

SUPEROVULACION INDUCIDA EN GANADO BOVINO ^a

LUIS ARMANDO CORDOVA SANTAMARIA ^b

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es el de analizar, resumir y obtener conclusiones sobre información ya publicada acerca de la superovulación en bovinos. La principal limitante de la técnica de transferencia de embriones es la gran variación individual en la respuesta ovárica a los tratamientos con gonadotropinas. A fin de entender mejor las causas de esa variación y crear alternativas para reducirla, se han realizado numerosas investigaciones sobre los procesos de foliculogénesis durante la superovulación, endocrinología de vacas superovuladas, compuestos hormonales y esquemas de tratamientos superovulatorios para obtener mejores respuestas. Asimismo, se ha determinado el efecto de algunos factores extrínsecos (estres, nutrición, etc) e intrínsecos (edad, raza, etc) sobre la respuesta ovárica a las gonadotropinas exógenas.

La técnica de transferencia de embriones en bovinos consta de varios pasos de gran importancia, por lo que la falla en alguno de ellos ocasionará el fracaso del programa. Sin embargo, el principal problema que afecta a la industria de la transferencia embrionaria es la gran variación individual en la respuesta ovárica a los tratamientos superovulatorios por lo que en los últimos años se han realizado numerosas investigaciones con la finalidad de comprender mejor dicha variabilidad y tratar de reducirla. Sin embargo, a pesar de que se han determinado varios factores que afectan la respuesta ovárica a la superovulación, el problema aún no tiene la solución deseada. El objetivo de este trabajo es el de analizar, resumir y obtener conclusiones sobre información ya publicada en relación a la superovulación en bovinos.

^a Recibido para su publicación el 31 de Julio de 1987.

^b Campo Experimental Forestal y Agropecuario "A" Morelia, INIFAP. SARH. Av. Acueducto No. 1750, Morelia, Mich. C.P. 58260.

EFFECTO DE LAS GONADOTROPINAS EXOGENAS SOBRE LA POBLACION FOLICULAR Y LA CALIDAD DEL EMBRION

Para comprender el mecanismo de superovulación en bovinos, es importante conocer los efectos de las hormonas administradas sobre la población de folículos en crecimiento durante el intervalo entre el tratamiento y la ovulación. Varios investigadores^{21, 41, 44, 47}, trataron de determinar dicho efecto. Sin embargo, en sus diseños experimentales utilizaron animales diferentes en los grupos experimental y testigo por lo que debido a la gran variabilidad individual en la población folicular aún en un día determinado del ciclo estral^{40, 45}, no fue posible examinar los efectos de un estímulo sobre el ovario entre dos grupos así formados. En bovinos, las poblaciones foliculares de ambos ovarios son de similar cualidad y cantidad, por lo que la variación dentro de cada animal es mucho menor que la variación entre animales⁴⁰. Por ello, Monniaux, Mariana y Gibson⁴⁶, utilizaron a cada hembra como su propio testigo, en un estudio más detallado acerca de la acción de las gonadotropinas sobre la población folicular. Dicho trabajo se realizó con vaquillas ciclando; un ovario (testigo) fue extirpado de inmediato, antes de estimular el restante con gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG). Estos investigadores postularon que el efecto inmediato de la PMSG sobre la población folicular podría ser el de estimular el crecimiento de folículos normales preantrales y rescatar algunos folículos antrales (>1.7 mm) con atresia temprana. Así, al reducirse la atresia en la clase folicular mayor a 1.7 mm de diámetro, ocurre un incremento directo del número de folículos disponibles para responder a las gonadotropinas.

Además del problema de variación individual en la respuesta ovárica, están aquellos asociados con la calidad de los embriones resultantes de la superovulación. Se menciona que el 55% de los embriones colectados en el día ocho del ciclo estral de las donadoras superovuladas

presentan anomalías⁴⁸. Ello puede deberse al medio ambiente uterino desfavorable provocado por niveles irregulares de esteroides circulantes en los animales tratados, ya que Moor y Trounson⁴⁹ encontraron que los ovocitos de ovinos madurados en presencia de niveles inadecuados de estrógenos lograban la fertilización e iniciaban su desarrollo; sin embargo presentaban alteraciones en la etapa de blástula.

Por otro lado, Moor, Kruij y Green⁴⁸ observaron que en los folículos de los animales tratados con hormona folicular estimulante (FSH) de origen equino, no sólo hubo crecimiento, sino que ocurrió el estado de maduración de metafase II en el 33% de los ovocitos. Dichos autores mencionan que algunos de los ovocitos así activados serán retenidos en los folículos luteinizados, mientras que otros serán ovulados en forma tardía y contribuirán a la formación de embriones anormales. Es evidente que la activación prematura de los ovocitos durante la superovulación es una fuente importante de pérdida embrionaria.

En la actualidad Callesen, Greve y Hyttel⁸, estudiaron la relación entre los niveles plasmáticos periovulatorios de progesterona y de hormona luteinizante (LH) y algunas características citogenéticas de los ovocitos, en vacas y vaquillas tratadas con PMSG o FSH y prostaglandinas. Estos autores observaron que hasta un 48.5% de las hembras superovuladas tuvieron patrones anormales de progesterona y de LH, así como una maduración inadecuada del folículo y del ovocito. A pesar de las variaciones observadas entre animales, y aún en el mismo animal en cuanto a población folicular, dichos investigadores definieron dos tipos de animales donadores de ovocitos. El primero se caracterizó por un perfil periovulatorio normal de progesterona (caída drástica a concentraciones menores de 1 ng/ml dentro de las 24 h, después de la aplicación de prostaglandinas y mantenimiento de esos niveles hasta el momento del estro) y de LH (presencia de un pico preovulatorio dentro de un lapso de 22 a 54 h después de la prostaglandina). Asimismo, existió una sincronía entre la maduración nuclear del ovocito y la esteroidogénesis en la mayoría de los folículos. Es decir, los estados correspondientes a filamento cromosómico, diaquinesis temprana y diaquinesis se observaron en folículos en los cuales predominaba la síntesis de estrógenos; las fases de diaquinesis tardía y metafase I, en folículos en fase transitoria a síntesis de progesterona, y los estados de telofase I y metafase II, en folículo donde predominaba la síntesis de progesterona. El segundo tipo se caracterizó por tener desviaciones de los perfiles normales de progesterona (bajas concentraciones de esa hormona al momento de recibir las gonadotropinas, niveles superiores a 1 ng/ml al ocurrir el celo) y de LH (sobre todo ausencia de un pico preovulatorio). En este grupo hubo una

asincronía en la maduración nuclear de la mayoría de los ovocitos (activación prematura o bien, interrupción de la meiosis) y no se encontró ninguna correlación entre las características citogenéticas del ovocito y la función esteroidea del folículo.

