

# ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LOS TRATAMIENTOS DE SUPEROVULACIÓN EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS

## SOME FACTORS AFFECTING SUPEROVULATION TREATMENTS IN CATTLE EMBRYO TRANSFERENCE

Natalia Garzón<sup>1</sup>, Rodrigo Urrego<sup>2</sup>, Carlos Andrés Giraldo<sup>2</sup>  
(Recibido el 08 de agosto de 2007 y aceptado el 31 de octubre de 2007)

### Resumen

En el presente artículo se buscó determinar algunos factores que afectan los tratamientos de superovulación en vacas destinadas para transferencia de embriones. Se analizaron diferentes estudios en donde se probaron varios protocolos, en los cuales se incluyeron hormonas esteroideas, gonadotropinas, somatotropinas y otras variables como la edad de la donadora. Al final del análisis se concluyó que el mejor resultado se obtuvo a partir de la utilización de somatotropina, ya que se encontró una reducción en la proporción de oocitos infértiles, aumento en el número de embriones transferibles, aumento en la tasa de fertilidad de las donadoras y por ende un incremento de las tasas de preñes, lo cual lleva a hacer más eficiente y rentable esta técnica.

### Palabras clave

Transferencia de embriones, vaca donadora, calidad del embrión, edad de la donadora.

### Abstract

Presently article was looked for to determine some factors that affect the superovulation treatments in cows dedicated for embryo transfer. They were analyzed different studies with different protocols in which were included esteroideas hormones, gonadotropins, somatotropins and other variables as the donor age. At the end of the analysis you concludes that the best result was obtained with somatotropina, because that reduce the infertile oocitos proportion, increase the transferable embryos number, and the fertility rate in the donors, for that reason it increases the gestation rates and make more efficient this technique.

### Key words

embryo transfer, donor cow, quality of the embryo, donor age.

### Introducción

Una de las estrategias biotecnológicas más importantes en producción bovina para tratar de alcanzar elevados estándares de calidad y eficiencia la constituye la transferencia de embriones, ya que permite multiplicar la descendencia de las hembras, especialmente las de excelente calidad genética, acortando simultáneamente el intervalo generacional. Además, facilita diferentes

actividades de mejoramiento como la evaluación de progenie y la comparación entre grupos de animales (Hafez y Hafez, 2002)

La aplicación comercial de esta biotecnología fue desarrollada en la década de los 70. Si bien se experimentó desde los años 30 del siglo pasado, en cabras y ovejas, la mayor utilidad se obtuvo a partir de los años 50 cuando

<sup>1</sup>Estudiante Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES

<sup>2</sup>Docente, Universidad CES

se realizaron ensayos exitosos en bovinos y cerdos. Las primeras transferencias de embriones en América se realizaron en los años 70 (Hafez y Hafez, 2002). Hoy en día, tanto en Brasil como en Colombia y otros países ubicados en regiones tropicales viene aumentando la necesidad de multiplicar hembras *Bos indicus* de alto mérito genético (Baruselli y col., 2006) y de ahí la importancia de esta biotecnología en nuestra región.

Sin embargo, hay diferencias importantes en la fisiología y en el comportamiento reproductivo entre animales *B. indicus* *B. tauros* que afectan la eficiencia de los protocolos de superovulación teniendo un impacto negativo en los programas comerciales de transferencia de embriones. Tradicionalmente, los protocolos de superovulación tienen algunas limitaciones como: 1) la necesidad de detectar un calor para establecer un "estro base" para el desarrollo del protocolo, 2) incapacidad para comenzar el tratamiento superovulatorio en el tiempo óptimo del desarrollo de la onda folicular, 3) necesidad de un detector de estro para determinar el tiempo de la inseminación artificial y 5) entre el 20-30% de las donadoras no responden al tratamiento superovulatorio y por ende, no hay producción de embriones. (Baruselli y col., 2006)

Por lo tanto, el objetivo de este artículo es hacer una revisión de diferentes protocolos de superovulación que actualmente se emplean en la transferencia de embriones, con el fin de analizar con cual de ellos se han obtenido mejores resultados, aportando así un conocimiento científico no solo a las personas que están trabajando actualmente en esta biotecnología sino también como una ayuda a aquellas personas que están empezando a trabajar la transferencia de embriones.

## 1. DINÁMICA FOLICULAR Y SUPEROVULACIÓN

El objetivo principal de los tratamientos de superovulación en vacas es producir un gran número de embriones transferibles que resulten en una alta probabilidad de preñez. Sin embargo la respuesta a estos tratamientos es muy variable y difícil de predecir. En un trabajo donde se incluyeron 2.048 colecciones de embriones en donantes bovinas, se obtuvo un promedio de 1 embrión por cada 11, 5 ovocitos y 6.2 embriones transferibles por vaca. Sin embargo, la variabilidad fue muy grande, tanto en la respuesta a la superovulación como en la calidad de los embriones. Esto debido a que se está trabajando con organismos biológicos que aunque son de la misma

especie tienen respuestas fisiológicas variables y se enfrentan a un medio que también influye en la respuesta individual de estos individuos (Mapletoft y col, 1994).

