



## RESUMEN

### **TITULO: “FACTORES QUE AFECTAN LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA RECEPTORA EN UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS”**

La transferencia de embriones es una de las biotecnologías más difundidas en el mundo y que ha tenido gran impacto a nivel zotécnico pues ha permitido incrementar la descendencia de reproductores de alto valor genético y ha venido difundiéndose muy marcadamente en los últimos años en nuestro país. Sin embargo esta biotecnología que tiene un enorme potencial de mejoramiento genético se encuentra limitada por varios factores que disminuye su aplicación. Con el objeto de incrementar la eficiencia en estos programas se realizó una revisión bibliográfica de los factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos tales como los aspectos asociados a la hembra donante, al embrión, aplicación de la técnica, a la hembra receptora, sincronismo donante-receptora, sincronismo embrión-receptora, desarrollo postransplante del embrión y



finalmente se evaluaron algunas alternativas para incrementar las tasas de preñez.

**Palabras claves:** biotecnologías, genética, embrión, sincronismo, transplante, micromanipulación, alogénico, folículos, mórula, blastocisto.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	16
General:.....	16
Específicos: .....	16
REVISION DE LITERATURA.....	17
2.1. GENERALIDADES.....	17
2.2. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS CON LA HEMBRA DONANTE.....	18
2.2.1. LA SELECCIÓN DE LA HEMBRA DONANTE. ...	19
2.2.1.1. Estado del ovario en el momento del tratamiento. ....	19
2.2.1.2. Edad.....	23



2.2.1.3. Estado nutricional. ....	26
2.2.1.4. Historia reproductiva. ....	28
2.2.1.5. Tratamientos sucesivos. ....	29
2.2.1.6. Raza.....	31
2.2.2. LA MULTIOVULACION DE LA HEMBRA DONANTE .....	33
2.2.2.1. Gonadotrofina empleada. ....	35
2.2.2.2. Dosis empleada .....	38
2.2.2.3. Relación FSH/LH .....	42
2.2.2.4. Dosis y frecuencia de administración de la prostaglandina F2 alfa. ....	45
2.3. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS AL EMBRION. ....	46
2.3.1. Calidad embrionaria .....	46
2.3.2. Estadio de desarrollo. ....	53
2.3.3. Edad embrionaria. ....	56
2.3.4. Criopreservación.....	58
2.3.5. Micromanipulación.....	60



2.4. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS CON LA APLICACIÓN DE LA TECNICA.....	61
2.4.1. Mecanismos para colectar los embriones. ....	61
2.4.2. Dificultad en el momento de la transferencia. ....	62
2.5. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS CON LA HEMBRA RECEPTORA.....	65
2.5.1. SELECCIÓN DE LA HEMBRA RECEPTORA....	67
2.5.1.1. Raza.....	68
2.5.1.2. Categoría. ....	69
2.5.1.3. Estado nutricional. ....	72
2.5.1.4. Empleo reiterado.....	73
2.5.1.5. Importancia de la evaluación de las estructuras ováricas en la hembra receptora.....	76
2.6. SINCRONISMO DONANTE-RECEPTORA. ....	82
2.7. SINCRONISMO EMBRION- RECEPTORA. ....	86
2.8. DESARROLLO POST-TRASPLANTE DEL EMBRION Y ACTIVACION DE LOS MECANISMOS LUTEOTROPICOS. ....	88
2.9. PORCENTAJE DE PREÑEZ.....	90



3.10. CAUSAS DE MORTALIDAD EMBRIONARIA.....	93
2.11. OTROS FACTORES CAUSANTES DE MORTALIDAD EMBRIONARIA. ....	97
2.11.1. Factores genéticos. ....	97
2.11.2. Factores ambientales. ....	97
2.11.3. Factores nutricionales. ....	98
2.11.4. Factores tóxicos. ....	99
2.11.5. Factores patológicos. ....	99
2.11.6. Factores inmunológicos.....	1
2.12. ALTERNATIVAS UTILIZADAS CON EL FIN DE INCREMENTAR LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ. .....	101
CONCLUSIONES.....	104
BIBLIOGRAFIA.....	106
ANEXOS.....	110

## ÍNDICE DE TABLAS

pág.



Tabla 1. Producción de embriones en vaquillonas superovuladas en cuatro días diferentes del ciclo estral. (Cabodevila J, Torquati S, 2008) .....	21
Tabla 2. Promedio de embriones transferibles según el intervalo entre tratamientos. (Cabodevila J, Torquati S, 2008) .....	30
Tabla 3. Comparación de la respuesta superovulatoria después de tratamientos con PMSG y FSH-p. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).....	36
Tabla 4. Respuesta superovulatoria obtenida con distintas dosis de gonadotrofinas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008) .....	38
Tabla 5. Resultados de tratamientos superovulatorios efectuados con FSH-p con diferentes relaciones FSH/LH. (Cabodevila J, Torquati S, 2008) .....	43
Tabla 6. Efecto de la calidad embrionaria sobre el porcentaje de preñez postransferencia de embriones sin criopreservar. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) ...	50
Tabla 7. Efecto de la calidad embrionaria pre-congelación sobre el porcentaje de preñez pos transferencia. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) .....	52



Tabla 8. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) .....	54
Tabla 9. Tasa de preñez para las variables asociadas al embrión transferido. (Oyuela A., 2009) .....	55
Tabla 10. Tasa de preñez para las variables asociadas técnico que transfiere el embrión. (Oyuela. A 2009).....	64
Tabla 11. Tasas de preñez después de la transferencia de embriones en vaquillonas y vacas. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) .....	70
Tabla 12. Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras (Villarreal, et al., 2009).....	71
Tabla 13. Efecto de la condición corporal de la receptora sobre el porcentaje de preñez después de la transferencia no quirúrgica. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) ...	73
Tabla 14. Porcentajes de preñez obtenidos por distintos autores luego de efectuar transferencias sucesivas. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) .....	74
Tabla 15. Tasa de preñez (n) después de la 1, 2 y 3 transferencia de embriones producidos in vitro a la misma receptora. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) .....	75



Tabla 16. Tasa de preñez de acuerdo al número de transferencias consecutivas. (Oyuela.A 2009) .....	75
Tabla 17. Efecto de la calidad del CL sobre la tasa de preñez después de la transferencia de embriones. (Oyuela A., 2009).....	79
Tabla 18. Relación entre la calidad del cuerpo lúteo y la preñez de las receptoras después de la transferencia de embriones producidos <i>in vitro</i> . (Palma G., 2001).....	80
Tabla 19. Relación entre la calidad del cuerpo lúteo y los niveles de progesterona de las receptoras 2días antes de la transferencia. (Oyuela 2009) .....	81
Tabla 20. Tasa de preñez para las variables asociadas al cuerpo lúteo de la receptora y los índices de preñez. (Oyuela.2009) .....	81
Tabla 21. Código de desarrollo embrionario según. (Palma G., 2001) .....	85
Tabla 22. Efecto de la sincronidad donante/receptora y embrión/receptora sobre la tasa de preñez. (Palma G., 2001).....	85
Tabla 23. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez, (Palma G., 2001).....	88





Tabla 24. Preñez obtenida después de la transferencia de embriones de diferentes calidades producidos in vitro. (Palma G., 2001).....	91
Tabla 25. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez (Oyuela 2009) .....	92
Tabla 26. Preñeces Mortalidad Embrionaria según el origen de las donantes. (C.J. Arreseigor., Tami Vasconcellos. A Pereira. Ibareche A. Sarmiento G. R Stahringer) .....	95

## INDICE DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Tasa de preñez de acuerdo al desarrollo del embrión transferido. ....	110
Figura 2. Porcentaje de preñez de acuerdo a la cantidad de transferencias consecutivas a una misma receptora antes que quedar preñada.....	110
Figura 3. Tasa de preñez, por grupos de 10 embriones transferidos consecutivamente por el mismo técnico. ....	111
Figura 4. Porcentaje de preñez por tamaño de cuerpo lúteo, al momento de la transferencia del embrión.....	111



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**Fundada en 1867**

Yo, **JOSÉ RODRIGO MARÍN REINOSO**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de **MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

---

**José Rodrigo Marín Reinoso**  
**1400674287**



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**Fundada en 1867**

Yo, **JOSE RODRIGO MARIN REINOSO**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación, son de exclusiva responsabilidad de su autor.

---

José Rodrigo Marín Reinoso  
1400674287



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“FACTORES QUE AFECTAN LA EFICIENCIA  
REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA RECEPTORA EN  
UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE  
EMBRIONES BOVINOS”**

**Monografía previa la  
obtención del  
Título de Médico  
Veterinario  
Zootecnista**

**Autor:**

**José Rodrigo Marín Reinoso**

**Tutor:**

**Dr. Carlos Soria Parra**

**Cuenca – Ecuador**

**2012**



## DEDICATORIA

Primeramente a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y darme lo necesario para seguir adelante día a día y así lograr mis objetivos.

A mis padres por haberme apoyado en todos los momentos, sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. Siendo ellos ejemplos de perseverancia y constancia que siempre los han caracterizado y que me han infundido siempre.

Para mis hermanos y a todos aquellos que ayudaron directa o indirectamente a realizar este documento.



## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador la demanda por la aplicación de la transferencia de embriones es cada vez mayor, pero la variabilidad en cuanto a los resultados tras la aplicación de esta es muy alta, debido a que no se toman en cuenta factores importantes en la selección de animales que entran en el programa de transferencia de embriones. De ahí que la transferencia de embriones se ve afectada por diversas variables o factores que podrían afectar su tasa de éxito, entre ellos: selección de las donadoras, recolección y clasificación de embriones, selección de hembras receptoras y aplicación de la técnica. Estos factores han sido estudiados tratando de estandarizarlos para obtener mejores resultados; pero sin duda uno de los factores más importantes en la obtención de resultados positivos, representado en preñeces y nacimientos, es la óptima selección de la hembra receptora que va a recibir un embrión alogénico en su útero, de tal manera que puedan brindarle unas condiciones adecuadas que permitan la supervivencia, implantación y desarrollo del



embrión hasta que la preñez llegue a su término. Por este motivo es de suma importancia conocer los cambios que transcurre durante el ciclo estral y en las primeras etapas de desarrollo, para así poder determinar claramente los factores que van a incidir de manera directa sobre la eficiencia en un programa de transferencia de embriones.

## OBJETIVOS

### General:

- Analizar los factores que pueden afectar la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones y las alternativas utilizadas con el fin de incrementar los porcentajes de preñez.

### Específicos:

- Evaluar algunas variables asociadas a la transferencia de embriones que pueden afectar las tasas de preñez en las hembras receptoras, tales como: la selección de las hembras donantes, calidad del embrión, selección de las hembras receptoras, respuesta de la receptora al embrión implantado, interacción embrión-hembra receptora y aplicación de la técnica.
- Dar a conocer este material bibliográfico a los estudiantes de medicina veterinaria y técnicos relacionados con la aplicación de la transferencia de embriones.





## REVISION DE LITERATURA

### 2.1. GENERALIDADES

Mundialmente se acepta que en los programas de transferencia embrionaria se puede obtener un 50% de preñez promedio en trabajos realizados con técnicas similares. Distintos autores reportan resultados similares en diferentes países, tanto para embriones obtenidos por métodos convencionales como para los embriones producidos *in-vitro* (PIV). Hasler (2001) en su estudio reporta datos de 20 años de Transferencia de Embriones convencionales en vacas Holstein para Norte América donde para un total de 14.699 transferencias en diferentes locaciones y a largo de diferentes años (1987, 88, 91 y 92) se han obtenido tasas de preñez que varían entre 40 y 70%. Thibier (2005) reporta datos del laboratorio de la unión Nacional de Cooperativas de Inseminación artificial en Francia (UNCEIA; París, Francia) quienes en su programa comercial de Transferencia de embriones PIV reportan 46.3% de preñez al día 90. Para este autor los resultados de Transferencia de Embriones (TE)



convencionales y PIV son similares. Siendo estos resultados de preñez total comparables con los obtenidos por Franco (2006), y con los de Thibier (2005) por lo que se puede concluir que la tasa de preñez de trabajos de Transferencia de embriones PIV puede variar entre 43 y 46%. (Oyuela A., 2009)

A continuación se describen los factores que podrían en mayor medida afectar los resultados de la preñez en un programa de transferencia de embriones.

