

EFFECT OF THE ADMINISTRATION OF SERUM AND RECOMBINANT EQUINE CHORIONIC GONADOTROPIN ON OVARIAN DYNAMICS AND CONCEPTION RATE IN ANESTRUS PRIMIPAROUS BRANGUS COWS

Efecto de la administración de gonadotropina coriónica equina sérica y recombinante sobre la dinámica ovárica y tasa de concepción de vacas Brangus primíparas en anestro

Daniel Scandolo^{1*}, Alejandra Cuatrin², Virginia Mazzuca³, Mariano Finello¹, Martín Maciel¹

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Santa Fe, Argentina.

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria Paraná. Oro Verde, Entre Ríos, Argentina

³ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Agencia De Extensión Rural San Cristóbal, Santa Fe, Argentina.

* Corresponding author: Martín Maciel

E-mail: maciel.martin@inta.gov.ar

Recibido: 19/07/2021

Aceptado: 07/08/2021

Publicado: 13/08/2021

ABSTRACT

The objective was to determine the size of the dominant ovulatory follicle, the ovulation time and the conception rate of cows in anestrus treated with serum equine chorionic gonadotropin (eCG), recombinant chorionic gonadotropin and untreated controls. 57 anestrus primiparous Brangus cows were used with 70 ± 26 days of calving and a body condition of 2.50 ± 0.15 . They were synchronized with a FTAI protocol based on estrogen and progesterone devices (DI). Upon removal of DI, 3 groups were made according to the type of eCG applied: serum eCG received 400 IU im of equine Chorionic Gonadotropin, recombinant eCG received 140 IU of recombinant Equine Chorionic Gonadotropin and Control did without treatment. Follicular size and time of ovulation (normal or abnormal) was determined at DI removal, during FTAI and 7 days later. An ANOVA was performed to determine the effect of the treatment on ovarian dynamics and a chi-square test and correspondence analysis to establish associations. In normal ovulation cows at the FTAI, 94.4% of the serum eCG, 55.5% of the recombinant eCG and 71.4% of the Control cows presented a dominant ovulatory follicle (DOF), which in those treated with serum eCG, it was 1.4 mm greater in relation to the Control ($P = 0.0073$). The ovulation rate, in normal and abnormal ovulation cows, was 94.4% for serum eCG, and for recombinant eCG and 66.6% for Controls. A significant association was detected between ovulation time and the treated groups ($P = 0.0042$). Normal ovulation was 38.9% higher in cows with serum eCG in relation to those treated with recombinant eCG and 50.8% in comparison with Control. A significant relationship was observed between the conception rate and the groups treated with the different Gonadotropins ($P = 0.0574$), being 66.7% in serum eCG, 50% in recombinant eCG and 28.6% in the Control. The use of eCG, either serum or recombinant, in anestrus primiparous cows, stimulates the development of DOF at FTAI, increases ovulation rate and improves conception in relation to untreated cows.

Keywords: primiparous cows, anestrus, Brangus, serum eCG, recombinant eCG, conception rate.

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar el tamaño del folículo dominante ovulatorio, el tiempo de ovulación y la tasa de concepción de vacas primíparas en anestro tratadas con gonadotropina coriónica equina (eCG) sérica, gonadotropina coriónica equina recombinante y Controles no tratadas. Se utilizaron 57 vacas Brangus primíparas en anestro con 70 ± 26 días de paridas y una condición corporal de $2,50 \pm 0,15$. Se sincronizaron con un protocolo de IATF a base de estrógenos y dispositivos de progesterona (DI). Al retiro de los DI, se efectuaron 3 grupos según el tipo de eCG aplicada: eCG sérica recibieron 400 UI de Gonadotropina Coriónica Equina, eCG recombinante recibieron 140 UI de Gonadotropina Coriónica Equina recombinante y Control no recibieron eCG. Al retiro, a la IATF y a los 7 días posteriores determinó el tamaño folicular y tiempo de la ovulación (normal o anormal). Para determinar el efecto del tratamiento sobre a dinámica ovárica se realizó un ANOVA y para establecer asociaciones una prueba de chi cuadrado y análisis de correspondencia. A la IATF, en las vacas con ovulación normal, el 94,4 % de las vacas eCG sérica, el 55,5 % de las eCG recombinante y el 71,4 % de las Control presentaron un folículo dominante ovulatorio (FDO), siendo en las vacas tratadas con eCG sérica 1,4 mm mayor en relación con las Control ($P=0,0073$). La tasa de ovulación, en vacas con ovulación normal u anormal, fue del 94,4 % para eCG sérica y para eCG recombinante y del 66,6 % para

las Control. Se detectó una asociación significativa entre el tiempo de ovulación y los grupos tratados ($P=0,0042$). La ovulación normal fue 38,9 % superior en las vacas con eCG sérica en relación con las tratadas con eCG recombinante y 50,8 % en comparación con las Control. Se observó una relación significativa entre la tasa de concepción y los grupos tratados con las diferentes Gonadotrofinas ($P=0,0574$) siendo del 66,7 % en las eCG sérica, del 50 % en las eCG recombinante y del 28,6 % en las Control. Se concluye que el uso de eCG, tanto sérica como recombinante, en vacas primíparas en anestro estimula el desarrollo del FDO a la IATF, incrementa la tasa de ovulación y mejora la concepción en relación con vacas no tratadas.

