

Estado actual de las técnicas de inseminación artificial en la especie canina

Dra. Prof. Dipl ECAR y ECPHM Xiomara Lucas.

Responsable Servicio de Reproducción y Obstetricia en Pequeños Animales.
Hospital Clínico Veterinario. Universidad de Murcia.
30100 Espinardo. Murcia.
xiolucas@um.es.

Introducción

Básicamente el término **Inseminación Artificial** (IA) hace referencia a la deposición de semen en el tracto reproductivo femenino sin que se produzca un acoplamiento natural. La primera inseminación con éxito en esta especie fue realizada por el fisiólogo italiano Abbe Lázaro Spanzallani y es datada en el siglo XVIII. Sin embargo, no ha sido hasta las últimas dos décadas cuando se ha producido un **notable interés a nivel mundial** por la reproducción canina y en concreto por la conservación e inseminación artificial en esta especie. La necesidad de **preservar el potencial genético** de algunos animales así como el incremento en el mercado internacional de estos animales han propiciado el desarrollo de nuevos diluyentes de refrigeración y/o criopreservación esper-

“

Esta técnica permite el cruce entre dos individuos cuando no es posible la monta natural

mática del semen canino. Este hecho unido a que desde hace varios años está permitido por la mayoría de las Asociaciones Caninas Internacionales la inscripción de nuevos ejemplares concebidos mediante IA ha propiciado la aceptación y el uso generalizado de esta técnica por parte de propietarios y veterinarios. Sin embargo, pese a que sea una práctica generalizada, en general existe aún cierto desconocimiento sobre todas las utilidades y posibilidades actuales que propicia esta técnica y, sobre todo, de la evolución notable que han sufrido de los sistemas de inseminación que disponemos a nuestro alcance.

¿Para qué sirve la IA?

La IA a nivel clínico presenta numerosas utilidades que hacen de esta técnica una herramienta útil en el día a día. Básicamente esta técnica permite el cruce entre dos individuos en lo que no es posible la monta natural. Los motivos más frecuentes de la incapacidad de monta natural se resumen en la Tabla 1.

Sin embargo, esta claro que actualmente, una de las principales indicaciones de la inseminación artificial en la especie canina en la actualidad es la de preservar y difundir a nivel internacional el potencial genético de ciertos ejemplares mediante el uso de semen refrigerado y/o congelado, ya que es mucho más fácil y factible el transporte de las muestras espermáticas que el de los individuos, evitando además la transmisión de ciertos

Tabla1. Causas que incapacitan la monta natural en la especie canina.

Causas	
Incapacidad monta natural	Hembras de carácter nervioso o con problemas de comportamiento (rehúsan monta o agresividad)
	Hembras dominantes con respecto al macho elegido y que no permiten la monta
	Alteraciones anatómicas a nivel vulvo-vaginal que dificultan la penetración y le provocan dolor
	Machos que presentan debilidad o alteraciones del tercio posterior y/o columna
	Machos de comportamiento sumiso, libido disminuida o con alteraciones de la erección
Incompatibilidad entre el tamaño de la hembra y el del macho	

procesos infecciosos cuya principal vía de difusión es la venérea. Por otra parte tampoco debemos olvidar que gracias a esta técnica también es posible evaluar la calidad del eyaculado mediante una mínima contrastación seminal (motilidad, concentración espermática y recuento de morfoanomalías) antes de proceder a la inseminación de la hembra, y, por tanto descartar una mala calidad seminal como causa de un fallo de gestación.

¿Conocemos todos los métodos de inseminación artificial existentes en la especie canina?

Quizás la pregunta parezca obvia, pero actualmente los sistemas de inseminación han ido evolucionando y mejorando de acorde con el empleo creciente de semen refrigerado y/o criopreservado y a la necesidad de mejora de la fertilidad obtenida con dichos espermatozoides.

Evidentemente el sistema de inseminación tradicional es bien conocido por la mayoría de los veterinarios y criadores. Dicha técnica consiste en la deposición de los espermatozoides frescos a nivel **vaginal profundo** simulando lo que ocurriría durante la monta natural y obteniéndose resultados similares a ella. La descripción de la técnica se haya ampliamente desarrollada en la literatura (Lucas X, 2006a; Lucas X, 2007) siendo de fácil ejecución al igual que la extracción seminal en esta

especie (Kutzler, 2005; Lucas, X 2006b). Sin embargo, los resultados de fertilidad obtenidos con este tipo de inseminación tanto con el semen refrigerado como criopreservado son reducidos.

