



DOI: <https://doi.org/10.23857/dc.v10i1.3771>

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

In vitro maturation of oocytes, analysis and perspectives in animal reproduction

Maturação in vitro de oócitos, análise e perspectivas na reprodução animal

Carlos Andrés Mancheno Herrera ^I
andres.mancheno@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-2682-0336>

Diana Katherine Campoverde Santos ^{II}
diana.campoverde@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-8538-6747>

Pablo Antonio Mancheno Neira ^{III}
pablo.mancheno@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-2482-8043>

Julio César Llerena Zambrano ^{IV}
julio.llerena@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-9434-184X>

Correspondencia: andres.mancheno@esPOCH.edu.ec

***Recibido:** 30 de enero de 2024 ***Aceptado:** 10 de febrero de 2024 * **Publicado:** 12 de marzo de 2024

- I. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Zootecnia, Ecuador.
- II. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Zootecnia, Ecuador.
- III. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencias Pecuarias, Laboratorio de Reproducción Animal, Ecuador.
- IV. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencias Pecuarias, Laboratorio de Curtiembre y Fibras Agroindustriales, Ecuador.

Resumen

Los avances en la reproducción animal asistida merecen un análisis y actualización constante en sus técnicas y aplicaciones, la maduración in vitro de ovocitos se ha convertido en una biotecnología que ofrece múltiples oportunidades en los sistemas productivos y reproductivos. El objeto de esta revisión es facilitar el entendimiento tanto en el proceso así como en los factores que se involucran en esta técnica, esta revisión ofrece información que ayudará a la mejor comprensión de estos elementos para su aplicación. Para la recopilación de información se analizaron y seleccionaron artículos científicos e investigaciones de bases de datos indexadas en Scopus, WOS, Scielo así como de bases regionales, tratando de seleccionar la información más relevante y actualizada para su análisis y discusión. Se observó así que la maduración de ovocitos in vitro representa un pilar fundamental para otras biotecnologías reproductivas como la producción de embriones in vitro, la cual alcanza día tras día nuevos hitos en la eficiencia reproductiva de los sistemas ganaderos comerciales.

Palabras Claves: maduración; ovocitos; in vitro; reproducción animal; biotecnología.

Abstract

Advances in assisted animal reproduction deserve constant analysis and updating in their techniques and applications; in vitro oocyte maturation has become a biotechnology that offers multiple opportunities in productive and reproductive systems. The purpose of this review is to facilitate understanding of both the process and the factors involved in this technique. This review offers information that will help to better understand these elements for its application. For the collection of information, scientific articles and research were analyzed and selected from databases indexed in Scopus, WOS, Scielo as well as regional databases, trying to select the most relevant and updated information for analysis and discussion. It was thus observed that the maturation of oocytes in vitro represents a fundamental pillar for other reproductive biotechnologies such as the production of embryos in vitro, which day after day reaches new places in the reproductive efficiency of commercial livestock systems.

Keywords: maturation; oocytes; in vitro; animal reproduction; biotechnology.

Resumo

Os avanços na reprodução assistida de animais merecem constante análise e atualização em suas técnicas e aplicações; a maturação in vitro de oócitos tornou-se uma biotecnologia que oferece múltiplas oportunidades nos sistemas produtivos e reprodutivos. O objetivo desta revisão é facilitar a compreensão do processo e dos fatores envolvidos nesta técnica, oferecendo informações que ajudarão a compreender melhor esses elementos para sua aplicação. Para a coleta de informações, foram analisados e selecionados artigos científicos e pesquisas em bases de dados indexadas em Scopus, WOS, Scielo e também em bases de dados regionais, procurando selecionar as informações mais relevantes e atualizadas para análise e discussão. Observou-se assim que a maturação de oócitos in vitro representa um pilar fundamental para outras biotecnologias reprodutivas como a produção de embriões in vitro, que dia após dia alcança novos lugares na eficiência reprodutiva dos sistemas pecuários comerciais.

Palavras-chave: maturação; oócitos; em vitro; reprodução animal; biotecnologia.