## **2.2. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS CON LA HEMBRA DONANTE.**

La hembra donante de embriones ha sido uno de los puntos más estudiados en los programas de TE; debido a esto, se han realizado gran número de investigaciones e importantes avances en materia de selección de este tipo de animales, para de esta forma, obtener mejores resultados en la colecta de embriones bovinos, ya que este es el producto final que se obtiene de la hembra donante.



## **2.2.1. LA SELECCIÓN DE LA HEMBRA DONANTE.**

Es importante hacer una adecuada selección de la hembra donante ya que esta interviene directamente en los resultados obtenidos tras la aplicación de la técnica. Además de la superioridad genética en estas, se deben tener en cuenta los siguientes factores;

### **2.2.1.1. Estado del ovario en el momento del tratamiento.**

Los resultados de los estudios muestran que para obtener mayor efectividad en los procesos de superovulación, el tratamiento debe iniciarse cuando comienza la onda de desarrollo folicular, antes de la selección del folículo dominante. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Las gonadotrofinas exógenas provocan la ovulación de folículos antrales de tamaño mediano, una mayor proporción de estos folículos se encuentran en los ovarios entre los días 0-5 y 9-13 del ciclo estral. Esto hizo suponer



una mejor respuesta superovulatoria a tratamientos efectuados en esos días. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Para lograr los resultados esperados al iniciar los tratamientos superovulatorios se debe tener en consideración la influencia que ejerce el folículo dominante en el, la atresia de los folículos subordinados, pues aunque tanto el folículo dominante funcionalmente como los subordinados son capaces de responder a los tratamientos gonadotróficos, dichos tratamientos deben iniciarse antes de que ocurra el proceso irreversible de la atresia folicular para obtener buena respuesta superovulatoria y calidad de los embriones. (Cordovez Zulema, 2010)

Se ha observado una menor respuesta en las que comenzaron el día 3 con respecto a las que lo hicieron el día 9. Surgió entonces la hipótesis de que la respuesta superovulatoria depende de otros factores, además del número de folículos receptivos a las gonadotrofinas presentes en un momento determinado del ciclo estral. Entre estos factores estarían:



- La concentración de hormonas esteroideas en el fluido folicular y el número de receptores a las gonadotrofinas presentes en las células de la teca y de la granulosa.
- Los niveles de aromatasa en las células de la granulosa.
- La presencia o no de un folículo dominante no ovulatorio al inicio del tratamiento. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Tabla 1. Producción de embriones en vaquillonas superovuladas en cuatro días diferentes del ciclo estral. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Día del ciclo Estral	CL palpados $x \pm DS$	Ovocitos y embriones recolectados $x \pm DS$	Embriones transferibles $x \pm DS$
3	$9 \pm 2b$	$10 \pm 2$	$3 \pm 1$
6	$11 \pm 2 ab$	$11 \pm 3$	$4 \pm 2$
9	$16 \pm 1$	$17 \pm 3$	$7 \pm 1$



12	$12 \pm 2b$	$12 \pm 4$	$4 \pm 2$
----	-------------	------------	-----------

Hay dos factores claves que afectan la respuesta superovulatoria: La disponibilidad de un adecuado número de folículos antrales sensibles al estímulo gonadotrófico, presentes en el momento de administrar el tratamiento superovulatorio; y la ausencia de un folículo dominante. Esto depende de la dinámica de la población folicular, controlada por factores ováricos y por el sistema neuroendocrino, por lo tanto sensible al medio interno y externo del organismo. En condiciones de campo es impracticable controlar la población folicular. El otro factor es la calidad y dosificación de las gonadotrofinas. (Becaluba Facundo, 2007)

Los folículos de la primera onda de desarrollo folicular responden a los tratamientos de superovulación de la misma manera que lo hacen los de la segunda onda. En ambos casos, se obtuvieron mejores resultados cuando el tratamiento comenzó el día antes o mismo día del inicio de la onda que cuando comenzó uno o dos días después. Actualmente se le asigna importancia a la fase en la que se



encuentra el folículo dominante, se ha demostrado que el folículo dominante es capaz de afectar la respuesta superovulatoria cuando se encuentra en crecimiento, no así cuando se halla en la fase estática o de regresión. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

### **2.2.1.2. Edad**

Se ha demostrado que el número de embriones transferibles obtenidos de donantes cuyas edades estaban comprendidas entre 3 y 6 años eran mayores del que se logró en vaquillonas y primíparas. Se efectuó un estudio retrospectivo en el que analizó la respuesta superovulatoria de 197 donantes, agrupándolas en 3 categorías; hasta 5 años, de 6- 8 años y mayores de 8 años; el promedio de embriones transferibles fue 5.2: 6 y 3.2. Existe una interacción entre la edad del donante y la dosis de gonadotrofina. Según su interpretación, cuando los animales jóvenes son tratados con dosis elevadas de gonadotrofinas se produce una sobre estimulación ovárica donde muchos folículos comienzan a desarrollar pero



pocos son capaces de ovular y la mayoría sufren luteinización o se atresian. (Becaluba Facundo, 2007)

Se ha observado que al aumentar la edad de la donante disminuyeron el número de ovulaciones, la tasa de fertilización y la calidad embrionaria. La disminución en el número de ovulaciones se debería a una menor disponibilidad de folículos capaces de responder a las gonadotrofinas exógenas. . (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Existe una igualdad entre las vacas donantes (3-6 y 7-10 años) tanto en estructura como en porcentaje de fertilización; existiendo diferencia mínima en el número de embriones y un mayor porcentaje de recuperación de las donantes de 3 a 6 años siendo el rango de estas la óptima para la mayor producción de embriones. Con respecto a las hembras más jóvenes (novillas y vacas de primer parto), el número de embriones por donante es menor, debido a que las donantes jóvenes son tratadas con dosis elevadas de gonadotropinas y se produce una sobre estimulación ovárica donde muchos folículos comienzan a desarrollar





pero pocos son capaces de ovular y la mayoría sufre latinización o se atresian. (Vizuetete A, 2012)

Se ha observado en vaquillonas tratadas con implantes de progestágenos y 18 mg de Hormona Folículo Estimulante (FSH-p), que las menores de 10 meses tendieron a tener más embriones degenerados que las de 14 meses o más. Basado en estas observaciones, resulta claro que para lograr un alto número de embriones transferibles, la dosis de gonadotropina debe ajustarse a la edad de la donante. Manteniendo una dosis de gonadotropina constante, el número de ovocitos y embriones recolectados deberían aumentar con la edad en los animales jóvenes hasta alcanzar un pico y luego disminuiría con la edad en las vacas más viejas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

No existe diferencia en la cantidad ni en la calidad de embriones colectados de novillas y vacas Gyr lechero, sin embargo, entre las novillas mayores y menores a 30 meses, las últimas presentan mejor respuesta en cantidad y calidad embrionaria. (Delgado Motta. Pablo Andrés. Ramirez Yasnó. Nelly, 2011)



### **2.2.1.3. Estado nutricional.**

Durante el proceso de selección de los animales que se realiza rutinariamente en los programas de TE de embriones PIV se efectúa una escogencia minuciosa de los animales a trabajar tanto donadoras como receptoras evitando al máximo el uso de animales con Condición Corporal (CC) extremas, gordas o flacas, y llevando un registro de las condiciones de manejo para optimizar cada uno de los procesos. (Oyuela A., 2009)

La respuesta superovulatoria se correlaciona positivamente con la condición corporal, observando además que las donantes a campo tuvieron 2,2 embriones transferibles más que las estabuladas. (Becaluba Facundo, 2007)

Se ha comprobado que en las vacas lecheras las dietas ricas en proteína producen un exceso de nitrógeno no proteico (amoníaco y urea) que afecta la fertilidad; cuando se las indujo a superovular, la suplementación con urea en el periodo comprendido entre la inseminación y la recolección de embriones, afectó el número de embriones recolectados y la calidad de los mismos, no ocurrió lo

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos"



mismo cuando la suplementación ocurrió 10 días antes. En síntesis, la urea es tóxica para los embriones pero las vacas son capaces de ajustar su concentración plasmática en un periodo de 10 días. Además observaron que la suplementación con vitamina A en vacas Nelore mejora la calidad de los embriones recolectados, no así la cantidad de los mismos. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Se debe evitar el uso de animales obesos como donantes, ya que esta condición puede incidir directamente sobre la producción de los embriones. (Duica A, Tovia N, Grajales H, 2007)

Las donadoras deben estar en una condición corporal entre 3.0 y 4.0 sobre un valor máximo de 5.0. Determinando unas condiciones nutricionales adecuadas, como el nivel de energía en la ración, el que influye en las tasas de ovulación, fecundación y viabilidad de embriones. También se encontraron una reducción en el número de embriones transferibles en vacas con demasiada grasa. Por eso las vacas que estén gordas se les racionan con una dieta en la cual se disminuye la cantidad de concentrado, se baja el



nivel de energía y mantiene el nivel de consumo de pasto.  
(Vizuete A, 2012)

#### **2.2.1.4. Historia reproductiva.**

El examen clínico va a determinar el estado reproductivo de preñada, en puerperio o vacía en sus condiciones de normal o patológico. Como regla solamente receptoras normales son aceptadas en el programa. Las donantes con problemas reproductivos son incorporadas después de haber sido convenientemente tratadas y dadas de alta. Las vacas post parto son incorporadas a programas de superovulación después de haber finalizado su puerperio y reiniciado la actividad ovárica. (Vizuete A, 2012)

Deben considerarse dos aspectos fundamentales; por un lado, se ha demostrado que la transferencia embrionaria es una técnica alternativa útil para el diagnóstico y tratamiento de aquellos casos en que la infertilidad no se debe a problemas intrínsecos del embrión, sino al ambiente uterino o algún otro factor materno. Por otro lado se ha observado claramente que las donantes



que ingresan a los programas de transferencia embrionaria con antecedentes de infertilidad tienen una menor producción que aquellas donantes consideradas sanas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Es necesario determinar qué tipo enfermedades están presentes en la hembra, ya que los embriones, además de transportar una valiosa información genética, también pueden ser una importante fuente de diseminación de enfermedades reproductivas. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

#### **2.2.1.5. Tratamientos sucesivos.**

La mayoría de los investigadores coincide en que la respuesta superovulatoria disminuye con los tratamientos sucesivos. En algunos trabajos el número de embriones transferibles declino a partir del cuarto o quinto tratamiento, en otros la declinación se produjo a partir del tercer tratamiento. Otros autores no encontraron variaciones en la respuesta superovulatoria a lo largo de diez tratamientos sucesivos. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)



Es conveniente que los tratamientos estén separados por un período mínimo de 60 días dado que este lapso es el que tardan los folículos primarios en alcanzar el estado preovulatorio. Si no se respeta este período mínimo, la respuesta superovulatoria se afecta notoriamente. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Tabla 2. Promedio de embriones transferibles según el intervalo entre tratamientos. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Intervalo entre Tratamien tos	Embriones transferibles			
	1 <sup>o</sup> tratamie nto	2 <sup>o</sup> tratamiento	3 <sup>o</sup> Tratami ento	4 <sup>o</sup> Tratami ento
80-90 días	4	5	3	6
45-60 días	1	3	2	-



Las respuestas pobres a un primer tratamiento superovulatorio tienen alta repetitividad. Esto fue corroborado por LAMBERSON y LAMBETH (1986) quienes informaron un 64% de repetitividad para las respuestas pobres al primer tratamiento y aproximadamente un 45% para las medias o altas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

#### **2.2.1.6. Raza.**

De diferentes estudios han surgido por ejemplo que las vacas Holstein requerían una proporción mayor de FSH mientras que las vacas Charoláis requerían una proporción mayor de LH para lograr la máxima respuesta superovulatoria. (Becaluba Facundo, 2007)

En un estudio retrospectivo sobre 1596 tratamientos de superovulación efectuada en donantes de 13 razas distintas productoras de carne, encontró que la raza de la donante es un factor de variación en aspectos tales como;

- Número de ovocitos y embriones recolectados.
- Número de embriones transferibles.
- Porcentaje de embriones transferibles.



- Numero de preñeces/recolección.