Así, los tratamientos superovulatorios ocasionan alteraciones en el desarrollo folicular y del ovocito, lo que resultará en óvulos o embriones de baja calidad.

FACTORES OVÁRICOS QUE INFLUENCIAN LA RESPUESTA A HORMONAS EXÓGENAS QUE INDUCEN LA SUPEROVULACIÓN

El crecimiento folicular durante el ciclo estral es continuo, hasta que el folículo ovula o sufre atresia⁴³, por lo tanto la población folicular varía a diario. Por ello se ha postulado que la variación individual de la respuesta superovulatoria está relacionada con la variabilidad del estado ovárico de cada animal al momento del tratamiento⁶⁴.

En bovinos se han determinado algunos factores ováricos que actúan sobre la respuesta ovulatoria a gonadotropinas. Monniaux, Chupin y Saumande⁴⁵, mencionan que factores numéricos y endocrinos intervienen sobre dicha respuesta. Al referirse a los primeros, estos investigadores informan que hay una alta correlación ($r = .86$) entre el número total de folículos en crecimiento en el ovario antes del tratamiento y el total de cuerpos lúteos (CL) y folículos luteinizados después del mismo. Tal correlación fue observada con diferentes clases de folículos (normales o atrésicos, preantrales o antrales); sin embargo, sólo la cantidad de CL no se correlacionó con ningún tipo de variable folicular medida antes del tratamiento. Asimismo, el número de folículos luteinizados se correlacionó con la suma de folículos atrésicos mayores de 0.5 mm de diámetro antes de la administración de la hormona, pero no con los demás tipos de folículos o con la suma de ellos. Es decir, existen ciertas relaciones en cuanto a número de variables foliculares que explican parte de la respuesta total a la superovulación.

Por otro lado, se ha mencionado que el estradiol 17- β folicular promueve la vascularización del folículo e incrementa el número de receptores a las gonadotropinas³¹; así, los folículos más activos, tienen mayor facilidad para captar moléculas de FSH. Después del tratamiento con gonadotropinas, los folículos mayores a 1.7 mm de diámetro en estado normal pueden crecer más rápido y secretar estradiol antes que aquellos del mismo tamaño con atresia temprana. Para estos últimos el pico preovulatorio de LH ocurre antes de que adquieran un estado de maduración que les permita ovular, por lo que sólo se luteinizan⁴⁵.

Existen otras sustancias foliculares no esteroideas que juegan un papel importante en

la regulación de la dinámica folicular, éstas son la inhibina⁴ y el factor inhibidor del crecimiento folicular⁵, ambas producidas por las células granulosa. La primera inhibe en forma específica la síntesis y liberación de la FSH y la segunda inhibe la mitosis de las células granulosa en folículos en crecimiento. Cummins y col., (citados por Bindon y col.⁵), mencionan que vaquillas Hereford que fueron inmunizadas a partir de los cuatro meses de edad contra inhibina, en parte purificada de fluido folicular ovino, una vez alcanzada la pubertad presentaron ciclos estrales más regulares y un aumento en el número de ovulaciones en cada ciclo (más de cinco). Lo anterior sugiere inmunizar en forma activa o pasiva contra tales sustancias foliculares, a las donadoras de embriones a fin de obtener una mejor respuesta ovárica⁵.

Podemos concluir que además de existir una clase folicular que responde al estímulo de las gonadotropinas exógenas (folículos preantrales normales y antrales mayores a 1.7 mm de diámetro), la cual varía entre los animales en un momento determinado, existen otros factores intraováricos que influirán en la respuesta superovulatoria definitiva.

DETERMINACION Y ESTIMACION DE LA RESPUESTA OVARICA A LA SUPEROVULACION

En la actualidad no es posible asegurar que una donadora suministrará un número uniforme de embriones transferibles en un momento determinado por la gran variación individual de la respuesta ovulatoria a los tratamientos; debida en gran medida al tratamiento seleccionado y a la diferente respuesta de los animales al mismo. Sin embargo, otra parte de esa variabilidad corresponde al método de estimación de la respuesta ovulatoria, por lo que es necesario conocer la precisión y los límites de las técnicas utilizadas con ese fin.

Para estimar la respuesta ovárica a la superovulación, por lo general se utiliza la palpación de los ovarios por el recto para contar los CL y los folículos grandes, al momento de la colección embrionaria. La endoscopia o bien, la observación directa de los ovarios son menos utilizadas⁴⁵. Al comparar estas tres técnicas, se observa una discrepancia en los resultados, en especial aquellos obtenidos por el examen tocológico²³. La precisión de la estimación por palpación rectal disminuye al incrementarse el número de ovulaciones y resulta por completo inadecuada cuando hay más de diez CL en un ovario; asimismo, es imposible distinguir entre un CL verdadero y un folículo luteinizado como este método. Es por eso que cuando se considera el número total de dichas estructuras lúteas, la relación entre este número y el de ovulaciones no es significativo⁴⁵. Estos últimos autores mencionan que el número de óvulos y embriones colectados es mejor estimador de la

respuesta ovulatoria al tratamiento, que el número de estructuras lúteas determinadas por palpación rectal.