Palabras claves: Vaca primípara, anestro, brangus, eCG serica, eCG recombinante, tasa de concepción

INTRODUCCION

El ciclo estral bovino es regulado por hormonas del hipotálamo (hormona Liberadora de Gonadotrofina; GnRH), de la hipófisis anterior (Hormona foliculo estimulante, FSH; Hormona luteinizante, LH), de los ovarios (progesterona; P4, estradiol; E2 e inhibina) y del útero (Prostaglandina; PGF2 α) (Crowe and Mullen, 2013). El control en el reinicio de la ciclicidad ovárica en vacas con anestro posparto es acompañado por complejas relaciones entre el hipotálamo, la hipófisis y el ovario lo que es influenciado además por una variedad de signos internos y externos (Montiel and Ahuja, 2005; Short et al., 1990). El anestro posparto prolongado está asociada a una falla en la ovulación del foliculo dominante producto de una inadecuada frecuencia de pulsos de LH (Duffy et al., 2000; Edwards, 1985) y/o a un retraso en el desarrollo de folículos dominantes (Murphy et al., 1990).

La condición de anovulación más común que se presentan en el posparto de vacas de carne con cría, en hembras subalimentadas y en vaquillonas prepúberes es el desarrollo folicular hasta la desviación, pero sin alcanzar el tamaño de foliculo ovulatorio (Wiltbank et al., 2002). Esta condición de anovulación es probablemente causada por acción inhibitoria de bajas concentraciones de estradiol sobre la secreción de GnRH hipotalámica (Day et al., 1984; Wiltbank et al., 2002). La concentración de progesterona y estradiol no varía en el fluido de pequeños (1,0 a 3,9 mm) y medianos (4,0 a 7,9 mm) folículos desde la primera semana a las 8 semanas posparto, lo cual indicaría que no hay cambios en la capacidad esteroidogénica de los pequeños y medianos folículos durante el período anovulatorio posparto (Spicer et al., 1986).

Vacas de cría o vaquillonas con restricción alimentaria y pérdida de condición corporal presentan una liberación limitada de GnRH (Bishop and Wettemann, 1993b), con una consiguiente disminución en la frecuencia de pulsos de LH (Bossis et al., 1999; Richards et al., 1989). El anestro nutricional en vacas de carne se produce por una disminución en la concentración, en la amplitud y en la frecuencia de pulsos de LH (Bishop and Wettemann, 1993a; Short et al., 1990). Existen métodos hormonales y no hormonales para reiniciar la ciclicidad de vacas en anestro (Yavas and Wallon, 2000). Si bien la eficiencia y la practicidad difiere en cada caso, todos tienen como finalidad incrementar la frecuencia de pulsos de LH: 1) remoción parcial o total del estímulo de amantamiento, 2) mimetizar los pulsos endógenos de GnRH mediante aplicaciones intermitentes de GnRH, 3) estimular el desarrollo del foliculo dominante mediante aplicación exógena de FSH o eCG, 4) inducir la ovulación del foliculo dominante mediante una aplicación exógena de GnRH, 5) inducir un pico de LH por la aplicación exógena de estrógenos o mediante el bloqueo del feedback negativo de los estrógenos endógenos

mediante la aplicación de antiestrógenos, 6) mimetizando ciclos cortos por la adición de progestágenos. La implementación de protocolos de sincronización a base de estrógenos y progesterona con el agregado de eCG sérica en vacas inseminadas a tiempo fijo (Sales et al., 2016) o servicio natural (Ferreira et al., 2018) es capaz de incrementar la ovulación y la eficiencia reproductiva de vacas en anestro. La eCG recombinante producida a partir de células ováricas de hamsters (CHO-S) presentan una elevada actividad biológica in vivo, incluida la inducción de la ovulación y la ovogénesis (Min et al., 2020).

En ratones se ha descrito que la respuesta superovulatoria y el rendimiento embrionario obtenido con el empleo de una glicoproteína recombinante con actividad similar a eCG es comparable con los resultados obtenidos con eCG sérica equina y mayores que las hembras controles sin eCG (Crispo et al., 2021). Recientemente en Argentina, fue desarrollada una eCG recombinante que se origina a partir de células genéticamente modificadas capaces de producir la hormona con elevada eficiencia a partir de medios de cultivos libres de suero animal (Villarraza et al., 2021). Trabajos preliminares obtenidos en pruebas a campo en más de 4000 hembras de distintas razas, categorías, ciclicidad y condición corporal indicarían que esta hormona no presenta diferencias en la concepción en relación con la eCG sérica cuando se la utiliza en protocolos de IATF (Zoovet, 2020). El objetivo del presente trabajo fue determinar el tamaño del foliculo dominante ovulatorio, el tiempo de ovulación de acuerdo con lo esperado (normal o anormal) y la tasa de concepción de vacas primíparas en anestro tratadas con gonadotrofina coriónica equina (eCG) purificada de suero de yegua preñada, gonadotrofina coriónica equina recombinante y controles no tratadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 57 vacas Brangus primíparas en anestro perteneciente a un rodeo de cría "Nueva Palmira" de la EEA Rafaela del INTA ubicado en Capivara (30°26'52.5895" S - 61°16'29.2998" W), Santa Fe, Argentina desde el 18 de diciembre de 2019 al 28 de enero del 2020. Al inicio del trabajo, las hembras tenían 70 \pm 26 días de paridas y una condición corporal de 2,50 \pm 0,15 (de 1 a 5 con 0,25 intermedios). Los exámenes ginecológicos para determinar el estatus reproductivo, se realizaron con un ecógrafo Aquila (Pie Medical, Países Bajos), modo B, tiempo real, con un transductor transrectal lineal de 8 MHz.

