

MEJORAMIENTO GENÉTICO

TRANSFERENCIA DE
EMBRIONES
BOVINOS

M.V. Francisco Maya Montoya
Programa Mejoramiento Genético COLANTA
E-mail: franciscomm@colanta.com.co



Resumen

La Transferencia de Embriones es una tecnología madura con más de dos décadas de uso comercial y más de medio millón transferidos anualmente a nivel mundial.

Los programas de Transferencia de Embriones al igual que la Inseminación Artificial, se desarrollaron para aumentar el potencial reproductivo de animales genéticamente superiores; con T.E. se puede obtener un mayor número de crías de hembras seleccionadas con base en su potencial genético, características fenotípicas y registros de producción.

Para el éxito en los programas de transferencia de embriones, son importantes etapas como la selección y manejo de donadoras y receptoras, y la capacitación técnica del personal de campo para atender el manejo y cría de animales superiores.

Los diferentes protocolos utilizados para superovular donadoras, buscan obtener el mayor número de oocitos viables para ser fertilizados, y después colectar embriones transferibles con alta probabilidad de producir preñeces; se realiza administrando hormonas gonadotróficas externas.

La transferencia embrionaria pasó del método quirúrgico al no quirúrgico; se deposita el embrión en la porción superior (lo más profundo posible) del cuerno uterino e ipsilateral al ovario que contiene el cuerpo lúteo.

Los porcentajes de preñez obtenida de la transferencia no quirúrgica de embriones se podrán mejorar aumentando la eficiencia de la técnica en aspectos relacionados con el embrión, la receptora y la transferencia propiamente dicha.

Summary

Embryos transfer is a mature technology with more than two decades of commercial use. More than a million embryos have been transferred annually around the world.

Embryos transfer programs, as well as artificial insemination, have been developed to increase reproductive potential of genetically superior animals. Transferring embryos makes possible to obtain more litters from selected females, based on their genetic possibilities, phenotypical characteristics and production records.

Successful embryos transfer programs need to take into account several steps, among others, selecting and managing female donors, and giving the workers a good technical training on the matter of breeding and care of those superior animals.

Different protocols used to superovulate female donors, look for the highest number of viable oocytes to be fertilized, and then to collect embryos that could be transferred with a high probability to produce pregnancies. This is done by providing external gonadotrophic hormones.

Embryos transfer procedures have gone from surgical method to non surgical. The embryo is placed in the upper part of the uterine horn (as deeply as possible) and ipsilaterally in regard to the ovary containing the luteal body.

Pregnancy percentages obtained from non surgical embryos transfer could be improved by means of making technical subjects more efficient, above all in some aspects related to the receiver, the procedures and the embryo itself.

INTRODUCCIÓN

Bajo condiciones prácticas, el término Transferencia de Embriones debe entenderse como un conjunto de técnicas que permiten producir, recuperar y transferir embriones. El grado de éxito, medido en gestaciones y/o crías producidas, depende de la perfección con que cada una de ellas se realice; algunas de estas técnicas son: selección de donadoras, de receptoras, superovulación, sincronización del estro entre donadoras y receptoras, recuperación y evaluación de embriones, y finalmente la transferencia.

Es ya una tecnología madura con más de dos décadas de uso comercial y más de medio millón de embriones transferidos por año a nivel mundial. Evoluciona veloz y constantemente, variando los métodos y productos que se utilizan en forma continua.

La eficiencia de la tecnología sin embargo no ha progresado substancialmente desde sus comienzos, y luego de muchos trabajos

de investigación y desarrollo aún el número promedio de embriones obtenidos por vaca donante es de alrededor de seis; por otro lado, alrededor del 30% de las donantes tratadas fallan en producir embriones transferibles.

Los programas de T.E. al igual que la Inseminación artificial se desarrollaron para aumentar el potencial reproductivo de animales genéticamente superiores. Con la Transferencia de Embriones se puede obtener un mayor número de crías de hembras seleccionadas con base en su potencial genético, características fenotípicas y registros de producción. Además de aumentar la progenie, es posible disminuir el intervalo entre generaciones y aumentar la presión de selección, para obtener un gran número de crías provenientes del 2% al 5% de los animales jóvenes y adultos sobresalientes de un lote o raza. De esta manera se acelera el progreso genético hacia el biotipo seleccionado, para producir machos para la Inseminación artificial, nuevas generaciones de donadoras para T.E., hembras de reemplazo, además de producir los toros que vamos a utilizar para padrear el ganado comercial.



Para que un programa de T.E. funcione adecuadamente influye: la selección de las donadoras, manejo de las receptoras, la educación y capacitación técnica del personal de campo para atender el manejo y la crianza de animales superiores. Se debe considerar que la Transferencia de Embriones es una realidad de producción y ya no es un evento "social" de la ganadería.



Todos los investigadores coinciden en atribuir al Inglés Walter Heape la realización del primer trasplante de embriones en el año de 1890. Practicó esta técnica extrayendo de los aparatos genitales de conejas y ovejas, huevos fecundados, obtenidos pocos días después de la cópula para situarlos seguidamente en el aparato genital de hembras receptoras de la misma especie.

