la aparición de ondas foliculares (*Bó et al., 1995*;

2002) han simplificado los medios por los cuales se podría lograr la superovulación, lo que resulta en un aumento de la producción de embriones por unidad de tiempo. Las vacas donantes se superestimulan tan a menudo como cada 30 días, y se están produciendo más embriones por año sin cambios en el protocolo real de superestimulación. La aplicación de procedimientos similares en las receptoras ha hecho innecesaria la detección del estro y la espera de que los animales “entren en celo”, lo que facilita la transferencia de embriones a tiempo fijo (*Bó et al., 2002*).

Producción de embriones in vitro

La producción de *embriones in vitro en bovinos (IVP, siglas en inglés)* es ahora un procedimiento bien establecido y eficiente (*Brackett y Zuelke, 1993*). Además, la captación de óvulos (OPU) a intervalos frecuentes, en combinación con la *fertilización in vitro (FIV)*, ha mejorado y aumentado el rendimiento de embriones de donantes designados (*García y Salaheddina, 1998*). La FIV también se ha utilizado para producir los miles de embriones necesarios para la investigación científica, incluidos los esfuerzos para producir células madre embrionarias, ya que las técnicas de maduración de ovocitos y cultivo de embriones son parte integral de los procedimientos

de clonación y producción de embriones transgénicos (*Campbell et al., 1996; Niemann & Kues, 2003*). Varios laboratorios también han reportado éxitos en la producción de preñeces con embriones IVP de terneros (*Duby et al., 1996; Fry et al., 1998; Taneja et al., 2000*), lo que permite disminuir los intervalos generacionales (*Betteridge et al., 1989*). Además, la OPU ha demostrado ser seguro y muy exitoso en terneros y vacas preñadas.

Varios autores han abordado la cuestión del uso directo de IVP como sustituto de la producción de embriones IVD (*Bousquet et al., 1999; Hasler, 1998; Sinclair et al., 1995*). En la actualidad, en condiciones comerciales en América del Norte y del Sur, el IVP ha superado en números a la producción convencional de embriones de IVD. Además, esta tecnología es una ventaja para la producción de embriones de vacas valiosas que son infértiles o no producen embriones IVD y sobre todo en terneras prepúberes. Como resultado, las cifras de IVP han superado las de los embriones de IVD en Brasil y en varios otros países, especialmente en los EE. UU.

Viana (2021) informó que en 2020 se habían producido más de 1.500.000 embriones bovinos en todo el mundo (un aumento de casi el 7% respecto al año anterior). De mayor importancia, estas cifras representaron una disminución del 6,7% en la IVD y un aumento del 12,1% en los embriones IVP. El número de embriones transferidos siguió tendencias similares, y el número de embriones IVP transferidos en América del Sur (474.145) continuó superando el de América del Norte (339.716). La proporción de embriones IVD congelados/descongelados que se transfirieron fue similar a la del año anterior (40.5 vs. 39.2%), pero la proporción de embriones IVP congelados/descongelados transferidos disminuyó en 4.4%. También es importante señalar que el número de donantes en las que se realizó la OPU en América del Norte (123.033) superó el de América del Sur (81.932). El uso de ovocitos derivados de mataderos disminuyó en América del Norte, pero no en Europa.

Criopreservación, transferencia directa y vitrificación

El desarrollo de métodos eficaces de criopreservación de embriones bovinos (Wilmot & Rowson, 1973; Leibo & Mazur, 1978) hizo que la *transferencia de embriones* fuera una tecnología mucho más eficiente, que ya no dependía de la disponibilidad inmediata de receptoras adecuadas. Las tasas de preñez son cercanas a las logradas con embriones frescos (Leibo y Mapletoft, 1998). El uso de crioprotectores altamente permeables, como el etilenglicol, ha permitido la transferencia directa de embriones bovinos (Voelkel & Hu, 1992; Hasler et al., 1997). En un estudio de la industria de *transferencia de embriones* de América del Norte, las tasas de preñez de los embriones de transferencia directa fueron comparables a las logradas con glicerol (Leibo y Mapletoft, 1998), y para 2011, más del 95% de los embriones congelados/descongelados se transfirieron por transferencia directa (Stroud, 2012). Además, un número creciente de *Embriones de Transferencia Directa* están siendo transferidos por técnicos con experiencia en IA.