Aun existe la errónea creencia por parte de muchos veterinarios de creer depositar el semen a nivel uterino cuando están realizando este tipo de inseminaciones rutinaria debido a la gran longitud que presenta la vagina en la perra y a sus peculiaridades anatómicas. Por ejemplo, se ha señalado que una perra de unos 12 kg de peso puede presentar una vagina (desde el cérvix a la vulva) de 14 cm de largo (Evans y Christensen, 1993), pudiendo ser superior a 30 cm en algunas razas grandes. Sin embargo, es importante recordar que, el tamaño externo de la perra no siempre guarda relación con la

Figura 1 Pliegue Dorsal Medio

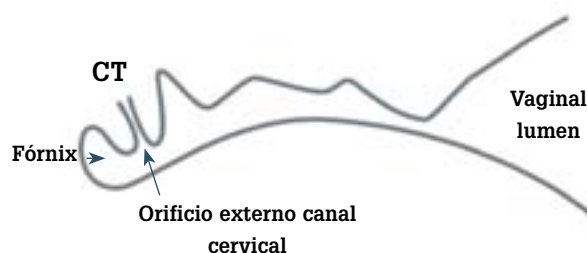


Figura 1. Esquema de un corte longitudinal del fondo vaginal y cérvix en la perra (área paracervical). CT (Tubérculo cervical).

longitud de este órgano, existiendo algunas razas como por ejemplo los Pastores Alemanes que presentan vaginas muy largas en comparación a otras razas de su tamaño o razas como los Borzoi y los Afghanos que presentan vaginas relativamente más cortas (Wilson, 2001). Entre las peculiaridades anatómicas es importante recordar la anatomía de la porción más craneal de la vagina también denominada paracérvix o área paracervical. En la Figura 1 podemos observar un corte longitudinal de esta área. En la perra parte del cérvix protuye hacia la vagina denominándose Tubérculo Cervical (TC). EL TC se localiza al final de una gran pliegue medio que se extiende dorsalmente (Pliegue dorsal medio) a lo largo de la vagina siendo separado de este por medio de un pliegue transversal. Ambos pliegues dificultan enormemente la visualización del TC y cuando se introduce un vaginoscopio y se visualiza esta zona muchos veterinarios creen estar visualizando la entrada del cérvix. En el interior del TC encontramos el orificio externo del canal cervical, presentando una dificultad añadida al encontrarse dirigido hacia el suelo vaginal. Este hecho junto a que el TC puede variar enormemente de forma y tamaño entre distintas perras y razas y la gran longitud de la vagina hacen que la inseminación intrauterina en la perra sea más complicada que en otras especies (Wilson, 2003).

Sin embargo, pese a todo ello, en los últimos años se han hecho notables esfuerzos para lograr realizar este tipo de inseminación. El motivo principal ha sido la necesidad de mejorar los resultados de fertilidad y prolificidad obtenidos tras la deposición vaginal del semen criopreservado que solo se sitúan alrededor del 35%-50% (Linde-Forsberg y cols., 1999). Esto es debido básicamente a la reducida viabilidad post-descongelación de los espermatozoides criopreservados que se sitúa entre 12-24 h frente a los 4-7 días que pueden sobrevivir los espermatozoides frescos en el interior del útero de la perra. Así, en la actualidad ya se han obtenido resultados con una sola insm

Actualmente los métodos empleados se definen de forma global como métodos de inseminación intrauterina, pero realmente engloban dos grandes grupos: a) métodos de **inseminación transcervical** (el semen es depositado en el cérvix o bien al inicio del cuerpo uterino) y b) métodos de **inseminación intrauterinos propiamente dichos** (el semen es depositado en los cuernos uterinos). Ambos grupos requieren de un aprendizaje y formación especializada por parte del veterinario.