La comparación de estos resultados con otras donantes de raza Holstein, ubica a esta raza en un término medio en lo que respecta al número de ovocitos y embriones recolectados, mejorando su performance cuando se considera el porcentaje de embriones transferibles. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

En un estudio retrospectivo hecho en donantes de razas lecheras y productoras de carne, se observó en la raza Jersey una mayor proporción de donantes con respuesta ovárica excesiva, sin aumentar el número de embriones transferibles. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

En ganado Boss indicus, independientemente del grado de respuesta ovárica, los resultados pueden ser alterados por las características propias del tracto genital de estas hembras que ofrece dificultades para efectuar la recolección. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)





## 2.2.2. LA MULTIOVULACION DE LA HEMBRA DONANTE

En la técnica de TE se busca que la hembra donante de embriones, ovule no una sino varias veces, por este motivo se comenzó desarrollar una técnica que brinda la biotecnología de la reproducción llamada multiovulación o superovulación de las hembras donantes de embriones. El objetivo principal de los tratamientos de superovulación en vacas es producir un gran número de folículos ovulatorios, que van a generar un número mayor de oocitos para el momento de la Inseminación Artificial (IA) y así obtener el máximo número de embriones transferibles o transplantables. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

La respuesta superovulatoria resulta muy variable. En un estudio retrospectivo que incluyó 1263 donantes, el autor encontró que solamente el 68 % de las hembras inducidas a superovular produjeron embriones transferibles. El 32 % restante lo integraron;

- 7% sin estimulación ovárica.
- 7% sin recolección de ovocitos ni embriones.



- 17% sin embriones transferibles.
- 1% donde no se efectuó el lavaje porque presentaron celo antes de administrarse la prostaglandina F2 alfa durante el tratamiento hormonal. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Tanto la tasa ovulatoria como el número de embriones viables producidos son caracteres relativamente inherentes a cada vaca donante. Los animales que tienen una respuesta baja en un tratamiento, probablemente responderán en forma similar en los tratamientos subsecuentes y los animales que responden bien inicialmente continuarán haciéndolo en esta forma. (Becaluba Facundo, 2007)

A pesar de los avances logrados en el conocimiento de la fisiología reproductiva en los últimos años, el promedio de embriones transferibles que se obtiene en la actualidad es similar a la que se registraban hace 20 años, por lo que se debe hacer un análisis de la variabilidad de los tratamientos hormonales:



### **2.2.2.1. Gonadotropina empleada.**

La inducción a la superovulación se efectúa principalmente con gonadotropina sérica de yegua preñada -PMSG- o con extractos de pituitaria porcina que generalmente se conocen como FSH-p, a pesar de que en muchos casos contienen mayor cantidad de hormona luteinizante (LH) que hormona folículo estimulante -FSH-p. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

A los efectos de profundizar el conocimiento de los mecanismos de acción de la PMSG, se han efectuado recientemente numerosos estudios endócrinos y de histología folicular. Estos estudios han demostrado que la neutralización de la PMSG, pocas horas después de producido el pico de LH, sincroniza la maduración folicular y acorta el período en el que ocurren las ovulaciones múltiples. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

La vía de administración es otro factor a considerar. Dentro de los protocolos tradicionales de 2 inyecciones diarias se ha observado que la administración i.m. de los extractos de pituitaria resulta en una respuesta superovulatoria



significativamente superior que las inyecciones subcutáneas. La administración subcutánea de extractos pituitarios produjo niveles circulantes mucho más bajos de FSH, que se mantuvieron por periodos más largos de tiempo. (Becaluba Facundo, 2007)

La utilización repetida de hormonas induce una producción de anticuerpos y por consiguiente provoca una caída de la respuesta superovulatoria. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Tabla 3. Comparación de la respuesta superovulatoria después de tratamientos con PMSG y FSH-p. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Gonadotrofina	Ovocitos y embriones recolectados	Embriones transferibles	Autor/es
	$x \pm DS$	$x \pm DS$	
PMSG (2500 UI) + Anti PMSG	5	4	KIM y col. (1988)
FSH-p <sup>1</sup> (28	5	3	

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptara en un programa de transferencia de embriones bovinos"



mg)			
FSH-p <sup>2</sup> (400 mg)	4	2	
Purificada			
PMSG (3000 UI)	7 ± 2	4 ± 1	MAPLETOFT (1980)
FSH-p (40 mg)	9 ± 2	6 ± 1	
PMSG (2500 UI)	6 ± 6	3 ± 5	MONNIAUX y col (1983)
FSH-p (50 mg)	9 ± 7	4 ± 4	
PMSG (300 UI)	NR	5a	FOOTE y col. (1989)
PMSG (3000 UI) + Anti PMSG	NR	9b	
FSH-p (32 mg)	NR	5a	



<sup>1</sup>Burns-Biotec, Oakland, CA <sup>2</sup> Folltropin, Vetrepharm, Ontario.

NR: no registrado. Los valores con letras diferentes dentro de una misma columna difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

### 2.2.2.2. Dosis empleada

En los tratamientos de superovulación, la existencia de una relación dosis- respuesta ha sido demostrada para distintas gonadotrofinas y en razas diferentes. Esto significa que cuando la dosis se incrementa más allá de lo óptimo, el número de ovulaciones no aumenta y el de ovocitos fecundados y embriones transferibles disminuye. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Tabla 4. Respuesta superovulatoria obtenida con distintas dosis de gonadotrofinas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Hormona	Dosis	Embriones transferibles	(%)	Autor/es
---------	-------	-------------------------	-----	----------



obtenidos					
FSH	24 mg	12 ± 11	5 ± 6	57 ± 37	DONALDSON (1984)
	28 mg	15 ± 12	6 ± 6	45 ± 35	a
	38 mg	11 ± 9	5 ± 6	52 ± 34	a
	40 mg	12 ± 11	5 ± 6	43 ± 42	a
	50- 52 mg	7 ± 7	4 ± 5	47 ± 36	a
	60 mg	7 ± 8	3 ± 4	40 ± 38b	
HMG	25%	1 ± 0.5b	1 ± 0.4	NR	MAURER y col. (1985)
	50 %	4 ± 1b	3 ± 1	NR	
	100 %	14 ± 2a	7 ± 1b	NR	
	+ 200 %	15 ± 3a	2 ± 0.7a	NR	
FSH-p	15 mg	5b	3	55	PAWLISHYN y col
	30 mg	19a	6	34	



	45 mg	25a	5	20	(1986)
	60 mg	15a	0.2	1	
FHS-p	5 mg	0.8	0.3	38	WU y col
	10 mg	6	3	52	(1988)
	15 mg	8	3	40	
	20 mg	8	3	41	
	25 mg	8	3	35	
	30 mg	9	3	33	
	40 mg	6	2	40	
	1500	3	NR	43	ZEITOU
	UI				N
	3500	5	NR	25	y col
	UI				
	6000	3	NR	15	(1988)
	UI				

NR: no registrado; \* ; equivale a 1050 UI de actividad de FSH como de LH. \*\*: FSH-p con bajo contenido de LH, 20 mg =35 mg FSH standard NIH. Todas las FSHs están expresadas en unidades Armour. Los valores con letras diferentes dentro de una misma columna difieren estadísticamente ( $p < 0.05$ ).





En los animales sobre estimulados, generalmente se obtiene una menor tasa de recolección (ovocitos y embriones recolectados en función de los cuerpos lúteos palpados u observados). Se ha adjudicado para ello distintas razones:

- Retención de ovocitos en los folículos luteinizados y en los cuerpos lúteos.
- Retención de ovocitos y embriones en los oviductos
- Niveles altos de estrógenos producidos por los grandes folículos no ovulados que bloquearían la capacidad de las fimbrias con la siguiente caída de ovocitos en la calidad abdominal. (Cabodevila J, 2008)

Generalmente se piensa que cierta cantidad de LH es necesaria para lograr superovulación. No obstante se ha sugerido que, debido a una prematura activación del ovocito previo a la ovulación, los niveles de LH elevados durante la superestimulación afectan la calidad de los embriones. (Becaluba Facundo, 2007)



### 2.2.2.3. Relación FSH/LH

Se han realizado numerosos estudios para establecer la relación FSH/LH óptimas para la superovulación de hembras de raza distintas, productoras de carne o leche. Chupín y col. (1985), observaron que las donantes de la raza lechera son más sensibles que las productoras de carne a cantidades excesivas de LH en la preparación hormonal. Una cantidad excesiva de LH en la preparación hormonal provoca:

- Menor tasa de ovulación.
- Menor tasa de fecundación.
- Menor número y porcentaje de embriones transferibles.

A fin de corroborar esta información, ALBERIO y col. (1991), trataron vacas Holando Argentino con una FSH-p cuya relación FSH/LH fue 10. Las mismas donantes fueron tratadas alternativamente de manera diferente: En un caso, se mantuvo la relación FSH/LH 10 constante y en el otro,



se le incorporó a la FSH-p cantidades crecientes de LH pura a partir de la 3ra. Inyección. (Cabodevila J, 2008)

Tabla 5. Resultados de tratamientos superovulatorios efectuados con FSH-p con diferentes relaciones FSH/LH. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Relación FSH/LH	Ovocitos y embriones recolectados x $\pm$ DS	Embriones transferidos n (%)	Autor/es
2000	4 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup> (52 <sup>a</sup> )	DONALD SON
500-3000	10 <sup>b</sup>	6 <sup>b</sup> (55)	Y WARD
140	5 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup> (35)	(1987)
8.2	11 $\pm$ 10	3 $\pm$ 4	DONALD SON
100	12 $\pm$ 10	6 $\pm$ 7 (47 $\pm$ 35)	Y col (1986)
0.1	0.5 a	0.5 <sup>a</sup> (NR)	CHUPIN



0.5	3 a	2 <sup>a</sup> (NR)	y col.
8.7	7b	5b (NR)	(1984)
0.02	4 ± 5	3 ± 5 (68)	ALBERI O
3.9	4 ± 3	3 ± 2 (62)	y col (1987)
Comercial A	10	7 (NR)	BECKER S
Comercial B	5	6 (NR)	(1987)
0.2	6	4 (76)	CABODE VILA
3	6	4 (76)	y col.
3.9	4	3 (69)	(1989)
100	6	0.8 (NR)	SCHMID T
10	9	5 (NR)	y col.
5	8	5(NR)	(1988)
1.25	4 ± 1	2 ± 0.7	HASLER
2.5	9 ± 2	3 ± 0.7	(1983)
5	5 ± 1	2 ± 0.7	

NR: no registrado



Los valores con letras diferentes dentro de una misma columna difieren estadísticamente ( $p < 0.05$ )

#### **2.2.2.4. Dosis y frecuencia de administración de la prostaglandina F2 alfa.**

Durante el tratamiento de superovulación, independientemente de la gonadotropina que se emplee, a las 48-72 horas de haber comenzado la inducción se debe administrar la prostaglandina F2 alfa para que cumpla su efecto luteolítico. (Cabodevila J, 2008)

La regresión completa del cuerpo lúteo durante la inducción tiene vital importancia dado que influye sobre:

- El porcentaje de donantes que presentan celo, muy importante si se tiene en cuenta que la presentación de celo se correlaciona positivamente con el grado de estimulación ovárica.
- El número de ovocitos y embriones recolectados.
- El número de embriones transferibles. (Cabodevila J, 2008).



