



¿Se pueden recoger óvulos en las yeguas?



En los sementales equinos la extracción de semen es un procedimiento que los ganaderos conocen y utilizan de forma rutinaria para cubrir a sus yeguas y que los veterinarios especializados realizan habitualmente y con seguridad en el campo. Gracias a esta técnica, se pueden aprovechar los eyaculados para varias inseminaciones, conservar mediante diferentes métodos e incluso enviar a todas las partes del mundo con resultados exitosos. En el momento actual la pregunta es ¿podemos hacer esto en las yeguas? La realidad es que sí podemos, pero aún no lo hemos incluido a las técnicas reproductivas clínicas habituales en España.

ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA HEMBRA

El ojo del caballo es de los de mayor tamaño de los mamíferos terrestres y consta de una serie partes comunes a otras especies, aunque con características específicas. Los ovarios son los órganos reproductores, tienen un tamaño entre 2-8 cm, en estos se producen hormonas

y se almacenan los óvulos. Los óvulos u ovocitos son los gametos femeninos, siendo los espermatozoides contenidos en el semen, los gametos masculinos. El número de óvulos potenciales contenidos dentro del ovario femenino se constituye antes del nacimiento y hay más de los que la yegua podrá usar a lo largo de su vida reproduc-

tiva. Estos óvulos inmaduros están recubiertos por una sola capa de células epiteliales. A partir de la pubertad se van desarrollando los folículos primarios en cuyo interior se localiza el ovocito.

Las células epiteliales secretan el fluido folicular que rellena la cavidad que rodea al ovocito, este ambiente le servirá al



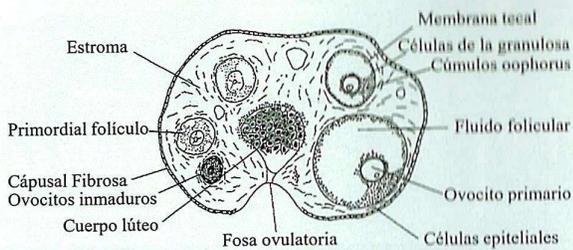


Figura 1. Diagrama que representa el desarrollo folicular y la ovulación en el ovario².

gameto femenino de suministro de nutrición para la maduración antes de la ovulación. Los folículos, durante la primera etapa del ciclo reproductivo o diestro, continúan desarrollándose con un crecimiento común en forma de oleadas foliculares, aumentando unos 3mm al día. En la siguiente fase, estro o celo, se decide cuál de ellos está destinado a continuar desarrollándose para llegar a ovular y cuáles degenerarán¹.

En el 75% de los casos solo un folículo llegará a ovular (aunque hay yeguas que ovulan 2 o 3) mientras que los demás degenerarán. Al final del estro, este folículo dominante será el que llegue a ovular, liberando su ovocito al oviducto por la fosa ovulatoria, para poder ser fecundando. Posteriormente, el folículo que ha ovulado colapsa y acaba formando el cuerpo lúteo, para comenzar así de nuevo el ciclo reproductivo con el siguiente diestro². Este proceso de maduración se realiza con éxito en diversas especies domésticas en el laboratorio, utilizando ovocitos y medios específicos a los que se les añaden hormonas y otros suplementos como el suero fetal bovino. En la actualidad, en la especie equina, el proceso de maduración *in vitro* resulta en un 60% de maduración de los ovocitos que se ponen en cultivo y se utilizan con éxito en programas de reproducción³.