Para determinar la ausencia de ciclicidad previo al inicio del protocolo de sincronización, se realizaron dos ecografías transrectales: la primera, 10 días previos (día -10) y la segunda al momento de la inserción de los dispositivos (día 0),

estableciendo en anestro aquellas que no tuviesen estructuras ováricas e imágenes uterinas compatibles con estados del ciclo estral normal (proestro, estro, metaestro, diestro). Al tercer día del primer diagnóstico, se realizó un destete precoz a todas las vacas y una semana después, se insertaron dispositivos intravaginales (DI) de 0,6 g de progesterona (Diprogest 600, Zoovet, Santa Fe, Argentina) y se inyectaron 2 mg IM de benzoato de estradiol (Benzoato de estradiol, Zoovet, Santa Fe, Argentina) (día 0). Al retiro de los DI (día 7), se aplicó 0,150 mg IM de D+Cloprostenol (Ciclar, Zoovet, Santa Fe, Argentina), 1 mg IM de cipionato de estradiol (Cipionato, Zoovet, Santa Fe, Argentina). Al momento del retiro de los DI se efectuaron 3 grupos diferenciados por el tipo de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) aplicado: eCG sérica (n=18) recibieron 400 UI de eCG purificada (Vetegon eCG, Laboratorios Calier de Argentina, Buenos Aires, Argentina), eCG recombinante (n=18) recibieron 140 UI de eCG recombinante (Foli-Rec eCG, Zoovet, Santa Fe, Argentina) y Control (n=21) no recibieron eCG.

Los grupos fueron bloqueados previamente por los días posparto, la CC y el tamaño de los folículos dominantes previos al inicio de la sincronización (día -10 y día 0). Al día 9 se realizó la IATF a partir de las 48 horas de retirado los DI. Al momento del retiro de los DI, a la IATF y a los 7 días posteriores, se realizaron ecografías transrectales para determinar la presencia y el tamaño del folículo dominante al retiro (FD), el folículo dominante ovulatorio (FDO) a la IATF y para confirmar la ovulación del FDO mediante la presencia de un cuerpo lúteo (CL7d) respectivamente. Los FD presentes en cada ovario se midieron utilizando el promedio de la distancia entre 2 ejes perpendiculares cuyos extremos se ubicaron en los 4 polos más equidistantes del folículo. La ovulación se categorizó como "normal" cuando las hembras presentaron un FD al retiro y a la IATF y un posterior cuerpo lúteo en el mismo ovario, mientras que se consideró ovulación "anormal" en aquellas hembras que los FD no ovularon (no ovuló) o bien que no presentaron un folículo dominante a la IATF pero si un cuerpo lúteo en el mismo ovario donde se identificó un FD al momento del retiro del DI (ovulación anticipada). El diagnóstico de preñez se realizó a los 38 días de gestación confirmando, además, la presencia de un cuerpo lúteo en el mismo ovario del FDO.

Para determinar el efecto del tratamiento sobre el tamaño del folículo dominante previo al inicio del protocolo de sincronización, el FDO y el tamaño del CL7d se realizó un ANOVA. Para analizar el FDO se utilizó como covariable el tamaño del FD al retiro, mientras que para determinar el CL7d se utilizó como covariable el FDO. Para la comparación de medias se utilizó el test de Tukey. Para establecer la asociación entre el tiempo de ovulación y la tasa de concepción según los tratamientos se realizó una prueba de chi cuadrado. Para analizar los datos categóricos de concepción, tiempo de ovulación y tratamientos se empleó un análisis de correspondencia múltiple (Di Rienzo et al., 2011).

RESULTADOS

En Tabla 1 se presentan los tamaños de los folículos dominantes 10 días previos y al momento del inicio de la sincronización.

Tabla 1. Promedio (\pm EE) de los folículos dominantes 10 días previos y al inicio de la sincronización de la ovulación en vacas en anestro que serán tratadas con diferentes Gonadotropinas Coriónicas equina (eCG) y Control.