No solamente practicó por primera vez el trasplante de embriones en mamíferos, sino que creó el ambiente científico necesario que ha fundamentado la referida técnica. Las investigaciones de Walter Heape se desarrollaron entre 1890 y 1897.

Los sucesores de Walter Heape fueron FHA Marshall y Sir Jhon Hammond quienes tomaron el relevo del esquema de Walter Heape y llegaron a grandes avances en materia de reproducción animal.

A continuación se relaciona una breve secuencia cronológica con significativos eventos producidos en torno a la T.E.:

1890. Transferencia de embrión de coneja mostró que no hay influencia genética de la receptora sobre la descendencia (embrión).

1930. Colecta del primer embrión bovino.

1951. Primera Transferencia de Embriones bovina exitosa.

1964. Primera colecta de embriones no quirúrgica.

1975. Primera Transferencia de Embriones en Colombia, en conejas, en la Universidad de Caldas.

1977. Nacen primeras crías bovinas por T.E. en Urabá.

1983. Primera fertilización in vitro de un oocito bovino.

1998. Nacen primeros terneros de fertilización in vitro en la U. de Antioquia.

Como resultado de varias líneas de investigación, principalmente en los Estados Unidos y Europa, y especialmente en los últimos 20 años, la tecnología de transferencia de embriones ha pasado de las condiciones controladas de laboratorio a una fase de validación a nivel de campo.

La información disponible indica que actualmente en los Estados Unidos se realizan más de 100.000 transferencias por año y en Europa más de 40.000. La investigación en esta área no se ha concentrado exclusivamente en bovinos, existe también en equinos, ovejas, porcinos y animales de zoológico; a nivel de laboratorio, como es casi tradicional, se ha utilizado un sinnúmero de animales como ratones, ratas, conejos, entre otros.

Actualmente nacen en el mundo 500.000 a 700.000 crías al año producto de Transferencia de Embriones.

En Colombia se "lavan" 1.200 a 1.500 vacas por año, obteniéndose en promedio 4.000 a 5.000 embriones.

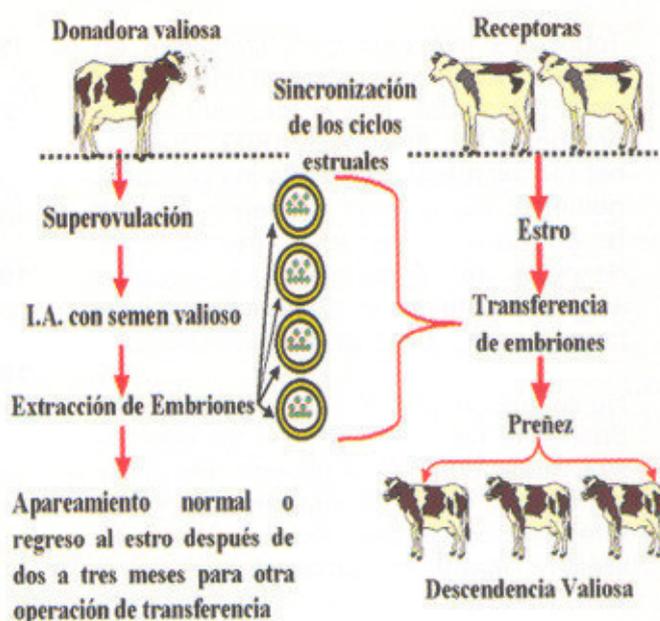
METODOLOGÍA

La Transferencia de Embriones se puede llevar a cabo en centros de T.E. o directamente en el campo; existen opciones intermedias, por ejemplo, que las donantes se encuentren en el centro de T.E. donde se efectúa la recolección de embriones, y las receptoras en fincas cercanas donde se llevan a cabo las transferencias. Otra opción podría ser manejar cada finca como una Unidad de Transferencia donde se tendrán tanto las donantes como las receptoras, evitándose la construcción del centro de transferencia.

La organización del programa de T.E. es diferente en cada una de las opciones; en todos los casos, comienza con la selección de las donantes y finaliza con el diagnóstico de preñez efectuado a los 60 días post-transferencia.

Teniendo en cuenta la variabilidad que existe en la respuesta a los tratamientos de superovulación y la importancia económica que tiene la sincronización de las receptoras en la financiación del programa de T.E., es conveniente efectuarlos a un mínimo de tres (3) donantes simultáneamente.

Figura 1. Diagrama Transferencia de Embriones.



1

SELECCIÓN DE DONANTES Y RECEPTORAS

En la selección de donadoras se recomienda tomar en cuenta la superioridad genética, habilidad reproductiva y valor comercial. Estos tres factores de selección, aún siendo determinantes, no son únicos. Técnicamente, cada vaca o novilla ciclando regularmente puede responder a la superovulación y ser usada para producir embriones. Sin embargo, la información existente indica que la respuesta de novillas y vacas viejas es baja. La donadora ideal puede considerarse con una edad de 4-9 años con aparato reproductivo normal y sano, ciclando normalmente, bien alimentada y con registros de partos regulares.