Experimentos y pruebas de campo realizados durante la década de los 80 llevaron a la conclusión general que los tratamientos superovulatorios iniciados durante los días 9 ó 10 después de detectarse el celo resultan en una mejor respuesta superovulatoria que aquellos iniciados antes (días 2 a 6) o después (día 12 o 13). Esto es debido a que durante el ciclo estral bovino hay 2 ó 3 ondas de desarrollo folicular y en la mayoría de las vacas la segunda onda folicular comienza, en promedio, entre los días 9 y 10. No obstante, hay una gran variación individual y la segunda onda puede comenzar más temprano (día 6) o más tarde (día 12)<sup>(6)</sup>

Los tratamientos superovulatorios con GnRH inducen a la ovulación del folículo dominante y emergencia de una nueva onda folicular 1-2 días después.<sup>(31)</sup> En novillas *B. tauros* x *B. indicus* la administración de la GnRH en un estado cualquiera del ciclo estral induce ovulación a solo el 45.7% (16/35) de las novillas.<sup>(27)</sup> Las bajas tasas de preñez seguida a la administración de GnRH ha sido observado en ganado *B. indicus* en regiones tropicales (14B). Los resultados de estos trabajos ponen en duda la eficiencia de la GnRH para sincronizar la onda emergente en vacas cebú.<sup>(3)</sup>

Estudios realizados durante los últimos 5 años han demostrado claramente que los tratamientos superovulatorios deben iniciarse al comienzo de una onda de desarrollo folicular, antes de la selección del folículo dominante, para obtener la mejor respuesta posible. La respuesta superovulatoria fue significativamente mayor cuando los tratamientos se iniciaron el día antes o el día de comienzo de la onda folicular (ya sea de la primera o segunda onda) que los tratamientos iniciados 1 o 2 días después. Si tenemos en cuenta estos resultados, la probabilidad que el comienzo de la superestimulación coincida con el inicio de la onda folicular es menor al 20% (1 de 5 o 7 días) y significa que el 80-90% de las veces no iniciamos los tratamientos superovulatorios en el período óptimo. Además, la necesidad de sincronizar el celo previo (o "base") en grupos de donantes para comenzar los tratamientos 8 a 12 días después, implica mayor trabajo del personal, más demora en la programación y el riesgo de una dispersión de celos que obligue a coleccionar embriones en distintos días. Una alternativa viable para lograr una mejor respuesta superovulatoria y obviar los problemas logísticos de programación, es controlar la

dinámica folicular y comenzar los tratamientos en el momento más oportuno (que el veterinario disponga, no la vaca).<sup>(3)</sup> En este sentido, alternativas para controlar la emergencia de la onda folicular en un estado aleatorio del ciclo estral, sin necesidad de detectar un calor para establecer un estro como base, podría facilitar el manejo de las donadoras *B. indicus* y posibilitaría un aumento en la eficiencia de los programas de transferencia de embriones en vacas Cebú.<sup>(3)</sup>

## 2. INDUCCION DE LA SUPEROVULACION

La superovulación (SOV) en la vaca es un paso muy importante en los procesos de transferencia de embriones (TE). La vaca es un animal monotoco, por lo que generalmente libera solo un óvulo en un ciclo estral. El objetivo principal de la SOV es estimular extensamente el desarrollo folicular en cada ciclo estral. Vacas y novillas que han sido tratadas pueden liberar 10 o más óvulos viables durante un ciclo estral; aproximadamente un 85% de las vacas donadoras fértiles pueden responder a tratamientos de SOV con un promedio de 5 embriones transferibles. Algunas vacas son tratadas repetidamente en un intervalo de 60 días, presentando un decremento en la producción de embriones.<sup>(13)</sup>

Para inducir la SOV se puede usar gonodotropinas, como gonodotropina coriónica equina (eCG), hormona foliculo estimulante (FSH) y gonodotropina criónica humana (hCG) las cuales pueden ser administradas a las donadoras vía intramuscular o subcutánea.<sup>(13)</sup>

En la actualidad la mayoría de los tratamientos son efectuados con FSH debido a los mejores resultados obtenidos en la tasa de ovulación como en la calidad de los embriones que utilizando eCG.<sup>(13)</sup>

Para estimular los folículos a madurar, la FSH debe ser repetidamente inyectada, usualmente 8 veces en 4 días debido a su corta vida media (2 a 5 horas en el cuerpo de la vaca) en contraste con la dosis única de eCG.<sup>(13)</sup>

El tratamiento se hace los días 4, 5, 6 y 7 días después de iniciar el estro con un cuerpo luteo (CL) funcional en el ovario.<sup>(13)</sup>

Antes de iniciar el tratamiento para la SOV, las condiciones siguientes deben ser cumplidas para tener éxito en la producción de muchos embriones de buena calidad.<sup>(13)</sup>