## **2.3. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS AL EMBRION.**

A partir del desarrollo de la técnica de transferencia se observó que tanto la calidad de los embriones como el estadio de desarrollo y su edad podían afectar el resultado de la aplicación de la misma. Además de los factores propios del embrión, las técnicas tales como criopreservación, micromanipulación y más recientemente producción *in vitro* de embriones y otros factores se fueron sumando a aquellos que modificaban los resultados de preñez. Además, está demostrado que los resultados de preñez dependen no sólo de cada factor embrionario, sino de la interacción que pueda existir entre dos o más de ellos. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

### **2.3.1. Calidad embrionaria**



La realización de una minuciosa evaluación de la calidad embrionaria es de fundamental importancia para el éxito de la transferencia. Es así que embriones clasificados como excelentes o buenos tienen una alta probabilidad de alcanzar la preñez. No obstante, debe considerarse que embriones calificados excelentes luego de ser transferidos normalmente, no terminan en preñez, mientras que embriones de buena calidad y transferidos con algún tipo de problema, resultan en preñeces y nacimientos normales. Este hecho nos indica que si bien la calidad embrionaria puede determinar los resultados obtenidos, otros factores relacionados con la receptora o con la transferencia podrían modificar dichos resultados. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Se ha reportado una mayor incidencia de muerte embrionaria cuando se transfieren embriones de calidad pobre, que cuando los mismos son morfológicamente normales. Por su parte, los resultados de preñez luego de transferir embriones congelados de calidad excelente pueden diferir de los de calidad buena. (Cordovez Zulema, 2010)



Resulta dificultoso comparar la información publicada por distintos autores dado que se utilizan diferentes escalas para evaluar la calidad embrionaria. Actualmente muchos autores optan por la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria que agrupa los embriones según su calidad en 4 grados. (Oyuela A., 2009)

**Calidad 1:** Excelente o bueno. La masa embrionaria es simétrica y esférica, con blastómeros individuales uniformes en tamaño color y densidad. El desarrollo del embrión es consistente con la fase del desarrollo esperada. Presenta irregularidades relativamente menores y por lo menos el 85% del material debe permanecer intacto dentro de la masa embrionaria. La zona pelúcida debe ser lisa y no debe tener ninguna superficie cóncava o delgada. (Oyuela A., 2009)

**Calidad 2:** Regular. Presenta irregularidades moderadas en la forma global de la masa embrionaria o en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Por lo menos





el 50% del material celular debe permanecer intacto dentro de la masa embrionaria. (Oyuela A., 2009)

**Calidad 3:** Malo. Presenta irregularidades mayores en la forma de la masa embrionaria o en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Por lo menos el 25% del material celular debe permanecer intacto dentro de la masa embrionaria. (Oyuela A., 2009)

**Calidad 4:** Muertos, degenerados o con retrasos en el desarrollo y óvulos no fertilizados no serán transferidos. (Oyuela A., 2009)

La observación y clasificación de los embriones por transferir es esencial en los trabajos de TE. Tanto los embriones PIV como los de TE convencional tienen la misma dinámica de desarrollo, y los parámetros de clasificación se pueden aplicar de igual forma en cualquiera de los dos procesos. Las diferencias morfológicas están dadas porque el desarrollo del embrión PIV es ligeramente más rápido que el de TE convencional; prueba de esto es que embriones de día-7 PIV son principalmente blastocitos



expandidos, mientras que en el convencional este mismo día se encuentran mayormente blastocitos tempranos. (Oyuela A. Jimenes C., 2010)

Después de la obtención de los embriones debe hacerse una muy buena clasificación de estos descartando estructuras que demuestren degeneramiento y que no coincidan con la edad porque esto indicaría que en algún momento del ciclo detuvieron el desarrollo. (Duica A. Tovia N. Grajales H, 2007)

Tabla 6. Efecto de la calidad embrionaria sobre el porcentaje de preñez postransferencia de embriones sin criopreservar. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Autores	Calidad embrionaria	Embriones transferidos n	Receptoras preñadas	
			N	%
Wright (116)	Buena	1748	1122	64,2 <sup>a</sup>
	Regular	438	198	45,2 <sup>b</sup>
	Pobre	100	33	33,0 <sup>c</sup>

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos"



	Buena	5521	4037	73,1 <sup>a</sup>
Hasler y col. (36)	Regular	304	181	59,5 <sup>b</sup>
	Pobre	76	31	40,8 <sup>c</sup>
	Excelente y buena	61	33	54,1 <sup>a</sup>
Reinchenb ach y col. (91)*	Regular	41	21	51,2
	Pobre	27	7	25,9 <sup>b</sup>
	Excelente y buena	1802	1035	57,4 <sup>a</sup>
HASLER y col (37)*	regular	441	184	41,7 <sup>b</sup>

a, b, c diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

\*Embriones producidos en vitro.

Por su parte, los resultados de preñez luego de transferir embriones congelados de calidad excelente pueden diferir de los de calidad buena. Con ambas calidades se obtienen mejores resultados que con aquellos de calidad regular. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Tabla 7. Efecto de la calidad embrionaria pre-congelación sobre el porcentaje de preñez pos transferencia. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Autores	Calidad embrionaria pre-congelación	Embriones transferidos n	Receptoras preñadas	
			N	%
Leibo (50)	Excelente	173	84	48,6 <sup>a</sup>
	buena	220	98	44,6 <sup>a</sup>
	regular	83	20	24,1 <sup>b</sup>
Arreseigor y col. (6)	Excelente	233	133	57,1 <sup>a</sup>
	buena	276	146	52,9 <sup>a</sup>
	regular	276	86	31,2 <sup>b</sup>
Munar y col. (70)	Excelente	1633	996	60,9 <sup>a</sup>
	buena	565	301	53,3 <sup>b</sup>
	regular	123	49	39,8 <sup>c</sup>

a, b, c diferencias significativas ( $p < 0,05$ )



### 2.3.2. Estadio de desarrollo.

El efecto que puede llegar a tener el estadio de desarrollo embrionario sobre los porcentajes de preñez es un factor que ha sido estudiado por diversos autores con resultados dispares. En algunos casos, blastocistos tempranos y blastocistos resultaron en mayores porcentajes de preñez que mórulas, blastocistos expandidos y blastocistos protruidos. Otros autores, obtuvieron mejores resultados con blastocistos que con mórulas; Dochi y col., (1986) observaron que mórulas y blastocistos tempranos resultaron en porcentajes de preñez más elevados que blastocistos o blastocistos expandidos. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Se ha conocido por mucho tiempo que la calidad y el desarrollo del embrión ejercen una marcada influencia sobre los resultados de la TE. La transferencia de una mórula temprana resulta en menores tasas de preñez que cuando se transfieren embriones en estadio más avanzado. Esto puede ser explicado debido a que al transferir un embrión cuyo desarrollo haya sido más rápido, este podría expresar más rápidamente los factores de reconocimiento

---

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos"



de preñez, comparado con un contemporáneo de menor desarrollo. (Oyuela A. Jimenes C., 2010)

Cuando los que se transfirieron fueron blastocistos, los porcentajes de preñez fueron del 65 al 70%. Para embriones producidos in vivo y congelados, los porcentajes de preñez fueron del 40% para mórulas y blastocistos tempranos, disminuyendo a un 27% para blastocistos y blastocistos expandidos. (Cordovez Zulema, 2010)

Tabla 8. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Estadio	Embriones Transferidos	Preñez	
		n	%
Mt	586	359	61 <sup>a</sup>
Mc	1178	792	67 <sup>b</sup>
Bt	600	402	67 <sup>b</sup>
Be	139	99	71 <sup>c</sup>



<sup>a,b</sup> tasas de preñez con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

Se encontraron diferencias significativas ( $p = 0,001$ ) para la variable calidad del embrión cuando se comparó la tasa de preñez con la calidad del embrión transferido, para calidad excelente 39% contra 21% de calidad bueno. (Oyuela A., 2009)

Tabla 9. Tasa de preñez para las variables asociadas al embrión transferido. (Oyuela A. 2009)

<b>Desarrollo del embrión</b>	<b>Transferidos</b>	<b>Preñadas</b>	<b>% preñez</b>
Mo (4), Bi (5) y	138	34	25%
BI (6)	1089	428	39%
Bx (7), Be (8) y Bex (9)			
<b>Calidad de embrión</b>			
Excelente	1126	441	39%



bueno	101	21	21%
-------	-----	----	-----

### 2.3.3. Edad embrionaria.

La mayoría de los embriones bovinos son recolectados y transferidos con una edad de 6 a 8 días y no queda claro si realmente hay un efecto de la edad en días o del estadio de desarrollo. A su vez, distintos estudios han mostrado que no hubo diferencias en los porcentajes de preñez luego de la transferencia de embriones de estas edades. Por otro lado, la transferencia de embriones de 9 días o más, prácticamente no se realiza, pues es dificultoso encontrar los embriones en el medio de lavaje luego que los mismos han perdido la zona pelúcida. No obstante cuando se realizaron transferencias con dichos embriones, los resultados fueron contradictorios y mientras algunos autores no hallaron disminución en los porcentajes de preñez, otros observaron menores valores que cuando utilizaron aquellos de días 6 - 8. Los resultados de preñez luego de transferir embriones frescos producidos *in vitro*, de día 6 ó 7 no mostraron diferencias significativas, con valores de preñez al día 40 de gestación de 78 y 68%





respectivamente. No obstante, la transferencia de embriones clasificados como excelentes y buenos ya sean de día 7 u 8 resultaron en mayores porcentajes de preñez que aquellos de calidad regular. Ling y col. Obtuvieron mayores porcentajes de preñez con mórulas de día 6 ó 7 y blastocistos de día 7 que con blastocistos de día 6 ó blastocistos expandidos de día 7 u 8 quedando demostrado una vez más la interacción entre factores embrionarios. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Para el día siete el embrión se encuentra ubicado a nivel del cuerno uterino y alcanza el estadio de blastocisto. Al obtener los embriones provenientes de una hembra donante se espera que estos se encuentren en la fase evolutiva correspondiente a los seis días y medio o siete días de evolución, correspondientes a los estadios de mórula o blastocisto temprano (conservando aun su zona pelúcida intacta), este es el momento adecuado para realizar la colecta de estas estructuras. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Muchos de los datos publicados sobre el efecto de la edad embrionaria y/o del estadio del desarrollo al momento de la



transferencia sobre la tasa de supervivencia, derivan del análisis retrospectivo de transferencias, donde el factor edad se confunde con el grado de sincronismo y el método de transferencia, entre otros. La mayoría de los embriones bovinos son recolectados y transferidos con una edad de 6 a 8 días y no queda claro si realmente hay un efecto de la edad en días o del estadio de desarrollo. A su vez, distintos estudios han mostrado que no hubo diferencias en los porcentajes de preñez luego de la transferencia de embriones de estas edades. Por otro lado, la transferencia de embriones de 9 días o más prácticamente no se realiza, pues es dificultoso encontrar los embriones en el medio de lavaje luego que los mismos han perdido la zona pelúcida. (Cordovez Zulema, 2010)

#### **2.3.4. Criopreservación.**

El efecto de la criopreservación de los embriones sobre los resultados de preñez es muy variado y ello se debe a que se producen interacciones con otros factores tales como la edad embrionaria, la calidad embrionaria y el estadio de desarrollo y a su vez si los mismos han sido producidos *in*



*vivo* o *in-vitro*. Es importante considerar además que los porcentajes de preñez resultantes de la transferencia de embriones congelados son inversamente proporcionales al tiempo transcurrido desde la recolección hasta el comienzo de la congelación, dado que la viabilidad embrionaria disminuye significativamente cuando dicho período es mayor de 3 hs. A su vez, la calidad embrionaria pos descongelación también afecta los porcentajes de preñez, con valores que oscilan entre 30% y 68% para embriones de calidad regular y excelente respectivamente. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

El método de criopreservación utilizado debe tenerse en cuenta; cuando los embriones son congelados convencionalmente, las tasas de preñez oscilan entre 50 y 60% resulta no levemente inferior a las obtenidas con embriones frescos. Cuando se utiliza la vitrificación como método de conservación, los porcentajes de preñez oscilan entre 0 y 60%. Las bajas temperaturas a las que son sometidos los embriones así como las altas concentraciones de crioprotectores utilizadas serían la causa de la disminución en la viabilidad de estos embriones. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)



### **2.3.5. Micromanipulación.**

Actualmente los embriones bovinos son micromanipulados con el fin de obtener algunas células y proceder a la identificación del sexo previo a su transferencia o para ser divididos en dos partes iguales (hemiembriones) y producir mellizos idénticos, lo que permite la disponibilidad de animales idénticos en los programas de transferencia embrionaria. Con referencia a aquellos embriones que son destinados a la identificación del sexo, los blastómeros son abordados penetrando la zona pelúcida y aspirando 4 a 6 células o cortando la zona y los blastómeros con una navaja. En trabajos realizados con embriones sexados y transferidos frescos, la tasa de preñez fue de alrededor de 45%, observándose además que los resultados dependieron de la calidad embrionaria. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

La sección de embriones provoca una pérdida celular embrionaria de aproximadamente del 10 %, que



posiblemente compromete la viabilidad de los embriones de calidad inferior. (Cordovez Zulema, 2010)

## **2.4. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS CON LA APLICACIÓN DE LA TÉCNICA.**

El equipo técnico encargado de realizar los diferentes procedimientos durante las diferentes etapas de la técnica de TE, también interviene directamente en la obtención de buenos resultados tras la aplicación de esta biotecnología, por esto es de gran importancia que esté compuesto por un personal idóneo y con experiencia.