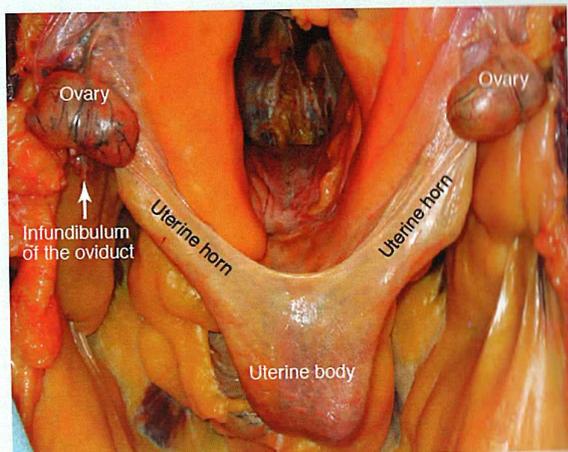


Figura 2. Aspecto frontal de los ovarios suspendidos y el útero *in situ*⁴.

ASPIRACION FOLICULAR TRANSVAGINAL ECOGUIADA U OVUM PICK UP (OPU)

Se trata de un técnica *in vivo*, descrita en caballos desde hace casi 30 años, por la cual, podemos recolectar un ovocito de cada folículo visible ecográficamente en ambos ovarios a lo largo de todo el año. El procedimiento se realiza con la yegua en pie, bajo sedación y analgesia. Son necesarias 4 personas: una para sedar y monitorizar el estado general del animal, la persona que manipula el ovario desde el recto y la sonda ecográfica alojada en el interior de la vagina desde el exterior de esta, otra para manejar la aguja y el pedal de aspiración y una cuarta para inyectar el fluido de lavado.

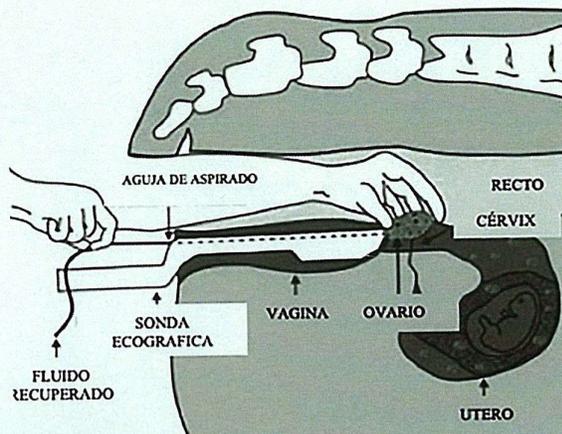


Figura 3. Diagrama explicativo sobre la colocación, según referencias anatómicas, de sonda, aguja y manos para la aspiración folicular ecoguiada⁵.

Tras vaciar el recto y realizar un lavado del perineo se introduce la sonda ecográfica por la vagina. Dicha sonda se encuentra en el interior de una funda rígida de teflón dotada con una guía, en esta guía se encuentra alojada una aguja de doble lumen de 12 G conectada a un sistema de vacío y aspiración de fluidos. Mediante manipulación rectal se posiciona el ovario, de forma que el folículo se alinee con la sonda y se hace avanzar la aguja para, alcanzar el interior de folículo atravesando la pared del fondo vaginal de manera ecoguiada. Mediante el sistema de vacío y aspiración se realizan lavados sucesivos del folículo con el medio de lavado (existen medios comerciales o preparados en el laboratorio). A su vez, se realiza el raspado de las paredes del folículo desde su interior mediante movimientos rotacionales de la aguja y realizando al mismo tiempo, un masaje desde el recto por parte del veterinario que manipula el ovario, para así facilitar la recolección del complejo cúmulo-ovocito¹.