También se ha tratado de correlacionar la tasa de ovulación con los niveles plasmáticos de progesterona posteriores a la ovulación. En el día ocho después del tratamiento hubo una buena relación entre la concentración de progesterona y el número de CL^{33,37}; sin embargo, la tasa de ovulación se estimó por conteo de las estructuras lúteas, con inclusión quizá de folículos luteinizados, que también secretan dicho esteroide¹³.

De manera similar, se ha observado que los niveles plasmáticos de estradiol 17- β , durante el pico preovulatorio, después del tratamiento con PMSG, están bastante correlacionados con el número de ovulaciones^{37,61,75}. Así la tasa de ovulación puede estimarse a partir de los niveles de estradiol plasmático alrededor de las 96 h después de la aplicación de las gonadotropinas.

Recién se ha propuesto la utilización de la ecografía de los folículos grandes al inicio del estro, para predecir el número de ovulaciones¹¹, así como de la ultrasonografía ovárica, para conocer el número de ovulaciones, tiempo de ovulación y el posible número de embriones a recuperar en animales superovulados⁸¹.

La precisión de estos últimos métodos es elevada, pero lo sofisticado de ellos limita su utilización. Como vemos, un estimador bastante confiable de la respuesta ovárica a la superovulación y que no implica un costo adicional, es el número de óvulos y embriones colectados.

PERFILES HORMONALES DURANTE LA SUPEROVULACION

A fin de comprender mejor la variación en la respuesta superovulatoria, se han realizado diversos estudios sobre mediciones hormonales después del tratamiento. En la Gráfica 1 se muestran los perfiles plasmáticos de progesterona⁷, estradiol⁶¹ y los picos preovulatorios de FSH y LH³², después de la superovulación con PMSG y prostaglandinas.

Progesterona. El patrón en plasma de este esteroide en vaquillas superovuladas con PMSG es similar al de los testigos, aunque en aquellas los niveles son más altos, en especial los días 12 (60 ng/ml) y 16 (100 ng/ml) del ciclo estral⁷. En el intervalo entre la administración de la PMSG y la aplicación de algún luteolítico, los valores de progesterona se incrementan en forma ligera⁷¹, lo cual pudiera deberse a la formación de tejido luteal en algunos folículos y a un aumento en la secreción adrenal de progesterona⁶⁰. Asimismo Jensen y col.²⁹, citan que los niveles plasmáticos de esa hormona durante el estro son mayores en los animales tratados con PMSG en comparación con los testigos (1.02 ng/ml vs 0.86 ng/ml). Dicho aumento puede ser

el resultado de la acción luteotrópica de la PMSG o bien, de la luteinización de algunos folículos que como se mencionó antes son capaces de secretar progesterona. En el período de la colección de embriones (días seis a ocho del ciclo) los niveles de progesterona alcanzan valores de 20.5 ng/ml²⁹. Los niveles tan elevados de este esteroide afectan la duración del ciclo estral, el cual dura de 28 a 34 días⁷, cuando no se administran prostaglandinas después de la colección embrionaria.

Estradiol. El incremento en la concentración de estradiol 17- β en el plasma de vaquillas superovuladas ocurre a las 24 h posteriores a la aplicación de PMSG, alcanzan el pico preovulatorio máximo (87.7 pg/ml) entre las 82 y 98 h después del tratamiento⁶¹. Después de ese pico, los niveles de estrógenos disminuyen y llegan a concentraciones de pretratamiento en las siguientes 24 a 26 h. En el 14% de los animales tratados, se observa un segundo pico de estradiol (150.6pg/ml) a los 3 días después del estro; ese aumento en la secreción del esteroide, puede deberse a la síntesis de estrógenos en los folículos en crecimiento estimulados por la PMSG residual en la sangre de los animales tratados. Schams y col.⁶⁶, mencionan que al tiempo de la descarga preovulatoria de gonadotropinas, aún se encuentra en la circulación entre el 40 y 60% de la concentración original de la PMSG, lo cual es suficiente para afectar el crecimiento folicular.

Los altos niveles de estradiol después de la ovulación, pueden modificar la motilidad del oviducto y el útero que causa un transporte más rápido de los embriones²⁴. Por otro lado, ese picopostovulatorio no ha sido observado cuando se superovula con FSH o se incluye en el tratamiento con PMSG el antisuero contra ésta.

Hormona luteinizante (LH). Los niveles basales de LH en el diestro (0.4 a 1 ng/ml) no se alteran por la superovulación con PMSG⁶¹; aunque sí hay diferencia en la duración y altura del pico preovulatorio entre hembras tratadas y testigos⁵³. En vacas tratadas con gonadotropinas la liberación de LH ocurre a las 42 h después de la aplicación de prostaglandinas¹⁹, mientras que en animales no superovulados dicha descarga ocurre a las 60 h posteriores al agente luteolítico²¹. Estos últimos autores mencionan que en hembras estimuladas con gonadotropinas, la duración del pico preovulatorio de LH es mayor (16 h) en comparación con las testigo (12 h).

El intervalo entre la manifestación de celo y la liberación de LH tiene efecto sobre la cantidad y calidad de los embriones. Así Donaldson¹⁹ encontró que las hembras en las que ocurrió un pico preovulatorio de LH en un período normal (dentro de las 4 h después de la aparición del estro), precoz (antes del estro) o tardío (más de 4 h después del estro) tuvieron 64, 40 y 16% de embriones transferibles en forma respectiva.

Jensen y col.²⁹, indican que los niveles de LH durante la descarga preovulatoria son mayores en vacas no tratadas (31.8 ng/ml) que en las superovuladas. Y dentro de éstas últimas, aquellas con niveles mayores de LH (24.2 ng/ml) tendrán una respuesta ovulatoria más alta en comparación con las que presenten niveles menores de LH (16.3 ng/ml). Esas diferencias pueden relacionarse con las concentraciones de progesterona al momento del estro ya que como se ha mencionado, las hembras superovuladas tienen mayores concentraciones de progesterona al momento del estro que las no tratadas, lo cual puede inhibir o bloquear la liberación de LH. Asimismo, una producción deficiente de LH puede afectar la maduración del ovocito y la ovulación, y con ello la fertilización y el porcentaje de embriones transferibles.

