

Artículo corto:

EFECTO DE TRATAMIENTOS CON BENZOATO DE ESTRADIOL Ó GnRH SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR PARA ASPIRACIÓN DE FOLÍCULOS (Ovum pick up) GUIADA POR ULTRASONIDO EN VACAS LECHERAS

Effect of treatment with estradiol benzoate ó GnRH on dynamic follicular for suction follicles (ovum pick up) guided by ultrasound in dairy cows

C. Quispe¹; J. Mercado¹; E. Fernández²; E. Mixan²; S. Gamarra², E. Mellisho¹.

¹Laboratorio de Biotecnología Reproductiva "Carlos Rodríguez Villegas",

²Unidad Experimental de Zootecnia "Renato Zepilli F"

Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú

E-mail (Carlos Quispe): carloseqe_vet@hotmail.com

RESUMEN

ABSTRACT



Los ovarios de una vaca tiene una fuente abundante de ovocitos y en condiciones naturales menos del 0.1% de los folículos llegan a ovular. El uso de ultrasonografía transvaginal para aspirar ovocitos de ovarios de vacas post parto, puede ser usado en programas de producción de embriones *in vitro*. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de dos tratamientos, benzoato de estradiol y GnRH en fase luteal simulada sobre la dinámica folicular. Se utilizaron 14 vacas Holstein post parto de 50 a 120 días en lactación, manejadas en sistema intensivo. Los tratamientos fueron asignados al azar en dos grupos. En el grupo de BE (n=7), al día "0" se insertó un dispositivo intravaginal DIB, se aplicó 1.2 mg de BE (i.m.) y 0.524 mg de prostaglandina F2a (i.m.). En el grupo GnRH (n=7), al día "0" se insertó un dispositivo intravaginal DIB, se aplicó 0.024 mg de GnRH (i.m.) y 0.524 mg de prostaglandina F2a (i.m.). La evaluación del crecimiento folicular fue realizada en todos los animales, mediante ecografía transvaginal antes de la aplicación del tratamiento al día 0 y post tratamiento hormonal al día 4. Los resultados indican que hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el número de folículos de 2 a 4 mm (7.7 y 4.4) para los grupos BE y GnRH, respectivamente, además para folículos de 4 a 8 mm (3.7 y 2.4) y para folículos mayores a 8 mm no se hallaron diferencias ($P \leq 0.05$) para los grupos BE y GnRH, respectivamente. En conclusión, la sincronización de la onda folicular en vacas post parto utilizando BE en lugar de GnRH, favorece el desarrollo de un mayor número de folículos entre 2 a 4 mm, ideales para aspiración folicular.

Palabras clave: Bovinos, sincronización, folículo, ultrasonido

The ovaries of a cow have an abundant source of oocytes and in natural conditions less than 0.1% of the follicles ovulate. The use of transvaginal ultrasound to aspirate oocytes from ovaries of cows post calving can be used in programs of *in vitro* embryo production. The objective was to evaluate the effect of two treatments, estradiol benzoate and GnRH in luteal phase simulated on follicular dynamics. 14 postpartum Holstein cows from 50 to 120 days in milk, managed in intensive system were used. Treatments were randomized into two groups. In the BE group (n = 7), day "0" DIB an intravaginal device was inserted, 1.2 mg of BE (im) was applied and 0.524 mg of prostaglandin F2a (im). In the GnRH group (n = 7), the "0" day intravaginal device was inserted DIB, 0.024 mg of GnRH (im) was applied and 0.524 mg of prostaglandin F2a (i.m.). The assessment of follicular growth was performed in all animals by transvaginal ultrasound before treatment application at day 0 and after hormonal treatment day 4. Results indicate that there were significant differences ($P \leq 0.05$) in the number of follicles of 2-4 mm (7.7 and 4.4) for BE and GnRH groups, respectively, in addition to follicles of 4-8 mm (3.7 and 2.4) and for older follicles 8 mm no differences found ($P \leq 0.05$) for BE and GnRH groups, respectively. In conclusion, the synchronization of follicular wave postpartum in cows using BE instead GnRH favors the development of a greater number of follicles between 2-4 mm, ideal for follicular aspiration.

Keywords: Bovine, synchronization, follicle, ultrasound

INTRODUCCIÓN

En bovinos los ovarios al nacimiento presentan más de 133,000 folículos primordiales (Erickson, 1966; Godsén y Telfer, 1987; Picton 2001) y en condiciones naturales, menos del 0.1% de los folículos llegan a ovular (Godsén y Telfer, 1987). En consecuencia aprovechar eficientemente ésta fuente de folículos con programas de producción de embriones *in vitro* (PIV) es muy interesante, en especial si consideramos el desarrollo de la onda folicular y las fases de reclutamiento, crecimiento y regresión de los folículos, que influyen directamente en la calidad de los ovocitos.