En algunos casos, los procedimientos tradicionales de congelación de embriones han sido reemplazados por un procedimiento relativamente simple llamado vitrificación (Rall y Fehy, 1985). Con la vitrificación, el embrión en altas concentraciones de crioprotectores se coloca directamente en nitrógeno líquido; la alta concentración de crioprotectores y la tasa de congelación ultrarrápida dan como resultado que la solución congelada forme un «vidrio». Como los cristales de hielo no se forman, la vitrificación tiene mucho que ofrecer en la criopreservación de ovocitos y embriones de IVP. Aunque los procedimientos de vitrificación son más engorrosos y requieren más tiempo que los procedimientos de congelación tradicionales, este método es ampliamente utilizado.

La eficiencia de los embriones de IVP congelados ha determinado la aceptación de esta tecnología en muchos países de todo el mundo (Hasler et al., 1995). Inicialmente, la mayoría de los embriones de IVP se transfirieron

frescos y los datos variaron según la región. Los resultados con embriones de IVP han mejorado y los embriones de IVP ahora están siendo criopreservados para transferencia directa con éxito. Aunque las mejoras en las condiciones de cultivo y los sistemas de clasificación de embriones han mejorado, Sanches et al. (2016) han proporcionado evidencia convincente de que

la transferencia directa de embriones de IVP congelados/descongelados da como resultado tasas de preñez satisfactorias.

Adopción de nuevas tecnologías

La determinación prenatal del sexo tiene potencialmente un gran impacto económico (Seidel, 2003) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue

CLARIFIDE[®]
plus

Es su **estrategia** para tener un **futuro más rentable y productivo**

Conjunto de predicciones y herramientas para implementar mejoras genéticas en el ganado lechero

zoetis

utilizada para determinar el sexo de los embriones bovinos por muchos profesionales de la transferencia de embriones (*Thibier y Nibart, 1995*). Sin embargo, la biopsia del embrión requiere un alto nivel de habilidad del operador, y es una técnica invasiva que resulta en la interrupción de la integridad de la zona pelúcida y cierta reducción en la viabilidad del embrión, especialmente después de la criopreservación. Además, la utilización de la tecnología de citometría de flujo para separar los espermatozoides que contienen X e Y (*Johnson et al., 1994; Johnson, 2000*) y el uso de *semen sexado* para producir *embriones in vivo e in vitro* han reemplazado la tecnología de *sexado de embriones*.

Con el sistema de *sexado de semen* se pueden clasificar por hora aproximadamente 10 millones de espermatozoides vivos de cada sexo (*Seidel, 2003*), con una tasa de pureza resultante >90%. En los ensayos de campo de IA, se informó que las tasas de preñez después de la inseminación con 1-2 millones de espermatozoides sexados y congelados eran del 70% al 90% de las de los controles no sexados inseminados con 20 a 40 millones de espermatozoides (*Seidel et al., 1999*), pero los resultados más recientes han mostrado mejoras. El nuevo proceso *SexedUltra™* clasifica el semen de manera eficiente mientras minimiza el daño a las células espermáticas y

logra constantemente tasas de concepción cercanas al 90% de las logradas utilizando semen convencional. Como también se puede esperar una mejor fertilidad cuando el semen clasificado por sexo se deposita en el útero cerca del momento de la ovulación, la optimización de los protocolos de *inseminación a tiempo fijo* que producen altas tasas de preñez sin duda aumentará la adopción de esta tecnología.