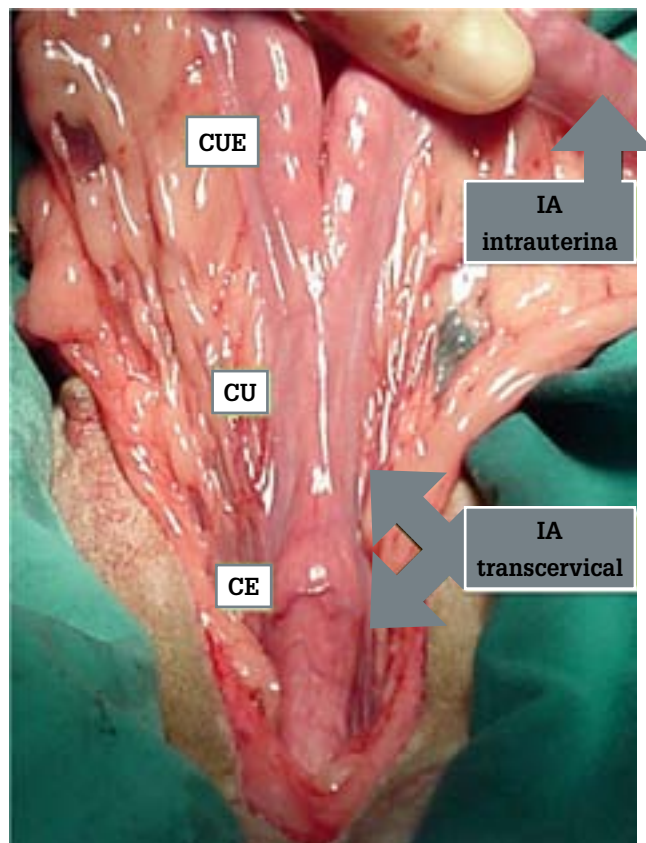


Figura 2. Anatómicamente, lugares donde se deposita los espermatozoides en los distintos tipos de inseminación artificial transcervical y/o intrauterina en la especie canina. CE (cérvix), CU (cuerpo uterino) y CUE (Cuernos uterinos).

Métodos de inseminación transcervical

Básicamente consisten en la cateterización del canal cervical situado en el TC de tal manera que la deposición del semen se realiza en el interior del cérvix o en al inicio del cuerpo del útero (Figura 2). En la actualidad son dos los métodos más difundidos; por una parte, la utilización del catéter Escandinavo o Noruego y por otra el empleo de un fibro o cistouretróscopios rígidos.

El primer caso consiste en la utilización de unos catéteres metálicos característicos denominados Catéteres Noruegos o Escandinavos diseñados en su origen para realizar inseminaciones en zorros. Resumidamente la técnica consiste en la cateterización a ciegas del canal cervical gracias a la manipulación digital del catéter: mientras una mano fija el TC a través del abdomen la otra mano mueve el catéter introducido vía vaginal hasta el paracérvix hasta que “siente” como se introduce a través

del canal cervical. Como ventajas fundamentales de este método señalamos que se realiza en la mayoría de los casos sin sedación de las hembras, permite la realización de múltiples inseminaciones en la misma perra y el coste es mínimo. Sin embargo, la desventaja fundamental reside en la necesidad de un aprendizaje y práctica exhaustiva por parte del veterinario, no es posible comprobar visualmente que el catéter esta bien colocado, y que ciertas razas, principalmente gigantes, o hembras obesas son muy difíciles de cateterizar pese al aprendizaje (Linde-Forsberg, 2001).

Actualmente el método en mayor auge es la **inseminación transcervical endoscópica**. El primer estudio publicado al respecto fue en 2003 a cargo de Wilson, mediante el empleo de un cistoureteroscopia rígido a nivel vaginal que permitía la visualización externa del canal cervical situado en el TC permitiendo su cateterización con una sonda uretral flexible. Varios estudios a posteriori han utilizado diferentes tipos de angulación y sondas, desde catéteres rígidos (Concannon, 2004) o flexibles (Wilson, 2003; Fontboone, 2006; Pretzer, 2006), así como distintos mecanismos para mejorar el paso y la estabilidad del fibroendoscopio a nivel vaginal (Kong, 2003). Todos ellos permiten la visualización e introducción de una sonda o catéter uretral a nivel del cérvix permitiendo la deposición del semen a este nivel o bien a nivel del cuerpo uterino. En la actualidad, ya existen en el mercado endoscopio especialmente diseñados para tal fin que incorporan sistemas de fijación a nivel vaginal y el empleo de catéteres de distinto grosor (hasta

de 5 Fr) (Figura 3). En la actualidad ya se han obtenido muy buenos resultados de fertilidad (80-90%) mediante IA transcervical con semen criopreservado (Pretzer et al, 2006; Pereira S et al, 2011).