Hormona folículo estimulante (FSH). Kweon y col.³², observaron que los niveles medios del pico preovulatorio de FSH fueron de 67.4 \pm 29.2 ng/ml después de la superovulación con PMSG, y de 85.2 \pm 23.1 ng/ml posteriores al tratamiento con FSH sin existir diferencia entre ambos valores.

Aunque de manera general los picos preovulatorios de LH y FSH coinciden en los animales tratados con gonadotropina, la liberación de FSH puede ocurrir antes o después de la de LH; cuando sucede esto último la producción de embriones será menor en comparación con la obtenida al producirse una descarga previa o simultánea de FSH¹⁹. Del mismo modo, este autor señala que las hembras que presentaron el pico de FSH después de 4 h de haberse iniciado el celo tuvieron 43% de embriones transferibles, en las que dicho pico ocurrió dentro de las cuatro primeras horas del estro. El porcentaje fue de 23%, y en aquellas que lo tuvieron antes de manifestarse el celo, el valor fue de 17%.

Al parecer, se requieren picos preovulatorios normales de las gonadotropinas para una óptima producción de embriones en vacas superovuladas.

HORMONAS UTILIZADAS PARA SUPEROVULACION

La administración de gonadotropinas exógenas, tanto de origen coriónico como pituitario, es el recurso utilizado con más frecuencia para inducir superovulación.

Utilización de la PMSG. La larga vida media de la PMSG (50 a 120 h en bovinos), hace que ésta pueda ser administrada en una sola inyección⁶⁶. Sin embargo, dicha propiedad puede tener la desventaja de provocar un excesivo grado de desarrollo folicular en algunos animales, lo cual ocasiona efectos indeseables como: elevada producción de estrógenos, fallas de ovulación y fertilización. Para eliminar tales efectos se han utilizado anticuerpos contra esta

hormona; así, Dhondt y col. 15 al administrar 1 ml de antisuero de PMSG el día del celo, obtuvieron un mayor número de ovulaciones, se incrementó la tasa de utilización y hubo un período de estro menor, en comparación con los animales que no recibieron el antisuero. Tales efectos se deben a que el antisuero neutraliza a la PMSG que permanece en circulación el día del celo¹⁵ lo que impide el desarrollo folicular y la síntesis de estrógenos, que pudieran ser propiciados por la hormona residual en la etapa postovulatoria. Cabe mencionar que el antisuero no interfiere con la liberación de LH⁶⁵.

Las dosis de PMSG empleadas para provocar superovulación en bovinos varían de 1500 a 4000 UI^{7, 11, 15, 71}. Por lo general las vaquillas sólo requieren de 1500 a 1800 UI de PMSG⁷⁵.

Hace algunos años, la PMSG era administrada cinco días antes de esperar el siguiente celo sin embargo, el intervalo entre la inyección de PMSG y la presentación del estro varía entre los animales tratados, lo cual afecta las tasas de ovulación. Con el advenimiento de las prostaglandinas y de los estudios que informaron que la prostaglandina F₂ alfa (PG) era luteolítica en bovinos y la fertilidad del estro sincronizado era normal^{34 73}, el intervalo entre la aplicación de la PMSG y el calor, pudieron controlarse. El lapso entre el tratamiento con PMSG y la inyección de PG es por lo común de 40 a 48 h. Cuando se administra la PG a intervalo de 24 h no se detectan cambios en la respuesta ovulatoria² con respecto a los horarios anteriores; pero cuando se aplica el mismo día de la administración de la PMSG, se reduce la tasa de ovulación^{25, 26}. La presentación del estro en animales estimulados con PMSG y PG es del 66 al 88%, el resto no lo manifiesta, aunque la ovulación ocurre en la mayoría de las hembras tratadas³.

Del mismo modo, se han utilizado progestágenos en combinación con estradiol para controlar el ciclo estral en animales superovulados con PMSG, con resultados de sincronización y tasas de ovulación similares a los obtenidos con PG o sus análogos^{72, 74}.

Utilización de FSH. La PMSG ha sido la hormona más utilizada en la superovulación de los animales domésticos; sin embargo, la FSH tiende a sustituirla, debido a que se obtienen resultados superiores en cuanto al número de ovulaciones y embriones transferibles. Debido a que la corta vida media de la FSH es de sólo 2 a 4 h en bovinos¹, es necesario aplicarla con frecuencia para provocar la superovulación. Varias investigaciones han llegado a determinar que el mejor esquema para aplicar la FSH, es dividir la dosis total (30 a 45 mg) en ocho fracciones decrecientes y aplicarlas por vía intramuscular (IM) a intervalos de 12 h^{12, 52, 70}. La PG puede ser aplicada en forma indistinta a las 48 o 72 h de iniciado el tratamiento⁵⁹. Por otro lado Donaldson¹⁶, menciona que al aplicar la dosis total de PG en tres fracciones a intervalos

de 6 h, se obtiene una mejor sincronización y más embriones transferibles, que si se administra una o dos veces al día.

A fin de aumentar su permanencia en la sangre, la FSH se ha incorporado en vehículos con 3.2% de gelatina protéica o 1% de carboximetil celulosa¹². Sin embargo, los efectos no fueron significativos y al parecer los aditivos incrementaron la variabilidad en la tasa de ovulación.