En un estudio que comparó 574 terneros producidos con *semen sexado* con 385 terneros producidos con semen no sexado, no hubo diferencias en la gestación, muertes neonatales, facilidad de parto, peso al nacer o tasas de supervivencia (*Tubman et al., 2003*). El *semen sexado* ahora se usa ampliamente en la IVP comercial y la IA, y con el advenimiento del semen *SexedUltra™* de 4 millones también se lo utiliza en donantes superovuladas.

El *semen sexado* en la producción de *embriones de IVP* tiene ventajas obvias, especialmente en la industria láctea. Sin embargo, *Siqueira et al. (2017)* han informado recientemente que el uso de semen sexado a partir de pajuelas de semen congelado (*llamado en Inglés —reverse sorting*) en la producción de *embriones de IVP* dio como resultado una alteración de la programación embrionaria que persistió después del nacimiento y causó un efecto en la producción de leche en la edad adulta. Por lo tanto, los beneficios del uso del

semen sexado en la producción de *embriones IVP* podrían compensarse con eventos de programación adversos. No se sabe si las tecnologías de sexado convencional tienen efectos similares y si este efecto se puede superar.

La aplicación de estas tecnologías en Sudamérica.

Dado que la aplicación de tecnologías de reproducción asistida (*Sartori et al., 2016*), y el estado de la *transferencia de embriones bovinos* (*Viana et al., 2017*) y las industrias de IA (*Baruselli et al., 2017*) en Brasil se han revisado en los últimos años, este documento se centrará en Brasil, reconociendo que se están produciendo avances similares en otros países de América del Sur, especialmente Argentina y Uruguay.

La industria de la transferencia comercial de embriones comenzó en América del Norte a principios de la década de 1970, y la tecnología pronto se extendió a América del Sur (*Mapletoft, 2013*). Aunque el número de *embriones bovinos IVD* permaneció modesto durante varios años, el uso de IVP en Brasil aumentó rápidamente después del 2000, impulsado principalmente por razas *B. indicus* que tienen un gran número de folículos antrales de los que se puede recuperar un gran número de ovocitos de alta calidad, sin superestimulación. *Viana et al. (2017)* informaron que la transferencia de embriones representó el 19.7% de todos los terneros *Bos indicus* registrados en Brasil entre 2005 y 2015. También informó que los *embriones IVP* en Brasil aumentaron en 184.0% entre 2005 y 2016, mientras que el número de *embriones IVD* disminuyó en 73.7%.

Sartori et al. (2016) informaron que la IVP comercial en Brasil pasó por tres fases; la fase inicial involucró el uso de donantes probadas de alto mérito genético tanto en razas de carne como de productos lácteos, y el número de *embriones IVD e IVP* aumentó de manera similar. La segunda fase de crecimiento se produjo entre 2003 y 2010, impulsada en gran medida por la necesidad de producir toros *Nelore*, que representa el 82,7% de todos los





embriones. La tercera fase implicó el uso de espermatozoides clasificados por sexo y se asoció con un cambio a las razas lecheras *B. taurus*. En 2014, la IVP en razas lecheras aumentó en un 46,5% (69,0% del total), superando por primera vez a las razas de carne.

Un ejemplo similar de la aplicación de tecnologías de reproducción asistida en América del Sur implica la utilización de *IA de tiempo fijo (IATF)* en la cría de ganado. En un sistema de producción de vacas y terneros basado en pasturas, los protocolos de sincronización son necesarios para producir preñeces por *IA* durante una corta temporada de reproducción y, debido a problemas con la detección del estro, se ha incorporado la *IATF* (Bó et al., 2013; 2016). Debido a que las preparaciones de estradiol han estado disponibles en América del Sur, la mayoría de los protocolos de *IATF* incluyen el estradiol como un medio para sincronizar la emergencia de la onda del folículo y la ovulación (Bó et al., 2013). Como los porcentajes de hembras ciclando y la condición corporal del hato son generalmente bajos, los dispositivos con progesterona y eCG generalmente se incluyen en los protocolos de sincronización (Baruselli et al., 2012; Bó et al., 2016). Para minimizar el manejo