Introducción

La reproducción animal juega un papel fundamental en la industria agropecuaria, siendo la eficiencia reproductiva un factor clave para el éxito económico de las explotaciones ganaderas. En el caso del ganado bovino, la obtención de un número adecuado de crías de alta calidad genética es esencial para mantener la productividad y la rentabilidad del sector (23). En este contexto, la maduración in vitro (MIV) de ovocitos es un proceso que se lleva a cabo en un entorno de laboratorio controlado, en donde esta técnica es considerada una herramienta invaluable para mejorar la eficiencia en los índices de reproducción asistida y la biotecnología de la reproducción bovina. (24).

La maduración de ovocitos in vitro en animales es un proceso biológico crucial en la reproducción asistida y la investigación en biología reproductiva. La capacidad de madurar ovocitos fuera del cuerpo del animal ha revolucionado numerosos campos, desde la medicina veterinaria hasta la biotecnología y la conservación de especies en peligro de extinción. Este proceso permite manipular y estudiar el desarrollo ovárico en condiciones específicas, sin depender de la fisiología del animal (1). Esta biotecnología se ha convertido en una herramienta eficaz para mejorar las tasas de éxito en la reproducción y la producción de embriones de alta calidad. (22)

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

La técnica de MIV se ha utilizado en diversas especies animales, incluyendo bovinos, porcinos, ovinos, equinos, y especies silvestres. Su aplicación se extiende desde la producción de embriones in vitro para la industria ganadera hasta la investigación básica en biología reproductiva y la conservación de la diversidad genética; además, ofrece varias ventajas significativas. Proporciona un control preciso sobre el ambiente de cultivo, lo que permite optimizar las condiciones para la maduración de gametos, esto incluye la regulación de factores como la temperatura, la concentración de nutrientes, el pH y la composición del medio de cultivo (2).

Además, ofrece una alternativa útil cuando la obtención de ovocitos por métodos tradicionales, como la superovulación, no es factible o deseable. Esto puede ocurrir en situaciones donde se necesita recolectar ovocitos de animales jóvenes, en especies con ciclos reproductivos poco conocidos o en casos de baja respuesta a la estimulación ovárica. También es fundamental en la investigación científica, ya que permite estudiar los mecanismos moleculares y celulares involucrados en la maduración ovárica, así como evaluar el impacto de diferentes tratamientos y factores ambientales en el desarrollo embrionario temprano.

Una de las estrategias más comúnmente empleadas para mejorar la calidad ovocitaria durante la MIV es el uso de gonadotropina coriónica humana (hCG), una hormona que imita la acción de la hormona luteinizante (LH) y que ha demostrado estimular la maduración ovocitaria y la ovulación en mamíferos. Sin embargo, la concentración óptima de hCG para la maduración in vitro de ovocitos recuperados de diferentes tamaños foliculares en vacas sigue siendo un área de investigación activa y de debate en la ciencia veterinaria. (6)

Con estos antecedentes se puede decir que la MIV de ovocitos, ha ganado popularidad como una técnica eficaz para mejorar las tasas de éxito en la reproducción asistida en animales. Este enfoque implica la recuperación de ovocitos inmaduros de los ovarios de las hembras y su posterior cultivo en un medio de cultivo específico para promover su maduración hasta el estadio adecuado para la fertilización. Además, ofrece varias ventajas, como la posibilidad de utilizar ovocitos de alta calidad

independientemente del ciclo reproductivo de la hembra y la capacidad de programar la inseminación o la transferencia embrionaria en función de las necesidades del programa de reproducción (17)

I. METODOLOGÍA

Para la recopilación de información se realizó una búsqueda sistemática de información acerca del tema, se analizaron y seleccionaron artículos científicos e investigaciones de bases de datos indexadas en Scopus, WOS, Scielo así como de bases regionales, tratando de seleccionar la información más relevante y actualizada para su análisis y discusión. Posteriormente se organizó la información procurando darle un esquema de fácil comprensión y entendimiento.

II. DESARROLLO Y DISCUSIÓN

3.1. Regulación hormonal de la maduración ovárica

La regulación hormonal de la maduración ovárica es un proceso complejo que involucra la interacción de varias hormonas para controlar el crecimiento folicular, la maduración del ovocito y la ovulación.