### **2.4.1. Mecanismos para coleccionar los embriones.**

Al obtener los embriones provenientes de una hembra donante se espera que estos se encuentren en la fase evolutiva correspondiente a los seis días y medio o siete días de evolución, correspondientes a los estadios de mórula o blastocisto temprano (conservando aun su zona



pelúcida intacta), este es el momento adecuado para realizar la colecta de estas estructuras. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Actualmente, la técnica se utiliza para recuperar los embriones es la técnica no quirúrgica en la que por vía vaginal se introduce un catéter mediante el cual se insufla un medio enriquecido que es recuperado posteriormente por sifonaje en el que están contenidos los embriones. La obtención de los embriones debe ser realizada por un profesional con experiencia en este tipo de actividades ya que se realiza una gran manipulación de los tejidos uterinos y cualquier imprecisión en el manejo de estos causaría disminuciones en la obtención de buenos resultados gracias a la liberación de prostaglandinas a nivel uterino. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

#### **2.4.2. Dificultad en el momento de la transferencia.**

El hecho de depositar un embrión en el interior del cuerno uterino supone una invasión del tracto reproductivo, este procedimiento está asociado a posibles lesiones del endometrio y a la consecuente producción de PGF2-alfa, lo



que reduciría los índices de preñez. Barceló-Fimbres *et al.* (2009) en su estudio de TE de embriones PIV, analizaron los efectos de la dificultad al momento de la transferencia en la tasa de preñez, entre otros factores. Encuentran que las tasas de preñez resultado de transferencias realizadas sin ningún tipo de dificultad (n=40) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) comparadas con las transferencias realizadas con algún tipo de dificultad (n=33) que incluye movimientos bruscos de la receptora, receptoras problemáticas y/o evidencias de sangre en la pistola de TE. Esto resulta en 53% de preñez para las TE sin dificultad *versus* 21% de preñez en los casos en los que hubo alguna dificultad. (Oyuela A. Jimenes C., 2010)

Del mismo modo, operadores con experiencia pueden lograr buenos porcentajes de preñez (50%) aun cuando deben transferir los embriones a receptoras que presentan un cuello uterino tortuoso, difícil de enhebrar. Munar y col. reportaron que el grado de dificultad al atravesar el cérvix con el instrumental y la dificultad para depositar el embrión en el sitio deseado del útero, afecta significativamente la tasa de abortos. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)



Causar traumas al endometrio en el momento de la transferencia puede producir PGF2-alfa que afectaría negativamente la tasa de preñez. La dificultad en la transferencia se basó en el tiempo en que se demoró el operario en depositar el embrión (mayor a 3 minutos) y/o por solicitud del técnico de realizar la anotación de dificultad causada por exceso de manipulación de un cérvix de difícil manejo o por úteros de tamaño muy grande que dificulten la transferencia. (Oyuela A., 2009)

Tabla 10. Tasa de preñez para las variables asociadas técnico que transfiere el embrión. (Oyuela. A 2009)

<b>Cantidad de embriones</b>	<b>Transferidos</b>	<b>Preñadas</b>	<b>% preñez</b>
1 – 30	1017	396	39%
31 -62	210	66	31%
<b>Lado de la transferencia</b>			
Derecho	746	282	38%
Izquierdo	481	180	37%





<b>Experiencia del operario</b>			
Experimentado	1132	434	38%
Novato	95	28	29%
<b>Técnico</b>			
Experimentado A	191	72	38%
Experimentado A	845	315	37%
Experimentado A	96	47	49%
Novato A	70	22	31%
Novato B	25	6	24%
<b>Total</b>	<b>Transferidos</b>	<b>Preñadas</b>	<b>% preñez</b>
	1227	462	38%

## 2.5. ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE DE EMBRIONES RELACIONADOS CON LA HEMBRA RECEPTORA.

Gran parte de la atención en la investigación ha sido enfocado hacia la hembra donante de embriones en materia de TE, ya que se han aplicado un sin número de



protocolos de sincronización del estro, técnicas de obtención, manipulación y preservación de los embriones, así como de protocolos de multiovulación en los que se han utilizado varios tipos de hormonas que desencadenan este efecto en el que se obtienen ovulaciones múltiples. Pero al obtener un embrión después de realizar la clasificación de éste, uno de los puntos de gran importancia que afecta la eficiencia de esta técnica, está asociado a todo el ambiente que va a rodear el embrión ya que al ser óptimo va a permitir el desarrollo de este nuevo ser, por esta razón es de suma importancia realizar una excelente selección de la hembra que va a alojar este embrión en su interior. La eficiencia en este tipo de programas se ha visto afectada debido a la utilización de hembras receptoras con deficiencias nutricionales, sanitarias, de manejo, entre otras que hacen que los resultados no fueran los mejores. Pero actualmente el criterio de selección de estas hembras es más estricto por parte de los profesionales que aplican esta técnica lo cual ha sido comprendido por los productores que utilizan esta biotecnología en busca realizar mejoras en sus diferentes tipos de explotaciones mediante la aplicación de TE. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)



### **2.5.1. SELECCIÓN DE LA HEMBRA RECEPTORA.**

Las receptoras deben ser reproductivamente sanas para recibir un embrión y llevar la gestación a término, poseer un tamaño que les permita parir sin grandes dificultades y deben ser de buena capacidad lechera para alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Los trabajos de investigación de los últimos años han sido orientados principalmente a los embriones, tendiendo a mejorar su viabilidad después de la transferencia. En contraste, son menores los esfuerzos que se han hecho para incrementar el potencial de las receptoras para preñarse y llevar la gestación a término. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Los aspectos más relevantes relacionados con las receptoras que pueden afectar el resultado final en un programa de transferencia embrionaria son: raza, categoría, estado nutricional, empleo reiterado, calidad del



cuerpo lúteo y nivel de progesterona, sincronización con respecto a la donante y al embrión.

### **2.5.1.1. Raza**

Las evidencias en la literatura sobre el efecto de la raza de la receptora sobre el resultado de la transferencia son escasas. Generalmente se prefiere a las razas cruzas antes que a las puras, posiblemente porque las primeras sean más fértiles. Según la opinión de estos autores, las cruzas entre las razas británicas y la Holstein son preferibles a las cruzas continentales porque ellas son baratas, de tamaño medio y de buen potencial lechero, además algunas cruzas continentales son consideradas temperamentales. No obstante, otros autores, si bien transfirieron embriones congelados y vitrificados, no hallaron diferencias de preñez entre receptoras de razas lecheras (46,0%), carniceras (43,2%) y doble propósito (43,9%). (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Asegura que la raza de las receptoras no es tan importante como si el biotipo del animal relacionado con la función y



adaptabilidad al sistema de manejo. (Cordovez Zulema, 2010)

### **2.5.1.2. Categoría.**

Este es un aspecto importante, pero con criterios encontrados respecto a si es mejor utilizar vaquillonas o vacas. Los que proponen el uso de vacas lo hacen argumentando que las mismas ya han parido alguna vez. Por otro lado, las vaquillonas son seleccionadas principalmente como receptoras por razones económicas, logísticas y técnicas, entre ellas podemos mencionar que es menos probable que se encuentren bajo estrés nutricional o que tengan una historia de problemas sanitarios, además el útero virgen es más apropiado para recibir un embrión transferido. Se considera que, así como en la inseminación artificial, en la transferencia embrionaria se obtiene mayor porcentaje de preñez en vaquillonas que en vacas. Sin embargo, muchos autores no hallaron diferencias. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)



La receptora ideal es una vaca joven, criada en el establecimiento y por lo tanto bien identificada, adaptada al medio, con antecedentes conocidos, sanidad, fertilidad, facilidad de parto y habilidad materna. (Cordovez Zulema, 2010)

Tabla 11. Tasas de preñez después de la transferencia de embriones en vaquillonas y vacas. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Autores	Categoría	Receptoras transferidas	
		n	Porcentaje de preñez
Wright (116)	Vaquillona	245	58,4
	Vaca	2200	59.0
Callesen y col. (16)	Vaquillona	758	51
	Vaca	1316	46
Neumann y col. (73)	Vaquillona	1980	50,1
	Vaca	399	35,5



En un trabajo en el cual se determinó la influencia que tiene la categoría sobre los porcentajes de preñez concluyeron que las receptoras con mayores porcentajes de preñez fueron las vacas con cría, seguidas por aquellas vacas que destetaron sus crías ( $P \leq 0,05$ , Villarreal *et al.*, 2009). Posteriormente se ubicaron las vaquillonas y por último, las vacas secas. Estas, fueron vientres que no se habían preñado en el último servicio y quizás esa haya sido la causa de su baja fertilidad. (Irouleguy Javier, 2009)

Tabla 12. Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras (Villarreal, et al., 2009).

<b>Categoría</b>	<b>Totales</b>	<b>Preñez (%)</b>
1- Vaquillona	53	45,3 <sup>a</sup>
2- Vaca c/cría al pie	73	61,6 <sup>b</sup>
3- Vaca c/cría destetada	58	56,9 <sup>ab</sup>

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos"



4- Vaca seca	23	26,1 <sup>c</sup>
Totales	207	52,2

Valores con distintos superíndices difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

### 2.5.1.3. Estado nutricional.

La condición corporal de las receptoras y el contenido energético de la alimentación que éstas reciben son los factores más importantes. Si se produce una disminución marcada de la condición corporal se afectan el intervalo parto-celo y los porcentajes de preñez y parición. Tomando como referencia la escala 1-5, es necesario lograr una condición corporal 3,5 al parto para que ésta no resulte inferior a 2.5-3 en el momento de la transferencia. Luego, el nivel energético debe seguir siendo correcto, sin llegar al exceso, y debe continuar hasta que la nidación del embrión haya finalizado, resultando determinante entre los días 21 y 45 de gestación. Mapletoft y col., obtuvieron mayor porcentaje de preñez con receptoras de condición





corporal entre 2 Y 3, que con aquellas de  $\leq 1$  o  $\geq 4$ .  
(Irouleguy Javier, 2009)

Tabla 13. Efecto de la condición corporal de la receptora sobre el porcentaje de preñez después de la transferencia no quirúrgica. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Condición corporal	Receptoras transferidas	
	n	Porcentaje de preñez
$\leq 1$	230	44 <sup>a</sup>
2	460	53 <sup>b</sup>
3	633	55 <sup>b</sup>
$\geq 4$	175	47 <sup>a</sup>

a, b diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

#### 2.5.1.4. Empleo reiterado.

Cuando se diagrama un programa de transferencia embrionaria surge el interrogante sobre cuántas veces puede repetirse la transferencia de embriones a una misma receptora. Se ha observado que la tasa de preñez no es



afectada hasta la tercera transferencia y que luego tiende a disminuir progresivamente. Esto ocurre con vaquillonas y vacas y con embriones producidos *in vivo* e *in vitro*. En base a esta información se ha establecido un criterio donde se señala que cada receptora podrá tener tres oportunidades de quedar preñada, luego de haber sido transferida correctamente con un embrión de buena calidad. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Tabla 14. Porcentajes de preñez obtenidos por distintos autores luego de efectuar transferencias sucesivas. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Autores	Transferencias			
	1º	2º	3º	4º
Donaldson (27)	58,8	52,6	56,4	50,2
Hasler y col. (36)	73	72	67	50
Liebrich (52)*	56	46	37	-



\*Embriones producidos in vitro

Tabla 15. Tasa de preñez (n) después de la 1, 2 y 3 transferencia de embriones producidos in vitro a la misma receptora. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Transferencias	Receptoras	Preñez	
		N	%
1 <sup>o</sup>	183	102	56
2 <sup>o</sup>	108	50	46
3 <sup>o</sup>	40	15	37

No se encontraron diferencias para el número de transferencias consecutivas antes de quedar preñada (1: 39%, 2: 37% y 3 o más 33%). (Oyuela A., 2009)

Tabla 16. Tasa de preñez de acuerdo al número de transferencias consecutivas. (Oyuela A. 2009)

Cantidad de TE Transferidos consecutivas	Preñadas % preñez
--	-------------------



1	778	302	39%
2	292	108	37%
≥3	157	52	33%

### 2.5.1.5. Importancia de la evaluación de las estructuras ováricas en la hembra receptora.

La relación entre la tasa de preñez y la concentración plasmática de Progesterona (P4) de acuerdo al tamaño del CL en receptoras de embriones 1246 bovinos, ha sido objeto de controversia en varios estudios realizados. Algunos investigadores han verificado la correlación positiva entre estas variables, encontrando que a mayor área del CL mayor es la concentración de P4 plasmática, y consecuentemente mayor es la tasa de preñez. Con estos resultados se podría evidenciar que los incrementos en la concentración de P4 durante el “periodo crítico” estimula la secreción de los agentes antiluteolíticos con lo cual se hace eficiente el RMP. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

Contrariamente algunos autores como Spell no ha encontrado correlación entre las siguientes variables:



tamaño del CL, concentración de P4 plasmática y porcentaje de preñez en hembras receptoras con embrión trasplantado. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

El cuerpo lúteo presente al momento de la implantación del embrión juega un papel importante en los resultados de la transferencia de embriones ya que se espera que secrete suficiente cantidad de progesterona para el mantenimiento de la preñez del embrión transferido. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

La evaluación del tamaño del cuerpo lúteo se hace el día de la transferencia del embrión, vía palpación rectal. Siguiendo la clasificación descrita por Zemjanis (1996): (Oyuela 2009)

- Cuerpo lúteo 1 (CL1): cuerpo lúteo blando, no mayor a 1 cm de diámetro.
- Cuerpo lúteo 2 (CL2): cuerpo lúteo blando, de 1 a 2 cm de diámetro.
- Cuerpo lúteo 3 (CL3): cuerpo lúteo de más de 2 cm de diámetro.