Las DONANTES seleccionadas deben cumplir los siguientes requisitos:

1. Tener un período post-parto no menor de 60 días, habiendo registrado un ciclo estral previo de duración normal. El mejor parámetro indicador de que una donante está lista para ser programada, es cuando está presentando ciclos estrales normales y está en franca recuperación de peso post parto.
2. Haber transcurrido más de 50 días de un tratamiento superovulatorio anterior.
3. Las vacas donantes deben ser sometidas a un diagnóstico rápido de fertilidad, basado en un examen clínico por palpación rectal y /o ecografía y vaginoscopia, y verificación de historia clínica del animal. Las vacas adultas con historia reproductiva normal pueden ser usadas satisfactoriamente como donantes hasta 10 años de edad cuando empieza a declinar su respuesta, sin embargo hay una gran variación individual con vacas de hasta 16 a 19 años mostrando respuesta satisfactoria.
4. La información fundamental a obtenerse en los exámenes clínicos debe incluir: determinación del estado reproductivo, condición del tracto reproductivo, estado de funcionalidad ovárica, patologías del ovario, entre otras.
5. Vacas con problemas reproductivos no son buenas donantes. No se deben programar vacas con problemas de fertilidad de origen genético ya que se estaría diseminando genes indeseables.
6. Las donantes no deben consumir dietas muy ricas en proteína total y definitivamente las dietas deben ser reducidas en proteínas de alta degradabilidad en el rumen. Las proteínas deben ser de "by pass"; deben ser digeridas en el Abomaso. Las proteínas de alta degradabilidad o el exceso de proteína en la dieta (en cualquier forma) afecta grandemente la fertilidad.
7. La dieta mas adecuada para donantes es la suplementación con heno, ensilaje y granos (en forma controlada).

NOTA: Es muy importante evitar el "estrés" de cualquier índole en las donantes ya que este bloquea la producción de gonadotropinas y toda la cadena de eventos fisiológicos ováricos; como por ejemplo, cuando se cambia bruscamente la alimentación u otras actividades de manejo rutinarias.

Un mes antes de instaurar el tratamiento a las donantes se les debe controlar ectoparásitos, vitaminizar, vermifugar y comenzar a suplementar con minerales y alimento concentrado.

Durante el desarrollo del protocolo de sincronización y super ovulación no se debe bañar a las donantes contra ectoparásitos, vermifugarlas o vacunarlas contra cualquier enfermedad.

El factor de mayor influencia negativa es la alta temperatura ambiental (más de 27 grados centígrados) y mas aún en condiciones de alta humedad relativa que limite la regulación calórica del animal. El estrés calórico afecta la foliculogénesis, estro, ovulación, formación de cuerpo lúteo y desarrollo y supervivencia embrionaria.

Las RECEPTORAS son las que recibirán los embriones para llevar a término la gestación; forman parte esencial del programa y también uno de los problemas más serios, ya que las buenas son caras, su mantenimiento costoso y su estado de salud es crítico para el éxito de la T.E.

Una buena receptora debe ser capaz de recibir el embrión, parir sin dificultades y luego alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético. El tamaño dependerá del tipo de embrión que se transferirá.

Serán novillas o vacas jóvenes (de uno o dos partos) libres de enfermedades como Brucelosis, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (I.B.R.), Diarrea Viral Bovina, Leucosis y otras enfermedades que afecten la salud. Cada receptora podrá tener tres oportunidades de quedar gestante. Deben incluirse en un programa sanitario que incluya la prevención de estas enfermedades.

En síntesis, el manejo de las receptoras incluye la elección de hembras de buena calidad, reproductivamente aptas, con un buen nivel de alimentación y libres de enfermedades.

En la selección de receptoras son mas importantes las condiciones de crianza, el manejo sanitario y el estado nutricional de las mismas que su raza o categoría. Al momento de la transferencia, la receptora ideal es aquella con sincronismo o con un asincronismo de 24 horas, en la que se ha comprobado la presencia del cuerpo lúteo; además se debe relacionar el estadio de desarrollo embrionario con el día del ciclo de la receptora.

Al igual que las donantes se deben vermifugar y vitaminizar antes de entrar en el programa de T.E. También deben ser suplementadas con minerales y alimento concentrado para favorecer una ganancia de peso diario de por lo menos 500 grs/día.



Lote de novillas receptoras de embriones.

No se pueden programar para transferencia con menos de 30 días después de haber sido vacunadas contra cualquier enfermedad; no se deben bañar contra ectoparásitos 15 días antes de ser transferidas ni después, hasta que se diagnostique la preñez; tampoco pueden ser vermifugadas en ese período de tiempo.

Las condiciones de manejo no deben ser cambiadas bruscamente para no generar factores de estrés que afecten los resultados.

La transferencia se podrá efectuar indistintamente sobre celo natural o inducido; el celo de las receptoras deberá tener una sincronización no mayor a 24 horas con el de la donante; se deben sincronizar aproximadamente siete receptoras por donante.



Receptora A.Angus con cría Normando pura.