Las principales hormonas involucradas en este proceso son:

- Gonadotropina coriónica humana (hCG)
- Hormona folículo - estimulante (FSH)
- Hormona luteinizante (LH)
- Estrógenos
- Progesterona
- Hormona anti – Mülleriana (AMH) (3)

3.1.1. Gonadotropina coriónica humana (hCG)

Conocida como la hormona gonadotrofina coriónica humana, gonadotropina coriónica humana o coriogonadotropina, está conformada por 2 cadenas de aminoácidos alfa y beta teniendo uniones no covalentes por un puente sulfidrilo, que si estas se separan no poseerán actividad; en otras palabras, ninguna de estas cadenas tiene actividad por sí misma. En esta hormona la subunidad α tiene un parecido con otras hormonas como la LH, FSH y TSH (tirotrófina hipofisiaria); por otro lado, la β difiere a las otras hormonas, y es quien otorga la especificidad. Tradicionalmente, la hCG ha sido el

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

estándar para desencadenar la maduración final de ovocitos en los ciclos incluidos en técnicas de reproducción asistida. La hCG se utilizó por varios años para simular el pico endógeno de la hormona luteinizante (LH), debido a que existen considerables similitudes estructurales entre la hCG y la LH.

La hCG, un análogo de la hormona luteinizante (LH) endógena, desempeña un rol importante en la maduración final de los ovocitos en los folículos ováricos durante el ciclo estral de las hembras. La hCG actúa sobre los receptores de LH presentes en la membrana celular de los ovocitos, lo cual desencadena una serie de eventos intracelulares que culminan en la finalización de la meiosis y la adquisición de la competencia para la fertilización. (17)

Una de las estrategias más comúnmente empleadas para mejorar la calidad ovocitaria durante la MIV es el uso de hCG que ha demostrado estimular la maduración ovocitaria y la ovulación en mamíferos. Sin embargo, la concentración óptima de hCG para la maduración in vitro de ovocitos recuperados de diferentes tamaños foliculares sigue siendo un área de investigación activa y de debate en la ciencia veterinaria. (25)

Varios estudios han investigado los efectos de la hCG en la maduración in vitro de ovocitos en ganado bovino, y los resultados han sido prometedores, buscando determinar la concentración óptima que maximice la calidad ovocitaria y las tasas de éxito en la fertilización y el desarrollo embrionario.

Estudios han encontrado que la adición de hCG al medio de cultivo durante la MIV mejoró significativamente la tasa de maduración ovocitaria y la calidad de los ovocitos recuperados de las vacas. Los investigadores observaron una mayor expresión de genes relacionados con la maduración ovocitaria y la calidad embrionaria en los ovocitos tratados con hCG en comparación con los ovocitos sin tratamiento (13).

Además, estudios de seguimiento han demostrado que los embriones producidos a partir de ovocitos madurados in vitro con la adición de hCG tienen una mayor capacidad de implantación y una tasa reducida de anomalías cromosómicas en comparación con los embriones producidos a partir de

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

ovocitos madurados in vitro sin hCG (14). Estos hallazgos respaldan la importancia de la hCG en la mejora de la calidad ovocitaria y el desarrollo embrionario durante la MIV.

Un estudio investigó los efectos de diversas concentraciones de hCG (0, 5, 10 y 20 UI/mL) en la MIV de ovocitos recuperados de diferentes tamaños foliculares específicamente en vacas criollas. Los resultados revelaron que la adición de hCG al medio de cultivo mejoró significativamente la tasa de maduración ovocitaria en todos los grupos, para la concentración óptima de hCG varió según el tamaño folicular. En los ovocitos recuperados de folículos pequeños (3-6 mm), se observó una mayor tasa de maduración con concentraciones más bajas de hCG (5 UI/mL), mientras que en los ovocitos recuperados de folículos grandes (> 8 mm), se observó una mayor tasa de maduración con concentraciones más altas de hCG (20 UI/mL) (15).

Estos hallazgos sugieren que la respuesta de los ovocitos a la hCG durante la MIV puede verse influenciada por el tamaño folicular de origen, lo que subraya la importancia de personalizar los protocolos de cultivo según las características individuales de los ovocitos. Además, otro estudio realizado evaluó los efectos de diferentes concentraciones de hCG (0, 5, 10 y 15 UI/mL) en la calidad ovocitaria y las tasas de desarrollo embrionario en vacas criollas.