Estos métodos endoscópicos presenta las mismas ventajas mencionadas con el uso del catéter Noruego, y pese a que también necesita de cierto aprendizaje y práctica por parte del veterinario, en este caso, a diferencia del anterior, tanto el dueño como el veterinario pueden confirmar visualmente la deposición del semen en el interior del útero (Wilson, 2003). El inconveniente fundamental reside en la inversión inicial del equipo ya que debe de completarse con una equipación completa de endoscopia (torre, fuente luz, cámara y monitor).

Métodos de inseminación intrauterina

En ellos los espermatozoides son introducidos de forma directa en el interior de los cuernos uterinos cerca de la unión útero-tubárica. Para ello debemos recurrir a la realización de una laparotomía (Hutchison, 1993) o bien mediante laparoscopia (Silva y col, 1995), aislar ambos cuernos uterinos e inyectar la mitad de la dosis seminal en el extremo de cada uno de ellos, cerca de la unión útero-tubárica mediante la introducción de una aguja través de la pared uterina. Sin embargo, estudios recientes (Fukushima et al. 2010) señalan que es suficiente la deposición de 3 ml de semen diluido (mediante IA laparoscopia) en el extremo craneal del cuerpo uterino para que se distribuya de forma homogénea la población sin



Figura 3: Endoscopio rígido para la inseminación transcervical en la perra (Minitüb). Dispone de un shunt o dispositivo de fijación a nivel vaginal que permite una mejor visualización del área paracervical (en parte inferior de la imagen).



Actualmente se reconoce que la fertilidad obtenida con el uso de la IA vaginal con semen fresco es similar a la de monta natural (aproximadamente 80-85%)

necesidad de inyectar en ambos cuernos. Como ventaja fundamental de esta técnica hay que señalar que permite obtener gestaciones con una menor concentración espermática o con una peor calidad de los espermatozoides. Sin embargo, en ambos casos (laparotomía o laparoscopia) la hembra debe someterse a una anestesia general con los riesgos que conlleva planteando un dilema ético. Este hecho junto a que es fundamental el control exhaustivo de la ovulación en la hembra (ya que únicamente puede realizarse una inseminación) son los inconvenientes fundamentales para su utilización, pese a ser la técnica más difundida en USA para la utilización del semen criopreservado.

¿Podemos mejorar el éxito de las técnicas de inseminación?

Actualmente se reconoce que la fertilidad obtenida con el uso de la IA vaginal con semen fresco es similar a la de monta natural (aproximadamente 80-85%). Sin embargo estos resultados pueden ser mucho más variables e inferiores dependiendo del tipo de inseminación empleado, la calidad de la muestra espermática y el control realizado sobre la hembra. Es lógico pensar que a peor calidad espermática (motilidad, concentración y/o viabilidad) o en situaciones donde sólo es posible realizar una IA será fundamental para lograr buenos resultados “depositar los espermatozoides lo más cerca posible de la zona de fecundación en el momento más adecuado”, por tanto como norma general se considera que siempre se mejoran los

resultados (fertilidad y prolificidad) con el empleo de las nuevas técnicas de inseminación intrauterina.

Como hemos mencionado anteriormente, el factor principal que promovió el desarrollo de la IA intrauterina en la especie canina fueron los bajos resultados de fertilidad obtenidos con la deposición vaginal del semen criopreservado. Actualmente gracias a este tipo de inseminación y al control exhaustivo del periodo fértil de la hembra los resultados de concepción con este tipo de semen pueden ser similares a los que se obtienen con monta natural. Sin embargo, cada vez más se aconseja este tipo de inseminación frente a la tradicional ya que no solo se ha comprobado que mejora también de manera significativa los resultados de fertilidad con el uso del semen fresco y refrigerado (Linde-Forberg, 1999) sino que además mejora los parámetros reproductivos de razas enanas y gigantes, y nos permite la obtención de camadas de sementales con una calidad seminal baja ya que el número de espermatozoides necesarios para obtener una gestación con la IA vaginal profunda debe de ser 10 veces mayor frente a la IA intrauterina (Hutchinson, 2001).

