RELACIÓN ENTRE LOS METABOLITOS DEL MEDIO DE CULTIVO DE EMBRIONES BOVINOS Y SUS TASAS DE GESTACIÓN

Ferrer-Roda[1], M., Paramio[1], M.T., Lorenzo[2], A. y Catalá[2*], M.G.

[1]Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España; [2]Ovatec S.L. Parc Tecnològic del Vallès, Barcelona, España
*maria@ovatecfiv.com

INTRODUCCIÓN

En la última década, la comercialización de embriones *in vitro* (IVP) aumentó un 76%, superando a los producidos *in vivo* (Viana, 2023). Sin embargo, las pérdidas gestacionales de embriones IVP oscilan entre el 59% y 85%, ocurriendo el 60% en las primeras seis semanas de gestación (Ealy *et al*., 2019). Encontrar criterios no invasivos para evaluar la calidad de los embriones antes de su transferencia es un objetivo importante. Los metabolitos producidos por el embrión en los medios de cultivo *in vitro* podrían ser un indicador de su calidad (Wrenzycki, 2021). El objetivo de este estudio fue analizar la relación entre el perfil metabólico del medio de cultivo de embriones, analizado mediante resonancia magnética nuclear de protones (^{1}H-RMN), y las tasas de gestación después de su transferencia en granjas lecheras de Catalunya.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron ovocitos de ovarios de vacas selectas de matadero, y se maduraron *in vitro* en TCM-199 con FSH, LH y estradiol, se fecundaron en medio TALP con heparina y se cultivaron los presuntos cigotos en BO-IVC (IVF Bioscience, UK) durante 6-7 días en Ovatec S.L. De los embriones obtenidos en 11 réplicas, se transfirieron un total de 181 blastocistos frescos. La transferencia de embriones (TE) se realizó el día 7 después de la ovulación en vacas con presencia de cuerpo lúteo (CL). Cada hembra recibió un único embrión transferido por vía transcervical en el cuerno uterino ipsilateral al ovario con el CL. La tasa de gestación fue diagnosticada a los 45 días de la TE por ecografía (ExaGo®, IMV Imaging, Francia). Para el análisis metabolómico, el medio de cultivo de embriones de cada réplica se congeló a –20°C hasta su análisis por ^{1}H-RMN de alta resolución en el Servicio de Resonancia Magnética Nuclear (SeRMN) de la Universidad Autónoma de Barcelona. Se analizó el medio de cultivo de 11 réplicas usando un espectrómetro AVANCE 600 equipado con una sonda de triple resonancia multinuclear (TBI, Bruker Biospin, Alemania) con una fuerza de campo de 14,1 T (frecuencia de ^{1}H de 600,13 MHz). La temperatura de la sonda se fijó a 298 K. Las 11 réplicas de embriones producidos *in vitro* se clasificaron en 3 grupos según sus tasas de gestación (hembras gestantes/embriones transferidos): Bajo (″20%), Medio (21-39%) y Alto (≥40%). Se realizó una prueba T de Student usando GraphPad Prism v9 para comparar la concentración de cada metabolito entre los grupos Bajo y Alto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de gestación media del grupo Bajo (4 réplicas) fue 16,98 ± 3,29 % (8/45), en el grupo Medio (3 réplicas) 26,85 ± 5,78 % (11/44), y en el grupo Alto (4 réplicas) 48,15 ± 4,64 % (43/92). Los principales metabolitos encontrados en los medios de cultivo de embriones fueron alanina, citrato, glucosa, glutamato, glicina, histidina, isoleucina, lactato, lisina, mio-Inositol, fenilalanina, tirosina y valina. Los resultados indicaron mayor concentración en los grupos de bajas tasas de gestación en comparación con los de altas tasas ($p<0,05$) de lisina (0,13 ± 0,02 y 0,08 ± 0,03 ppm, respectivamente), glicina (1,66 ± 0,05 y 1,34 ± 0,11 ppm), glutamato (0,79 ± 0,11 y 0,56 ± 0,09 ppm) y valina (0,13 ± 0,02 y 0,09 ± 0,02 ppm). En cultivo individual, Fernandes *et al*. (2021) también observaron mayor concentración de glutamato y lactato y menor de piruvato en embriones no gestantes, y Gimeno *et al*. (2021) concluyeron que los embriones gestantes consumían más aminoácidos y por lo tanto existía menor concentración en los medios de cultivo, como observamos en nuestros resultados.

CONCLUSIÓN

Menor concentración de lisina, glicina, glutamato y valina en el medio después de 6-7 días de cultivo embrionario se asocia con mayores tasas de gestación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Viana J.H.M. 2023. Embryo Technol. Newsl. 41: 20-38. • Ealy A.D. *et al*. 2019. J. Anim. Sci. 97: 2555-68. • Wrenzycki C. 2021. Reprod. Fertil. Devel. 34: 190-202. • Fernandes G.O. *et al*. 2021. Biol. Reprod. 105: 481-90. • Gimeno I. *et al*. 2021. Metabolites 11: 484.

Agradecimientos: Este proyecto fue financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI) (IDI-20210615). Gracias a Gemma Algaba por la recogida de muestras.