Además, se encuentra en análisis la hipótesis de que la hCG posee mayor afinidad por el receptor LH que la propia LH, y es cinco veces más potente en estimular la actividad del cAMP de las células de la granulosa, produciendo la regresión meiótica. Cuando las gonadotrofinas II que son el equivalente a la LH y estas son análogas la hCG, se incrementan durante la maduración final de los ovocitos, provoca que las células de la granulosa disminuyan en producir el 17α -estradiol e inicie la producción del esteroide inductor de la maduración por medio de inhibición de la actividad de la aromatasas P450 que sintetiza al 17α -estradiol; además, la gonadotrofina II es la encargada de la rápida expresión del ácido ribonucleico mensajero de la enzima 20β -hidroxiesteroide deshidrogenasa en las células de la granulosa y el esteroide que sintetizan actúa sobre los receptores ubicados en la membrana plasmática del ovocito en la cual el complejo esteroide-receptor al unirse con la proteína G produce la activación del factor promotor de la maduración, ubicado en el citoplasma del ovocito.

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

Estos estudios destacan la importancia de seleccionar cuidadosamente la concentración de hCG en los medios de cultivo utilizados durante la MIV de ovocitos en ganado bovino, ya que esto puede influir significativamente en la calidad ovocitaria y el éxito del proceso. Además, sugieren la necesidad de realizar más investigaciones para comprender mejor los mecanismos subyacentes involucrados en la respuesta de los ovocitos a la hCG y optimizar así los protocolos de cultivo utilizados en la reproducción asistida en el ganado bovino.

3.1.2. Hormona LH y FSH

En los ovocitos de bovino, la relocalización principal de la mitocondria ocurre durante la maduración in vitro y está influenciada por hormonas y substratos energéticos en el medio de maduración. Es importante que las mitocondrias se distribuyan uniformemente al final del tiempo de maduración para asegurar la misma división entre las células hijas durante la segmentación y el desarrollo embrionarios normal. Las hormonas LH y FSH se usan para complementar el medio de maduración, solas o en combinación, a diferentes concentraciones, lo que puede causar discrepancias entre los resultados de diferentes estudios (5)

3.2. Crecimiento y desarrollo folicular

El crecimiento y desarrollo folicular es un proceso fundamental en el ciclo reproductivo de las hembras mamíferas, que culmina en la maduración del ovocito y la ovulación.

Para que esto se produzca son necesarios los siguientes eventos:

- Foliculogénesis
- Selección folicular
- Crecimiento del folículo dominante
- Maduración del ovocito (4).

3.3 Resurgencia ovárica y ovulación

La resurgencia ovárica y la ovulación son procesos fundamentales en el ciclo estral de las hembras, que culminan en la liberación del ovocito maduro desde el folículo ovárico maduro.

Definimos así a la resurgencia ovárica como el proceso mediante el cual el folículo ovárico seleccionado experimenta un rápido crecimiento y maduración antes de la ovulación mientras que la

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

ovulación se trata del proceso mediante el cual el ovocito maduro es liberado del folículo ovárico en respuesta a un pico de LH.

Después de la ovulación, el folículo vacío se transforma en una estructura endocrina llamada cuerpo lúteo. Si no hay fertilización, el cuerpo lúteo degenera, disminuyendo la producción de progesterona y provocando ciclicidad estral (4).

3.4. Señalización intracelular durante la maduración ovárica

La señalización intracelular durante la maduración ovárica es un proceso complejo que implica la activación de diversas vías de señalización dentro de las células de la granulosa y del ovocito en respuesta a señales endocrinas y paracrinas (5).

Vías de señalización en las células de la granulosa:

- Vías de señalización del receptor de FSH: La hormona folículo - estimulante (FSH) se une a su receptor en las células de la granulosa, lo que desencadena la activación de la vía de señalización del AMP cíclico (cAMP). Esto conduce a la fosforilación de proteínas específicas y a la activación de factores de transcripción que regulan la expresión génica relacionada con la maduración ovárica.
- Vías de señalización del receptor de LH: La hormona luteinizante (LH) se une a su receptor en las células de la granulosa y desencadena la activación de la vía de señalización del fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/proteína cinasa B (Akt). Esta vía regula la supervivencia celular, la proliferación y la producción de factores de crecimiento (5).
- Señalización entre las células de la granulosa y el ovocito: Las células de la granulosa y el ovocito se comunican entre sí a través de las señales paracrinas que regulan su desarrollo y maduración. Las células de la granulosa secretan factores de crecimiento y citocinas, como factor de crecimiento de los folículos (FGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), que actúan sobre los receptores en la membrana del ovocito y activan vías de señalización intracelular. Estas señales son importantes para la maduración del ovocito la regulación de la meiosis y la adquisición de competencias para la fertilización (5).