Dentro de los tratamientos superovulatorios se ha utilizado el factor liberador de gonadotropinas (GnRH), o sus análogos, con el objetivo de controlar la liberación de la LH y obtener un pico preovulatorio adecuado que coincida con la presentación del celo^{54 77}. Sin embargo, el empleo de dichos compuestos no mejoró la respuesta ovárica a la superovulación. Cabe mencionar que las preparaciones de FSH se encuentran contaminadas en menor o mayor grado con LH y que a medida que se incrementa la proporción de ésta última, el número de embriones colectados y transferibles disminuye¹⁰.

Utilización de gonadotropina menopáusica humana (HMG) y extracto pituitario equino (EPE). La HMG provoca una menor variación en la respuesta ovárica individual cuando se compara con la PMSG³⁵. Se ha determinado que la vida media del componente de la HMG con actividad similar a la LH (hLH) es menor al de actividad parecida a la FSH (hFSH)³⁶. Ello puede influir de manera favorable en la maduración folicular, ya que la desaparición del componente hLH de la HMG puede favorecer a la actividad de la hFSH sobre las estructuras foliculares. Al respecto, Richards⁵⁸ menciona que la LH tiene un efecto inhibitorio sobre el número de receptores en células granulosas para FSH, LH y estradiol en los folículos en desarrollo.

La dosis óptima para inducir superovulación en bovinos con HMG es de 2100 UI, la mitad de las cuales son hFSH y el resto hLH³⁶.

El EPE puede utilizarse de manera efectiva para la superovulación de vacas. Danner y Oxender¹⁴, citan que el esquema adecuado de tratamiento con este producto es la aplicación de 4500 UI en tres fracciones decrecientes a intervalos de 24 h cada una de ellas.

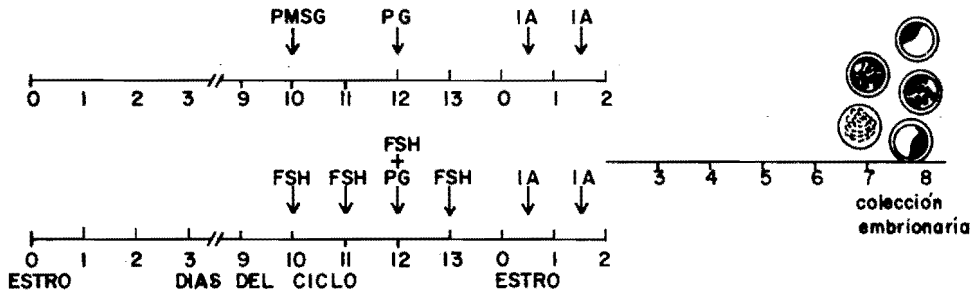
Es importante señalar que el tratamiento con cualquiera de las gonadotropinas antes mencionadas (PMSG, FSH, HMG, EPE), se inicia en el día 10 u 11 del ciclo estral. Esto se debe a que al comenzar la superovulación en esos días, se obtienen mayores tasas de ovulación, en comparación con el inicio del tratamiento antes o después de los mismos³⁸.

INSEMINACION ARTIFICIAL (IA) EN VACAS SUPEROVULADAS

Debido a que las ovulaciones se distribuyen en un período de 18 h⁸⁰ y a que el transporte de los

FIGURA 1

Esquemas de tratamientos superovulatorios con utilización de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) u hormona folículo estimulante (FSH) y prostaglandina F₂alfa (PG).



óvulos puede ser afectado por el tratamiento con gonadotropinas, se han realizado estudios tendientes a determinar el régimen óptimo de IA en vacas superovuladas.

Con utilización de ganado tipo europeo, West y col.,⁷⁹ al inseminar a las 12; 12 y 24 o 0, 12 y 24 h de detectado el celo con una dosis de semen, no encontraron diferencias estadísticas entre los tres períodos de IA con respecto a los porcentajes de fertilización y embriones transferibles. En forma similar Schiewe, Voelkel y Godke⁶⁷, al comparar el efecto de inseminar a las 12 o 24 h después del calor, con una o dos dosis de semen congelado en cada horario, observaron que el servicio con una dosis a las 24 h resultaba en tasas de fertilización y embriones transferibles similar a los obtenidos con dos dosis a las 12 o 24 h posteriores al estro. De estos estudios se concluye el esquema más conveniente para realizar la IA en vacas de tipo europeo superovuladas, es servirles a las 12 y 24 h postcalor con una dosis de semen en cada ocasión. En la Figura 1 se resumen los eventos necesarios para lograr la superovulación, sincronización y fertilización en una vaca donadora de embriones, tratada con PMSG o FSH y PG.

ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA OVARICA A LA SUPEROVULACION.

Aunque se considera que la población folicular existente al momento del tratamiento superovulatorio es el factor más importante en la variabilidad de la respuesta ovárica, existen sin

embargo varios factores intrínsecos y extrínsecos que pueden afectar dicha respuesta.

Superovulación repetida. El tratamiento repetido con la misma gonadotropina en un individuo causa una disminución de la respuesta superovulatoria en conejos⁵⁷ ovejas⁵¹ y terneras²⁷. Con respecto a vaquillas púberes y vacas, existe discrepancia en la literatura. Mientras que algunos investigadores,^{20,62,78} citan un descenso en la respuesta ovárica al incrementar el número de tratamientos superovulatorios, en otros estudios^{39,48,68}, esto no sucede. Lo más recomendable es que una donadora sea superovulada dos o tres veces, antes de descartarla de un programa de superovulación por respuesta ovulatoria deficiente.