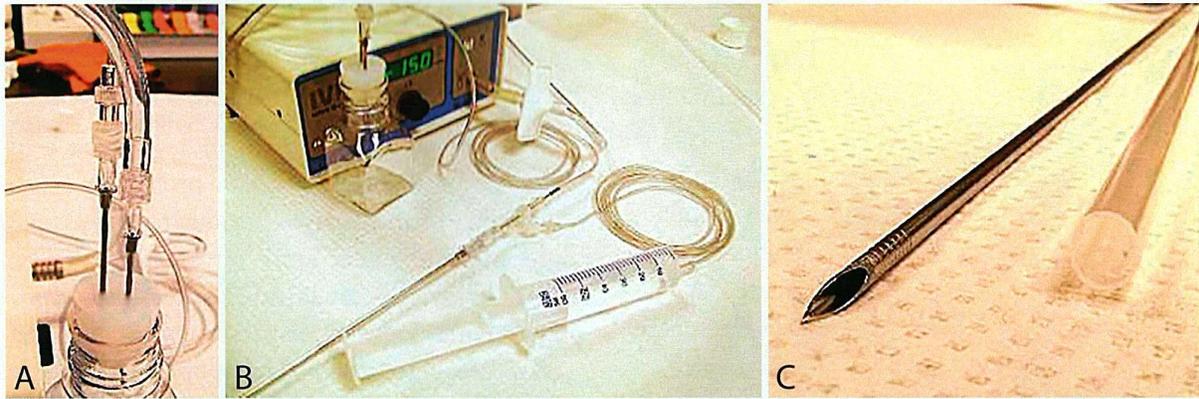


Figura 4. Sistema de vacío y aspiración de fluido para la recolección de ovocitos.

- A. Tapón de transferencia con agujas romas de aspiración y vacío.
- B. Bomba, sistemas, botella, jeringa y aguja de inyección y aspiración de fluidos.
- C. Aguja de 12G y doble lumen para la inyección y aspiración de fluidos y raspado de la pared del folículo⁴.

En los programas comerciales establecidos, se pueden llegar a recuperar el 60% de los ovocitos aspirados de los folículos visibles (6 ovocitos de cada 10 folículos aspirados)⁶.

Posteriormente se lleva a cabo la búsqueda y localización de los complejos cúmulo-ovocito utilizando una lupa binocular.

Los ovocitos pueden conservarse en un medio de transporte durante 24 horas a una temperatura de 15-23°C antes de su maduración efectiva, aunque una vez madurados aún no se han conseguido métodos efectivos de criopreservación que permitan su conservación a largo plazo y su uso en programas comerciales⁷.

APLICACIONES CLÍNICAS

Debido a su fácil conservación en medio de transporte, estos ovocitos recién extraídos podrían enviarse a cualquier laboratorio de forma segura y sencilla, para continuar el proceso sin poner en riesgo la viabilidad del futuro potro.

Los ovocitos recuperados están en un estado inmaduro, por lo que necesitan ser Madurados *In Vitro* para su posterior fecundación mediante Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides más conocido por sus siglas en inglés como ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection). Una vez madurado, mediante la técnica ICSI se selecciona un espermatozoide que se inyecta dentro de citoplasma del ovocito³. El ovocito fecundando o cigoto se mantiene en cultivo en un incubador entre 7-10 días, y el embrión producido puede ser criopreservado o transferido al útero de una yegua receptora. Debemos tener en cuenta que cada ovocito recuperado está sometido a varios procedimientos complejos hasta que logramos conseguir un embrión (maduración, ICSI y cultivo) por lo

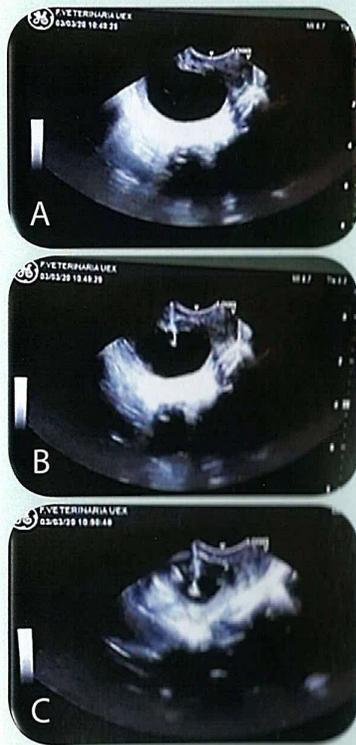


Figura 5. Proceso de aspiración de un folículo realizado por el equipo del HCV UEx. (Fotografía propia).

