

Fecundación *in vitro*

Hugo Hernández Fonseca, MV, MSc, PhD

*Cátedra de Fisiología Animal, Departamento de Biología Animal
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia.
Maracaibo-Venezuela ~ hjhernan@cantv.net*

El fenómeno o proceso a través del cual el espermatozoide o célula masculina es capaz de unirse y penetrar la célula femenina u óvulo para formar un nuevo individuo bajo condiciones de laboratorio (fuera del organismo animal) se conoce como *fecundación "in vitro"* (FIV). La habilidad de imitar exitosamente este proceso biológico en el laboratorio esta basada en años de estudio y experimentación. En la actualidad, luego de la producción de Virgilio (primer becerro *in vitro* del mundo en EEUU por el equipo de Benjamín Brackett en 1981) y a 4 años de los primeros becerros *in vitro* nacidos en Venezuela logrados por el equipo de Hugo Hernández, podemos afirmar que han existido suficientes experiencias experimentales, a campo y comerciales, que permiten al FIV comenzar a asistir al productor agropecuario en la difícil tarea de incrementar la producción de proteínas de origen animal.

La fecundación *in vitro* permite que el semen del toro o sementales de casi cualquier especie doméstica, pueda penetrar y fecundar el óvulo de la vaca u otra hembra. El semen del toro debe ser preparado al igual que el óvulo de la vaca para que ocurra la fecundación dentro de envases plásticos estériles (placas de petri) en el laboratorio. Los embriones resultantes permanecen embebidos en medios de cultivo líquidos enriquecidos con nutrientes que el embrión necesita para desarrollarse y crecer. Debemos entender que el producto de estas fecundaciones en el laboratorio es un conceptus o embrión que permanecerá en la placa de petri por 7 a 8 días, antes de ser utilizado (congelado, transferido, desechado o estudiado).

En los actuales momentos, no existe la tecnología suficiente para lograr la capacidad de mantener el embrión en condiciones *in vitro* ideales como para permitir al embrión que se desarrolle hasta que este se convierta en feto o en un becerro. De manera tal, que esta tecnología solo nos permite ejercer un control sobre las condiciones de formación, crecimiento y desarrollo de embriones bovinos durante la primera se-

mana de vida, donde se han comprobado signos de viabilidad de este embrión antes de transferirlo a una vaca. La FIV nos permite además, masificar el proceso de producción de embriones (200-400 embriones/semana/técnico). La FIV fácilmente se acopla a otras tecnologías como la aspiración de óvulos de vacas seleccionadas (OPU), para de esa forma, multiplicar los beneficios en cuanto a la calidad genética de los embriones obtenidos.

ETAPAS DE LA FIV

La FIV comprende tres etapas:

1. Maduración del óvulo o gameto femenino.
2. Fecundación propiamente dicha.
3. Cultivo embrionario

Maduración. Consiste en propiciar la progresión en el desarrollo del óvulo de la vaca o novilla, una vez obtenido de ovarios de matadero o animales vivos por aspiración transvaginal. Esto se logra colocando estos óvulos en medios enriquecidos y suplementados con hormonas, como la hormona foliculo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH) o los estrógenos (E_2) durante un periodo de 24 horas.

Fecundación. Consiste en incubar los óvulos madurados (producto de la fase anterior) con espermatozoides vivos y móviles durante un periodo de 6 a 24 horas, luego de un proceso de selección y capacitación espermática que nos permitirá a su vez de deshacernos de componentes del plasma seminal, crioprotectores y espermatozoides muertos o con escasa vitalidad. La capacitación espermática generalmente se logra exponiendo los espermatozoides vivos a concentraciones de heparina y cafeína, entre otras. Estas sustancias logran estimular el proceso de capacitación del espermatozoide que lo prepara para interaccionar y fecundar el óvulo.