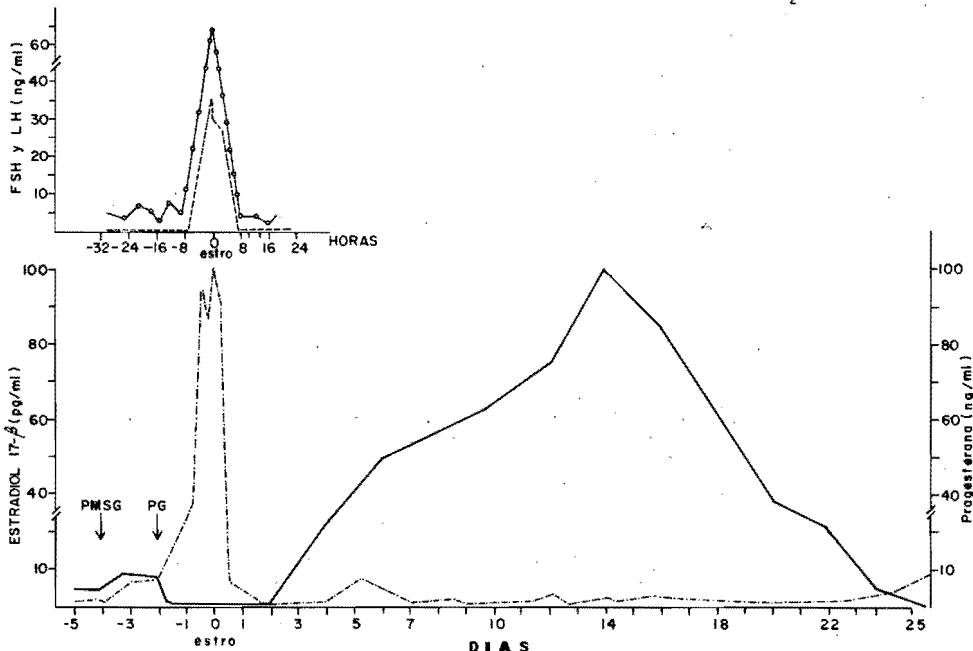
Factores genéticos. Los efectos genéticos sobre la superovulación en bovinos, no están tan bien documentados como en ovinos³⁰. Sin embargo, hay evidencia de que la progenie de sementales cuyas madres tuvieron alto mérito fenotípico para producción de gemelos fueron más sensibles a la PMSG que la progenie de sementales seleccionados de ganado comercial⁷⁶.

Por otro lado, la raza como fuente de variación tiene efecto sobre el número total de embriones y embriones transferibles¹⁷. Mariana y col.⁴², observaron que la raza Holstein Friesian tuvo una respuesta ovulatoria menor a la PMSG, que razas bovinas productoras de carne como la Charolais.

Nutrición. Algunos compuestos que incrementan los niveles de propionato, como la monensina sódica, pueden mejorar el comportamiento reproductivo de la vaca. Randel y Rhodes

GRAFICA 1.

Perfiles de progesterona (—), estradiol (....), hormona folículo estimulante (-o-o-) y hormona luteinizante (- - -), después de la superovulación. Las flechas indican el momento en que se aplicaron la gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y la prostaglandina F₂alfa (PG).



⁵⁶, citan que hubo mayor número de CL en animales superovulados y que recibieron la monensina (200 mg por cabeza al día) con respecto a los testigos. En otro estudio se observó que a pesar de tener más CL en el grupo que recibió dicho compuesto, el número de embriones colectados no fue diferente al del testigo⁵⁰. Por otro lado, Saumande y Chupín⁶³, informan que mientras en un experimento obtuvieron mayor número de CL en las hembras a las que suministraron monensina, en otro trabajo con los mismos tratamientos no hubo diferencia alguna.

Al parecer, la adición de monensina sódica a dietas de vacas donadoras de embriones no mejorará la producción de los mismos.

Edad. En un principio Donaldson¹⁸ observó que en hembras con más de nueve años de edad había una disminución en la viabilidad de los óvulos, pero no en su producción. Más tarde Lerner y col.,³⁸ detectaron un efecto de la interacción entre la edad de la donadora y la dosis de FSH sobre la respuesta al tratamiento superovulatorio. Estos autores mencionan que al aplicar dosis bajas de FSH (30 mg) a vacas viejas (12.3 a 16 años) el número de óvulos y embriones colectados es menor que cuando esos animales reciben dosis mayores de FSH (44 mg). Es decir, a mayor edad de las donadoras el incremento en la dosis de FSH se

asocia con un aumento en el total de óvulos y embriones. Por el contrario, en hembras jóvenes el incremento en la dosis de FSH tiene un efecto negativo. Por lo tanto, la edad de las donadoras es un factor que debe considerarse en aquellos estudios que pretenden examinar la respuesta superovulatoria y mejorar los regímenes de superovulación.

Distintos lotes de las preparaciones gonadotrópicas. Los compuestos hormonales que por lo común se utilizan para la superovulación en bovinos son la PMSG y la FSH de origen porcino. Estos, así como otros agentes superovulatorios, presentan una fuente de variación en la respuesta a la superovulación. Existe gran variedad en la actividad similar a la de LH y FSH de la PMSG, no sólo entre yeguas preñadas, sino en los diferentes estadios de la gestación²⁴. Se ha observado una mayor respuesta ovárica cuando las preparaciones de PMSG tienen una alta actividad de FSH, en comparación con la de LH, que cuando la proporción de estas actividades es inversa²⁸. Del mismo modo, las actividades de LH y FSH de las presentaciones comerciales de FSH varían entre diferentes lotes⁹.

Así pues, la diversidad de los productos hormonales también contribuye a la variación total de la respuesta ovárica individual.

Como se ha visto a lo largo de esta presentación, existen numerosos factores que contribuyen a una alta variabilidad en la respuesta a los tratamientos superovulatorios; quizá los más importantes sean los de origen ovárico. Esto último implica que por el momento dicha variación no pueda ser reducida en su totalidad, por lo que esta limitante tiene que compensarse con el mejoramiento en otros pasos de la técnica de transferencia embrionaria como son: los métodos de colección de embriones, de transferencia o de congelación de los mismos.

SUMMARY

The objective of this paper is analyse, summarize and obtain conclusions about published information concerning to superovulation in cows. One of the limitations in the embryo transfer technique, is the great individual variation in the ovarian response due to the administration of gonadotrophins. With the objective to understand the causes of this variation in order to propose alternatives to reduce it, many investigations have been pursued in areas like, folliculogenesis during the superovulation process, endocrinology of superovulated cows, hormone compounds and superovulation treatments schemes. In the same way, the effect of some extrinsic factors (stress, nutrition, etc) and intrinsic (age, race, etc) on the ovarian response to the gonadotrophins stimulation has been determined.