Tratamientos	Folículo dominante			
	n	día -10	n	Día 0
eCG sérica	18	7,4 \pm 0,6	18	8,1 \pm 0,6
eCG recombinante	17	7,9 \pm 0,6	15	8,7 \pm 0,7
Control	18	8,2 \pm 0,6	15	8,9 \pm 0,7

Los folículos dominantes entre el día -10 y el día 0 variaron entre 7,4 mm a 8,9 mm, en los diferentes grupos. El 21,0 % (12/57) de las vacas sincronizadas perdieron el DI durante el tratamiento (4 vacas eCG sérica, 2 vacas eCG recombinante y 6 vacas controles). Al momento del retiro de los dispositivos el 84,2 % (48/57) de las vacas se encontraban en anestro, mientras que el 15,8 % (9/57) presentaron un cuerpo lúteo.

El 94,4 % (17/18) de las vacas eCG sérica, el 55,5 % (10/18) de las tratadas con eCG recombinante y el 71,4 % (15/21) de las Controles presentaron un FDO a la IATF. La ausencia del FDO fue considerada como ovulación anticipada previa a la IATF. En Tabla 2 se presenta el tamaño del FDO y del cuerpo lúteo a los 7 días posteriores a la IATF en las vacas de los tres tratamientos.

Tabla 2. Promedio (\pm EE) del folículo dominante ovulatorio y del cuerpo lúteo de vacas en anestro tratadas con diferentes Gonadotropinas Coriónicas Equina (eCG) y Control no tratadas.

Tratamientos	N	Folículo dominante ovulatorio (mm)		Cuerpo lúteo día 7 (mm)
		n		
eCG sérica	17	10,9 \pm 0,3 ^b	16	17,2 \pm 0,8
eCG recombinante	10	10,5 \pm 0,4 ^{ab}	9	16,6 \pm 1,0
Control	15	9,5 \pm 0,4 ^a	8	15,2 \pm 1,0

^{a,b} letras en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).

El FDO de las vacas tratadas con eCG sérica fue 1,4 mm mayor en relación con las vacas Control (P=0,0073), mientras que fue similar a las vacas tratadas con eCG recombinante. Por otra parte, el FDO de las tratadas con eCG recombinante y las Control fueron similares. El tamaño del CL 7d de las vacas ovuladas posterior a la IATF fue similar entre tratamientos (P=0,2550). En la Figura 1 se presenta la categorización del tiempo de ovulación en los diferentes tratamientos.

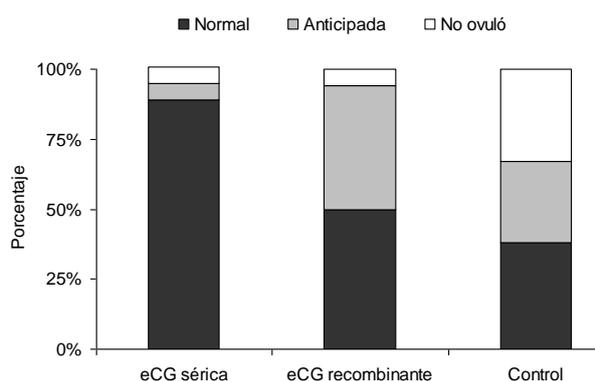


Figura 1. Ovulación normal y anormal de vacas tratadas con diferentes Gonadotropinas Coriónicas Equina y en Control no tratados.

Se determinó una relación significativa entre el tiempo de ovulación y los grupos tratados con las diferentes Gonadotropinas ($P=0,0042$). La tasa de ovulación normal en las vacas tratadas con eCG sérica fue 38,9 % superior en

relación con las tratadas con eCG recombinante y 50,8 % en comparación con las vacas Control, mientras que la tasa de ovulación general fue del 94,4 % (17/18), 94,4 % (17/18) y del 66,6 % (14/21) para las vacas tratadas con eCG sérica, eCG recombinante y Control respectivamente. De las 2 ovulaciones anormales con eCG sérica una tuvo una ovulación anticipada y la otra no ovuló; de las 9 vacas tratadas con eCG recombinante, 8 tuvieron una ovulación anticipada y una no ovuló y de las 13 Controles, 6 presentaron una ovulación anticipada y 7 no ovularon.

Se determinó una relación significativa entre la tasa de concepción y los grupos tratados con las diferentes Gonadotropinas ($P=0,0574$). La concepción fue del 66,7 % (12/18) en las tratadas con eCG sérica, del 50 % (9/18) en las tratadas con eCG recombinante y 28,6 % (6/21) en las vacas Control. En la Figura 2 se presenta una representación gráfica de datos categorizados de concepción, tiempos de ovulación y tratamientos con Gonadotropinas Coriónicas Equina y Control no tratadas

