

## Aspiración folicular transvaginal

**Héctor Nava-Trujillo, MV<sup>1</sup>, Hugo Hernández-Fonseca, MV, PhD<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Programa de Reproducción Bovina. División de Estudios para Graduados, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia.*

<sup>2</sup>*Catedra de Fisiología de los Animales Domésticos, Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela ~ hectornava00@hotmail.com*

Los grandes avances en el área de la reproducción animal como son la fertilización *in vitro*, la clonación y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides tienen en común la necesidad de utilizar ovocitos de alta calidad o capacidad de desarrollo, factor que es clave para lograr una alta eficiencia de estas tecnologías.

En el caso de la producción *in vitro* de embriones (PIV), los ovocitos en la mayoría de los casos provienen de ovarios obtenidos en mataderos y aunque estos representan la fuente más abundante de ovocitos, no garantizan la calidad necesaria para obtener de manera constante altas tasas de blastocistos. Tampoco se garantiza que estos ovocitos provengan de hembras de alto valor genético (a menos que estas sean conocidas previamente) o libres de enfermedades, lo que cobra gran importancia si se toma en cuenta la mayor persistencia de los patógenos que se adhieren a la zona pelúcida de los embriones producidos *in vitro* a los lavados de tripsina a que son sometidos a fin de garantizar su inocuidad.

Entre un 50 y 70% de los ovocitos obtenidos son aptos para la fertilización *in vitro*, alrededor del 90% de estos son fertilizados y entre el 20 y 40% alcanzan el estadio de blastocisto. Por lo tanto, mantener una fuente constante de ovocitos de alta capacidad de desarrollo, alto valor genético y máxima calidad sanitaria es uno de los puntos claves para garantizar un sistema comercial de producción *in vitro* de embriones.

El 95% de los embriones transferidos a nivel mundial son producto de superovulación; sin embargo, el número de embriones producidos por tratamiento superovulatorio es altamente variable dependiendo de la raza de la donante, de los tratamientos superovulatorios previos, de la hormona superovulatoria a utilizar y del día del ciclo en que se inicie el tratamiento, entre otros. En el mejor de los casos se

pueden realizar 6 tratamientos por vaca/año (a intervalos de 2 meses) y se obtienen en promedio unos 6 embriones transferibles por tratamiento, lo que representa unos 36 embriones por vaca/año y unos 18 becerros nacidos, asumiendo un 50% de preñez.

Ante esta situación, la obtención de ovocitos de una hembra viva mediante la aspiración folicular transvaginal representa la alternativa más viable para lograr satisfacer las necesidades de ovocitos de un sistema de producción de embriones. Esto es probablemente debido a que combina lo mejor de diversas tecnologías como la superovulación, la ultrasonografía y la producción *in vitro* de embriones. Además, la aspiración folicular transvaginal es una técnica confiable, poco invasiva y con gran repetibilidad.

## ¿EN QUÉ CONSISTE LA ASPIRACIÓN FOLICULAR TRANSVAGINAL?

Mejor conocida por sus siglas en inglés, OPU (Ovum Pick-up), la aspiración folicular transvaginal es una técnica mediante la cual los ovocitos inmaduros son recolectados de los folículos en los ovarios de una vaca viva por aspiración guiada mediante ultrasonografía a través de la pared vaginal. Esta técnica fue aplicada por primera vez en bovinos en 1988 al adaptar para tal fin los procedimientos de búsqueda ultrasonográfica transvaginal utilizados en humanos y aparece como una solución luego de intentos previos de aspiración de folículos en vacas vivas mediante técnicas como la laparotomía y la laparoscopia.

## LA TÉCNICA DE OPU

Para llevar a cabo esta técnica de aspiración folicular *in vivo* se requiere contar con un equipo de ultrasonografía, un transductor sectorial, una bomba de aspiración y un sistema de guía de la aguja. La sonda ultrasonográfica para OPU ha sido construida con la finalidad de que permita la manipulación de la aguja desde el exterior del animal y que el transductor esté en contacto con los ovarios; de ese modo, el extremo de la aguja pueda ser visualizado cuando penetra dentro de los folículos que serán aspirados. La aguja está conectada a la bomba de vacío por medio de una tubería plástica o de silicona, lo que permite que el contenido folicular sea vaciado directamente al filtro, que es similar al utilizado para la recolección de embriones.