del animal se administra *ECP* al momento de la extracción del dispositivo de progesterona (*en lugar de EB 1 día después*) con *IATF* 48 horas después. Los protocolos de 7, 8 ó 9 días de tratamiento con progesterona han dado como resultado una *P/IA* similar, y se han utilizado con éxito protocolos con proestro prolongado usando tanto estradiol como GnRH (Bó et al., 2016). Los beneficios de la *eCG* en los protocolos de transferencia de embriones a tiempo fijo (*TETF*), también han sido demostrados en las receptoras de razas de carne (Baruselli et al., 2010; Bó et al., 2012) y en las vacas lecheras de alta producción (Rodrigues et al., 2010).

Los protocolos de resincronización también se han desarrollado para reducir el intervalo entre la *IATF* y la reinseminación de animales no preñados (Bó et al., 2016). Tradicionalmente, la resincronización se realizó al momento del diagnóstico de preñez 28 a 32 días después de la *IATF*, con un intervalo de reproducción de aproximadamente 40 días. Dos protocolos recientes, desarrollados en Brasil, que comienzan antes del diagnóstico de preñez (14 o 22 días después de la *IATF*) han reducido el intervalo entre la *IATF* y la reinseminación a 24 y 32 días, respectivamente (revisado en Baruselli et

al., 2017). La novedad del protocolo de 14 días es el uso de la ecografía Doppler 22 días después de la *IATF* para el diagnóstico de preñez; un área de CL de ≥ 2 cm² y / o un flujo de sangre de CL de $\geq 25\%$ son diagnósticos positivos de preñez. Los protocolos de resincronización han llevado a la adopción de esquemas de servicio con *IATF* exclusivamente, eliminando la necesidad de toros de repaso.

Los datos también indican que la *IATF* está aumentando el uso de la *IA*, especialmente con los toros *B. indicus* en Brasil. Ha habido un aumento de más de 10 veces en el uso de la *IATF* en Brasil, de ~ 1 millón de protocolos en 2005 (11% de todos los *IA*) a 10,5 millones de protocolos en 2015 (77% de todos los *IA*; Sartori et al., 2016b), y un aumento adicional a más de 11 millones de *IATF* en 2016 (Baruselli et al., 2017; Fig. 3). Actualmente, los procedimientos de *IATF* representan más del 85% de la *IA* realizadas en Brasil con un número superior a 26 millones de *IATF*. Los informes de la industria de Argentina y Uruguay indican una tendencia similar, especialmente en el ganado de carne por lo que se estima que en total, más de 30 millones de bovinos están siendo inseminados por *IATF* en estos tres países anualmente.

El futuro

El futuro puede muy bien estar sucediendo, mientras hablamos. Millones de animales, incluidos bovinos, equinos, ovinos, porcinos, humanos e incluso especies de vida silvestre, han nacido como resultado de la tecnología de transferencia de embriones, lo que demuestra la importancia de las tecnologías de reproducción asistida y la seguridad de tales procedimientos. Las tecnologías de *sexado de espermatozoides* se han descrito y utilizado ampliamente, y las tecnologías para la *clonación de embriones* y *transgénicos* se han conocido y aplicado durante varios años. El sueño de recuperar el mamut lanudo, que se extinguió hace más de 10.000 años, puede convertirse en una realidad dentro de nuestras vidas a través de la tecnología de la clonación.

De manera similar, la tecnología *CRISPR (edición génica)* ahora es una técnica probada y de uso común (*Menchaca et al., 2018*), y se está describiendo

y discutiendo en esta reunión. La tecnología *CRISPR* ha permitido a los científicos cambiar el *ADN* de animales, plantas y microorganismos con una precisión extremadamente alta. La *IETS* ha dejado constancia de su apoyo a la ingeniería del genoma, incluida la edición de genes, ya que proporciona valiosos avances en la investigación básica, el bienestar animal, la agricultura sostenible y la producción de alimentos más seguros. La *IETS* también ha indicado que apoya a sus miembros en la dirección y realización de investigaciones de ingeniería del genoma, proporcionando experiencia a las agencias reguladoras y comprometiéndose con el público en general para la educación científica. Por lo tanto, es probable que las innovaciones reales en el futuro sean las aplicaciones de estas nuevas tecnologías.