1. La aguja ha atravesado los paredes de la vagina pero aún no ha penetrado en la luz del folículo.
2. La aguja ya ha penetrado en el interior del folículo.
3. El fluido folicular está siendo aspirado.

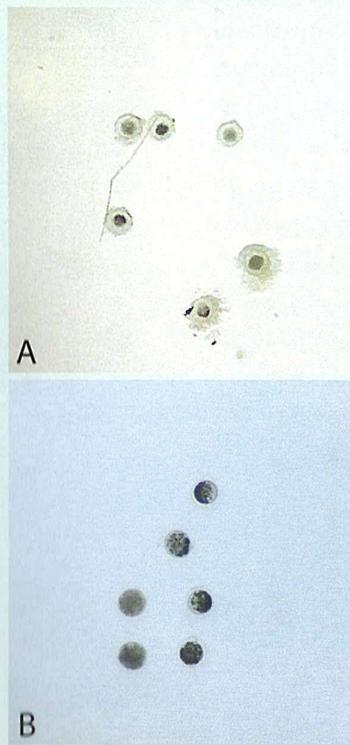


Figura 6. 6 Ovocitos recuperados en una sola sesión de OPU por el equipo del HCV UEx a una de nuestras yeguas. (Fotografía propia).

1. Ovocitos recién recuperados rodeados por varias capas de células de la granulosa. Complejo cúmulo-ovocito.
2. Ovocitos denudados y madurados listos para poder realizar ICSI.



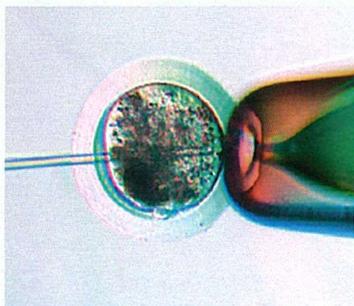


Figura 6. ICSI⁴.

que es frecuente que el número de ovocitos recuperados inicialmente vaya disminuyendo notablemente. A dichas pérdidas, habría que sumarle la dificultad que supone el éxito en la transferencia de embriones y que la yegua receptora lleve a término al futuro potro. Esto, traducido en números, en los programas comerciales establecidos en el mejor de los casos quedaría en 1.63 (entre 1 y 2) embriones por cada procedimiento de OPU que se lleva a cabo en una yegua⁶. Del total de embriones obtenidos podríamos conseguir una tasa de preñez, tras ser transferidos, del 69% y finalmente, de las yeguas preñadas, una tasa de parto posterior del 83%⁸. Estas tasas se ven disminuidas con la edad de la yegua y la mala calidad espermática del caballo, por lo que el éxito de dicha técnica depende de varios factores.

A pesar de su complejidad, en ciertas situaciones este procedimiento ofrece un sin fin de ventajas sobre el resto de técnicas: ofrece la posibilidad de ampliar la elección de los sementales a ser utilizados; se aplica a los sementales con baja fertilidad in vivo o cuando la cantidad de semen congelado

es limitada y/o insuficiente para realizar la inseminación artificial en valiosos sementales que ya han fallecido, entre otras.

En el caso de yeguas, esta técnica se usa en hembras de edad avanzada o con problemas reproductivos (bloqueo de los oviductos, infecciones uterinas recurrentes entre otras), las cuales han perdido parcial o totalmente su capacidad de producir embriones frescos para transferir y en muchos casos representan la única opción disponible. También puede usarse en yeguas que mueren de manera repentina o que deben ser eutanasiadas de forma inesperada.

Por otra parte, en yeguas de alto rendimiento deportivo esta técnica es muy demandada por los propietarios, ya que no necesitan tratamientos hormonales, ni exámenes ecográficos repetidos u otras manipulaciones. Solo es necesario un único procedimiento, lo que permite mantener la rutina y el rendimiento deportivo de estos atletas, los cuales se ven interrumpidos con las técnicas reproductivas convencionales, como son la inseminaciones o transferencia de embriones⁹.

