HISTOCOMPATIBILIDAD ENTRE EMBRION Y RECEPTORA EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS

B. Aguilar[1,2], P.L.A.M. Vos[2], E.J. Hensen[1] y S.J. Dieleman[2]
Dptos. de Inmunología[1] y Reproducción[2], Facultad de Medicina Veterinaria, Yalelaan 1, 3584 CL- Utrecht (Países Bajos)

INTRODUCION

Los antígenos de histocompatibilidad responsables del rechazo de los trasplantes estan presentes en la mayoría de las células del organismo desde los primeros estadíos embrionarios. Dado que el embrión expresa tanto los antígenos de origen materno como paterno, cabría esperar un rechazo por parte de la madre que porta un embrión incompatible, pero estas gestaciones llegan a término con normalidad.

El objetivo de este trabajo es estudiar la influencia de la histocompatibilidad materno-fetal durante la gestación y determinar si el grado de compatibilidad entre embrión y receptora influye en el éxito de las transferencias de embriones en bovino.

MATERIAL Y METODOS

Diseño experimental: Para estudiar las combinaciones extremas de compatibilidad se crearon dos grupos de receptoras a las que se transfirieron embriones homocigóticos o bien 100% compatibles o bien 100% incompatibles con respecto a los genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC).

Embriones: Ya que en la actualidad no hay técnicas de tipificación de MHC disponibles para embriones, la estrategia seguida consistió en crear un banco de embriones con MHC predefinido. Para ello se utilizaron vacas homocigóticas para el MHC como donadoras y el semen de un toro también homocigótico. De la combinación del toro y donadoras con el mismo haplotipo se obtuvieron embriones homocigóticos para las transferencias experimentales y de la combinación con donadoras de diferente haplotipo se obtuvieron embriones heterocigóticos para las transferencias control. Las donadoras se superovularon e inseminaron repetidamente y los embriones recuperados mediante lavado del útero se conservaron en nitrógeno líquido hasta el momento de realizar las transferencias.

Receptoras: La selección para configurar los dos grupos de receptoras requeridos se hizo de acuerdo a los siguientes criterios: a) Debían elegirse terneras sanas y vírgenes para evitar la posibilidad de sensibilizaciones previas frente a antígenos de MHC; b) en el grupo compatible, las receptoras debían poseer uno de los dos haplotipos igual al de los embriones homocigóticos, mientras que en el grupo incompatible ambos haplotipos debían ser diferentes a los de los embriones; c) la distribución total de haplotipos de MHC entre los dos grupos debía ser equivalente; d) la edad de la terneras debía ser similar en ambos grupos (mínimo 14 meses) y e) de los animales que cumplían los requisitos previos, había que descartar los que presentasen anomalías en el tracto reproductor. De 85 terneras disponibles sólo 15 se ajustaron a los criterios de selección. Finalmente, el grupo compatible se compuso de 8 receptoras y el incompatible de 7.

Transferencias: Con el objeto de optimizar las condiciones se sincronizaron los embriones a transferir con el estado del útero de las receptoras en un margen de ±6 h, midiendo los picos de LH individualmente para cada una de ellas. Los embriones se calificaron de nuevo una vez descongelados y sólo se transfirieron los de calidad 1 y 2. Todas las receptoras recibieron un embrión homocigótico en el cuerno uterino ipsilateral al CL. Con el fin de incrementar el número de transferencias, las receptoras que no resultaron gestantes después de la primera transferencia recibieron un segundo embrión de las mismas características. Finalmente, las que

no quedaron gestantes recibieron un tercer embrión, en este caso heterocigótico y 50% compatible como transferencia de control.

Técnicas inmunológicas: Durante la gestación se monitorizó la producción de anticuerpos antifetales y la reactividad linfocitaria de las receptoras. La presencia de anticuerpos se detectó mediante un test de microcitotoxicidad mediada por complemento, en el que se probaron los sueros de las receptoras frente a un panel de células diana. La capacidad de proliferación de los linfocitos de las receptoras se midió mediante cultivo mixto linfocitario de una vía, utilizando un panel de linfocitos irradiados como células estimuladoras.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de las transferencias realizadas se muestran en la Tabla 1. El número de gestaciones establecidas fue similar en los grupos compatible e incompatible (Å 50%) en las primeras 4 semanas. Sin embargo, se observaron diferencias en el número de partos, aunque éstas no fueron significativas. El origen de estas diferencias radica en las pérdidas embrionarias ocurridas entre las 4 y las 8 semanas de gestación en el grupo compatible. Este hecho apuntaría a una ventaja de la condición de incompatibilidad frente a la de compatibilidad durante la gestación, que está en consonancia con la teoría del Immunotrofismo propuesta por Wegmann en 1988 (1). Según esta teoría, el reconocimiento inmunológico por parte de la madre portadora de un embrión incompatible, en lugar de producir un rechazo, resulta beneficioso para el desarrollo de la gestación . En el grupo de control, 3 de las 4 receptoras que no resultaron gestantes tras recibir 2 embriones homocigóticos, aceptaron embriones semicompatibles. Dado que ésta es la combinación más frecuente en las gestaciones naturales debido al alto grado de polimorfismo de los genes MHC, podría ocurrir que resultara óptima con respecto a los dos extremos de compatibilidad estudiados, aunque se precisa más investigación que confirme esta hipótesis.