Otro desarrollo que está ocurriendo son las hormonas recombinantes para su uso en el manejo reproductivo en animales de granja.

Los biofármacos más importantes utilizados en la biotecnología reproductiva animal son las hormonas glicoproteicas hipofisarias que incluyen: *FSH*, *LH*, *hormona estimulante de la tiroides* y *gonadotropinas coriónicas (placentarias)*. Los productos veterinarios actualmente disponibles se producen extrayendo y purificando las hormonas deseadas del tejido pituitario, la sangre o la orina. Dado el riesgo potencial de transmisión de patógenos por el uso de productos derivados de animales, y las cada vez más preocupaciones por el bienestar animal, es previsible que las autoridades reguladoras exijan que estos productos hormonales estén libres de suero y productos derivados de animales, haciendo que la producción recombinante sea la fuente más probable de estas hormonas. La biotecnología trae la promesa de productos asequibles y sin la participación de animales que reflejan la proteína nativa en estructura y función.

PAISAGRO

Productos para el campo Veterinarios Colombiano






"Productos Veterinarios"
Un gran equipo al servicio del campo

Encuentre una amplia línea de productos para ganadería, Medicamentos, Biológicos (vacunas), sales y minerales.

Bogotá
Pereira

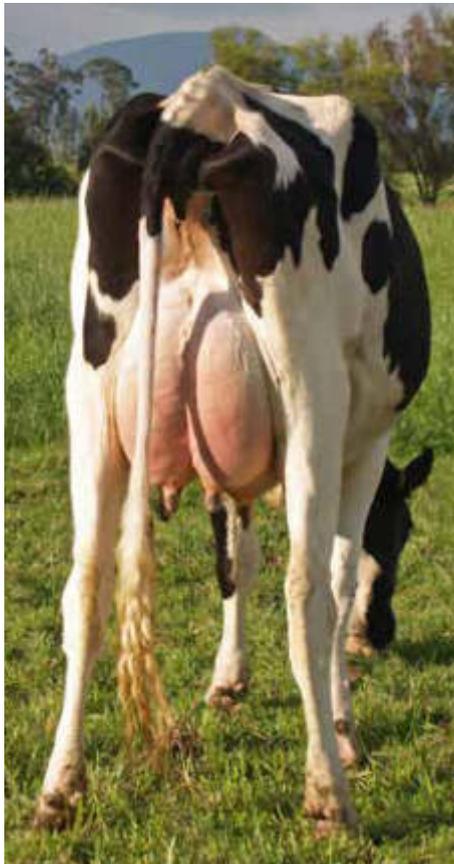
Tel: (601) 212 4715
Tel: (606) 323 6030

Avenida Cra 30 #70 -58/Cra 29c #70 -59
Kilometro 7 Vía Pereira - Cerritos

La FSH y la LH recombinantes han sido desarrolladas y producidas por varios grupos en todo el mundo para su uso en humanos, pero la rFSH para su uso en la reproducción animal ha sido limitada. Otros análogos de gonadotropina recombinante se han probado en diferentes modelos animales. Yoon et al. (2007) evaluaron la eficacia de la reLH recombinante de cadena simple para acortar el tiempo hasta la ovulación en yeguas que están ciclando y para determinar los efectos del tratamiento sobre las hormonas endógenas y los intervalos interovulatorios. Fue confiable y eficaz y no alteró los perfiles hormonales endógenos ni los intervalos interovulatorios. En otro experimento (Lemke et al., 2008), se examinaron análogos de cadena simple de rhFSH, rhCG y otras construcciones de gonadotropina doblemente activas en ovejas; la actividad de FSH de cadena simple apoyó el desarrollo folicular, pero no la producción de estrógeno.