Deberá comprobarse la normalidad del ciclo estral, para ello deben observarse por lo menos 2 ciclos estrales. La donadora debe mostrar el celo y el intervalo debe ser

normal es decir, entre 18 y 24 días.<sup>(13)</sup>

Se debe confirmar que no presente ninguna inflamación uterina como endometritis. La endometritis subclínica a veces es difícil de detectar por lo tanto debe realizarse una palpación del útero en la fase lútea, a veces es necesaria la inspección del moco uterino durante el celo.<sup>(13)</sup>

La superovulación puede iniciarse entre los días 9 a 14 del ciclo estral en las donadoras que presenten un buen CL, ovarios pequeños y de parénquima firme puede resultar en una baja respuesta al tratamiento, debido a que el ovario presenta menor número de vesículas foliculares que son los que responden al tratamiento superovulatorio.<sup>(13)</sup>

*Superovulación con FSH:* El esquema estándar de las inyecciones para la SOV en vacas Holstein es el siguiente: en total 36 mg de FSH, son inyectados en dosis fraccionadas durante 4 días. La dosis óptima de FSH para la SOV es diferente según la raza de la donadora. El intervalo entre las inyecciones AM y PM debe ser de 8 a 12 horas.<sup>(13)(14)</sup>

*superovulación con eCG:* La FSH puede ser sustituida por eCG en el esquema anterior, aunque los resultados tanto en la tasa de ovulación como en la calidad de los embriones son menores que utilizando FSH. Usualmente 2000 a 4000 UI de eCG son administrados a la donadora en los días 9 a 14 del ciclo estral. El estro es igual al de FSH. Dosis excesivas de eCG frecuentemente produce quistes foliculares.<sup>(13)(14)</sup>

## 3. HORMONAS ESTEROIDEAS

En Sur América son comercialmente aprovechables diferentes ester de estradiol, incluyendo el benzoato de estradiol (EB), el valerato de estradiol (EV) y el cipionato de estradiol (ECP). Todos han reportado inducción de la regresión folicular cuando son administrados en presencia de altas concentraciones de progesterona (P4) en plasma<sup>(11)</sup>. El EV posee una vida media más larga lo que resulta en un intervalo más variable para la emergencia de onda folicular que el EB, el cual posee una vida media más corta.<sup>(5)(8)(9)</sup>

Baruselli y colaboradores, recientemente evaluaron el efecto de la administración de 2 mg EB en el tiempo de inserción de 3mg de un implante en la oreja de norgestomet (Crestar; Intervet, Sao Paulo, Brasil) o una inserción intravaginal (CIDR; Pfizer Animal Health, Sao Paulo, Brasil) en novillas *B. indicus* ciclando. En

este experimento no se encontró diferencia estadística significativa para la emergencia de la onda folicular entre las novillas tratadas con un inserto de Crestar o tratadas con un inserto de CIDR. <sup>(33)</sup> En un reciente experimento, se evaluó el efecto del EB y dos diferentes dosis de

EV sobre el tiempo y sincronía de la emergencia de la onda folicular en vacas y novillas *B indicus* tratadas con implantes de oreja de CRESTAR. Se encontró que hubo diferencia estadística significativa para el número de folículos reclutados por onda (tabla 1) <sup>(33)</sup>

Tabla 1. Número de folículos recolectados por onda.

Table 1  
Mean ( $\pm$ S.E.M.) interval from treatment to follicular wave emergence and number of follicles recruited per wave in *Bos indicus*, *B. indicus*  $\times$  *Bos taurus*, and *B. taurus* heifers treated with 2 mg estradiol benzoate and CIDR insert

Heifers	N	Interval to follicular wave emergence (d)	Number of follicles recruited per wave
<i>B. indicus</i>	23	3.1 $\pm$ 0.1	33.4 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>
<i>B. indicus</i> $\times$ <i>B. taurus</i>	25	3.3 $\pm$ 0.1	29.6 $\pm$ 2.5 <sup>ab</sup>
<i>B. taurus</i>	22	3.2 $\pm$ 0.1	25.4 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>

Adapted from [18]. Means within the same column with different superscripts (a, b) differ ( $P < 0.05$ ).

Recientemente se evaluó el efecto de la administración de 50mg de P4 intramuscular con EB y la inserción de un dispositivo vaginal de DIB (1 g de progesterona, Syntex, Buenos Aires, Argentina) sobre el intervalo y la sincronía de la emergencia de la onda folicular en ganado *B. indicus* <sup>(24)</sup>. Los resultados de este experimento muestran que el tratamiento con P4 más EB en el momento de la inserción de DIB resultó en un retraso (4.2 $\pm$ 0.0 días) y en una mayor sincronización de la onda emergente que el tratamiento realizado solo con EB y la inserción de DIB (2.8 $\pm$ 0.2 días). Estos resultados concuerdan con lo previamente reportado en vacas *B. tauros* <sup>(26)</sup>. En otro experimento <sup>(33)</sup> se examinó el efecto de diferentes dosis de EB (2 O 3 mg), el tiempo de la administración y la adición de P4 en 50 vacas de la raza Nelore tratadas con DIB (n=10/grupo). El tratamiento con EB más P4 sobre el día de la inserción del DIB resultó en una mayor cantidad de nuevas ondas foliculares emergentes sincronizadas (4.0 $\pm$ 0.0 días) con respecto a los demás tratamientos. En conclusión, el tratamiento con EB más P4 inyectable en el momento de la inserción de P4 de liberación intravaginal induce a una mayor cantidad de ondas foliculares emergentes en vacas *B. indicus*