Al realizar seguimiento de las estructuras ováricas por medio de ultrasonografía a un grupo de 140 animales se obtuvieron los siguientes resultados:

- Los cuerpos lúteos de más de dos centímetros de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 2,44 ng/MI, y una tasa de concepción del 58% en hembras a las que se le transfirió un embrión el día siete postcelo. (Duica 2010)
- Las hembras que se les encontraron cuerpos lúteos de 1,5 centímetros de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 1,75 ng/MI, y una tasa de concepción del 41%. (Duica 2010)
- Las hembras a las que se les encontraron cuerpos lúteos menores de 1,5 centímetros de diámetro presentaron niveles de progesterona circulantes de 1,19 ng/MI, y una tasa de concepción del 31% ( $P < 0.05$ ). (Duica 2010)
- Mientras que al encontrar un cuerpo lúteo de 2,36 centímetros de diámetro se detectó una concentración plasmática de progesterona equivalente a 4,2 ng/MI y



una tasa de preñez del 70%, en hembras receptoras de embriones a las que se les fue transferido el embrión el día siete poscelo ( $P < 0,05$ ). (Duica 2010)

Así, al existir una mayor producción de progesterona plasmática se esperaría generar unas condiciones uterinas favorables para el desarrollo embrionario temprano. Por eso es importante determinar el tamaño de las estructuras ováricas antes de realizar el trasplante del embrión a la hembra receptora, lo cual permite obtener mejores resultados después de la aplicación de la técnica de TE. (Duica 2010)

Tabla 17. Efecto de la calidad del CL sobre la tasa de preñez después de la transferencia de embriones. (Oyuela A., 2009)

Calidad del CL	Transferencias N	Preñez N	Preñez %
1	1193	911	76
2	348	251	72
3	58	46	79



Tabla 18. Relación entre la calidad del cuerpo lúteo y la preñez de las receptoras después de la transferencia de embriones producidos *in vitro*. (Palma G., 2001)

Calidad del CL	Animales		Preñez
	n	%	N
Muy buena	155	76	49
Buena	78	40	51
Regular y mala	98	51	52
£	331	167	50

La relación entre los niveles sanguíneos de progesterona y la tasa de sobrevivencia embrionaria tampoco pudo ser definida con éxito (SREENAN y DISKIN, 1987) por que no pudieron observarse diferencias entre la concentración sérica de progesterona previa a la transferencia de las receptoras que posteriormente permanecían preñadas de las que no lo hacían. (Palma G., 2001)





Tabla 19. Relación entre la calidad del cuerpo lúteo y los niveles de progesterona de las receptoras 2 días antes de la transferencia. (Oyuela 2009)

Calidad del CL	Receptoras N	Nivel de progesterona ng/ml	
Muy buena	150	1,37	1,02
Buena	75	1,30	0,85
Regular	88	1,15	0,90
mala			
ns			

No se encontraron diferencias ( $p > 0,05$ ) para el diámetro de cuerpo lúteo (<10mm: 28%, 10-14mm: 39% y >14mm 39%). (Oyuela A., 2009)

Tabla 20. Tasa de preñez para las variables asociadas al cuerpo lúteo de la receptora y los índices de preñez. (Oyuela A, 2009)

Diámetro Cuerpo lúteo	Transferidos	Preñadas	% preñez
--------------------------	--------------	----------	----------



<10 mm	133	37	28%
10 – 14 mm	574	223	39%
> 14 mm	520	202	39%

## 2.6. SINCRONISMO DONANTE-RECEPTORA.

El sincronismo que se establece entre la donante y la receptora condiciona el éxito de la transferencia, pues para la nutrición del embrión resulta necesario que el ambiente uterino de ambas sea similar. Debido a la diversidad de criterios que existen en las bibliografías en cuanto al sincronismo entre la donante y la receptora, en el presente trabajo se asume como asincronismo positivo (+) a aquél en donde la receptora se presenta en celo antes que la donante. Por el contrario, se considera un asincronismo negativo (-) cuando la receptora presenta celo después que la donante. Se ha llegado a tolerar hasta un asincronismo de 48 hs, y se ha observado que no se producen grandes diferencias de preñez con asincronismos de hasta 36 hs, no obstante, se considera que para la obtención de buenos resultados no se debe superar las 24 hs. de asincronismo. (Palma G., 2001)

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos"



Cuando la donante y las receptoras presentaron celo simultáneamente se obtuvieron las tasas de preñez más elevadas en varios trabajos, sin embargo, generalmente se considera que es más probable obtener mejores resultados transfiriendo a receptoras con asincronismo positivo. Si bien la causa es desconocida, es probable que los embriones de vacas superovuladas estén levemente más avanzados en el desarrollo que aquellos provenientes de un animal no superovulado, de allí que tengan mayor posibilidad de implantarse en una receptora con un ciclo estral más avanzado. (Palma G., 2001)

Los mejores resultados de implantes se alcanzan en casos donde, el día de la transferencia, se dispone de datos exactos sobre el celo de cada una de las receptoras (comienzo, intensidad, duración). (Cordovez Zulema, 2010)

El sincronismo donante-receptora no debe ser analizado como un factor que en forma aislada pueda afectar el porcentaje de preñez. Hasler y col., transfirieron embriones de distintos grados de calidad a receptoras con sincronismo



y con asincronismo (+) y (-). Obtuvieron buenos porcentajes de preñez con embriones de calidad buena y receptoras con y sin sincronismo. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Por el contrario, cuando los embriones transferidos fueron de calidad pobre, los mayores porcentajes de preñez se obtuvieron en receptoras con asincronismo negativo. Esto puede estar relacionado con el hecho que en los embriones de calidad pobre, el desarrollo embrionario retardado es frecuente, resultando un mejor ambiente uterino para este tipo de embrión, el proporcionado por una receptora con asincronismo negativo. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

El sincronismo entre el momento del ciclo de la receptora y el estadio en que se encuentra el embrión parece constituir un índice más válido de las posibilidades de éxito de la transferencia, razón por la cual deberá ser tenido en cuenta al hacer transferencia. (Irouleguy Javier, 2009)



Tabla 21. Código de desarrollo embrionario según. (Palma G., 2001)

<b>Estadio</b>	<b>Código de desarrollo (estimado en días)</b>
Mt	5
Mc	6
Bt	7
B	7
Be	8
Bp	9

Tabla 22. Efecto de la sincronización donante/receptora y embrión/receptora sobre la tasa de preñez. (Palma G., 2001)

Sincronización días	Sincronización donante/receptora		Sincronización receptora/ embrión	
	Preñeces		Preñeces	
	N	n    %	n	n    %
+2	27	11    (41)	76	20    (26) <sup>c</sup>



+1	87	41	(47)	148	73	(49) <sup>d</sup>
0	158	64	(41)	204	107	(52) <sup>d</sup>
-1	175	86	(49)	98	45	(46) <sup>d</sup>
-2	137	56	(41)	58	13	(22) <sup>c</sup>

a: solo fueron incluidos embriones de excelente y buena calidad

c,d: Porcentaje en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,001$ )

## 2.7. SINCRONISMO EMBRION- RECEPTORA.

Si tenemos en cuenta que en un animal superovulado los folículos pueden ovular en un periodo largo y que además el desarrollo del embrión se acelera, el sincronismo entre la donante y la receptora puede no ser el mejor indicador a tener en cuenta en el momento de decidir qué embrión transferir en una determinada receptora. Es por ello que, en el momento de efectuar la transferencia, debe ser considerado también el sincronismo embrión-receptora. Por ejemplo, si la recolección se lleva a cabo en el día 7 y



contamos con receptoras disponibles entre los días 6-8 del ciclo estral, las mórulas deben ser transferidas a las de día 6, las mórulas compactas y blastocistos tempranos a las de día 7 y los blastocistos expandidos a las de día 8. Esta recomendación se basa en trabajos en los que se observó que la transferencias de embriones en estadios más avanzados (blastocistos expandidos y protruidos) a receptoras con asincronismo negativo, resultó en una disminución del porcentaje de preñez. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

La probabilidad de gestación depende también del estadio en que se encuentra el embrión en el momento de la recolección. La transferencia de mórulas tempranas, por ejemplo, alcanzó una tasa de preñez significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) frente a otros estadios más desarrollados. Incluso se observó una tendencia creciente en la tasa de gestación a medida que avanza el desarrollo del embrión. Una posible explicación para ello sería que las mórulas tempranas se encontraron retardadas en su desarrollo de acuerdo al momento de la recolección al 6to-8vo días de la recolección. Una segunda explicación posible es que los defectos morfológicos son más fáciles de observar en

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptara en un programa de transferencia de embriones bovinos"

estadios embrionarios avanzados. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Tabla 23. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez, (Palma G., 2001)

Estadio	Embriones transferibles	Preñez	
		n	%
Mt	586	359	61 <sup>a</sup>
Mc	1178	792	67 <sup>b</sup>
Bt	600	402	67 <sup>b</sup>
Be	139	99	71 <sup>c</sup>

a,b tasas de preñez con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

## 2.8. DESARROLLO POST-TRASPLANTE DEL EMBRION Y ACTIVACION DE LOS MECANISMOS LUTEOTROPICOS.

La implantación embrionaria es un proceso complejo, que comprenden una serie de etapas que comienza con la fijación del blastocito al útero y termina con la formación de la placenta definitiva. Para que la implantación tenga éxito,





se requiere de una comunicación entre el embrión y el endometrio a través de una serie de señales moleculares y celulares que conllevan finalmente a una sincronía entre el desarrollo del embrión y una compleja serie de eventos inducidos en el útero por los estrógenos y la progesterona. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Al producirse la salida del embrión de la zona pelúcida, proceso conocido como eclosión, el blastocisto presenta un área celular interna llamada embrioblasto y una capa externa denominada trofoblasto el cual es el precursor para la formación de la placenta, durante este período continúa el desarrollo embrionario y el cuerpo lúteo sigue secretando progesterona; al llegar el embrión al día 14 a 18 (Burges, 1990; Hernández, 1995) las células del trofoblasto inician la secreción de una proteína (trofoblástica bovina), también denominada Interferón Tau, la cual se presenta antes de iniciar el mecanismo luteolítico en la hembra. Esta es la señal que envía el embrión para que se bloquee la transcripción del gen que codifica para los receptores de oxitócica y de la misma forma hace que se expresen los mecanismos inhibidores para la síntesis de prostaglandina F2 alfa, haciendo que se mantenga el cuerpo lúteo y de la

