

TECNICA

La congelación de embriones bovinos

Durante los últimos 25 años, los métodos para el control y la manipulación de la reproducción en los mamíferos han alcanzado un notable grado de desarrollo, fundamentalmente en el campo de las técnicas de reproducción *in vitro* y de la crioconservación.

La producción de embriones bovinos *in vitro* (embriones FIV) puede considerarse hoy en día como rutinaria. Sus aplicaciones son muy diversas, y no sólo desde el punto de vista de la investigación (clonaje, individuos transgénicos), sino que también permiten la obtención de descendencia a partir de vacas de alto valor genético que por una u otra razón son eliminadas de la reproducción.

Obtención de los embriones

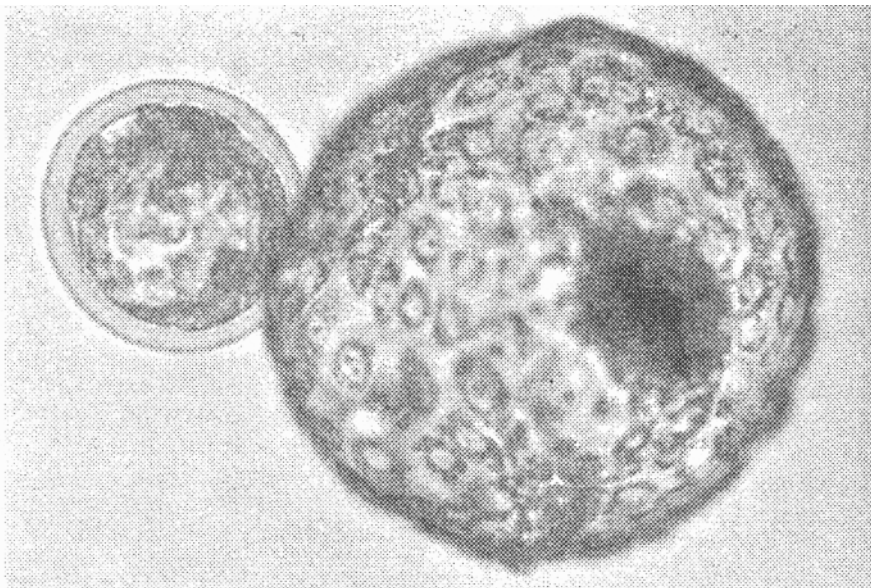
La técnica más usual es la de Ovum Pick-up (OPU) que permite, con o sin la ayuda de la ecografía, la punción de los ovarios en vacas vivas (a un ritmo de dos sesiones por semana, durante dos meses) y la recogida de una cantidad variable de ovocitos que posteriormente serán madurados, fecundados y puestos en cultivo en el laboratorio. Aquellos que tengan un desarrollo normal, podrán ser transferidos a hembras receptoras, o bien congelados para su conservación durante largos periodos de tiempo.

Asimismo, en el caso de hembras muy valiosas que por algún problema grave deban ser sacrificadas, se pueden recuperar los ovarios y puncionarlos para recoger los ovocitos que contengan. Dichos ovocitos serán procesados de igual forma que en el caso de la OPU.

De todas las técnicas comentadas anteriormente, quizás sean los métodos de crioconservación, derivados de los estudios realizados a partir de embriones recuperados *in vivo*, los que aún no hayan sido satisfactoriamente desarrollados en el caso de los embriones FIV.

Numerosos equipos de investigación han demostrado que el embrión FIV es mucho más sensible a la congelación que el producido *in vivo*. Así, las tasas de gestación tras la transferencia a hembras receptoras de embriones *in vivo* congelados se acercan a las obtenidas con embriones frescos (60%), mientras que para el caso de los producidos *in vitro* no se supera el 20-30% de gestaciones.

El camino a seguir en el terreno de la criobiología consiste en determinar el origen de las lesiones que se producen en el embrión FIV, así como poner a punto diferentes sistemas que, proporcionando una protección al embrión, nos permitan obtener una tasa de desarrollo normal tras su congelación/descongelación.



Manejo y problemática de la crioconservación

Básicamente, la congelación/descongelación de embriones consiste en la realización de cuatro etapas:

- 1.- Suspensión de los embriones en una solución que contiene una sustancia denominada "crioprotector", cuya finalidad es proteger a los embriones de los efectos perjudiciales del frío.
- 2.- Congelación propiamente dicha, y Almacenamiento en Nitrógeno líquido.
- 3.- Descongelación de los embriones.
- 4.- Transferencia (directa o con retirada del crioprotector)

Numerosos equipos de investigadores centran actualmente sus estudios en este campo, con el fin de encontrar el origen de esta mayor sensibilidad a las bajas temperaturas de los embriones FIV, y poder mejorar los resultados obtenidos hasta ahora.

Los primeros resultados obtenidos apuntan hacia la existencia de importantes diferencias entre ambos tipos de embriones:

a) diferencias estructurales: los embriones FIV parecen tener menor densidad que los obtenidos *in vivo*, posiblemente debido a su mayor contenido en lípidos. No obstante, no se conoce el mecanismo exacto por el que este hecho podría explicar una mayor sensibilidad al enfriamiento de los embriones FIV.

b) diferencias en el metabolismo: los embriones FIV podrían desarrollar diferentes rutas metabólicas, que explicarían también el diferente contenido en lípidos.

Aunque el contenido en lípidos parece afectar la sensibilidad al frío y alterar la supervivencia embrionaria durante la conge-

lación, existen otros factores como la velocidad de enfriamiento, la edad y el estadio de desarrollo de los embriones, características celulares (permeabilidad celular, propiedades osmóticas) y la utilización de diferentes crioprotectores, que también tienen un efecto importante sobre la congelabilidad de los embriones.

Trabajos en el CIATA

Las vías actualmente orientadas al estudio de este problema, y en estos momentos en fase de experimentación en el Laboratorio de FIV del CENSYRA de Somió (CIATA), son:

- caracterización metabólica de los embriones FIV.
- optimización de la calidad de los blastocistos producidos, lo que se traduciría en una mayor supervivencia tras los procesos de congelación/descongelación.
- estudio de fenómenos osmóticos y desarrollo de un sistema de congelación empleando el crioprotector más adecuado a las características del embrión.

Todos estos estudios van dirigidos a la mejora de las tasas de supervivencia de los embriones obtenidos por técnicas *in vitro*, y a una optimización de los resultados conseguidos actualmente en el laboratorio.

A efectos prácticos, ello supondría el incremento del potencial reproductivo de hembras de elevado valor; permitiría la obtención de crías de vacas "problema" (por ejemplo, con mala o nula respuesta a los tratamientos superovulatorios), y finalmente nos posibilitaría la conservación a largo plazo de los embriones obtenidos, lo que supondría un importante instrumento de mejora genética, de potenciación de razas autóctonas y de conservación de aquellas que puedan encontrarse en peligro de desaparición.