2 ETAPAS DEL PROCESO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

2.1. SINCRONIZACIÓN DE DONANTES SUPEROVULACIÓN

Antes de realizar el tratamiento de super ovulación, las donantes deben ser vermifugadas y vitaminizadas por vía intramuscular; igualmente deben ser suplementadas con minerales y alimento concentrado.

Aunque existen diversos tratamientos hormonales, casi todos ellos se inician entre los días 8-12 del ciclo estral, contando el día del celo como cero.

Tabla No 1.

Protocolo tratamiento de superovulación sin progestágenos.

Día	Actividad en Donante
0	Presentación de Celo
10 AM	1ª. Inyección de FSH
PM	2ª. Inyección de FSH
11 AM	3ª. Inyección de FSH
PM	4ª. Inyección de FSH
12 AM	5ª. Inyección de FSH + PG F2 alfa
PM	6ª. Inyección de FSH
13 AM	7ª. Inyección de FSH
PM	8ª. Inyección de FSH
14	Inseminación artificial
21 AM	Colecta de embriones

El objetivo del tratamiento de superovular vacas es obtener el máximo número de ovocitos viables para ser fertilizados y posteriormente coleccionar embriones transferibles con alta probabilidad de producir preñeces. Se realiza administrando hormonas gonadotrópicas exógenas (FSH-P, PMSG o HCG).

La variabilidad encontrada en las tasas de superovulación y el número de embriones transferibles recolectados por donadora, es la mayor limitante en el mejoramiento de la eficiencia de la T.E.

Para reducir la variabilidad es necesario, en primer lugar, optimizar las preparaciones hormonales y luego ejecutar el tratamiento en hembras fértiles, en el momento indicado y en el ambiente propicio.

Cuando se programan dos o más donadoras para colecta de embriones lo más frecuente es sincronizarlas utilizando un protocolo de tratamiento a base de Progestágenos intra vaginales como el CIDR o el DIB, o también implantes subcutáneos como el CRESTAR.

El protocolo de tratamiento para sincronización y super ovulación utilizado más frecuentemente es el siguiente:

Tabla No2.

Protocolo tratamiento de superovulación con progestágenos

Día		Actividad en Donantes
0 (cero)		Inyección de Estradiol + implante de progesterona + P4
4	AM	1ª. Inyección de FSH
	PM	2ª. Inyección de FSH
5	AM	3ª. Inyección de FSH
	PM	4ª. Inyección de FSH
6	AM	5ª. Inyección de FSH + PG F2 alfa
	PM	6ª. Inyección de FSH
7	AM	7ª. Inyección de FSH
	PM	8ª. Inyección de FSH
8	AM	Retiro del implante de progesterona
9	AM- PM	Observación de calores. 1ª inseminación. 2ª inseminación a las 12 horas siguientes.
16	AM	Colecta de embriones

A la Vanguardia Reproductiva...



...El mejor pool hormo

- **Pluset®**
FSH - LH Superovulación.
Transferencia de embriones
- **Cloprostenol®**
D - Cloprostenol (Prostaglandin)
Luteolítico. Sincronización.
- **Vetecor®**
Gonadotropina. Colónica hu
Ovulación. Quistes Folicular



LABORATORIOS CALIER DE LOS AN
Calle 23 No. 69B - 95 Tels.: 424 40
Fax: 405 0049 - Bogotá, D.C. - Col

El adecuado control y detección de los celos es crucial en estos procedimientos. Se deben observar por lo menos cuatro veces en el día. Debido a que las hembras donadoras producen las ovulaciones en un período amplio de tiempo, se debe asegurar la presencia de espermatozoides con capacidad fecundante durante un período mínimo de 24 horas, razón por la cual se realizan dos inseminaciones (la segunda, 12 horas después de la primera); a veces, se realizan tres. La inseminación se debe realizar con especial atención puesto que al ser repetida se aumenta el riesgo de contaminación por gérmenes, lo que disminuye o anula el éxito de la T.E.

2.2. SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS

Las receptoras deberán ser animales adaptados totalmente al medio. Se deben programar siete por cada donadora sometida a "lavado".

La sincronización de celos en receptoras puede efectuarse administrando una sola dosis de PGF2 α a hembras seleccionadas mediante palpación transrectal, por poseer un cuerpo lúteo, o también utilizando progestágenos implantados (subcutáneos o intra vaginales).

Tabla No3.

Protocolo de sincronización de receptoras con progestágenos implantados.

Día	Actividad en Receptoras
0 (cero) AM	Inyección de Estradiol + implante de progesterona (CIDR)
7 AM	Aplicación PGF2 alfa
8 AM	Retiro implante de progesterona
9 AM	Observación de calores. Anotar
10 AM	Observación de calores. Anotar + HCG
17 AM-PM	Transferencias de embriones

2.3. RECOLECCIÓN DE EMBRIONES

Durante los años 70s, la mayor parte de los embriones fueron recuperados quirúrgicamente de la vaca, con incisión en la línea media ventral o bien en el flanco, exposición de los cuernos uterinos y "lavado" de los mismos con medios especiales. A finales de los 70s se dieron a conocer y paulatinamente se han perfeccionado métodos de recuperación de embriones por medios no quirúrgicos.