En un estudio realizado por Andrade, y col (2001) en el cual se usaron hormonas esteroideas para la SOV en donadoras Nelore, para evaluar la eficiencia de la SOV, en el cual se eligieron animales con calor regular, con edades entre los 6-10 años, con una condición corporal entre 3-4/ 5, y sometidas a examen clínico ginecológico antes del análisis. <sup>(8)</sup>

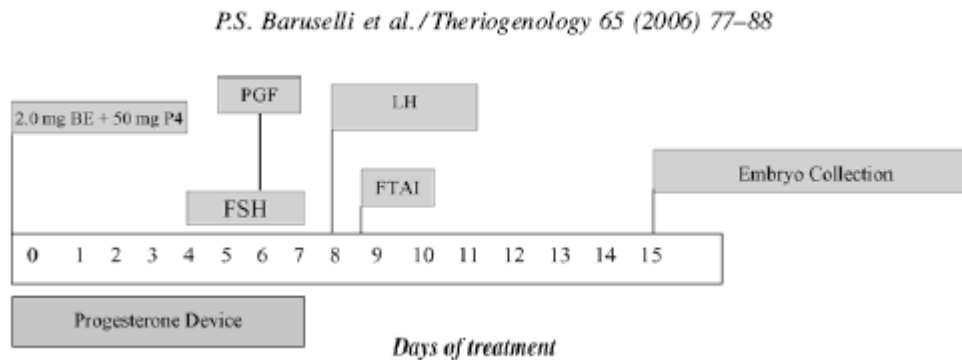
Se cogieron tres grupos en los cuales a uno se le realizó un protocolo de superovulación estándar, y un tratamiento con gonadotropinas, al segundo con un implante auricular subcutáneo a base de norgestomet, valerato de estradiol y gonadotropinas, y al tercer grupo se le realizó el tratamiento con un dispositivo intravaginal a base de progesterona, benzoato de estradiol y gonadotropina. Una vez analizados los protocolos, se encontró que los dos protocolos diferentes al estándar no muestran diferencia significativa en cuanto a la producción de embriones. Un aspecto relevante con los protocolos utilizados con combinaciones de hormonas esteroideas es que en hembras que no presentaron calor (CELO), produjeron un número similar de embriones viables (9.2) con las que si mostraron calor; el tratamiento con estos protocolos disminuye costos en la transferencia de embriones y permite utilizar un alto número de donadoras en un corto periodo de tiempo. <sup>(8)</sup>

En otro estudio realizado por Baruselli y col (2005) en donde se analizaron diferentes protocolos de superovulación para transferencia de embriones en novillas *Bos Indicus*, en el cual se buscaba determinar el tiempo de la inseminación artificial en los diferentes protocolos de superovulación, se llevaron a cabo protocolos a base de estradiol y progesterona, realizando un control del desarrollo folicular, el cual consistía en la inserción de un dispositivo intravaginal de progesterona y la administración de benzoato de estradiol y progesterona intramuscular, en los cuales se realizaron ensayos con diferentes dosis, aplicaciones, y tiempo de inseminación,

para luego recolectar los embriones a través del método convencional. Al evaluar los resultados se encontró que el mejor protocolo en cuanto al total de embriones viables colectados, fue en el cual se utilizaron dosis de 25 mg de pLH (Lutropin V) 12 horas después de aplicar

el tratamiento con Folltropin - V y 48 horas después de aplicar PGF y realizar la inseminación artificial a las 12 y 24 horas de haber detectado el calor. <sup>(2)</sup>

Figura 1. Días de tratamiento <sup>(2)</sup>.



Dong-Soo y col, buscaban evaluar los efectos del Benzoato de estradiol y GnRH en los tratamientos de superovulación con dispositivo intravaginal en vacas nativas de Korea. El estudio se realizó con 66 vacas las cuales fueron divididas en tres grupos. Un grupo control al que se superovuló con el protocolo tradicional y los dos restantes tratados con Benzoato de estradiol y GnRH respectivamente. Las vacas fueron inseminadas artificialmente de acuerdo al protocolo establecido y los embriones fueron recolectados 7 días después de la primera inseminación. Una vez terminado el estudio se encontró que el número de folículos preovulatorio y el número de folículos ovulados detectados por ultrasonografía no varió significativamente entre los 2 grupos tratados. Similar ocurrió con el número de embriones transferibles, degenerados y no fertilizados. <sup>(15)</sup>

#### 4. SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA

Los tratamientos con somatotropina recombinante bovina (bST) se han usado con la finalidad de incrementar la respuesta superovulatoria usando gonadotropinas y la tasa de recuperación de embriones transferibles <sup>(29)</sup>.