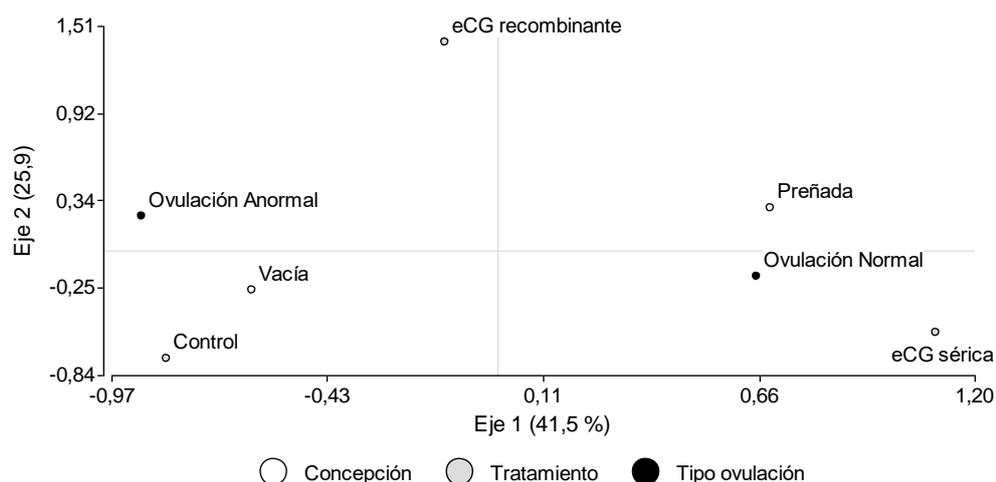


Figura 2. Análisis de correspondencia de vacas en anestro tratadas con diferentes Gonadotropinas Coriónicas Equina y Control no tratadas.

En el análisis, las primeras dos componentes representan el 67,4 % de la variabilidad de los datos, por lo cual es una representación adecuada. Como se observa en la Figura, la concepción y ovulación fue diferencial entre tratamientos. En el caso de la eCG sérica, se caracterizó por tener ovulaciones normales y las vacas resultaron preñadas. El caso opuesto y en oposición en la Figura, se observa que las vacas controles se caracterizaron por presentar ovulaciones anormales y resultaron vacías al diagnóstico de preñez.

DISCUSIÓN

El amamantamiento, el vínculo vaca-ternero, la disminución en el balance energético y la condición corporal al parto producen un retraso en el reinicio de la ovulación en vacas de cría debido a una falta en la frecuencia de pulsos de LH (Crowe, 2008). La condición de anovulación en vacas posparto podría ser debida inicialmente a una deficiente secreción

pulsátil de LH y luego a una inmadurez ovárica que afectaría el número de receptores de LH en el fluido folicular (Spicer et al., 1986). El tamaño de los folículos dominantes de las vacas durante los 10 días previos al inicio de la sincronización varió entre 7,4 a 8,9 mm. Esto indica que las hembras se encontraban en situación de anovulación con desarrollo folicular a la desviación, pero sin alcanzar un tamaño ovulatorio, condición que se produce comúnmente en vacas de cría con ternero lactante (Wiltbank et al., 2002).

La fase de desviación folicular se produce cuando los folículos de mayor tamaño alcanzan los 7,7 a 8,5 mm; tres 3 días posteriores del pico de FSH (Ginther et al., 2003). Los signos característicos de esta condición se manifiestan por ovarios pequeños con desarrollo folicular continuo en ausencia de cuerpos lúteos o folículos de tamaño ovulatorio (Wiltbank et al., 2002). La tasa de desarrollo y el diámetro del folículo dominante ovulatorio, la concentración de LH y estradiol se ven reducidas durante dos ciclos previos antes del inicio del anestro

nutricional (Bossis et al., 1999). En condiciones normales la emergencia de la onda folicular es caracterizada por un repentino desarrollo (2-3 días) de 8 a 41 pequeños folículos de 3-4 mm, donde por alrededor de 2 días la tasa de desarrollo es similar entre los folículos de la misma onda; luego un folículo es seleccionado para continuar su desarrollo y transformarse así en folículo dominante mientras los restantes comienzan la regresión (folículos subordinados) y la atresia (Adams, 1999). Las variaciones en los patrones de secreción de LH en vacas posparto es coincidente con las concentraciones de estradiol ováricos, indicando que los esteroides ováricos juegan un rol esencial en la generación de pulsos hipotalámicos (Savio et al., 1990). La concentración de estradiol sérica de vacas con cría se mantienen sin cambios durante las primeras 7 semanas posparto (Spicer et al., 1986).

Se han descrito varios modelos para tratar de explicar la anovulación en vacas con restricción de alimento y/o amamantando (Acosta et al., 1983; Day et al., 1984; Short et al., 1990; Spicer et al., 1986; Wiltbank et al., 2002). Los autores coinciden que para corregir el problema del anestro debería modificarse el efecto inhibitorio del estradiol sobre el hipotálamo. Existe un consenso general, que el feedback negativo lo ejerce la secreción crónica del estradiol por su acción inhibitoria sobre el hipotálamo (Day et al., 1984); con la consecuente inhibición de la secreción pulsátil de la GnRH hipotalámica al sistema hipofisiario portal lo que disminuye, a su vez, la concentración y la frecuencia de pulsos de la LH sérica (Karsch et al., 1987). El 84,2 % de las vacas continuaban en anestro posterior al tratamiento con estrógenos y progesterona, siendo esta proporción similar a lo reportado en primiparas con 85 días posparto (Flores et al., 2006). Solo el 20 % de las primiparas se encuentran ciclando cuando presentan más de 63 días de posparto al inicio de la temporada de servicio (Stevenson et al., 2003).