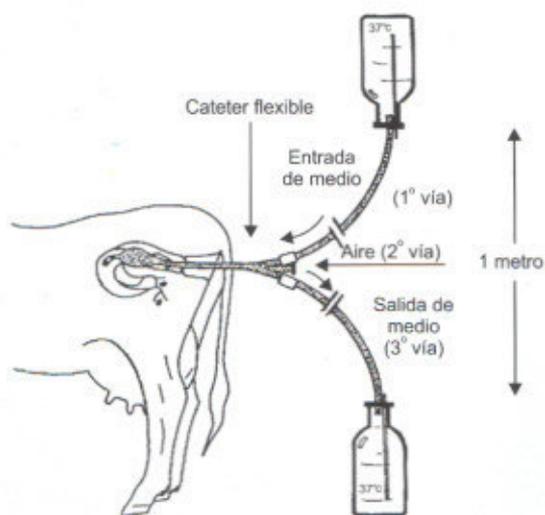
Transferencia de embriones, método quirúrgico.

Los embriones normalmente se encuentran en el útero entre el día cuarto y quinto después de la fecundación, pero el momento ideal para recolectarlos está entre los días sexto y octavo, siendo preferible el día séptimo; el día cero es el día de presentación del calor. Se deben coleccionar los embriones cuando todavía poseen la zona pelúcida, para lograr una mayor protección sanitaria y mejores condiciones de congelación (el embrión sale de la zona pelúcida hacia el día noveno).

La recolección puede hacerse de manera quirúrgica (técnica poco utilizada en la actualidad) o no quirúrgica, a través de las vías genitales naturales, vía transcervical, utilizando un medio para "lavado" (PBS + BSA 0.2%) y un sistema de conducción de mangueras especiales, con una sonda principio Folley adaptada. El método no quirúrgico es el que se aplica actualmente, el medio de lavado entra al útero por gravedad y sale por sifonaje.

Figura 2.

Colecta de embriones, sistema cerrado de 3 vías.



Anestesia epidural baja



Proceso de "lavado".



Colocación sonda Folley en útero



Enjuague de filtro.



2.4. CAPTURA Y CLASIFICACIÓN DE LOS EMBRIONES

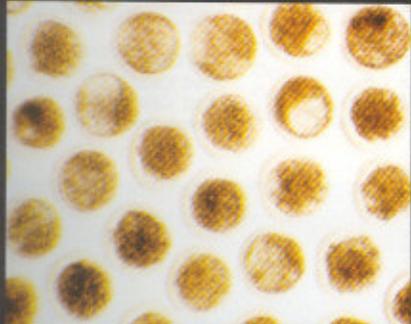
Búsqueda de embriones.



Captura de embriones.



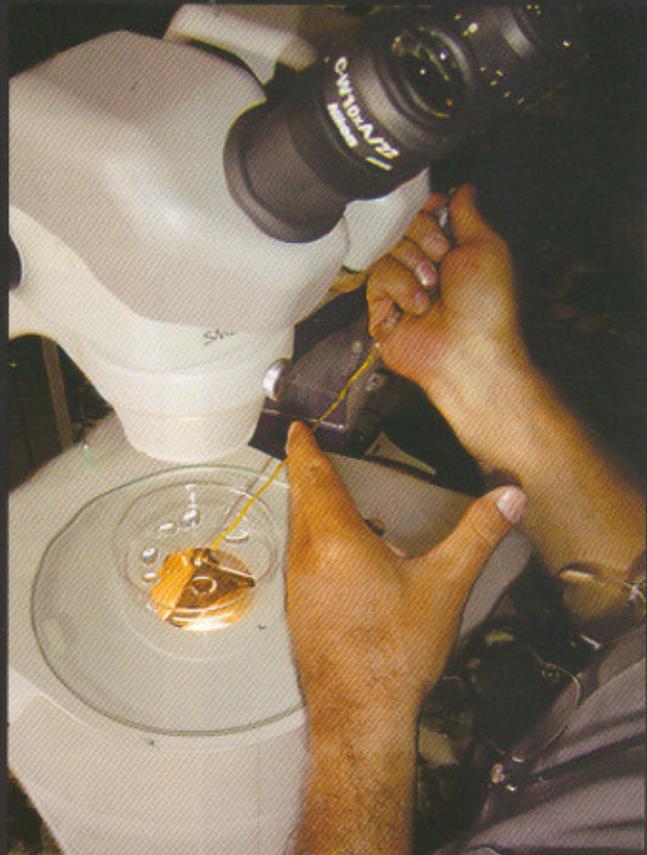
Embriones bovinos colectados.



Separación y lavado de embriones.