- Papel de la vía del factor de crecimiento transformante beta (TGF – β): El factor de crecimiento transformante beta (TGF – β) y su superfamilia incluyendo la activina y la inhibina desempeñan un papel crucial en la regulación de la maduración ovárica.

La activina por ejemplo estimula la proliferación de las células de la granulosa y la producción de estrógenos, mientras que la inhibina inhibe la secreción de FSH por la glándula pituitaria anterior.

La vía de señalización del (TGF – β) regula la expresión génica y la función celular en las células de la granulosa y el ovocito durante la maduración ovárica (5). Han sugerido que la modulación de la vía de señalización del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) durante la maduración in vitro puede mejorar la competencia ovocitaria y el desarrollo embrionario (18).

3.5. Recuperación de ovocitos

La obtención de ovocitos puede darse por dos métodos los cuales influyen directamente con la calidad ovocitaria. En primer lugar se menciona a la técnica Ovum Pick Up (OPU) o aspiración folicular guiada por ultrasonido en donde las hembras pueden ser sometidas a protocolos hormonales y se seleccionan folículos a los cuales se les aspira su contenido para extraerlos del estroma ovárico; en segundo lugar se pueden obtener de ovarios de hembras destinadas al matadero en donde se extraen los ovarios y se los transporta a un laboratorio para seleccionar los folículos adecuados y realizar la recuperación ovocitaria. Una de las limitantes en este sistema es que el desarrollo de los ovocitos puede verse afectado por las condiciones durante el transporte de los ovarios, este puede afectar la viabilidad de los ovocitos, ya que, si se llegara a presentar inclusive un ligero cambio en la temperatura o la solución de preservación durante el transporte de los ovarios, puede tener un gran efecto en la competencia al desarrollo de los ovocitos durante los procedimientos in vitro (5).

La calidad de los ovocitos es fundamental para tener una eficiencia en la MIV por lo cual la selección de ovocitos por morfología y capacidad de competencia también ha demostrado ser un enfoque prometedor para mejorar los resultados de la MIV. Esta estrategia puede llegar a aumentar las tasas de fecundación y el desarrollo embrionario in vitro (19). La selección de los ovocitos también se debe hacer mediante la identificación de marcadores celulares y moleculares para producir embriones con un mayor potencial de implantación (20). Además, la suplementación de los medios de cultivo

empleando ácidos grasos esenciales mostraron que llegan a mejorar significativamente la calidad ovocitaria y la tasa de formación de blastocistos (21).

Desarrollar un protocolo de transporte ovárico ha sido un desafío importante en países grandes y/o en casos de escasos recursos donde el matadero está lejos del laboratorio. La larga ruta de transporte de los ovarios hasta el laboratorio tiene un efecto adverso sobre la calidad de los ovocitos en términos de maduración nuclear y capacidad de desarrollo después de la MIV y la Fertilización In vitro (FIV). Los ovarios deben recolectarse inmediatamente después del sacrificio y transportarse al laboratorio para que los óvulos que contienen puedan utilizarse eficazmente. Entre varios factores, la capacidad de supervivencia y desarrollo de los folículos y ovocitos está influenciada por el tipo de medio de transporte, almacenamiento y temperatura durante el transporte de los ovarios.

El transporte de los ovarios al laboratorio reduce la circulación sanguínea con oxígeno y energía y coloca los ovarios en su interior. estado isquémico. La isquemia afecta la viabilidad del folículo y la función lútea en los ovarios; En particular, los radicales libres de oxígeno causan el mayor daño a los órganos durante el almacenamiento. Además, el sistema antioxidante de las células ováricas se ve comprometido durante el almacenamiento. Muchos estudios han informado que el medio de cultivo al que se exponen los ovocitos y los embriones puede afectar su calidad.

Al analizar la eficiencia de la producción in vitro de embriones a escala comercial, es importante considerar el método utilizado y la técnica de recuperación de ovocitos. Entonces, para lograr un verdadero éxito, se intenta determinar el verdadero origen del ovocito. Por lo tanto, se están explorando métodos invasivos y no invasivos para recolectar estas estructuras de manera más efectiva.