La aspiración de los folículos ováricos por vía transvaginal guiada por ultrasonografía (Ovum Pick-up, OPU) fue descrita por primera vez por Pieterse *et al.* (1988) y se ha convertido en una de las alternativas para incrementar la tasa reproductiva de la hembra con la producción eficiente de embriones *in vitro*. En la actualidad los laboratorios *in vitro* bien manejados logran una tasa de blastocistos alrededor de 35% a partir de ovocitos viables recuperados, lo que implica que al momento de la aspiración folicular las donadoras deberían tener la máxima cantidad de folículos entre 4 a 8mm de diámetro, que permita incrementar la eficiencia en la recuperación de ovocitos.

Varios protocolos de sincronización de reclutamiento folicular y súper estimulación ovárica han sido utilizados haciendo uso de GnRH, estradiol, FSH, eCG y r-bST con el objetivo de incrementar la población folicular de 4 a 8mm de diámetro previo a OPU (De Roover *et al.*, 2008; Perez, 2003).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de dos tratamientos estradiol y GnRH en fase luteal simulada sobre la dinámica folicular, en función a la cantidad de folículos reclutados post tratamiento en vacas Holstein post parto, para la aspiración folicular de ovocitos guiada por ultrasonografía.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Unidad Experimental de Zootecnia "Renato Zeppilli Ferraza" de la Universidad Agraria la Molina, Lima. Se utilizaron 14 vacas de la raza Holstein, criadas en sistema intensivo, de 50 a 120 días en lactación post parto con un promedio de producción de lote de 36 kg/leche/día. Se consideraron vacas cíclicas en condición corporal no menor a 2.5 ni mayor a 4, sin problemas

Los tratamientos fueron asignados al azar y se formaron dos grupos de animales (ver figura 1). El primer grupo de BE (n=7), al día "0" se insertó un dispositivo intravaginal DIB (1gr de progesterona, Syntex®, Argentina), aplicó (i.m.) 1.2 mg de BE (Estrovet®, Montana) y 0.524 mg de cloprostenol sódico (Lutaprost®, AgrovvetMarket). El segundo grupo de GnRH (n=7), al día "0" se insertó un dispositivo intravaginal DIB, aplicó (i.m.) 0.024 mg de GnRH (Buserelina acetato, Conceptase®, AgrovvetMarket) y 0.524 mg de cloprostenol sódico.

A ambos grupos de animales se realizó ecografía intravaginal (ECO) al día 0 y 4 para evaluar la dinámica folicular y crecimiento de folículos post tratamiento hormonal. Para la toma de imágenes se utilizó un ecógrafo DP – 50 vet (Mindray®, China) con transductor micro convexo a una frecuencia de 7.5 MHz vía transvaginal con una guía de

aspiración folicular (WTA®, Brasil). Las variables en evaluación fueron conteo de número de folículos de 2 a 4 mm, 4 a 8 mm y mayores de 8mm de diámetro, asimismo la presencia/ausencia de cuerpo lúteo en el ovario.

El análisis estadístico fue realizado con el programa SAS V8, las variables fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de medias usado fue DLS con un nivel de significancia de p=0.05.

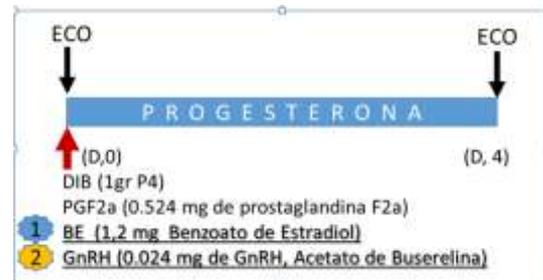


Figura 1: Protocolo de sincronización de onda folicular con (1) BE y (2) GnRH, en fase de progesterona y lisis de cuerpo lúteo existente.

RESULTADOS

Los datos de conteo de folículos encontrados en la revisión ecográfica post tratamiento hormonal se muestran en la tabla 1. Existe mayor número de folículos de 2 a 4 mm de diámetro en el grupo BE (7.7) versus el grupo GnRH (4.4) (P < 0,05). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en número de folículos de 4 a 8mm y mayores a 8 mm de diámetro (ver tabla 1).

Tabla 1. Efecto de dos tratamientos BE y GnRH en el conteo de folículos 2 a 4mm, 4 a 8mm y mayores a 8mm.

Grupo	n	Día "0" (Inicio de tratamiento)			Día "4" (Evaluación Final)		
		Fol. 2 a 4mm (media ±SEM)	Fol. 4 a 8mm (media ±SEM)	Fol. > 8mm (media ±SEM)	Fol. 2 a 4mm (media ±SEM)	Fol. 4 a 8mm (media ±SEM)	Fol. > 8mm (media ±SEM)
BE	7	2.7±3.3	2.6±2.2	1.8±0.7	7.7±2.0 ^a	3.7±2.9 a	1.4±1.1 a
GnRH	7	5.0±4.0	1.0±1.1	1.3±0.7	4.4±1.9 ^b	2.4±1.8 a	1.7±0.7 a

^{a,b} Letras diferentes dentro de una misma columna muestran diferencias significativas (P < 0.05).