Empaque de embrión en minipajilla



Se realiza en el laboratorio o en el lugar de la finca destinado especialmente para ello; debe tener una temperatura entre 15 y 25 grados centígrados. Se realiza con la ayuda de un estéreo microscopio binocular, utilizando micro pipetas para la manipulación in Vitro. Se buscan en los líquidos recuperados del útero, en los filtros diseñados especialmente para esto. Después de identificar los embriones se trasladan a un medio de conservación (PBS + BSA 0,6%) para evaluar su calidad:

Calidad uno (1):	Excelente	Bueno
Calidad dos (2):	Regular	
Calidad tres (3):	Mediocre	
Calidad cuatro (4):	Muerto o Degenerado	

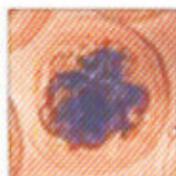
EMBRIONES BOVINOS: EJEMPLOS DE ESTADOS DE DESARROLLO Y CALIDAD



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 2
Comentarios:



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 3
Comentarios: f,g



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 3
Comentarios: f,g



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 3
Comentarios: f,g



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 3
Comentarios: f,g



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 3
Comentarios: f,g



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 3
Comentarios: f,g,h



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 1
Comentarios:



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 1
Comentarios: d



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 1
Comentarios:



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 1
Comentarios: d,i



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 2
Comentarios: e



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 2
Comentarios:



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 2
Comentarios:



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 3
Comentarios: g

COMENTARIOS:

d. Blastómeros pequeños aislados que comprenden menos del 15% del material celular total y el embrión es consistente con el estado de desarrollo esperado.

e. Espermatozoide en zona pelúcida.

f. Embriones con muchas células sueltas o residuos, deben ser examinadas para determinar la presencia y calidad de alguna masa embrionaria viable.

g. Embriones de calidad 3, tienen una masa embrionaria de menos del 50% de todo el material celular dentro de la zona pelúcida.

h. Este embrión tiene una masa buena más pequeña. La masa embrionaria es de menos del 25% de todo el material celular. Debe darse código de calidad 4 (no viable).

i. Forma irregular, es una variación común en el desarrollo del blastocelo.

Fuente: Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones

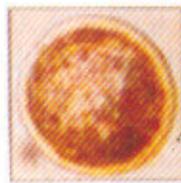
EMBRIONES BOVINOS: EJEMPLOS DE ESTADOS DE DESARROLLO Y CALIDAD



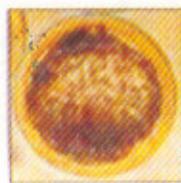
Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 5
Cod. Calidad: 3
Comentarios:



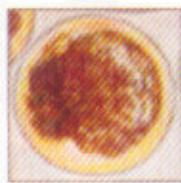
Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 6
Cod. Calidad: 1
Comentarios:



Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 6
Cod. Calidad: 1
Comentarios: k



Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 6
Cod. Calidad: 1
Comentarios: d,k



Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 6
Cod. Calidad: 2
Comentarios: k



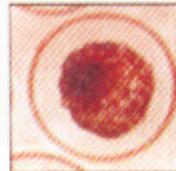
Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 7
Cod. Calidad: 1
Comentarios:



Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 7
Cod. Calidad: 1
Comentarios:



Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 7
Cod. Calidad: 1
Comentarios: j



Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 7
Cod. Calidad: 1
Comentarios: j



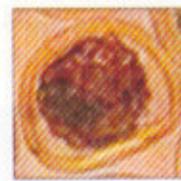
Día Ciclo: 7.5
Cod. Estado: 7
Cod. Calidad: 2
Comentarios: j,k



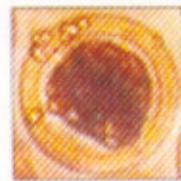
Día Ciclo: 8
Cod. Estado: 8
Cod. Calidad: 1
Comentarios: j



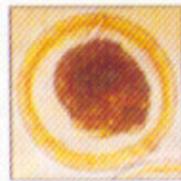
Día Ciclo: 8
Cod. Estado: 8
Cod. Calidad: 1
Comentarios: j



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 2
Comentarios: l



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 1
Comentarios: m



Día Ciclo: 7
Cod. Estado: 4
Cod. Calidad: 1
Comentarios: n

COMENTARIOS:

d. Blastómeros pequeños aislados que comprenden menos del 15% del material celular total y el embrión es consistente con el estado de desarrollo esperado.

j. Blastocelo colapsado; considerado como un proceso fisiológico normal que no baja el código de calidad.

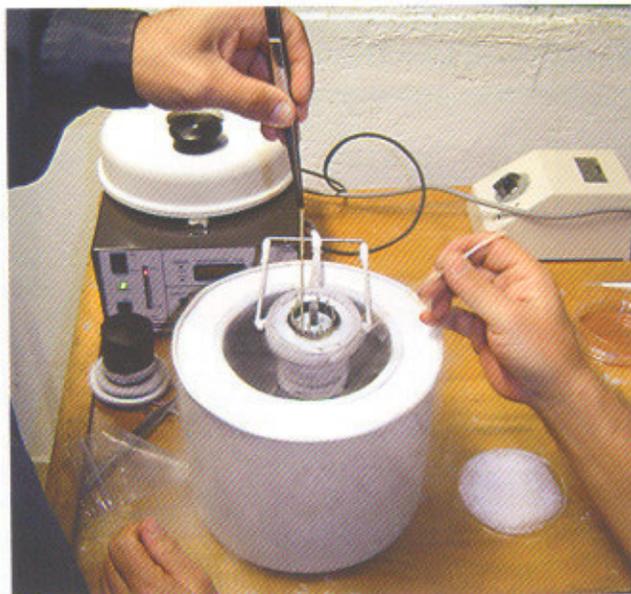
k. Células sueltas en embriones de código de estado 6, 7 y 8 son frecuentemente comprimidas contra la zona pelúcida y no aparecen a menos que el embrión se colapse por procesos fisiológicos normales o cuando se adiciona el crioprotector.