Durante el examen ecográfico realizado previo a la IATF se determinó que el 94,4 % de las vacas eCG sérica, el 55,5 % de las tratadas con eCG recombinante y el 71,4 % de las Controles presentaron un FDO a la IATF. Las vacas tratadas con eCG sérica al momento del retiro de los dispositivos presentaron un FDO a la IATF de mayor tamaño en relación con las vacas Control, mientras que fue similar en las vacas tratadas con eCG sérica y recombinante y entre las tratadas con eCG recombinante y las Controles, lo que difiere a lo reportado por otros autores (Villarraza et al., 2021). En bovinos la eCG presenta actividad tanto LH como FSH (De Rensis F and F., 2014; Murphy and Martinuk, 1991). El desarrollo del FD es estimulado por la eCG debido a su afinidad con los receptores de LH y FSH presentes en las células de la granulosa (Murphy and Martinuk, 1991).

La administración de eCG estimula el desarrollo y la tasa de ovulación del folículo dominante presente al momento del tratamiento (De Rensis F and F., 2014). La capacidad ovulatoria de un folículo está determinada por el diámetro folicular y la dosis de LH (Sartori et al., 2001). Durante el posparto estimula la producción de estradiol dentro de los 2 días posteriores a la aplicación de 750 UI de eCG, dentro de los 4 días después 250 UI de eCG y dentro de 6 días en hembras no tratadas (Sheldon and Dobson, 2000). La eCG sérica administrada, el mismo día del retiro del dispositivo vaginal, en vacas primiparas aumenta el crecimiento folicular,

sin interferir con el número de ovulaciones ni con el momento de la ovulación (Sales et al., 2016).

En el presente trabajo, la tasa de ovulación normal fue del 88,9 % de las vacas tratadas con eCG sérica, del 50,0 % en las tratadas con eCG recombinante y del 38,1 % en las Control. Estas diferencias se asociaron con la relación significativa detectada entre el tiempo de ovulación y los grupos tratados con las diferentes Gonadotropinas. Las ovulaciones anormales anticipadas se produjeron en el 5,5 % del total de tratadas con eCG sérica, en el 44,4 % del total de las eCG recombinante y en el 28,6 % del total de las Control. La única ovulación anticipada detectada en las tratadas con eCG sérica se produjo en una vaca que perdió el dispositivo, mientras que en las tratadas con eCG recombinante solo el 12,5 % de las ovulaciones anticipadas se produjo en una hembra que perdió su dispositivo previo al retiro; en cambio y en el caso de las Control, el 66,7 % de las ovulaciones se produjeron por la pérdida del dispositivo.

La tasa de retención de los dispositivos durante el tratamiento de sincronización fue del 79 %, lo cual fue inferior a los 84 % a 94 % reportados por otros autores (Roche, 1976; Walsh et al., 2007; Walsh et al., 2008). Esta pérdida de dispositivos pudo haber provocado una disminución anticipada en la concentración de progesterona plasmática que, asociado a incrementos de pulsos de LH producido por el destete, desencadenaron las ovulaciones anticipadas observadas, en mayor medida, en las vacas Control. Cabe recordar que se realizó un destete precoz de todas las hembras 7 días previos al inicio de la sincronización. El efecto del destete o del amamantamiento de un ternero ajeno a la madre ocasionan el mismo incremento en la frecuencia de pulsos de LH a partir del segundo día de tratamiento, mientras que el vínculo materno con su cría disminuye la frecuencia de pulsos de LH y la actividad luteal (Silveira et al., 1993). La sustitución de un ternero propio por uno desconocido produce un escape de los efectos inhibitorios en la frecuencia del pulso de LH en presencia de visión u olfacción por parte de la madre, mientras la influencia inhibitoria del amamantamiento sobre la secreción de LH puede ser sostenida solo si las señales de olfacción y visión (juntas o separadas) se encuentran presentes en la vaca con su ternero propio (Griffith and Williams, 1996). Las neuronas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) se originan en la placa nasal durante el desarrollo embrionario y migran al cerebro durante el desarrollo prenatal; una vez dentro del cerebro, estas células se convierten en componentes integrales del eje hipotalámico-pituitario-gonadal (Forni and Wray, 2015).

Si bien hasta el momento no existen demasiados antecedentes sobre la distribución de la ovulación de vacas en anestro tratadas con eCG recombinante, se podría especular que la mayor tasa de ovulación anticipada observada podría estar asociada a una mayor potencia de la hormona. No obstante, la tasa de concepción en vacas Angus con cría al pie sincronizadas con un protocolo a base de estradiol y progesterona y tratadas con diferentes dosis de eCG recombinante (105 UI, 120 UI o 140 UI) y 400 UI eCG sérica al momento del retiro de los dispositivos fue similar entre los grupos tratados con eCG (Villarraza et al., 2021). La eCG recombinante no solo demostró actividad biológica en bovinos, sino que esta bioactividad pareció ser más alta que la eCG sérica, ya que 140 UI de eCG recombinante fueron necesarios

para ejercer el mismo efecto biológico que 400 UI de eCG sérica en un protocolo de sincronización de la ovulación (Villarraza et al., 2020).