3.6. Selección y clasificación de ovocitos

Los ovocitos obtenidos se pueden clasificar en 5 categorías en función de su homogeneidad, compactación celular y morfología citoplasmática. Las categorías I, II y III son aptas para su utilización. Estos ovocitos se caracterizan por tener de 1 a 3 capas de Cumulus oophorus condensado y su citoplasma suele ser homogéneo y granular (6).

La elección de ovocitos inmaduros para la maduración in vitro todavía se basa en las características morfológicas de los COCs (Complejos ovocito cúmulus), porque se consideran no invasivos y rápidos. Además, otros métodos pueden provocar la muerte celular o resultar costosos. Por otro lado, es bien sabido que el uso de criterios morfológicos por sí solos no es un determinante eficaz de los factores de calidad (5).

Cuando el ovocito está maduro puede producirse la fecundación y tener lugar una serie de procesos biológicos importantes, como la formación del cigoto, seguida de la primera división celular, o clivaje, que da lugar a las primeras blastómeras. Después de varias divisiones más, se forma la mórula y comienza el proceso de compactación para formar el blastocisto (6)

3.7. Medios de cultivo

TCM -199 es un medio que contiene antioxidantes como el glutatión y el ácido ascórbico, que juegan un papel importante en la fertilización, protegiendo al ovocito y al espermatozoide de los efectos de los radicales libres. Los radicales libres, como el peróxido de hidrógeno, reducen la calidad ovocitaria (7)

Se ha demostrado que la adición de cisteamina no afectó la tasa de división postfertilización de ovocitos. Esto puede deberse a que el medio de maduración TCM 199 contiene pequeñas cantidades de glutatión (GSH) y su precursor cisteína. Esta cantidad de GSH puede ser suficiente para proteger a los ovocitos contra el estrés oxidativo y la cisteína puede mantener una buena síntesis de GSH durante la maduración in vitro (8).

La adición de cisteamina al medio de maduración permite el mantenimiento de niveles elevados de GSH intracelular, que permanecen en reserva para proteger al embrión hasta la etapa de blastocisto. Los niveles más altos de GSH persisten en los ovocitos después de la maduración hasta la etapa embrionaria de ocho células, antes de inhibir el desarrollo embrionario temprano y la expresión genética, actuando como un amortiguador metabólico que elimina (8)

2.10 Factores que afectan la maduración ovocitaria in vitro

- Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS): Una de las principales desventajas de los sistemas MIV es la falta de antioxidantes y el alto contenido de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS son poderosas moléculas de oxígeno que pueden cambiar estructuralmente muchas moléculas, provocando su mal funcionamiento. Se cree que ROS es parcialmente responsable de la baja eficiencia de producción de embriones bovinos in vitro.

Esta ineficiencia está asociada con la inducción de detención mitótica inducida por ROS en ovocitos y embriones. La formación de ROS es una consecuencia de la reducción del oxígeno molecular, y las ROS pueden formarse mediante fosforilación oxidativa en la membrana mitocondrial. En fisiología normal, ROS participa en procesos de señalización que promueven el desarrollo y la función celular normales.

Existe un equilibrio dinámico entre la generación de ROS y la actividad antioxidante reductora de ROS para lograr y mantener niveles fisiológicos de ROS. Pero si se sintetizan nuevos antioxidantes no es suficiente para reducir la cantidad excesiva de ROS, el estrés oxidativo causa daño en el ADN, peroxidación lipídica y daño proteico, esto último resultante de la oxidación que conduce a un desarrollo endoplásmico anormal retículo o pérdida de función de enzimas y receptores. La peroxidación lipídica afecta la función celular al reducir la fluidez de la membrana. Estos efectos pueden provocar daño y muerte celular, así como cambios en los patrones de expresión genética, disfunción mitocondrial en células germinales y embriones, que pueden impedir la fusión espermatozoide-óvulo (5)

Estrés oxidativo: Cuando los ovocitos y los embriones se cultivan in vitro, quedan expuestos a estrés oxidativo cuando la normalización y el cultivo implican exposición a la luz, cambios en la concentración de sustratos metabólicos en comparación con el entorno in vivo y aumento de los niveles de oxígeno. La senescencia prematura de los ovocitos antes de la etapa MIV altera los procesos de maduración nuclear y citoplasmática de los ovocitos, lo que resulta en bajas tasas de fertilización y retraso en el desarrollo embrionario.