Además del empleo de técnicas de inseminación transcervical o intrauterinas, existen 3 factores esenciales más a tener en cuenta para obtener buenos resultados de la IA en la especie canina:

Manejo de los reproductores

Es lógico suponer que previamente a la realización de IA, para asegurarnos parte del éxito de la técnica, tanto la hembra como el macho deben de ser “chequeados” en busca de alteraciones de carácter congénito, patologías sistémicas y/o reproductivas, así como presencia de ciertas enfermedades infecciosas que pueden redundar negativamente en la fertilidad (por ejemplo Brucella Canis y Herpes Virus, entre otros). En el caso del macho sería interesante además realizar una extracción seminal unos días previos a la inseminación para evaluar a priori la calidad seminal y establecer así el número de IA. En el caso de la hembra es recomendable además efectuar una completa anamnesis de su vida reproductiva previa haciendo especial mención en la presencia de descargas vaginales anormales y en las características de anteriores gestaciones (sospecha reabsorciones, abortos, infertilidad...) y la vacunación sistemática de Herpes virus.

Control del ciclo de la perra

Hoy en día es ampliamente reconocido que uno de los factores fundamentales que influyen en el éxito de la IA es el control del periodo fértil de la hembra. La perra presenta un ciclo estral muy peculiar y diferente con respecto al resto de las especies domésticas. Clásicamente se ha establecido que la perra ovula entre el 1er y 5º día del estro; sin embargo esta especie se caracteriza por la gran variabilidad en la duración de las distintas fases del ciclo estral por lo que es muy complicado establecer una fecha predeterminada de la ovulación. Por ello se ha establecido el día del pico de LH (Día 0) como el día fijo a partir del cual se debe de "cronometrar" los eventos normales de un ciclo estral. Aproximadamente dos días después del pico de LH se produce la ovulación siendo necesarias aún 48 h más para que los ovocitos sean capaces de ser fecundados por los espermatozoides ya que éstos se encuentran aun en Metafase I. A este periodo en el cual los ovocitos han completado su maduración meiótica y están preparados para ser fecundados se denomina **Periodo de Fecundación** y es de relativa corta duración entre 3 a 7 días después del pico de LH.

Aunque clásicamente la citología vaginal ha sido el método más extendido para determinar de manera indirecta este periodo, hoy el día el método más eficaz y útil que existe para determinar el Día 0 es **la medición de las concentraciones en suero de la progesterona (P4)** ya que en esta especie se ha comprobado que existe un incremento de las concentraciones de esta hormona desde sus valores basales íntimamente relacionado con la liberación del pico de LH (luteinización preovulatoria). Desde el punto de vista práctico, el protocolo normal sería aquel que comprende la realización de citologías vaginales seriadas cada 2-3 d (a partir del día 4-5 del proestro) hasta que se supere un 60% de queratinización celular; a partir de este momento ha de realizarse la toma de muestras sanguíneas seriadas (24-48 h) para determinar los niveles de P4 en suero. Así, de forma general se considerará que el Día 0 corresponderá a una P4 media de 2.02 ± 0.18 ng/ml, siendo valores indicativos de ovulación aquellos comprendidos entre 4-10 ng/ml. A partir de este momento se establecerán las IA dependiendo del tipo de semen, del número de IA a realizar y del tipo de técnica que empleemos.

porque tu imagen habla de ti

902 36 39 34



¡¡¡No te duermas!!!

Para generar imagen no basta desarrollar un logotipo bonito, utilizar colores electrizantes e inundar los medios de comunicación de *slogans* y *jingles* pegajosos, la mejor imagen es aquella que crea un **valor agregado** a una empresa y asegura que esté un paso adelante de sus competidores.

En **AXÓN** cuidamos la imagen de nuestros clientes hasta el mínimo detalle.

DISEÑO GRÁFICO
IMAGEN CORPORATIVA
PROMOCIONES
CAMPAÑAS
COMUNICACIÓN
DISEÑO GRÁFICO
IMAGEN CORPORATIVA
CAMPAÑAS
MEDIOS

Es importante recordar que las tomas sanguíneas siempre deben de ser realizadas por la mañana aproximadamente a la misma hora, recomendándose el uso de métodos cuantitativos (RIA o QLIA) frente a los kits semicuantitativos principalmente cuando se va a emplear semen refrigerado y/o criopreservado.