Por el contrario, un constructo que incorporó los dominios β de hCG y FSH tuvo doble actividad, y los autores concluyeron que la naturaleza de acción prolongada de los constructos de cadena simple sugiere que estas gonadotropinas recombinantes pueden ser alternativas eficaces a las gonadotropinas derivadas de la pituitaria o la placenta en los protocolos de reproducción y/o superovulación fuera de temporada (Adams y Boime, 2008). De hecho, Carvalho et al. (2014) describieron el uso de una única inyección de FSH bovina recombinante de acción prolongada (rbFSH; tipos A y B) utilizando la tecnología anterior para superovular vaquillonas lecheras Holstein. Se produjeron respuestas superovulatorias similares y producción de ovocitos/embriones similares a los obtenidos con una preparación de FSH derivada de la hipófisis administrada dos veces al día durante 4 días. Sin embargo, después de más de 8 años, este producto aún no ha recibido la aprobación reglamentaria lo que sugiere que la eficacia es menos un problema que las cuestiones reglamentarias para su uso en el ganado.

La gonadotropina coriónica equina es una hormona glicoproteica heterodimérica producida por yeguas preñadas que se utiliza para mejorar la actividad reproductiva en diferentes especies. Se han empleado varias estrategias para producir eCG de forma recombinante, y hasta hace poco, ninguna ha dado como resultado suficiente bioactividad in vivo o cantidades



para uso comercial. Sin embargo, Villarraz et al. (2021) han descrito recientemente el desarrollo de reCG producido en un sistema de perfusión de biorreactor continuo utilizando un medio libre de suero y células de suspensión CHO-K1. Utilizaron el producto reCG en un protocolo IATF en bovinos con excelentes resultados. Es importante destacar que este estudio proporcionó una alternativa altamente eficaz para el reemplazo de animales como fuente de eCG para su uso en el manejo de la reproducción del ganado.

Incluso más recientemente, Cutaita et al. (2022) describieron el desarrollo y uso de otro sustituto sintético de la

eCG nativa, al que se hace referencia como similar a eCG. Un primer ensayo determinó la actividad biológica de la glicoproteína sintética similar a la eCG como alternativa a la eCG nativa en la superovulación de bovinos y ovinos con éxito. En un ensayo que comparó las tasas de preñez después de IATF en vacas de razas de carne en anestro tratadas con 400 UI de eCG nativa, 400 UI del sustituto similar a eCG o placebo (grupo control), el sustituto similar a eCG dio como resultado tasas de preñez similares a eCG nativa y ambas fueron más altas que en el grupo control. En conjunto, los resultados muestran que al menos dos productos de reCG que fueron desarrollados en Argentina ofrecen alternativas muy aceptables a la eCG nativa (producida en yeguas vivas) en el manejo de la superovulación y manejo de la reproducción en especies domésticas.

La transferencia comercial de embriones en el ganado es una industria bien establecida. En todo el mundo se producen anualmente más de 360.000 embriones de bovinos IVD y 1.150.000 de bovinos IVP. La superovulación y las recolecciones de embriones se realizan con tanta frecuencia como cada 30 días, y la criopreservación y la transferencia directa de embriones congelados y descongelados dan como resultado tasas de preñez cercanas a las de los embriones frescos. Miles de embriones congelados se comercializan internacionalmente por año. La IVP se utiliza ampliamente y la tecnología PCR se ha utilizado para sexar embriones, y ahora se está utilizando para “diagnósticos de embriones” y “genómica de embriones”. El semen bovino sexado también está fácilmente disponible y se está utilizando, especialmente para la IVP. Por último, se están utilizando nuevas tecnologías, como la clonación de embriones y el CRISPR, para aumentar la eficacia de la tecnología de embriones para el mejoramiento genético y se están empezando a utilizar sistemas de producción de hormonas recombinantes para producir sustitutos altamente eficaces y seguros de la FSH, la LH y la eCG utilizados en tecnologías reproductivas avanzadas en el ganado. 6