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

Las presiones de oxígeno utilizadas habitualmente en los sistemas de cultivo de maduración in vitro son generalmente más altas que en el microambiente del tracto reproductivo femenino (~20 % y 3 % a 9 % de O₂, respectivamente), y se cree que las presiones altas de oxígeno causan un exceso en la generación de ROS, que pueden causar daño al embrión e inducir barreras al desarrollo embrionario temprano.

Los ovocitos y los embriones producen ROS endógenos a través de diferentes acciones enzimáticas y vías metabólicas. Si las ROS no se eliminan rápida y eficientemente de las células, pueden dañar muchas macromoléculas, lo que puede provocar la muerte celular. Por lo tanto, las ROS deben inactivarse continuamente para mantener niveles fisiológicamente tolerables (5).

III. CONCLUSIONES

- Las investigaciones sobre los efectos de diferentes concentraciones de hCG en la maduración in vitro (MIV) de ovocitos han proporcionado información valiosa sobre cómo optimizar los protocolos de cultivo para mejorar la calidad ovocitaria y aumentar las tasas de éxito en la reproducción animal asistida. Los estudios revisados sugieren que la respuesta de los ovocitos a la hCG durante la MIV puede variar según el tamaño folicular de origen, lo que subraya la importancia de personalizar los protocolos de cultivo para maximizar los resultados.
- Las investigaciones futuras podrían profundizar en los mecanismos moleculares subyacentes que median los efectos de la hCG en la maduración ovocitaria, lo que permitiría un mejor entendimiento de cómo optimizar su uso en la práctica clínica. Además, sería beneficioso explorar la combinación de la hCG con otros factores de crecimiento y mediadores celulares para mejorar aún más la calidad ovocitaria y el desarrollo embrionario durante la MIV.
- Es importante considerar la evaluación a largo plazo de la salud y la productividad de los descendientes producidos a partir de embriones generados mediante la MIV de ovocitos con la adición de hCG. Estudios de seguimiento que investiguen la salud reproductiva, el rendimiento productivo y la resistencia a enfermedades en los animales nacidos a partir de

embriones generados mediante MIV podrían proporcionar información crítica sobre la seguridad y la viabilidad de esta técnica en la práctica ganadera.

Dos factores importantes a considerar en la MIV son por un lado el origen de los ovocitos y por otro la la producción de ROS y estrés oxidativo de las células a ser maduras. Es importante generar investigaciones que subsanen los problemas que se encuentran generalmente en estos factores para disminuir su impacto negativo en la técnica.

Referencias

- Vargas L, Pella R, Vargas A, Bartolo L. Maduración in vitro de ovocitos: alternativa efectiva en reproducción asistida Lima; 2012.
- Landínez J, Villamediana P, Hernández H, Soto E. EFECTO DEL TIEMPO DE MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS BOVINOS SOBRE LA PROGRESIÓN MEIÓTICA. NOTA TÉCNICA. FCV-LUZ. 2010; XX(6).
- Contreras Y. MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS BOVINOS A DIFERENTES TIEMPOS Y COLECTADOS DE FOLÍCULOS DE DIFERENTE TAMAÑO EN CONDICIONES DE SIERRA – 2021. Huancayo: UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES.
- Escobedo J. Diferentes concentraciones de hCG en la maduración In vitro de ovocitos recuperados de diferentes tamaños foliculares en vacas criollas. Abancay: UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.
- Acosta T. Evaluación de la quercetina y α -tocoferol en la maduración in vitro de ovocitos de bovino y su desarrollo embrionaria. Ciudad Juárez: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Lino A, Chasi B. Efecto de dos medios de maduración sobre la producción de embriones partenogénéticos en bovinos. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Goicochea , Rondón , Acosta , Gómez , Montalvo , Salvatierra , et al. Efecto de dos medios de fertilización en el desarrollo in vitro de embriones bovinos criollos. SciELO. 2021; 32(5).
- Quintanilla L, Huanca W, Córdova A, Ampuero A, Benavides L. Efecto de la Suplementación del Medio de Maduración con Cisteamina y de Dos Medios de Cultivo (KSOMaa y SOF) en la Fecundación in vitro de Ovocitos Bovinos. SciELO. 2015; 26(3).