Tabla 1. Número de gestaciones tras la transferencia de embriones.

Grupo	Transferencias	Partos	Pérdidas	Abortos
Incompatible	10	4 (40%)	0	1
Compatible	13	3 (23%)	2	1

El primer requisito para que se produzca reconocimiento inmunológico es la presentación de antígenos al sistema inmune materno. Para comprobar si los antígenos MHC fetales son reconocidos por la madre, medimos la producción de anticuerpos anti-MHC fetal en el suero de las receptoras incompatibles. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos: todas las receptoras produjeron anticuerpos antes del parto y en 2 de los casos desde el primer trimestre de la gestación. Así se demuestra que los antígenos MHC fetales son capaces de provocar respuesta inmunitaria materna durante la gestación y que no son producidos únicamente como resultado del proceso del parto como se ha propuesto previamente (2). La mayor incidencia de incompatibilidad en las gestaciones resultantes de transferencias explicaría resultados previos que demuestran una mayor producción de anticuerpos, y más temprana, en comparación con gestaciones naturales (3)

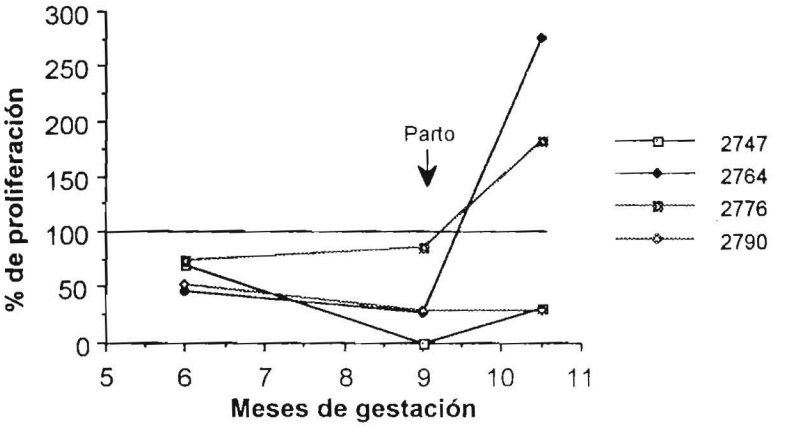
Tabla 2. Detección de anticuerpos anti-MHC fetales durante la gestación.

Grupo	Receptora	3 m*	6 m	9 m	PP**
Incompatible	2747	-	-	1	2
	2764	1	1	1	1
	2776	1	2	2	3
	2790	-	-	2	2

* meses de gestación; ** 1 mes postparto

Dado que la producción de anticuerpos precisa de la participación de los linfocitos maternos, estudiamos la capacidad de reacción de los linfocitos de las receptoras durante la gestación y después del parto. Se observó una reducción de la capacidad proliferativa frente al haplotipo fetal durante la gestación en comparación a otro haplotipo no relacionado que se utilizó como estándar interno (100%) en todos los ensayos (Fig.1) . En 2 de los 4 casos, esta reducción revirtió tras el parto. Estos resultados demuestran que el haplotipo fetal es reconocido de forma selectiva durante la gestación y que la reducción observada no se debe a una inmunosupresión inespecífica. Se han descrito recientemente resultados similares en ratones transgénicos en los que se demostró una tolerancia selectiva a los antígenos MHC paternos durante la gestación (4).

Figura 1. Proliferación de linfocitos de las receptoras durante la gestación.



Si los resultados de este experimento piloto pudieran ser confirmados a gran escala, la manipulación de las combinaciones embrión-receptora en términos de histocompatibilidad mejoraría el éxito de las transferencias de embriones en bovino.

REFERENCIAS

1. Wegmann TG. Immunol Letters 1988; 17: 297-302.
2. Newman MJ y Hines HC. J Reprod Fertil 1980; 60: 237-241.
3. Matousek J y Riha J. Anim Genet 1991; 22: 245-250.
4. Tafuri A et al. Science 1995; 270: 630-633.