Los folículos adquieren capacidad ovulatoria alrededor de los 10 mm, correspondiente aproximadamente a 1 día después de iniciar la desviación folicular, pero requieren mayor dosis de LH para inducir la ovulación comparado con folículos de mayor tamaño (Sartori et al., 2001). La tasa de ovulación general fue del 94,4 % para las tratadas eCG sérica y eCG recombinante y del 66,6 % para las Control, siendo superior a los 80 %, 71 % y 41 % reportados para las tratadas con eCG sérica, eCG recombinante y Control respectivamente (Villarraza et al., 2021). Esta diferencia del 27,8 % en la tasa de ovulación entre las tratadas con eCG (sérica y recombinante) y la Control son coincidentes con 28 % reportado en vacas primíparas tratadas el mismo día del retiro del dispositivo vaginal (Sales et al., 2016). La tasa de ovulación en vacas en anestro tratadas con eCG sérica y eCG recombinante es superior a las vacas Controles (Villarraza et al., 2021). El similar tamaño del CL a los 7 días posterior a la IATF entre las vacas ovuladas de los diferentes tratamientos es coincidente con lo reportado previamente (Sales et al., 2016; Tortorella et al., 2013; Villarraza et al., 2020).

La relación significativa entre la tasa de concepción y los grupos tratados con eCG es coincidente con la mayor fertilidad de vacas primíparas *Bos indicus* sincronizadas con protocolos a base de estradiol y progesterona (Ferreira et al., 2018; Sales et al., 2016). La mayor tasa de concepción en las vacas tratadas con eCG sérica estaría vinculada al mayor tamaño del FDO, asociado a una mayor tasa de ovulación normal. Se ha descrito que en vacas tratadas con eCG presentan la misma variabilidad en la tasa de ovulación en relación a vacas Control, siendo el intervalo desde el retiro del dispositivo a la ovulación entre 54 a 90 horas, con un pico de 70 a 85 % durante las 66 horas (Sales et al., 2016). El intervalo desde el retiro del dispositivo a la ovulación de vacas *Bos Taurus* x *Bos indicus* en anestro es, en promedio, de 57 horas en vacas Control, a 63 horas en tratadas con eCG recombinante, mientras que en las tratadas con eCG sérica es de 73 horas en promedio (Villarraza et al., 2021).

CONCLUSION

Se concluye que en vacas primíparas en anestro la aplicación de eCG sérica, al momento del retiro de los dispositivos intravaginales, estimula un mayor desarrollo del FDO a la IATF, incrementa y concentra la tasa de ovulación (normal) y mejora la concepción en relación con vacas no tratadas, mientras que la eCG recombinante presenta crecimiento folicular intermedio con una elevada tasa de ovulación antes de las 48 horas de aplicada. Deben realizarse estudios complementarios con la eCG recombinante para determinar si la mayor ovulación anticipada está asociada a la potencia de la hormona en la dosis utilizada en el presente trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

No hay conflicto de intereses

CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

Concepción y diseño de estudio (DS, MM), adquisición de datos (DS, VM y MF), Análisis e interpretación de datos (AC, DS y MM), redacción del artículo y aprobación (DS, MM).

AGRADECIMIENTOS

A los laboratorios ZOOVET y CALIER Argentina por la donación de las Gonadotropinas Coriónicas Equinas utilizadas en el trabajo.

REFERENCIAS

1. Acosta B, Tarnavsky GK, Platt TE, Hamernik DL, Brown JL, Schoenemann HM, Reeves JJ. Nursing Enhances The Negative Effect Of Estrogen On Lh Release In The Cow. *J. Anim . Sci.* 1983; 57: 1530-1536.
2. Adams GP. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement.* 1999; 54: 17- 32.
3. Bishop DK, Wettemann RP. Pulsatile Infusion of Gonadotropin-Releasing Hormone Initiates Luteal Activity in Nutritionally Anestrous Beef Cows *J. Anim. Sci.* 1993a. 71: 2714-2720.
4. Bishop DK, Wettemann RP. Pulsatile Infusion of Gonadotropin-Releasing Hormone Initiates Luteal Activity in Nutritionally Anestrous Beef Cows. *J. Anim. Sci.* 1993b; 71: 2714-2720.
5. Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra JA, Spicer LJ, Diskin MG. Nutritionally Induced Anovulation in Beef Heifers: Ovarian and Endocrine Function Preceding Cessation of Ovulation. *J. Anim. Sci.* 1999; 77: 1536-1546.
6. Crispo M, Meikle MN, Schlapp G, Menchaca A. Ovarian superstimulatory response and embryo development using a new recombinant glycoprotein with eCG-like activity in mice. *Theriogenology.* 2021; 164: 31-35.
7. Crowe MA. Resumption of Ovarian Cyclicity in Post-partum Beef and Dairy Cows. *Reprod Dom Anim.* 2008; 43: 20-28.
8. Crowe MA, Mullen MP. Chapter 7: Regulation and Function of Gonadotropins Throughout the Bovine Oestrous Cycle In: Vizcarra, J. (Ed.) *Gonadotropin.* InTechEditors. 2013.
9. Day ML, Imakawa K, Garcia-Winder M, Zalesky DD, Schanbacher BD, Kittok RJ, Kinder JE. Endocrine Mechanisms of Puberty in Heifers: Estradiol Negative Feedback Regulation of Luteinizing Hormone Secretion *Biol Reprod.* 1984; 31: 332-341.
10. De Rensis F, López-Gatius F. Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reprod Domest Anim.* 2014;49(2):177-182.
11. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. *InfoStat* (Córdoba, Argentina, Universidad Nacional de Córdoba). 2011.
12. Duffy P, Crowe MA, Boland MP, Roche JF. Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. *Journal of Reproduction and Fertility.* 2000; 118: 9-17.
13. Edwards S. The effects of short term calf removal on pulsatile LH secretion in the postpartum beef cow. *Theriogenology.* 1985; 23: 777-785.