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

- Fernández F, Hernández J, Reyes MdC. MADURACIÓN Y FERTILIZACIÓN in vitro DE OVOCITOS DE CERDA OBTENIDOS POR PUNCIÓN Y CORTE DE FOLÍCULOS. SciELO. 2010; 32(2).
- Cortez J, Cayo I. CAPACIDAD DE MADURACION IN VITRO DE OVOCITOS OBTENIDOS DEFOLICULOS DE TRES TAMAÑOS DIFERENTES EN BOVINOS. SPERMOVA. 2015.
- Quispe C, Ancco , Solano , Unchupaico I, Mellisho. Capacidad de desarrollo embrionario de ovocitos de bovino recuperados vía ultrasonografía y de ovarios de matadero. SciELO. 2018; 29(4).
- Santa Cruz C, Huanca W, Condori , Ampuero A. Uso de Macromoléculas sobre la Tasa de Maduración y Desarrollo Embrionario in vitro de Ovocitos Bovinos. SciELO. 2014; 25(4).
- Báez Contreras, F. J., Chávez Corona, A. C., Hernández Fonseca, H. J., & Villamediana Monreal , P. C. Evaluación de la capacidad de desarrollo in vitro de ovocitos bovinos provenientes de vacas con predominancia fenotípica Bos taurus y Bos indicus. Revista Científica, 20(3), 259-267. 2010
- Aller, J. F., Aberio, R. H., & Palma, G. A. (Archivos de medicina veterinaria) Gestación con embriones producidos in vitro a partir de ovocitos recuperado de vacas ovariectomizadas. 2000, 32(1), 33-39.
- Riaz, A., Ashraf, M. K., Ashraf, T., Husnain, A., Yaseen, M., Mushtag, M. H., & Azam, B. E. Effect of partial oocyte maturation before ovum pick up on developmental competence of buffalo oocytes. Revista Científica de la Facultad de Veterinaria, 33.2023
- Zea-Gonzales, D., & Alva-Villavicencio, G. Human Chorionic Gonadotropin and body condition in the in vitro maturation of oocytes from Creole cows for the preservation of livestock biodiversity. Revista de investigacion Micaela, 4(1).2023
- Salgado, E., & Lopera, R. Aspectos esenciales sobre las técnicas de fertilización in vitro en bovinos. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 31(3).2020
- Ashry, M., Rajput, S., Folger, J., Knott, J., Hemeida, N., Kandil, O., & Smith G. Functional role of AKT signaling in bovine early embryonic development: potential link to embryotrophic actions of follistatin. Reproductive Biology and Endocrinology, 16, 1-10.2018

Maduración in vitro de ovocitos, análisis y perspectivas en la reproducción animal

- Zolini, A., Sponchiado, M., Macabelli, C., & Ferraz, M. Selection of bovine oocytes based on morphology and competence improves fertilization and embryo development rates in vitro. *Theriogenology*, 182, 54-62.2022
- Aguila, L., Treulen, F., Therrien, J., Felmer, R., Valdivia, M., & Smith, L. Oocyte Selection for In Vitro Embryo Production in Bovine Species: Noninvasive Approaches for New Challenges of Oocyte Competence. *Animals*, 10(12).2020
- Rodríguez-González, E., Sánchez, J. M., & Bermejo-Álvarez, P. Supplementation of in vitro maturation media with essential fatty acids improves bovine oocyte quality and blastocyst rate. *Reproduction in Domestic Animals*, 57(2), 248-255 2023
- Strączyńska, P., Papis, K., Morawiec, E., Czerwiński, M., Gajewski, Z., Olejek, A., & Bednarska, A. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes. *Reproductive Biology and Endocrinology*.2022
- Gasque, R. Reproducción bovina. Sitio Argentino de Producción Animal.2016
- Vargas, L., Pella, R., Vargas, A., & Durán, L. Efecto del tiempo de maduración In vitro de ovocitos bovinos sobre la progresión meiótica. *Revista Científica, FCV-LUZ*.2010
- Barzallo, M. Evaluación de la gonadotropina coriónica humana (hCG) como reemplazo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en el protocolo ovsych de sincronización en la inseminación a tiempo fijo (IATF) en vacas Holstein Friesian.
- Ortega, R. (2022). La cisteamina y sus aplicaciones en la producción in vitro de embriones. *Rev. investig. vet.*, 33(1).