l. Este embrión tiene una superficie plana (o cóncava) en la zona pelúcida que puede causar adherencia en la caja del petri o en la micropipeta; este defecto impide que el embrión sea clasificado como de calidad 1 y no puede ser utilizado para comercio internacional a menos que permitan embriones, de común acuerdo, que no sean de calidad 1.

m. Residuos celulares en la superficie de la zona pelúcida muestran que este embrión no fue lavado adecuadamente.

n. Este embrión tiene una zona pelúcida fracturada, arriba de la foto; embriones que no tengan la zona pelúcida intacta no deben ser utilizados en comercio internacional.

Fuente: Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones



Congelación de embriones con nitrógeno líquido.

Los embriones seleccionados para transferir se empaican en pajillas francesas irradiadas de 0,25 ml.

A temperatura ambiente (+ 20° C) los embriones pueden soportar in Vitro unas ocho horas sin disminución de su viabilidad; mantenidos en esas condiciones continúan su desarrollo llegando a estados superiores, no óptimos para transferencia y pierden la sincronía con la receptora.

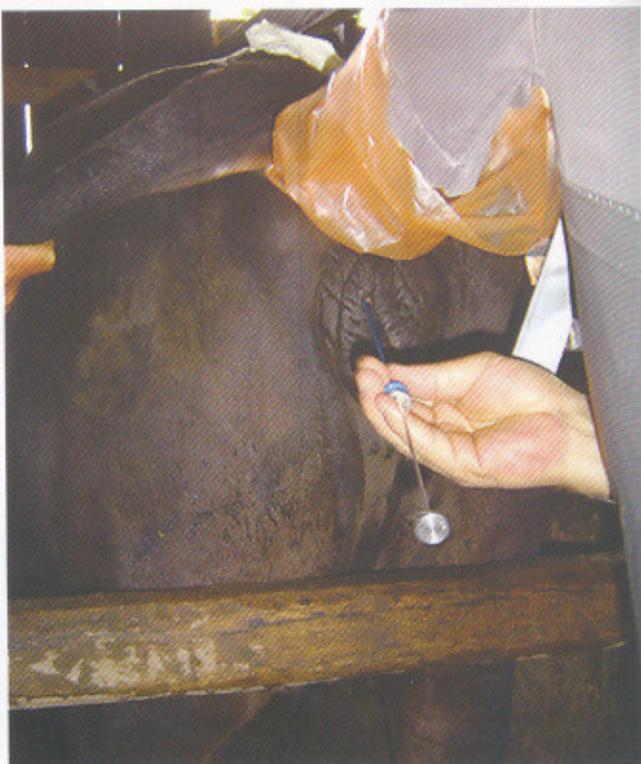
Para la conservación de embriones por largo tiempo antes de ser transferidos es necesario congelarlos a 196° C en donde el metabolismo de las células es completamente bloqueado; esta temperatura la tiene el Nitrógeno líquido.

Los embriones empacados en las respectivas pajillas son transferidos ("en fresco") a las receptoras previamente sincronizadas con la donante, o son congelados y conservados en nitrógeno líquido para futuras transferencias.

3 TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

Existen dos formas o métodos de realizarlas: Quirúrgicamente y No quirúrgicamente.

El método No quirúrgico es el más usado internacionalmente por su relativa simplicidad y similitud con la inseminación artificial, es un método que puede resultar en una gran variabilidad de porcentajes de preñez, debido a que es necesario introducir la pistola o catéter de transferencia profundamente dentro del cuerno uterino, atravesando por consiguiente el cervix una vez que éste ha desarrollado el tapón mucoso de la preñez y ha reducido su lumen, resultando en posibilidades de infección, desarrollo de irritaciones cervicales y de contracciones uterinas.



Transferencia no quirúrgica de embriones

Sin embargo, una vez que el operador adquiere suficiente práctica estos problemas tienden a ser menores ya que existe una alta correlación entre la suavidad y destreza del operador y la tasa de preñez obtenible.

El técnico procede a hacer la transferencia embrionaria, depositando el embrión en la porción superior (lo más profundo posible) del cuerno uterino ipsilateral al ovario conteniendo el cuerpo lúteo; para esto introduce la pistola de transferencia debidamente cargada y protegida con la camisa sanitaria dentro de la vagina entre abriendo los labios vulvares.

Existe la posibilidad de no poder atravesar el cervix con la pistola de transferencia (en algunos estudios se encontró que en 1.5 a 3.8% de las receptoras no fue posible pasar o cateterizar el cervix debido mayormente a cuellos sigmoideos).