Autor: José Rodrigo Marín Reinoso

Tema: "Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos"



misma manera continúe la secreción de progesterona, la cual es la encargada del establecimiento y mantenimiento de la preñez en mamíferos. Otra función del interferón Tau se da al favorecer la síntesis de proteínas uterinas durante la fase inicial de la gestación, inhibiendo el desencadenamiento del mecanismo luteolítico. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

## **2.9. PORCENTAJE DE PREÑEZ.**

La diferencia de preñez del 10-20%, entre esta técnica y la quirúrgica, podría ser explicada por las infecciones provocadas al introducir el catéter de transferencia, vía vagina, en el útero, particularmente susceptible de infecciones entre el día 6-8 del ciclo. (Cutini, 2000)

La tasa de preñez de los embriones producidos *in vitro* es similar a la de los obtenidos *in vivo*, aunque la apariencia morfológica de los primeros dista de responder a los criterios establecidos para los segundos. (Lozano R. Aspron M. Vasques G. Gonzales E. Arechiga C, 2007)



Tabla 24. Preñez obtenida después de la transferencia de embriones de diferentes calidades producidos in vitro. (Palma G., 2001)

Calidad	Transferencias		
	Preñez (d 35)		
	n	n	%
Muy buena	61	33	54 <sup>a</sup>
Buena	41	21	51
Regular y mala	27	7	26 <sup>b</sup>
	129	61	47

a,b: diferentes estadísticamente,  $p < 0,05$  (t-test)

a: Solo fueron incluidos embriones de excelente y buena calidad

c,d: Porcentaje en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,001$ )

La probabilidad de gestación depende también del estadio en que se encuentra el embrión en el momento de la



recolección. La transferencia de mórulas tempranas, por ejemplo, alcanzó una tasa de preñez significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) frente a otros estadios más desarrollados. Se observó una tendencia creciente en la tasa de gestación a medida que avanza el desarrollo del embrión, Una posible explicación para ello sería que las mórulas tempranas se encontraron retardadas en su desarrollo de acuerdo al momento de la recolección al 6 y 8 días de la recolección. Una segunda explicación posible es que los defectos morfológicos son más fáciles de observar en estadios embrionarios avanzados. (Cutini, 2000)

Tabla 25. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez (Oyuela 2009)

Estadio	Embriones transferibles	Preñez	
		n	%
Mt	586	359	61 <sup>a</sup>
Mc	1178	792	67 <sup>b</sup>
Bt	600	402	67 <sup>b</sup>
Be	139	99	71 <sup>c</sup>



a,b: tasas de preñez con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

a: Solo fueron incluidos embriones de excelente y buena calidad

c,d: Porcentajes en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,001$ )

La tasa de gestación de las vacas receptoras de época templada fue más alta cuando recibieron embriones producidos durante la época templada (45.0 %), que en aquéllas que recibieron embriones producidos en época cálida (21.5 %,  $P < 0.05$ ). Se observó una tendencia de mayor tasa de gestación de las vacas receptoras cuando recibieron embriones de calidad excelente (30.4 %), que en aquéllas que recibieron embriones de calidad buena (16.9 %;  $P < 0.11$ ). (Mariano, 2008)

### **3.10. CAUSAS DE MORTALIDAD EMBRIONARIA.**

El control endocrino para la síntesis de proteínas uterinas durante el desarrollo embrionario temprano ha sido parcialmente aclarado en los bovinos; en tal sentido, se



reporta que la P4 (progesterona), es la responsable de los cambios cualitativos y cuantitativos de proteínas en el medio ambiente uterino controlando la síntesis y secreción de por lo menos 10 proteínas. De acuerdo a esto se deduce que deficiencias en esta hormona podría causar que el endometrio llegue a ser deficiente en la producción de los nutrientes necesarios para la sobrevivencia del embrión. (Hernandes Ceron J. Zarco Quintero, 2008)

El desequilibrio entre estrógenos y P4 puede causar mortalidad embrionaria ya que estas hormonas interactúan para la inducción de proteínas específicas del útero (*CSF-1, EGF, LIF, IL – 1, Proteinasas, Prostaciclina, Blastoquinina, Calcitonina, Dipetilpeptidasa – IV, Glicoproteína CD 44*), necesarias para el proceso de implantación y mantenimiento embrionario. Igualmente se plantea que un desequilibrio de estas hormonas altera el mecanismo de transporte del embrión, acelerándolo o volviéndolo lento, lo cual causa muerte de este antes de la implantación. (Mariano, 2008)

La transferencia de un solo embrión en el cuerno contralateral provoca una alta mortalidad embrionaria dado



que las señales luteotróficas y antiluteolíticas del embrión fallan en alcanzar el CL del lado opuesto a la transferencia. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

Los embriones transferidos de las distintas razas produjeron porcentajes de preñez similares a los 28-33 días. Los porcentajes obtenidos a la palpación transrectal también fueron similares. Sin embargo, se observó una mayor mortalidad embrionaria en los embriones de raza sintética y europea (tabla 26). (Arreseigor A. Vasconcellos T. Pereira A. Sarmiento G. Stahringer., 2007)

Tabla 26. Preñeces Mortalidad Embrionaria según el origen de las donantes. (C.J. Arreseigor., Tami Vasconcellos. A Pereira. Ibareche A. Sarmiento G. R Stahringer. 2004)



Raza donante	Total TE	Preñez 28-33 días	Preñez 60-80 días	Mortalidad Embrionaria
Brahman	280	146 (52%)	135 (48%)	11 (8%)
Sintéticas	542	298 (55%)	249 (46%)	49 (16%)
Europeas	233	136 (58,4%)	109 (47%)	32 (24%)
Total	1055	580 (55%)*	493 (47%)**	92 (16%)***
*p>0,2 **p>0,8 ***p<0,06				

Los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que los embriones y receptoras de origen índico sufren menores pérdidas embrionarias a los 28-33 días de gestación, que los de raza europea o sintética en las condiciones de elevadas temperaturas ambientales en la región subtropical. (Arreseigor A. Vasconcellos T. Pereira A. Sarmiento G. Stahringer., 2007)





## **2.11. OTROS FACTORES CAUSANTES DE MORTALIDAD EMBRIONARIA.**

### **2.11.1. Factores genéticos.**

Los embriones pueden ser anormales como resultado de defectos heredados, errores en la meiosis o en la fertilización, por variaciones en el número y estructura cromosómica como es el caso de la poliploidia siendo ésta una de las causas de muerte embrionaria. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

### **2.11.2. Factores ambientales.**

Los efectos causados por estrés térmico sobre el embrión joven no son aparentes sino hasta las fases finales de su desarrollo, evidenciándose esto en embriones *in vitro* sometidos a temperaturas altas, los cuales se afectan pero continúan su desarrollo para posteriormente morir durante la etapa de implantación. En referencia a esto se ha encontrado que los embriones de vacas *Bosinducus* resisten más estos efectos causados por estrés



calórico que los embriones provenientes de madres *Bos taurus*. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

En cuanto a la secreción embrionaria, se ha encontrado que el estrés calórico causado entre los días 8 y 17 de preñez altera el ambiente uterino y reduce en un 72% la secreción de interferon - tau, lo cual repercute negativamente sobre el mantenimiento del cuerpo lúteo y consecuentemente con la viabilidad del embrión (*RMP*). (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

### **2.11.3. Factores nutricionales.**

Estudios realizados en la universidad de Cornell han demostrado la reducción en la fertilidad cuando se excede con proteína degradable en el rumen. Esto altera el pH uterino, por lo cual se podría modificar la concentración de los iones, afectando de esta manera la ionización de los sustratos energéticos para el embrión, poniendo en peligro su sobrevivencia antes del reconocimiento materno de la preñez. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)



#### 2.11.4. Factores tóxicos.

Se han establecido una serie de sustancias como los fitoestrógenos entre otras, que podrían llegar a ser consumidas por las vacas, lo cual podría causar alteraciones reproductivas que conlleven a mortalidad del embrión. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

#### 2.11.5. Factores patológicos.

Agentes infecciosos como la *Leptospiraspp*, *Campylobacterfetus* y *Trichomonafetus* pueden causar muerte embrionaria. De igual manera ocurre con el *Haemophilus somnus*, el cual también presenta un alto tropismo por los tejidos del sistema reproductivo generando fallas en la fertilización. De la misma forma agentes de microorganismos como *Mycoplasmas spp.* Y *Ureoplasmas spp.*, están asociados a desórdenes reproductivos. El *Ureoplasma diversumes* genera alteraciones en la fertilidad en los bovinos, igualmente se incluye entre los causantes de mortalidad embrionaria. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)



Los virus son quizás los que más problemas acarrear, ya que afectan la viabilidad de los embriones; tal es el caso del virus de la diarrea viral bovina, que penetra la zona pelúcida y causa la degeneración de los embriones. También los virus de la rinotraqueitis infecciosa (*IBR*) y el virus de la lengua azul en los bovinos son agentes causantes de desórdenes reproductivos. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

#### **2.11.6. Factores inmunológicos.**

Aunque existen numerosos estudios que analizan los mecanismos por los cuales la madre tolera la presencia del embrión (*conceptusalogénico*), no se ha profundizado suficientemente en los procesos inherentes al rechazo inmunológico, lo cual causa muerte embrionaria. Sin embargo se sabe que el embrión hereda características del padre ajenos a los de la madre receptora (*Aloingerto*). (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)



## **2.12. ALTERNATIVAS UTILIZADAS CON EL FIN DE INCREMENTAR LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ.**

Las alternativas utilizadas para incrementar los porcentajes de preñez han sido muy variadas. Una de ellas es el empleo de vesículas trofoblásticas, las cuales se transfieren conjuntamente con el embrión, con la finalidad de contribuir al mantenimiento de la fase lútea en la receptora, y mejorar la intensidad y la calidad de las señales embrionarias. Heyman y col. transfirieron un embrión congelado y dos vesículas trofoblásticas congeladas simultáneamente. A los 45 días de gestación, la tasa de preñez de estas receptoras (73%) fue mayor que la del grupo control (43%). (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Las diferencias entre ambos grupos dejaron de ser significativas al día 90, siendo de 57% y 40%, respectivamente. En el primer grupo, las pérdidas se produjeron principalmente entre los días 45 y 60 de gestación, en cambio en el grupo control ocurrieron entre los días 21 y 45. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)



Por otra parte se ha intentado modificar el estado fisiológico del útero por medio de una terapia suplementaria con progesterona. Christie y col, emplearon 100 mg de progesterona entre los días 13 y 35 del ciclo de receptoras que habían recibido un embrión en el día 7, sin encontrar efecto alguno sobre el porcentaje de preñez. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

También se ha empleado en receptoras luego de ser transferidas, gonadotrofina coriónica humana (HCG) por su efecto luteotrófico. Se llevaron a cabo distintos estudios donde las dosis empleadas variaron entre 1000 y 5000 UI, administradas en un solo momento o en un período comprendido entre el día 7 (momento de la transferencia) y el día 35. En estos estudios no se lograron mejorar los porcentajes de preñez. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Con la misma finalidad se ha empleado la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) o alguno de sus análogos. Ellington y col, administraron 8 mg de buserelina



al momento de la transferencia o entre los días 4 y 7 pos transferencia. Los porcentajes de preñez logrados 72% y 66%, respectivamente no difirieron del grupo control, 68%. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

ELLINGTON y col. (1992) evaluaron el efecto de la Buserelina, un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH). Los autores no encontraron un efecto luteotrófico de la hormona que mejorara la tasa de preñez del grupo tratado frente al control. (Cabodevila J, 2008)



## CONCLUSIONES

Se concluye que el porcentaje de preñez en las hembras receptoras en un programa de transferencia de embriones se han incrementado de manera significativa en los últimos años, sin embargo se debe tomar en cuenta varios factores relacionados al embrión, selección de las hembras donadoras-receptoras y la aplicación de la técnica.

Dentro de los factores embrionarios se debe tomar en cuenta la calidad embrionaria ya se de embriones frescos o criopreservados ya que estos influye directamente en los resultados. La criopreservación y micromanipulación afecta la viabilidad de los embriones.