La presencia de cuerpo lúteo al inicio del protocolo (día, 0) de tratamiento hormonal fue 47 y 53%, en los grupos BE y GnRH, respectivamente, demostrando que las vacas estaban ciclando, sin embargo, esta proporción cambió a la evaluación ecográfica del día, 4 y solo se encontraron la presencia de cuerpo lúteo en el 14 y 28% de las vacas de los grupos BE y GnRH, respectivamente.

DISCUSIÓN

El uso de tecnología reproductiva, tal como ultrasonografía transvaginal guiada para aspirar ovocitos de ovarios de vacas post parto, puede ser usado en programas de producción de embriones *in vitro*. Usando esta técnica los ovocitos pueden ser obtenidos de vacas en diferente estado fisiológico, así como también de vacas gestantes y vacas con problemas reproductivos (Kruip *et al.*, 1991).



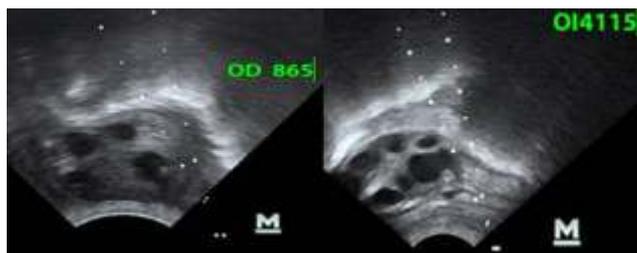


Figura 2. Efecto de dos tratamientos BE y GnRH en la presencia de folículos. Izquierda: Ovarios con varios folículos. Derecha: Ovario con pocos folículos.

Según Pérez (2003), el número de folículos (>5mm) de diámetro posible a OPU es significativamente baja en vacas post parto en raza de carne (2.0 ± 0.3 y leche (1.8 ± 0.3), reduciendo la probabilidad de obtener un blastocisto producido *in vitro*. Varios tratamientos hormonales con GnRH, estradiol, progestágenos y/o prostaglandinas, se han utilizado para controlar la dinámica folicular y función luteal, incrementando la precisión de la sincronización de onda folicular en vacas y vaquillas cíclicas y acíclicas (Twagiramungu *et al.*, 1995).

En nuestro trabajo los folículos reclutados crecieron en fase luteal simulada (cuerpo lúteo artificial), siendo el número de folículos (4 a 8 mm) de diámetro posible a OPU muy similar (3.7 vs 2.4) estadísticamente en los dos grupos de vacas post parto tratadas con BE y GnRH, respectivamente. Sin embargo, un número de folículos pequeños (2 a 4 mm) de diámetro fueron encontrados en mayor número en vacas tratadas con BE (7.7) vs GnRH (4.4), confirmando que el estradiol es más eficiente en el reclutamiento folicular de vacas cíclicas (Bó *et al.*, 1993), así mismo, la ausencia de cuerpo lúteo en el 86% de vacas del grupo BE, puede beneficiar al crecimiento uniforme de los folículos. De Roover *et al.* (2008) reportó un número similar de folículos (4.5 ± 2.6) mayor a 4mm en vacas de carne sincronizadas con progestágenos y estradiol, sin embargo en vacas Holstein el número de folículos es de 1.8 ± 0.3 (Pérez, 2003).

CONCLUSIÓN

La sincronización de la onda folicular en vacas post parto utilizando BE en lugar de GnRH, favorece el desarrollo de un mayor número de folículos entre 2 a 4 mm, los cuales serían ideales para realizar la técnica de OPU (Ovum pick up).

REFERENCIAS

- Bo, G.A., Adams, G.P., Nasser, L.F., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*. 1993; 40, 225–239.
- De Roover R, JMN Feugang, PEJ Bols, G Genicot and ChHanzen. Effects of Ovum Pick-up Frequency and FSH Stimulation: A Retrospective Study on Seven Years of Beef Cattle in Vitro Embryo Production. *Reprod Dom Anim*. 2008: 1-7

- Erickson B. Development and senescence of the bovine ovary. *Journal of Animal Science* 1996, 25:800–805.
- Gosden R, Telfer E. Numbers of follicles in mammalian ovaries and their allometric relationships. *J. Zool*, 1987. 211, 169–175.
- Kruij, Th.A.M., M.C. Pieterse, Th. H. V. Beneden, P.L.A.M. Vos, Y.A. Wurth and M.A.M. Miyachi M. Protocolos hormonais de preparacao de doadoras bovinas para producao de embrioes In Vitro. *Disertacao apresentada a Universidade José Do Rosario Vellano, Mestrado em Ciencia Animal*. Brasil 2011.
- Perez O. Oocyte production in the early postpartum cow. Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University. *Requirements for the degree of Doctor of Philosophy*. 2003. 152pp
- Picton H. Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology* 2001, 55:1193–1210.
- Pieterse M, Kappen K, Kruij T, Taverne M. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 1988. 30:751-762.
- Twagiramungu H., L. A. Guilbault and J. J. Dufour. Synchronization of Ovarian Follicular Waves with a Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist to Increase the Precision of Estrus in Cattle: A Review. *J. Anim. Sci*. 1995. 73:3141–3151.