El método transcervical no quirúrgico requiere de un alto grado de destreza en palpación rectal de los órganos reproductivos y facilidad para manipular transrectalmente las pistolas o catéteres.

Los resultados de preñez son altamente correlacionados con la destreza de los operadores, ya que deben depositar el embrión bien arriba en el cuerno y sin causar daño a la mucosa del endometrio uterino.

La experiencia del operario en el manejo del tracto genital y la comodidad con que efectúa la maniobra, condicionan el éxito de la transferencia embrionaria, por ello es recomendable utilizar anestesia epidural y sedantes dependiendo del temperamento de la receptora.

4

DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ

Tradicionalmente se realiza por palpación transrectal, a los 60 días de haberse transferido el embrión; también se puede hacer un poco antes (45 días) utilizando ultrasonografía (ecógrafo).



Crías nacidas por transferencia de embriones.

5

FACTORES QUE DETERMINAN EL RESULTADO DE LA TRANSFERENCIA NO QUIRÚRGICA DE EMBRIONES BOVINOS

La transferencia de embriones a través del cervix comenzó a ser utilizada en trabajos experimentales en 1949. Dificultades que se presentaron hicieron que el nacimiento del primer ternero se produjera en 1964. En las últimas décadas, los porcentajes de preñez se han incrementado de manera significativa pudiéndose obtener actualmente porcentajes alrededor del 60%, aún con la transferencia de embriones congelados.

Tabla No. 4.

Efecto de la calidad embrionaria sobre el porcentaje de preñez pos transferencia de embriones sin criopreservar.

Autores	Calidad embrionaria	Embriones transferidos		Receptoras preñadas	
		n	n	n	%
Wright	Buena	1.748	1.122	64.2	
	Regular	438	198	45.2	
	Pobre	100	33	33.0	
Hasler y col.	Buena	5.521	4.037	73.1	
	Regular	304	181	59.5	
	Pobre	76	31	40.8	
Reinchenbach y col.	Buena	61	33	54.1	
	Regular	41	21	51.2	
	Pobre	27	7	25.9	
Hasler y col.*	Buena	1.802	1.035	57.4	
	Regular	441	184	41.7	
	Pobre				

* Embriones producidos in vitro

Teniendo en cuenta un estudio de Xu y col. donde el porcentaje de preñez a primo inseminación promedió 64%, con un rango que varió entre 48 y 79%, se podría pensar que con la transferencia no quirúrgica se está cerca de alcanzar el límite biológico.

Tabla No. 5

Efecto de la calidad embrionaria pre-congelación sobre el porcentaje de preñez post-transferencia.

Autores	Calidad Embrionaria	Embriones transferidos		Receptoras preñadas	
		n	n	n	%
Leibo	Excelente	173	84	48.6	
	Regular	220	98	44.6	
	Buena	83	20	24.1	
Arreseigor y col.	Excelente	33	133	57.1	
	Regular	276	146	52.9	
	Buena	276	86	31.2	
Munar y col.	Excelente	1.633	996	60.9	
	Regular	565	301	53.3	
	Buena	123	49	39.8	

En resumen, los porcentajes de preñez que se obtienen luego de la transferencia no quirúrgica de embriones se han incrementado de manera significativa en las últimas décadas. No obstante, se considera factible mejorar la eficiencia de la técnica en la que intervienen factores relacionados con el embrión, con la receptora y con la transferencia propiamente dicha, produciéndose además interacciones entre ellos. 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.

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.

Bibliografía

1. **CUTINI, A., Teruel, M. y Cabodevilla, J.** Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. En: Taurus vol 2, N° 7 (2000) ; p. 28 - 39.
2. **HAFEZ, E.S.E.; B. Hafez.** Reproducción e inseminación artificial en animales. 7 ed. México: Mc Graw-Hill, 2002. p. 415-440.
3. **La clonación y la transferencia de embriones en vacunos de leche [on line] Perú.** 2002. Disponible en internet: www.visionveterinaria.com/prion/html.
4. **PALMA, Gustavo A.** Biotecnología de la reproducción. Balcarce, Argentina: INTA, 2001. 701 p.
5. **RESTREPO Velásquez, Álvaro.** Consideraciones para un programa de transferencia de embriones bovinos. Medellín: s.e., 2000. 70 p.
6. **SEMINARIO Taller Transferencia de Embriones (2003: Medellín).** Memorias del Seminario Taller. Medellín: SEILAM, 2003.
7. **VIVANCO Mackie, William.** Impacto de las tecnologías reproductivas sobre la eficiencia de producción del ganado vacuno. En: SEMINARIO INTERNACIONAL COMPETITIVIDAD EN CARNE Y LECHE. (4 : 2004 : Medellín). Medellín: COLANTA, 2004. P. 209-227.
8. **ZAPIEN S., Antonio.** Transferencia de Embriones uso e impacto en la ganadería de carne y leche. En: Memorias Festejos conmemorativos del 21 aniversario del CIPES. México: CIPES, 1990.