Se ha atribuido, en parte, el éxito de la superovulación según el número de folículos antrales pequeños sanos que se encuentran en la donadora al iniciar el tratamiento con gonadotropinas. Se ha demostrado que el tratamiento

con bST incrementa el número de estos folículos antrales emergiendo (2 a 5 mm) en novillas maduras, lo cual sugiere un aumento en la sensibilidad a la respuesta superovulatoria. <sup>(14) (15) (16)</sup> Alrededor de tres días posinyección con bST (320 mg día 7 del ciclo estral) en novillas, se induce un incremento en el número de folículos en emergencia el cual puede mantenerse por 8 días. <sup>(14)(15)(16)</sup> De igual manera, se ha encontrado un aumento en la respuesta ovárica a las gonadotropinas in vitro usando hormona del crecimiento, IGF-1 e insulina <sup>(28)</sup>, las cuales presentan niveles séricos elevados luego del tratamiento con bST en novillas que a su vez, incrementaron el número de folículos reclutados, pero que no presentaron un efecto significativo en el número de folículos medianos y grandes (<5 mm), aunque los niveles séricos de estas tres hormonas se mantienen durante los días de superestimulación con gonadotropinas hasta el estro. <sup>(14) (15) (16)</sup>

En términos de respuesta ovulatoria y recuperación de embriones con el uso de la bST, los resultados son contrastantes y sugieren un momento óptimo de aplicación en distintos protocolos de superovulación usados. Cuando se realiza el tratamiento aplicando al mismo tiempo la bST y FSH, los resultados en ovulación y recuperación de embriones son poco relevantes <sup>(32)</sup>, pero, cuando se aplica la bST previo al inicio de los estímulos con gonadotropina, ambos resultados mejoran significativamente. De esta manera, el uso de bST puede ser benéfico si se aplica

previamente (72h) para aumentar el número de folículos emergentes al momento de inicio del tratamiento con gonadotropinas incrementando la tasa de embriones recuperados <sup>(14) (15) (16)</sup>, incluso, se puede usar un depósito de 640 mg subcutáneos de bST 6 días antes de la superovulación inducida con 2500 UI de PMSG y obtener la misma respuesta. <sup>(14) (15) (16)</sup>

Sin embargo, una respuesta similar al tratamiento con bST sobre el incremento en la cohorte folicular emergente, ovulación y tasa de recuperación de embriones no se encontró en ovejas <sup>(12)</sup>.

En un estudio (Thatcher, Moreira y col) en el que se aplicó el protocolo "Ovsynch" e implantes de progestágenos combinados con la aplicación de somatotropina (bST) se encontró un incremento en la tasa de producción de embriones <sup>(23)</sup>. Una aporte adicional fue analizar el efecto de presincronización donde un grupo recibía bST, en el cual se obtuvo que el 42.6% de las vacas presincronizadas quedaron gestantes comparado con el 25.3% del grupo control. A su vez se comparó el protocolo con dos inyecciones de PGF2alpha y el programa "Ovsynch" 12 días después de la inyección, lo cual arrojó como resultado un 48% de eficacia versus el grupo control que fue del 36%.<sup>(15)</sup> En el mismo estudio se quería determinar si una inyección bST en la donadora superovulada en el momento de la inseminación causaba algún efecto en el desarrollo de los embriones 7 días después de haberlos recolectado y que efectos posteriormente en la transferencia de embriones congelados y en las tasas de preñez, donde se obtuvo que las vacas tratadas con bST y las vacas control no mostraron diferencia en el número total de embriones por lavado (9.3 + 1.5 y 9.4+ 1.5 respectivamente).<sup>(15)</sup> También se encontró que el tratamiento con bST aumentó ( $P < 0.01$ ) el porcentaje de embriones clasificados como transferibles en el número total de embriones lavados (77.2% > 56.4%), lo cual indica que el tratamiento bST aumenta la tasa de fertilidad en las donadoras, y un incremento de las tasas de preñes; esto posiblemente a que el bST estimula la maduración de los oocitos y el desarrollo embrionario temprano. <sup>(15)</sup>

## 5. GONADOTROPINAS

La variabilidad en la respuesta superovulatoria es uno de los problemas más frustrantes en la práctica de transferencia de embriones bovinos. Esto se debe a dos situaciones particulares: el ratio de actividad FSH/LH en los preparados comerciales, y el estadio en el que se encuentran los folículos una vez se inicia el tratamiento con las gonadotropinas. De allí, el esfuerzo para neutralizar

el efecto de los componentes sintéticos con funciones de LH y el manejo hormonal (combinando progestágenos y estrógenos) o la ablación folicular para iniciar el protocolo superovulatorio en el estadio de emergencia folicular. <sup>(22)(23)</sup> Sin embargo, un poco de actividad LH es necesaria para la maduración folicular preovulatoria. <sup>(23)(30)</sup>