Cultivo. Aquellos embriones de 4 o más células resultantes de la FIV son cambiados del medio de fecundación a un medio de cultivo embrionario donde los embriones continúan su división celular a 8, 16 y 32 células hasta llegar a mórulas y blastocistos. Al llegar a estos estadios, los embriones pueden ser transferidos a vacas receptoras (en fresco) o congelados para su posterior uso. Durante esta etapa destacan la presencia en el medio de cultivo de diversas fuentes de energía como la glucosa y aminoácidos esenciales y no esenciales.

APLICABILIDAD DE LA FECUNDACIÓN *IN VITRO* EN LA GANADERÍA

El establecimiento y la adopción de una nueva tecnología en nuestros sistemas de producción bovina de leche y carne estarán probablemente determinados por la existencia de condiciones y prerequisites, entre los cuales se contarían los siguientes:

Tecnología Eficiente. La FIV ha venido superando obstáculos desde los años 70. Hoy día por cada 100 óvulos colocados a madurar se puede esperar que más del 90% alcance el estadio de Metafase II o estadio en el que puede ser fecundado por el espermatozoide. De esos maduran más de 90 óvulos para luego de la fecundación inicia-

rán su división celular aproximadamente de 50 a 70 óvulos. De estos óvulos fecundados, 20 a 40 llegan a ser embriones (blastocistos) transferibles.

Costos por debajo de ingresos. La FIV garantizará bajos costos en la medida que el número de óvulos sea alto, constante y de apropiado valor genético, de manera de masificar la producción de embriones por semana (400 embriones/técnico). La combinación de FIV con otras tecnologías como el sexaje de embriones, semen sexado, ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides) o la aspiración transvaginal de óvulos aunque aumentan los costos, en general, incrementará mucho más el valor del embrión producido.

Técnica probada bajo condiciones comerciales. Aun cuando la FIV no se aplica ampliamente a nivel mundial (sólo el 7% de los embriones transferidos son producidos *in vitro*), ha demostrado ser comercialmente aplicable en países como Canadá y Brasil.

Simplicidad en su aplicación. La aplicación de la FIV no impone exigencias adicionales sobre el sistema de producción diferente a las exigidas por otras tecnologías como la inseminación artificial y la transferencia embrionaria.

Flexibilidad para insertarse en el sistema. La producción *in vitro* de embriones se podría llevar a cabo usando óvulos provenientes de ovarios de matadero, de óvulos aspirados de animales élite sin necesidad de sacrificarlos o con óvulos adquiridos a empresas especializadas a nivel mundial. Los espermatozoides pueden provenir de semen fresco o congelado. La FIV puede producir embriones con gametos de cualquier raza y suele obedecer la selección del productor.

Accesibilidad de equipos, asesoramiento técnico y repuestos. Todos los equipos y reactivos utilizados en FIV son normalmente utilizados en laboratorios clínicos y de investigación, y aunque no son normalmente producidos en el país, si pueden ser adquiridos a través de representaciones locales.

Publicidad y Educación. Es vital que el potencial usuario y la comunidad donde ha de insertarse conozcan las expectativas reales de su aplicación.

BENEFICIOS DE LA APLICACIÓN DE FIV

- Los beneficios de alguna tecnología siempre deben cuantificarse económicamente cuando se aspira que la misma tenga impacto en la ganadería nacional, aspecto este que en ocasiones los investigadores olvidan y que termina perjudicándolos con las dificultades para la consecución de fondos para la investigación científica. Sin embargo, cuando se habla del aspecto económico no necesariamente hay que referirse a la inversión inicial, sino a los flujos de caja a ser generados en los años subsiguientes.
- La FIV posee nichos de aplicación donde su éxito será más probable. Por supuesto, que las empresas agropecuarias o fincas donde ya se aplique alguna otra tecnología como la inseminación artificial o se lleve un control reproductivo confiable, y exista a la vez una gerencia entusiasta y comprometida con el proceso productivo, probablemente constituyan lugares apropiados para la aplicación de esta tecnología.