RIESGOS

Se trata de un procedimiento muy seguro para el animal, ya que repetidas sesiones no deben causar peritonitis, adherencias del ovario ni inflamación de este. Tiene una incidencia <0,5% de



infecciones ováricas. Además la fertilidad de la yegua se mantiene, ya que, tanto el crecimiento de los folículos como la viabilidad de los ovocitos no parece verse afectada por la aspiración repetida de los folículos del ovario¹⁰.

SITUACIÓN FUTURA EN EXTREMADURA

Actualmente en el HCV UEx de la facultad de Veterinaria de Cáceres la Dra. Beatriz Macías García, (que se formó para realizar esta técnica con la Dra. Katrin Hinrichs en la Universidad de Texas A&M, EEUU) junto con Pablo Fernández Hernández, Beatriz Fuentes Romero, María Sanz Ventureira y el resto del equipo veterinario de la unidad de Grandes Animales del HCV Uex, realizamos OPUs de manera periódica a yeguas propias, usando los ovocitos recuperados en varios estudios de investigación. Se espera, en un futuro no muy lejano, poder ofrecer un servicio de Aspiración Folicular Transvaginal Ecoguiada de forma clínica en nuestra comunidad para así poder igualarnos en las últimas Técnica Reproductivas Asistidas al resto de países punteros en este campo. ■



Figura 8. Proceso Dos de los miembros del equipo del HCV UEx realizando una OPU a una de nuestras yeguas en las instalaciones del Hospital Clínico de la Facultad Veterinaria de Cáceres. (Fotografía propia).

BIBLIOGRAFÍA

- 1 McKINNON AO, editor. Equine reproduction. 2nd ed. Chichester, West Sussex, U.K: Wiley-Blackwell; 2011. 2 p.
- 2 DAVIES MOREL MCG. Equine reproductive physiology, breeding and stud management. 4th edition. Wallingford, Oxfordshire, UK; Boston, MA: CABI; 2015.
- 3 HINRICHS K. Assisted reproductive techniques in mares. *Reprod Domest Anim.* septiembre de 2018;53 Suppl 2:4-13.
- 4 BRINSKO SP, BLANCHARD TL, editores. Manual of equine reproduction. 3rd ed. St. Louis, Mo: Mosby/Elsevier; 2011. 325 p.
- 5 <https://www.repro360.com.au/reproductivetechnologies/ivf>.
- 6 CUERVO-ARANGO J, CLAES AN, STOUT TAE. Mare and stallion effects on blastocyst production in a commercial equine ovum pick-up–intracytoplasmic sperm injection program. *Reprod Fertil Dev.* 2019;31(12):1894.
- 7 HINRICHS K. Advances in Holding and Cryopreservation of Equine Oocytes and Embryos. *J Equine Vet Sci.* junio de 2020;89:102990.
- 8 GALLI C, COLLEONI S, DUCHI R, LAGUTINA I, LAZZARI G. Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures ranging from in vitro maturation and ICSI to embryo culture, cryopreservation and somatic cell nuclear transfer. *Animal Reproduction Science.* marzo de 2007;98(1-2):39-55.
- 9 STOUT TAE. Clinical Application of in Vitro Embryo Production in the Horse. *Journal of Equine Veterinary Science.* junio de 2020;89:103011.
- 10 VELEZ IC, ARNOLD C, JACOBSON CC, NORRIS JD, CHOI YH, EDWARDS JF, ET AL. Effects of repeated transvaginal aspiration of immature follicles on mare health and ovarian status: Effect of transvaginal aspiration on health. *Equine Vet J.* diciembre de 2012;44:78-83.

Por **Pablo Fernández Hernández**
Investigador Predoctoral.
Departamento de Medicina y Cirugía Animal.
Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura.

Beatriz Macías García
Departamento de Medicina y Cirugía Animal.
Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura.