En un estudio realizado por Lopez da costa y col (2000) en el cual se buscaba evaluar la respuesta superovulatoria, la calidad del embrión y la fertilidad del tratamiento con diferentes gonadotropinas en ganado criollo, se realizaron tres experimentos en los cuales se utilizaron varias gonadotropinas comerciales en diferentes dosis y frecuencias, se encontró que la mayor tasa de superovulación, al igual que el mayor número de embriones obtenidos <sup>(11)</sup>, fue logrado con eCG, posiblemente debido a que la eCG posee actividad de LH alta y una vida media más larga. Sin embargo, al usar en el experimento FSH, se encontró que las preparaciones de FSH produjeron el mayor número de embriones viables y mejor desarrollados, en comparación con la eCG, posiblemente debido a que la FSH, al ser una glicoproteína natural, es captada más fácil y eficientemente, <sup>(10)</sup>

Kimura K, y col. (2007) investigaron si el Al-gel podía adsorber y liberar FSH eficazmente en condiciones in vitro e in vivo, y si una sola administración de FSH en Al-gel podía inducir la superovulación con éxito (SOV) en el ganado. El producto a base de FSH (el pFSH; 30mg) era mixto con 5mL de Al-gel; 99.98+/-0.01% de pFSH, y encontraron que fue adsorbido por el gel; y que el 71.6+/-1.1% del pFSH adsorbido se liberó como consecuencia de la presencia de BSA. Sin embargo, se observó que el ganado al que se administró una sola dosis i.m, el número de CL, los óvulos totales recuperados, y los embriones transferibles por la vaca, mostraron una variación significativa con respecto al método convencional. Mientras que al administrar el tratamiento dos veces diariamente, a base de pFSH produjo un aumento en las concentraciones de pFSH en plasma, indicando una liberación escalonada de Al-gel, pero sin variación significativa con respecto al método convencional. En conclusión, una sola aplicación i.m. del tratamiento de 30mg pFSH en 5mL de Al-gel indujo eficazmente la SOV en el ganado. <sup>(9)</sup>

Suárez y Gaviria compararon la respuesta superovulatoria y la cantidad y calidad de embriones recuperados en vacas Holstein en la Sabana de Bogotá, mediante la aplicación de busarelina en el día 6 del ciclo estral, antes de iniciar el esquema de superovulación. El trabajo se realizó en

la Sabana de Bogotá, a 2640 msnm y una temperatura promedio de 12° C. Se emplearon veinte bovinos hembra de la raza Holstein a los cuales se les aplicó FSH para inducir superovulación, en los días 11, 12 13 y 14 del ciclo estral, con una dosis total de 20 cc, y PGF2 $\alpha$  con la última dosis de FSH, 3 cc im. A diez de ellas se les aplicó Buserelina en el día 6 del ciclo estral, antes de iniciar el tratamiento superovulatorio. Las diez vacas restantes se consideraron como grupo control. Los resultados obtenidos por las investigadores muestran que hubo diferencia significativa entre el grupo tratamiento y el grupo control respecto a la respuesta superovulatoria, pero no se encontró diferencia significativa en el número de embriones recuperados en ambos grupos. <sup>(10)</sup>

Por otro lado, Ferrer y col estudiaron la efectividad de la sincronización de la emergencia de la onda folicular mediante la aplicación de buserelina, en animales que se encontraban en diferentes fases de su dinámica folicular. En esta se utilizaron 16 hembras vacías divididas en 4 grupos en base a su dinámica folicular determinada ultrasonográficamente durante los 3 días previos: 1: folículos menores a 6 mm; 2: folículos en crecimiento entre 7 y 10 mm; 3: folículos en fase estática entre 8 y 14 mm y 4: folículos en regresión luego de dos mediciones consecutivas en descenso. Los animales recibieron 8  $\mu$ g de buserelina (día 0) y se realizó el seguimiento de la actividad ovárica mediante ultrasonografía hasta detectar la presencia de un folículo dominante (mayor o igual a 7 mm). El menor diámetro folicular máximo promedio en los 4 grupos se observó el día 3 no existiendo diferencias significativas entre los grupos. El tiempo transcurrido desde la aplicación del análogo de GnRH hasta la detección de un folículo mayor o igual a 7 mm fue de  $6,25 \pm 1,29$  días para el grupo 1;  $5,5 \pm 1,8$  días para el grupo 2;  $5,5 \pm 1,1$  días para el grupo 3 y  $8,66 \pm 1,88$  días para el grupo IV. No hubo diferencias significativas en el momento de la detección del folículo dominante. En conclusión la aplicación de buserelina sincroniza la emergencia de la onda folicular y permite comenzar los tratamientos superestimuladores entre los días 3 y 6 de la aplicación con excelentes resultados. <sup>(6)</sup>