- La FIV realmente no tiene exigencias adicionales a las establecidas por la IA o la Transferencia Embrionaria (TE), dado que el embrión *in vitro* se realiza en un laboratorio de FIV y sólo se lleva el embrión a la finca dentro de una pajuela idéntica a las usadas para semen. Este embrión será almacenado en tanques de nitrógeno líquido igual que el semen.

En conclusión, podemos señalar que la fecundación *in vitro* (FIV):

- Constituye una tecnología que abre las puertas a la producción masiva de embriones bovinos doble propósito, sin mayores exigencias sobre el sistema productivo mejorado, actualmente en funcionamiento.
- Se apoya sobre tecnologías ya utilizadas en nuestro entorno (como por ejemplo: la transferencia embrionaria, y el procesamiento y congelación de semen), lo cual resulta ventajoso porque se aprovecha la infraestructura ya existente, así como el personal especializado y la familiaridad del productor con la tecnología. Igualmente, la FIV puede perfectamente apoyarse en nuevas tecnologías que serán aplicadas en el futuro, como el sexaje de semen y de embriones, para imprimir un mayor valor comercial a los embriones producidos.

GLOSARIO

- **Gameto:** Célula sexual femenina (óvulo) o masculina (espermatozoide) que unidas forman un nuevo individuo de la especie (zigoto o embrión).
- **Óvulo:** Gameto o célula sexual femenina encontrada en pequeñas vesículas o folículos a nivel de la corteza de los ovarios de las vacas y demás especies.
- **Espermatozoide:** Gameto o célula sexual masculina producida a nivel de los testículos del macho y que junto con el plasma seminal forman parte del eyaculado.
- **Capacitación Espermática:** Proceso de alteración de las membranas del espermatozoide que lo preparan para fertilizar un óvulo.
- **Heparina:** Glicosaminoglicano utilizado para inducir la capacitación del espermatozoide.
- **Fecundación:** Unión y penetración del óvulo por parte del espermatozoide para dar origen a un nuevo ser.
- **Embrión:** Ser vivo en las primeras etapas del desarrollo desde la fecundación hasta que adquiere las características morfológicas de la especie.
- **Blastocisto:** Embrión que ha formado una cavidad llena de líquido conocida como el blastocelo, la cual constituye una etapa crucial del normal desarrollo. Esta etapa es corta y transitoria que generalmente ocurre entre el día 6 y 9 en caso de las vacas.
- **Aspiración transvaginal de óvulos:** Aspiración del contenido de folículos ováricos a través de la pared de la vagina con el fin de recoger óvulos de animales vivos.

- **OPU.** Abreviatura utilizada para denominar el procedimiento anterior de aspiración transvaginal de óvulos (Ovum Pick Up). Estos óvulos pueden ser fecundados mediante FIV.
- **ICSI:** Colocación mecánica de un espermatozoide dentro del citoplasma de un óvulo (Inyección Intracitoplasmática de espermatozoides, del inglés: Intracytoplasmic Sperm Injection).
- **Medio de Cultivo:** En el caso de FIV, el medio es generalmente líquido y contiene todos aquellos nutrientes (aminoácidos, proteínas, ácidos grasos, carbohidratos, vitaminas, buffer, y sales) que el embrión requiere para su normal desarrollo.

LECTURAS RECOMENDADAS

Hernández H. Fertilización in vitro. En: Reproducción Bovina. C. González-Stagnaro (ed). Fundación GIRARZ, Maracaibo-Venezuela. Cap. XXVI: 411-426. 2001.

Tanaka H, Ballarales P, Masaka J, Kanaga H. Teoría y practica de la fecundación in vitro. Agencia de Cooperación Internacional de Japon Chile, 190 pp. 1997.

Palma G. Producción in vitro de embriones bovinos. En: Biotecnología de la Reproducción. G. Palma (Ed), p 225-289. 2001.

PRODUCCION IN VITRO DE EMBRIONES BOVINOS