En la selección de las hembras donadoras se debe tomar en cuenta el estado del ovario en el momento del tratamiento, la edad, estado nutricional, la historia reproductiva, raza y la dosis de gonadotropina empleada, ya que estos son los factores que pueden influir en la superovulación en hembras bovinas





En la selección de las hembras receptoras se debe evitar uso de animales que presenten problemas para lo cual se debe realizar una vista previa al comenzar el proceso de transferencia de embriones además se debe tomar en cuenta el manejo sanitario, estado nutricional, edad, raza. Al momento de realizar la transferencia se debe tomar en cuenta el sincronismo o el asincronismo  $\pm 24$  hs.

La transferencia de embriones debe ser realizado en lo posible por un operario con experiencia ya que la manipulación del tracto genital y la facilidad con que se realice la transferencia condiciona el éxito del programa.

La utilización de alternativas para incrementar los índices de preñez no ha tenido éxito que justifique su preñez.



## BIBLIOGRAFIA.

1. Becaluba Facundo. *Factores que afectan la superovulacion en bovino* Bs. As., Argentina; 2007.  
Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
2. Cabodevila J, Torquati S. Superovulacion de hembras bovina. Biotecnologias de la reproduccion. Balcarce Argentina. 2008.
3. Cordovez Zulema. *Evaluacion de los parametros productivos y reproductivos en la transferencia de embriones en vacas de la hacienda Miraflores bajo N:2 Pichincha, Ecuador*: Escuela Politécnica Superior de Chimborazo; 2010
4. Cutini A. Teruel M. Cabodevila J. *Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirurgica de embriones bovinos*. Revista Taurus N° 7: 28-39 y N° 8: 35-47, 2000: 1-24.
5. Duica A. Tovio N. Grajales H. *Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un*



*programa de transferencia de embriones bovinos. Revista de Medicina Veterinaria, Julio-Diciembre, numero 014. Universidad de la Salle, Bogota, Disponible en: <http://www.redylac.uamex.mx>*

6. Duica Arturo. *Efecto del diametro del foliculo ovulatorio, tamaño del cuerpo luteo y perfiles de progesterona sobre la tasa de preñez en la hembra receptora de embriones bovinos* (Tesis de Maestria). Bogota D.C: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia; 2010
7. Irouleguy Javier, Rodrigues S, Callejes S, Cabodevila J. *Transferencia de embriones frescos a tiempo fijo: algunas variables que afectan su preñez*. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del centro de la Provincia de Buenos Aires. Diciembre 2009
8. Motta P, Ramirez N, Ramos N, Valencia A, Perdomo W. *Respuesta superovulatoria en número y calidad embrionaria de vacas y novillas Gyr lechero en clima Calido Humedo*. Revista Electrónica de Veterinaria,



vol. 12, núm. 10, octubre, 2011, pp. 1-14 Veterinaria Organización. Málaga, España.

9. Oyuela A. *Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones producidos in-vitro en razas cebuinas (Tesis de Magister) universidad nacional facultad de medicina veterinaria y zootecnica maestria en salud animal Bogotá D.C. 2009*

10. Oyuela A. Jimenes C. *Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. Revista de la facultad de Medicina Veterinaria Y zootecnia de la Universidad Nacional De colombia. Colombia 2010*

11. Tovia L. Duica A. Grajales H. *Desarrollo embrionario y estrategias antiluteolíticas hormonales en programas de transferencia de embriones bovinos. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de Ciencias para la Producción Animal, Grupo de*



investigación en Fisiología de la Reproducción.  
Bogota, Colombia. 2008

12. Vizuite A. *Manejo y alimentacion de las vacas donadoras de embriones de la raza Holstein Friesian* (titulo de Ingeniero Zootecnista). Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingenieria zootecnica.

## ANEXOS.

Figura 1. Tasa de preñez de acuerdo al desarrollo del embrión transferido.

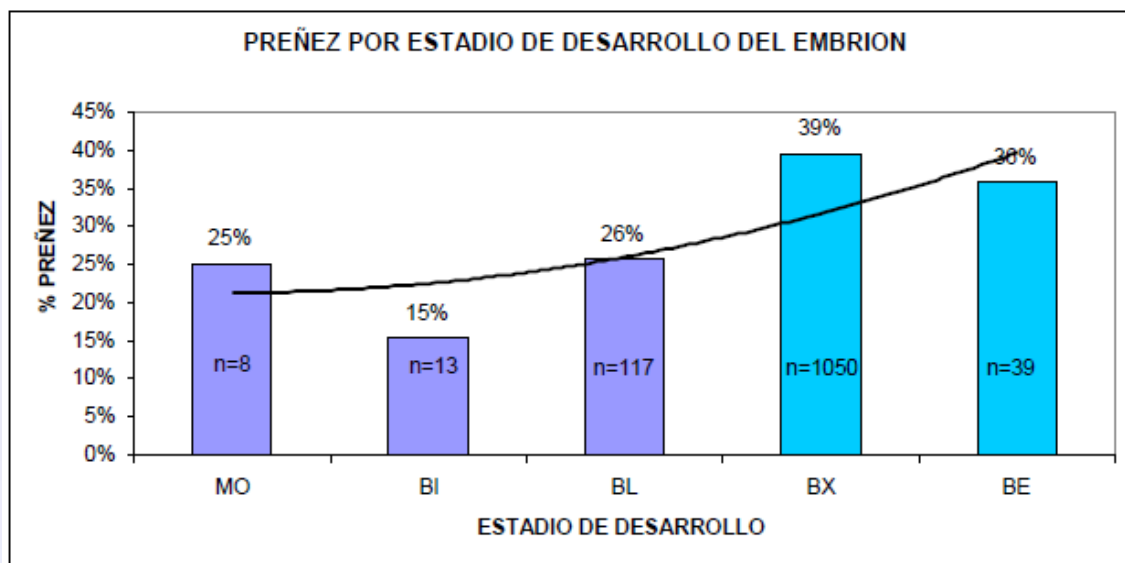


Figura 2. Porcentaje de preñez de acuerdo a la cantidad de transferencias consecutivas a una misma receptora antes que quedar preñada.

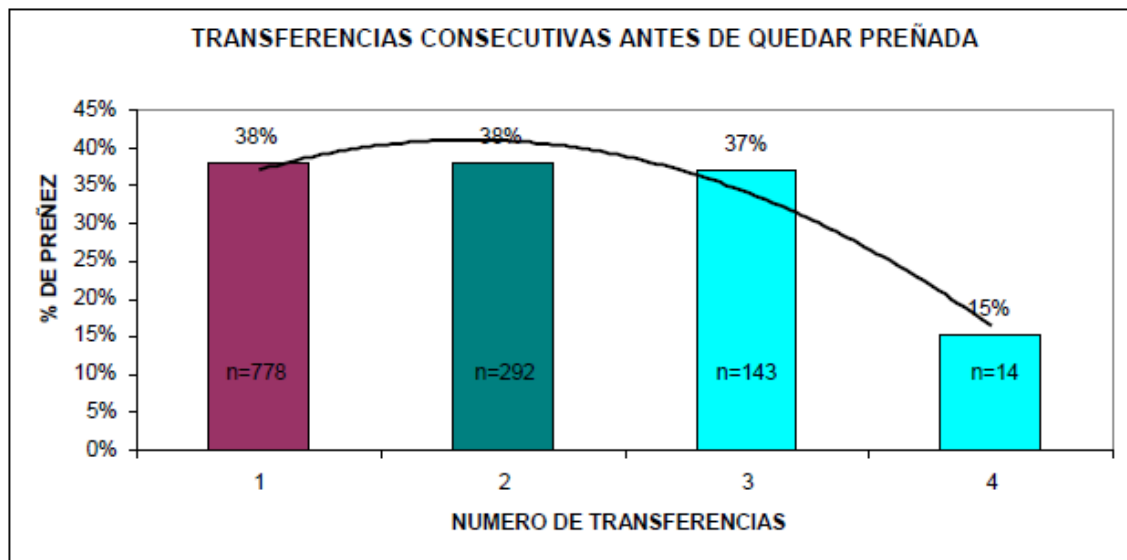


Figura 3. Tasa de preñez, por grupos de 10 embriones transferidos consecutivamente por el mismo técnico.

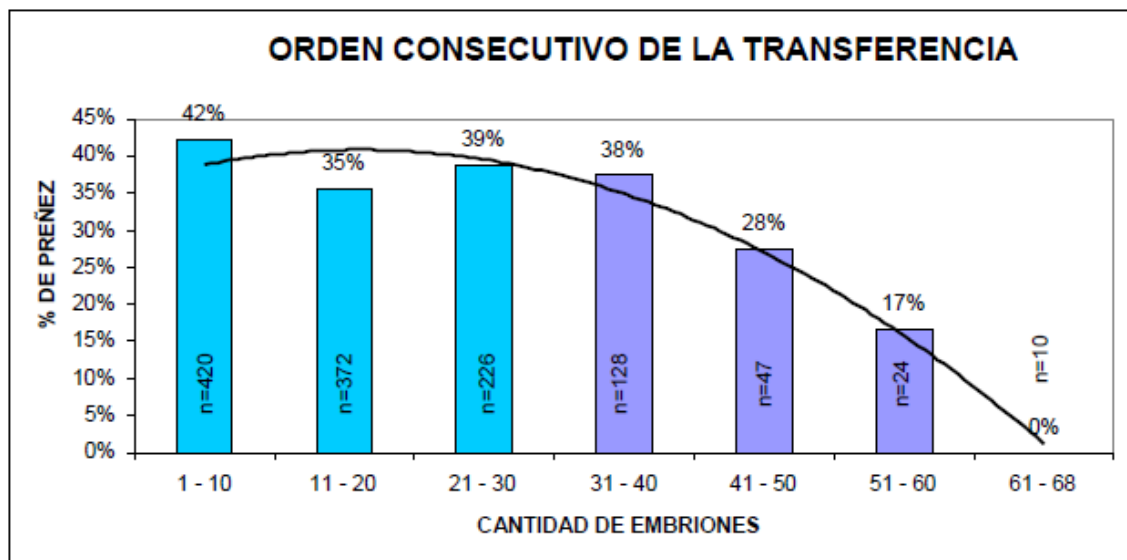
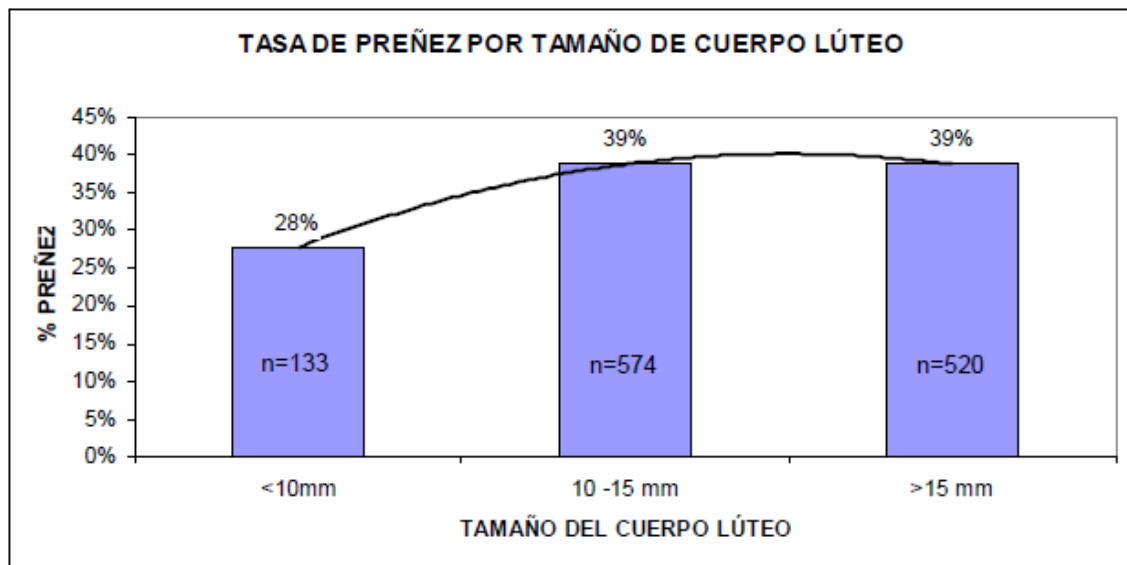


Figura 4. Porcentaje de preñez por tamaño de cuerpo lúteo, al momento de la transferencia del embrión.



El modelo no detectó asociación ( $p > 0,05$  IC 95%) entre la tasa de preñez y la variable.