## 6. EDAD DE LA DONADORA

Taneja y col (2000), buscaba analizar la influencia con gonadotropinas en vacas donadoras jóvenes (2-4 meses de edad). Se utilizaron dos protocolos diferentes en los cuales se estimularon las terneras con Folltropin V, progestil, norgestomet, synchomate-B y CIDR-G y se observó la influencia en el número, calidad, y estado de desarrollo de los embriones. Al culminar el ensayo se encontró que en

las terneras en las cuales se utilizó CIDR-G se produjo un mayor número de embriones transferibles ( $16.7 + 6.5$ ) en comparación con synchomate-B ( $13.1+7.2$ ). Con lo cual podemos concluir que al comparar estos dos productos en los animales estimulados no se observa diferencia significativa en la respuesta ovárica, en cuanto al número, la calidad y estado de desarrollo de los embriones recuperados. <sup>(11)</sup>

Armstrong y col (1997), realizó un análisis con diferentes tratamientos de superovulación en terneras jóvenes, en el cual se realizaron los protocolos a las terneras con GnRH, FSH+LH, hCG y progesterona y analizó la respuesta folicular, el número de estructuras recuperadas, los efectos en las terneras y la madurez del oocito, encontraron al culminar el ensayo, que el mayor número de oocitos se obtuvo al realizar el protocolo a base de FSH+LH pero con un porcentaje menor de oocitos maduros, esto posiblemente a que la combinación de estas ayudan en la respuesta folicular en un porcentaje muy alto y por ende intraovariamente ayudan a regular los mecanismos que desencadenan la ovulación. <sup>(1)</sup>

## 7. CONCLUSION

Aunque todos los tratamientos en mayor o menor grado son efectivos para la superovulación en los programas de transferencia de embriones, cada laboratorio debe tener en cuenta para escoger su protocolo de superovulación que existen factores externos como el ambiente, la alimentación, la raza, la edad, entre otros, que afectan positiva o negativamente la respuesta al tratamiento, por lo cual debe tenerse en cuenta este concepto para poder tomar decisiones acertadamente y obtener así óptimos resultados. De acuerdo con el análisis realizado en este artículo se puede concluir entonces que en los protocolos en el donde se utiliza somatotropina, se obtienen mejores resultados ya que aunque no aumenta significativamente el número de embriones obtenidos, si se encuentra una reducción en la proporción de oocitos infértiles y un aumento en el número de embriones transferibles, además se aumenta la tasa de fertilidad de las donadoras, lo cual conduce al incremento de las tasas de preñes, y por ende se es más eficiente en el proceso, lo cual disminuye costos y hace más rentable el negocio.

## 8. AGRADECIMIENTOS

Los más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible la realización de este trabajo y a mi familia como mi fuente de inspiración

1. Armstrong DT, Kotaras PJ, Earl C: Advances in production of embryos in vitro from juvenile and prepubertal oocytes from the calf and lamb. *Reprod Fertil Dev.* 1997;9(3):333-9. Review. PMID: 9261881 [PubMed - indexed for MEDLINE].
2. Baruselli PS, de Sá Filho MF, Martins CM, Nasser LF, Nogueira MF, Barros CM, Bó GA Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology.* 2006 Jan 7;65(1):77-88. Epub 2005 Nov 14. Review.
3. Baruselli y col (2005). Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology.* 2006 Jan 7; 65 (1):77-88. Epub 2005 Nov 14. Review. PMID: 16290257 [PubMed - indexed for MEDLINE].
4. Bó, G. A. y R. J. Mapletoft. 1999. *Taurus*, 1(4):14-27, Fac. Cs. Agrop., Univ. Católica de Cba., Argentina; Inst. Reprod. Animal Cba. (IRAC). Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canadá. Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones.
5. Bo´ GA, Adams GP, Caccia M, Martinez M, Pierson RA, Mapletoft RJ. Ovarian follicular wave emergence
6. Carvalho JBP. Sincronizac,ãõ da ovulac,ãõ com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* \_ *B. taurus* e *B. taurus*. PhD Thesis, Saõ Paulo: Universidade de Saõ Paulo; 2004.
7. Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology* 2003;60:855–65.
8. Colazo MG, Martinez MF, Small JA, Kastelic JP, Burnley CA, Ward DR, et al. Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology* 2005; 63:1454–68.
9. Dong-Soo Son, Chang-Yong Choe, Sun-Ho Choi, Sang Rae-Cho , Hyun-Jong Kim, Man-Hye Han, Il-Sun Ryub, Guk-Hyun Suhc, Ui-Hyung Kim, Ill-Hwa Kim
10. Dora C Suárez, 1 MV; María T Gaviria, 2 MV, MS, Carlos J Gómez,3 MV. La buserelina en programas de superovulación para transferencia de embriones.
11. Eckery DC, Moeller CL, Nett TM, Sawyer HR. Recombinant bovine somatotropin does not improve superovulatory response in sheep. *J Anim Sci* 1994; 72:2425-2430
12. Ferrer, M.S1; AGÜERO, A1,; CHAVES1, M.G.; RUSSO1, A.F.; RUTTER1, B. Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*).
13. Gong JG, Bramley T, Webb R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. *Biol Reprod* 1991; 45:941-949.
14. Gong JG, Bramley T, Webb R. the effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J Reprod Fertil* 1993; 97:247-254.
15. Gong JG, Bramley T, Wilmut I, Webb R. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory



response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. *Biol Reprod* 1993a; 48:1141-1149

16. Hafez, E.S.E, Hafez B; (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima edición. Ed. Mc Graw Hill.

17. J.C.O Andrade, Oliveira, et. Al Use of steroid hormone treatments prior to superovulation in Nelore donors. *Anim Reprod Sci.* 2002 Jan 23; 69 (1-2):9-14.