LITERATURA CITADA

- 1 AKBAR, A.M., NETT, R.M., and NISWENDER, G.D., 1974. Metabolic clearance and secretion rates of gonadotropins at different stages of the estrus cycle in ewes. **Endocrinology**. 94:1318.
- 2 ANDERSON, L.L., and PARKER, R.O., 1976. Calves produced by surgical transfer of embryos. **J. Anim. Sci.** 42:1359.
- 3 BETTERIDGE, K.J., 1977. Embryo transfer in farm animals. A review of techniques and applications. Canada Department of Agriculture, Monograph 16, p. 6.
- 4 BINDON, B.M., 1984. Reproductive biology of the Booroola Merino sheep. **Aust. J. Biol. Sci.** 37:163.
- 5 BINDON, B.M., PIPER, L.R., CAHILL, L.P., DRIANCORUT, M.A., and O'SHEA, T., 1986. Genetic and hormonal factors affecting superovulation. **Theriogenology**. 25:53.
- 6 BOLT, D.J., 1979. Reduction by human Chorionic gonadotrophin of the luteolytic effect of prostaglandin $F_2\alpha$ in ewes. **Prostaglandins**. 18:387.
- 7 BOOTH, W.D., NEWCOMB, R., SRANGE, H., ROWSON, L.E.A., and SACHER, H.B., 1975. Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. **Vet. Rec.** 8:366.
- 8 CALLESEN, H., GRAVE, T., and HYTTEL, P., 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. **Theriogenology**. 25:71.
- 9 CHUPIN, D., COMBARNOUS, Y., and PROCUREUR, R., 1984. Antagonistic effect of LH on FSH induced superovulation in cattle. **Theriogenology**. 21:229.
- 10 CHUPIN, D., COMBARNOUS, Y., and PROCUREUR, R., 1985. Different effect of LH on FSH induced superovulation in two breeds of cattle. **Theriogenology**. 23:184.
- 11 CHUPIN, D., and PROCUREUR, R., 1983a. Prediction of bovine ovarian response to PMSG by ultrasonic echography. **Theriogenology**. 19:119.
- 12 CHUPIN, D., and PROCUREUR, R., 1983b. Efficiency of pituitary extracts (FSH) for induction of superovulation in cattle. **Anim. Reprod. Sci.** 6:11.
- 13 CRAN, D.G., 1983. Follicular development in the sheep after priming with PMSG. **J. Reprod. Fert.** 67:415.
- 14 DANNER, M.L. and OXENDER, W.D., 1980. Efficacy of an equine pituitary extract to superovulate cows. **Theriogenology**. 13:94.
- 15 DHONT, O., BOUTERS, R., SPINCEMAILLE, J., CORYN, M., and VANDEPLASSCHE, M., 1978. The control of superovulation in the bovine with a PMSG antiserum. **Theriogenology**. 9:529.
- 16 DONALDSON, L.E., 1983. The effect of prostaglandin $F_2\alpha$ treatments superovulated cattle on estrus response and embryo production. **Theriogenology**. 20:279.
- 17 DONALDSON, L.E., 1984a. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. **Theriogenology**. 21:1013.
- 18 DONALDSON, L.E., 1984b. Embryo production in superovulated cows: Transferable embryos correlated with total embryos. **Theriogenology**. 21:517.

- 42 MARIANA, J.C., MAULEON, P., BENOIT, M., and CHUPIN, D., 1970. Variability and repeatability of the number of ovulations obtained after injection of 1600 I.U. PMSG and 1500 U.I. HCG. *Annls. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 10:47.
- 43 MATTON, P., ADELAKOUN, V., COUTURE, Y., and DUFOUR, J.J., 1981. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 52:813.
- 44 McNATTY, K.P., GIBB, M., DOBSON, C., BALL, K., COSTER, J., HEATH, D., and THURLEY, D.C., 1982. Preovulatory follicular development in sheep treated with PMSG and prostaglandin. *J. Reprod. Fert.* 65:111.
- 45 MONNIAUX, D., CHUPIN, D., and SAUMANDE, J., 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19:55.
- 46 MANNIAUX, D., MARIANA, J.C., and GIBSON, W.R., 1984. Action of PMSG on follicular populations in the heifer. *J. Reprod. Fert.* 70:243.
- 47 MOOR, R.M., CAHILL, L.P., STEWART, F., 1980. Ovarian stimulation or egg production as a limiting factor of egg transfer. IX Intern. Cong. Anim. Reprod. Insem. 1:43.
- 48 MOOR, R.M., KRUIP, A.M., and GREEN, D., 1984. Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation. *Theriogenology* 21:103.
- 49 MOOR, R.M., and TROUNSON, A.O., 1977. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes *in vitro* and their subsequent development capacity. *J. Reprod. Fert.* 49:101.
- 50 ORTUNO, A.M., and CARSON, R.L., 1985. The effects of dietary monensin sodium upon superovulation and embryo viability from mature cows. *Theriogenology* 23:743.
- 51 PAULSSON, H., 1962. Augmentation of fertility of Iceland ewes with pregnant mare serum in successive years. *J. Reprod. Fert.* 3:55.
- 52 PAWLYSHYN, V., LINDSELL, C.E., BRAITHWAITE, M., and MAPLETOFT, R.J., 1986. Superovulation of beef cows with FSH-P; a dose response trial. *Theriogenology* 25:179.
- 53 PHILIPPO, M., and ROWSON, L.E.A., 1975. Prostaglandin and superovulation in the bovine. *Ann. Biol. Anim. Bloch. Biophys.* 15:233.
- 54 PRAÇO, A., ELSDEN, R.P., and SEIDEL, G.E. Jr., 1984. Effects of GnRH on response to superovulation in cattle. *Theriogenology* 21:259.
- 55 RAJAKOSKI, E., 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. *Acta Endocr., Copenh. Suppl.* 52:1
- 56 RANDEL, R.D., and RHODES III, R.C., 1980. The effect of dietary monensin on the luteinizing hormone response of prepuberal heifers given a multiple gonadotrophin releasing hormone challenge. *J. Anim. Sci.* 51:925.
- 57 REEL, J.R., RONALD, R., HUMPHREY, M.S., and DERMODY, M.S., 1976. Luteinizing hormone releasing hormone versus human chorionic gonadotrophin: Differential effect on the development of ovulatory refractoriness and antibodies. *Fertil and Steril.* 27:59.
- 58 RICHARDS, J.S., 1980. Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol. Rev.* 60:51.
- 59 RODRIGUEZ, J.L., and GREGORY, R.M., 1986. Superovulatory response in cows following administration of FSH-P and prostaglandin. *Theriogenology* 25:190.
- 60 SASHIDA, T., and JOHNSON, D.C., 1976. The response of the immature rat ovary to gonadotrophins: acute changes in cyclic AMP, progesterone, testosterone, androstenedione and oestradiol after treatment with PMS or FSH-LH. *Acta Endocr (Kbh)* 82:413.
- 61 SAUMANDE, J., 1980. Concentrations of luteinizing hormone, oestradiol 17 Beta and progesterone in the plasma of heifers treated to induce superovulation. *J. Endocr.* 84:425.
- 62 SAUMANDE, J. and CHUPIN, D., 1977. Superovulation: A limit to egg transfer in cattle. *Theriogenology* 7:141.
- 63 SAUMANDE, J. and CHUPIN, D., 1986. The effect of monensin on ovarian response of cyclic heifers to a superovulatory treatment. *Theriogenology* 25:193.
- 64 SAUMANDE, J., CHUPIN, D., MARIANA, S.C., ORTAVANT, R. and MAULEON, M., 1978. Factors affecting the variability of ovulation rates after PMSG stimulation. In:

- Control fo reproduction in the cow. Ed. J. M. Sreenan. *The Hague*, M. Nijhoff, 195.
- 65 SAUMANDE, J., PROCUREUR, R., and CHUPIN, D., 1984. Effect of injection time of anti-PMSG antiserum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cows. *Theriogenology* 22:727.
- 66 SCHAMS, D., MENZER, CH., SCHALLEMBERGER, F., HOLFMAN, B., HAFIN, J., and HAHN, R., 1978. Some studies on pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle. In Current topics in Veterinary Medicine L. Ed. J. M. Sreenan. *The Hague*, M. Nijhof, 122:143.
- 67 SCHIEWE, M.C., VOELKEL, S.A., and GODKE, R.A., 1985. Artificial Insemination (IA) of superovulated beef cattle with a single insemination of frozen semen. *Theriogenology*. 23:228.
- 68 SCHLERCHOFER, J.F., and LODGE, J.R., 1983. Repeated superovulation of dairy cattle. *J. Anlm. Sci.* 57 (Suppl. 1):101.
- 69 SEIDEL, G.E., Jr., BOWEN, J.M., HOMAN, N.R., and OKUN, M.E., 1975. Fertility of heifers with sham embryo transfer thought the cervix. *Vet. Rec.* 97:307.
- 70 SNYDER, D.A., 1986. Superovulation of cows and heifers selected for twinning. *Theriogenology*. 25:200.
- 71 SOLTI, L., GREVE, T., and KOEFOED-JOHNSON, H.H., 1978. Plasma progesterone assays in superovulated cattle. *Acta Vet. Scand.* 19:298.
- 72 SPRIGMANN K., HOLTZ, W., and ZEROBIN, K., 1986. Hormonal imbalances after superovulation of beef heifers with PMSG. *Theriogenology* 21:201.
- 73 STELLFLUG, J.N., LOUIS, T.M., SEGUIN, B.E., and HAFS, H.D., 1973. Luteolysis after 30 or 60 mg PGF_{2α} (tham salt) in heifers. *J. Anlm. Sci.* 37:330.
- 74 TENBIEMBERG, H., SZLVASSY, B., KRUFF, B., POKORNY, R., and HUNZIKER, F., LEHRSTUHL., 1984. Different methods of synchronizing embryo transfer donor cows. *Theriogenology*. 21:267.
- 75 TESTART, J., KANN, G., SAUMANDE, J., and THIBIER, M., 1977. Oestradiol - 17 Beta, progesterone, FSH and LH in superovulated prepuberal calves. *J. Reprod. Fert.* 51:329.
- 76 THIMONIER, J.T., BINDON, B.M., and PIPER, L.R., 1979. Ovarian response to PMSG in cattle selected for twinning. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 11:5.
- 77 VOSS, H.J.S., ALLEN, J., AQUADRO, P., and FOOTE, R.H., 1986. Incorporation of a GnRH analogue into a superovulatory regimen for dry Holstein cows. *Theriogenology*. 25:210.
- 78 WARFIELD, S.J., SEIDEL, G.E. Jr., and ELSDEN, R.P., 1986. A comparison of two FSH regimens for superovulation cows and heifers. *Theriogenology*. 25:213.
- 79 WEST, G., WEST, CH., DASLEY, D., and DONALDSON, L.E., 1984. Effect of breeding regimen on percent ova fertilized in superovulated cows. *Theriogenology*. 21:273.
- 80 YADAV, M.C., LESLIE, K.E., and WALTON, J.S., 1985. The onset and duration of ovulation in superovulated beef heifers. *Theriogenology*. 23:237.
- 81 ZALESKY, D.D., THAYER, K.H., FOWEST, D.W., WELSH, T.H. Jr., BONDIOLI, K.R., LOONEY, C.R., and HILL, K.G., 1986. Relationship between endocrine and ultrasound evaluation of ovulation in superovulated cows. *Theriogenology*. 25:220.