En primer lugar, al iniciar el trabajo, las hembras a utilizar deben ser sedadas con xilazina y además deben recibir anestesia epidural con lidocaina al 2% (3-5 ml/vaca), luego de esto se debe proceder a limpiar y desinfectar la vulva y el perineo. Una vez realizada la higiene, se procede a introducir el transductor que tiene acoplado el sistema de guía de la aguja. No es necesario introducir la mano por la vagina para tal fin. La cabeza del transductor debe ubicarse en cualquiera de los lados del cervix, según sea el ovario a puncionar. Luego se introduce la mano izquierda por el recto y se fija el ovario contra la cabeza del transductor, lo que permite visualizarlo en la pantalla del equipo de ultrasonografía, al igual que a los folículos y la aguja. A su vez en la pantalla del ultrasonografo podemos apreciar la trayectoria de la aguja lo que nos permite ubicar los folículos para lograr una aspiración exitosa. Una vez ubicado el folículo a aspirar, se impulsa la aguja suavemente para que penetre la pared vaginal y luego la folicular; una vez logrado esto la bomba de vacío aspira el conteni-

do y lo deposita en el filtro de embriones o en el recipiente destinado para tal fin. En cualquiera de los casos estos debe contener medio de aspiración heparinizado (PBS + 10% de suero fetal bovino). Posterior a esto los ovocitos son procesados igual que para fertilización *in vitro*.

## EL USO DE LA OPU

La OPU permite incrementar de forma significativa, el número de embriones transferibles y de preñeces por vaca al año, dada la posibilidad de reutilizar las vacas donantes de ovocitos a intervalos mucho más cortos en comparación con la técnica de superovulación y en comparación con la utilización de ovarios de matadero. La técnica permite realizar hasta dos sesiones de aspiración por donante a la semana, obteniéndose en promedio unos 4,1 ovocitos/vaca/sesión. Además, este número puede llegar a 10,4 ovocitos/vaca/sesión, si las donantes son tratadas previamente con hormona foliculo estimulante (FSH) y somatotropina (bST), por lo que se pueden llegar a obtener entre 50 (sin estimulación hormonal) y 100 (con estimulación hormonal, FSH+bST) becerros por vaca donante al año. Esto representa entre 3 a 4 veces el valor logrado con la transferencia de embriones clásica. Los resultados pueden estar afectados por factores como el diámetro de la aguja de aspiración, la presión de aspiración, el momento del ciclo estral en que se realice la aspiración, edad, raza y condición corporal de la donante, así como el uso de estimulación hormonal.

Además, la OPU permite incorporar hembras donantes que se rechazarían en los procedimientos de superovulación por razones de dificultades anatómicas en el cérvix como a una falta de respuesta o a una disminución progresiva de la respuesta al tratamiento superovulatorio. También pudiera ser que se trate de hembras que sean infértiles y que continúen vacías luego de cuatro o más servicios. No debe pasarse por alto la posibilidad de incorporar como donantes de ovocitos a hembras jóvenes e inclusive pre-púberes, lo que nos permitiría no solo acortar el intervalo generacional sino también acelerar las pruebas de progenie para la evaluación genética de sementales. Por supuesto que para esto es necesaria aún mucha investigación.

Es importante resaltar que el uso de esta técnica no esta restringida a bovinos y ha sido aplicada en diversas especies como son equinos, rumiantes silvestres y búfalos, además de representar una herramienta importante en la recuperación de especies en peligro de extinción. Otro uso potencial de la OPU es la posibilidad de aplicar tratamientos hormonales directamente en el ovario. Tal es el caso de la inyección intraovárica del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), que permite incrementar la capacidad de desarrollo de ovocitos aspirados de ovarios de hembras pre-púberes.

En conclusión, la aspiración folicular transvaginal es un procedimiento que permite la recuperación repetida de ovocitos de donantes vivas, siendo una técnica de alta eficiencia y repetibilidad, lo que permite al combinarla con la fertilización *in vitro* superar con creces el número de becerros obtenidos por donante en un periodo fijo de tiempo en comparación con la superovulación. La aplicación de esta técnica puede, además, incrementar el número de donantes de ovocitos entre las cuales se podrá contar con hembras pre-puberales, lo que permitiría reducir el intervalo generacional y así incrementar el progreso genético.

## LECTURAS RECOMENDADAS

Galli C, Crotti G, Notari C, Turini P, Duchi R, Lazzari G. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology* 55:1341-1357, 2001.

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

Oropeza A., Haderer KG, Herrmann D, Wrenzycki C, Niemann H. Improvement of the developmental capacity of oocytes from prepubertal cattle by intraovarian IGF-I application. *Reprod. Fertil. Dev.*, 16(1,2): 243 (Abstract). 2004.

Pieterse MC, Kappen KA, Kruip ThAM, Taverne MAM. Aspiration of bovine oocytes during trans-vaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology* 30: 751-762, 1988.

Simon L, Bungartz L, Rath D, Niemann H. Repeated bovine oocyte collection by means of a permanently rinsed ultrasound guided aspiration unit. *Theriogenology* 39: 312 abstract, 1993.