18. Kimura K, Hirako M, Iwata H, Aoki M, Kawaguchi M, Seki M. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. *Theriogenology.* 2007 Sep 1;68 (4):633-9. Epub 2007 Jun 20.

19. Lopes da Costa L, Chagas e Silva J, Robalo Silva J; (2001). Superovulatory response, embryo quality and fertility after treatment with different gonadotrophins in native cattle. *Theriogenology.* Jul 1;56(1):65-77. PMID: 11467519 [PubMed - indexed for MEDLINE].

20. Maneesh Taneja,<sup>3</sup> Peter E.J. Bols, Anneleen Van de Velde, Jyh-Cherng Ju, David Schreiber, Mark William Tripp, Howard Levine, Yann Echelard, John Riesen, and Xiangzhong Yang. "Developmental Competence of Juvenile Calf Oocytes In Vitro and In Vivo: Influence of Donor Animal Variation and Repeated Gonadotropin Stimulation".

21. Mapletoft RJ, Steward KB, Adams GP. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reprod Nutr Dev.* 2002 Nov-Dec;42(6):601-11.

22. Mapletoft, R.J.; Bo, G.A.; Campo, M.R. Del. Factores que afectan la superovulación en la vaca: consideraciones prácticas. *Bovis*, 1994 JUN; (58) 31-49.

23. Martins CM, Castricini ESC, Sa' Filho MF, Gimenes LU, Baruselli PS. Dina'mica folicular em novilhas e vacas nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou naõ a' progesterona injeta' vel. *Acta Sci Vet* 2005;33(Suppl 1):227 (abstract).

24. MC. Juan de Jesús Vidal Roa, MVZ Juan Sebastián Isaza Correa. "Manual de transferencia de embriones" Universidad de Guadalajara, CUCBA. 1999.

25. Moreno D, Cutaia L, Villata ML, Ortisi F, Bo' GA. Follicular wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 2001;55:408 (abstract).

26. Nogueira MFG, Barros BJP, Teixeira AB, Trinca LA, D'Occhio MJ, Barros CM. Embryo recovery and pregnancy rates after the delay of ovulation and fixed-time insemination in superstimulated beef cows. *Theriogenology* 2002;57:1625-34.

27. Poretsky I, Kalin M. The gonadotropic function of insulin. *Endocr Rev* 1987;8:134-141.

28. Price CA, Carrière PD, Gosselin N, Kohram H, Guilbault LA. Effects of superovulation on endogenous LH secretion in cattle, and consequences for embryo production. *Theriogenology.* 1999 Jan 1;51(1):37-46. Links

29. Price CA. Induction of multiple ovulation in farm species: successes and heroic failures. *Agric. Biotechnol news* 1991; 3:33-38.

30. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 1995;44:915-23.

31. Rieger D, Waltson JS, Goodwin ML, Johnson WH. The effect of co-treatment with recombinant bovine

somatotropin on plasma progesterone concentration and number of embryos collected from superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* 1991; 35:863-868.

32. Sa' Filho MF, Gimenes LU, Ayres H, Carvalho NAT, Carvalho JB, Baruselli PS. Dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* tratadas com implante auricular de norgestomet ou com dispositivo intravaginal de progesterona. *Acta Sci Vet* 2005;33(Suppl 1):266 (abstract).

33. Sa' Filho MF, Gimenes LU, Torres-Ju'nior JRS, Carvalho NAT, Kramer MPS, De Faria MH, et al. Emergência folicular conforme a dose e o momento da aplicação de benzoato de estradiol e da sua associação com progesterona injetável em vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona. In: *Proceedings of the anais VI simpo'sio internacional de reproducció'n animal*, CD-ROM; 2005.

34. Sa' Filho MF, Reis EL, Ayres H, Peres AAC, Carvalho CAB, Carvalho JB, Araujo, CASC, Baruselli PS. Effect of oestradiol valerate or benzoate on induction of a new follicular wave emergence in *Bos indicus* cows and heifers treated with norgestomet implant. *Reprod Fertil Dev* 2006; (abstract), in press.

35. Sumano Ocampo. *Farmacología Veterinaria. "fisiología y farmacología de la reproducción"* Segunda edición.

36. W.W. Thatcher 1,4, F. Moreira ~, J.E.P.Santos 2, R.C. Mattos ~, F.L Lopes 1 "effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production", S.M. Pancarciland C.A. Risco 3.