Tipo de semen que empleamos

Una de las principales razones que permiten obtener buenos resultados con la IA vaginal de semen fresco es la gran longevidad de los espermatozoides caninos en el interior del útero. Se ha establecido que los espermatozoides de eyaculados de calidad normal o buena pueden sobrevivir durante 5 a 7 días. Este hecho permite lograr fecundaciones aunque el control del Periodo de Fecundación no haya sido preciso. Sin embargo en aquellas situaciones donde la calidad seminal es inferior, bien por características inherentes al eyaculado bien por el proceso de conservación al que se ha sometido (refrigeración y/o criopreservación), la viabilidad espermática estará también reducida (2-3 d para el semen refrigerado y 12-24 h para el semen criopreservado), por lo que será fundamental la deposición de los espermatozoides en el periodo de fecundación y, como hemos mencionado anteriormente, mediante sistemas de inseminación transcervical y/o uterina



Hoy en día es ampliamente reconocido que uno de los factores fundamentales que influyen en el éxito de la IA es el control del periodo fértil de la hembra

Bibliografía

- Concannon PW. Canine breeding management and artificial insemination: techniques and caveats. *Proceedings 29 Congreso Mundial de la WSVa.* (2004). Rhodes.
- Evans HE and Christensen GC. The urogenital system. En: *Miller's Anatomy of the dog.* Eds. Evans HE; Christensen GC. Philadelphia, WB Saunders. (1993). Pp: 494-558.
- Fontbonne A. How to perform transcervical catheterization in the bitch. *Proceedings 31 Congreso Internacional WSVa.* Sidney (2006). Pp: 721-722.
- Fukushima FB, Malm C, Henry M et al. Site of intrauterine artificial insemination in the bitch does not affect sperm distribution within the uterus. *Rep. Anim. Domest.* (2010) 45: 1059-1064.
- Hutchison RV. Vaginal & surgical intra-uterine deposition of semen. *Procc. Canine Theriogenology Short Course.* (1993). Pp: 33-37.
- Kong IK, Yu DJ, Jeong SR, Oh IS, Yong CJ, Cho SG, Bae IH, OH DH, Kom HR, CHO SK, Park CS. A new device for intrauterine artificial insemination in the dog. *Asian-Australian J. Anim. Sci.* (2003) 16(2): 180-184.
- Kutzler MA. Semen collection in the dog. *Theriogenology* (2005) 64:747-754
- Linde-Forsberg C, Ström Holst B, Govette G. Comparison of fertility data from vaginal vs intrauterine insemination of frozen-thawed dog semen: a retrospective study. *Theriogenology* (1999) 52: 11-23.
- Linde-Forsberg C. Intra-uterine insemination in the dog using the Scandinavian trans-cervical catheter and a comparison with others methods. En: *Recent advances in small animal reproduction.* Eds: PW Concannon, G England and J Verstergen. www.ivi.org (2001).
- Lucas X. Anatomic Peculiarities and Intrauterine Insemination in the bitch. *Proceedings del I Curso Internacional de Inseminación Artificial con Semen Congelado en la Especie Canina.* Cáceres (2006a).
- Lucas, X. Apuntes de Reproducción: Extracción Seminal en el perro. *Clinica Veterinaria de Pequeños Animales. Revista Oficial de AVEPA* (2006b) 26(4): 380-381.
- Lucas X, Hernández M, Gil MA. Inseminación artificial en la especie canina. *Consulta de Difusión Veterinaria* (2007). Vol. 15 (145): 51-57.
- Pereira S, Malm C, Roger M, Henry JM, Telles LF, Silva M, Bono F, Machado M. Endoscopic transcervical intrauterine artificial insemination in Labrador Retrievers bitches. *Research in Veterinary Science* May 16 (2011). En prensa.
- Pretzer SD, Lillich RK, Althouse. Single, transcervical insemination using frozen-thawed semen in greyhound: a case series study. *Theriogenology* 65(2006): 1029-1036.
- Silva LDM, Onclin K, Snaps F, Versteegen JP. Laparoscopic intrauterine insemination in the bitch. *Theriogenology* (1995) 43:615-623.
- Wilson MS. Transcervical insemination techniques in the bitch. *Vet. Clin. Nort. Am.* (2003). Vol.3 (2):291-305.