14. Ferreira RM, Conti TL, Gonçalves RL, Souto LA, Sales JNS, Sá Filho MF, Elliff FM, Baruselli PS. Synchronization treatments previous to natural breeding anticipate and improve the pregnancy rate of postpartum primiparous beef cows. *Theriogenology*. 2018; 114: 206-211.
15. Flores R, Looper ML, Kreider DL, Post NM, Rosenkrans CFJ. Estrous behavior and initiation of estrous cycles in postpartum Brahman-influenced cows after treatment with progesterone and prostaglandin F2 α . *J Anim Sci*. 2006; 84:1916–1925.
16. Forni PE, Wray S. GnRH, anosmia and hypogonadotropic hypogonadism - Where are we? *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2015; 36: 165-177.
17. Ginther OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*. 2003; 78: 239-257.
18. Griffith MK, Williams GL. Roles of Maternal Vision and Olfaction in Suckling-Mediated Inhibition of Luteinizing Hormone Secretion, Expression of Maternal Selectivity, and Lactational Performance of Beef Cows. *Biology of Reproduction*. 1996; 54: 761-768.
19. Karsch FJ, Cummins JT, Thomas GB, Clarke JJ. Steroid Feedback Inhibition of Pulsatile Secretion of Gonadotropin-Releasing Hormone in the Ewe. *Biology of Reproduction*. 1987; 36: 1207-1218.
20. Min KS, Park JJ, Lee SY, Byambaragcha M, Kang MH. Comparative gene expression profiling of mouse ovaries upon stimulation with natural equine chorionic gonadotropin (NeCG) and tethered recombinant-eCG (ReCG). *BMC Biotechnology*. 2020; 20(1):59.
21. Montiel F, Ahuja C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*. 2005; 85: 1-26.
22. Murphy BD, Martinuk SD. Equine Chorionic Gonadotropin. *Endocrine Reviews*. 1991; 12: 27-44.
23. Murphy MG, Boland MP, Roche JF. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *J. Reprod. Fertil*. 1990; 90: 523-533.
24. Richards MW, Wettemann RP, Schoenemann HM. Nutritional Anestrus in Beef Cows: Body Weight Change, Body Condition, Luteinizing Hormone in Serum and Ovarian Activity. *J. Anim. Sci*. 1989; 67: 1520-1526.
25. Roche JF. Retention rate in cows and heifers of intravaginal Silastic coils impregnated with progesterone. *J Reprod Fertil*. 1976; 46: 253-255.
26. Sales JNS, Bottino MP, Silva LA, Giroto RW, Massoneto JPM, Souza JC, Baruselli PS. Effects of eCG are more pronounced in primiparous than multiparous *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 2016; 86: 2290-2295.
27. Sartori R, Fricke PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC. Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles. *Biology of Reproduction*. 2001; 65: 1403-1409.
28. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil*. 1990; 88: 569-579.
29. Sheldon IM, Dobson H. Effect of administration of eCG to postpartum cows on folliculogenesis in the ovary ipsilateral to previously gravid uterine horn and uterine involution. *J Reprod Fertil*. 2000; 119: 157-163.
30. Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custep EE. Physiological Mechanisms Controlling Anestrus and Infertility In Postpartum Beef. *J. Anim. Sci*. 1990; 68: 799-816.
31. Silveira PA, Spoon RA, Ryan DP, Williams GL. Evidence for Maternal Behavior as a Requisite Link in Suckling-Mediated Anovulation in Cows. *Biology of Reproduction*. 1993; 49: 1338-1346.
32. Spicer LJ, Convey EM, Leung K, Short RE, Tucker HA. Anovulation in Postpartum Suckled Beef Cows. II. Associations among Binding of 125I-Labeled Gonadotropins to Granulosa and Thecal Cells, and Concentrations of Steroids in Serum and Various Sized Ovarian Follicles. *J. Anim. Sci*. 1986; 62: 742-750.
33. Stevenson S, Johnson SK, Milliken GA. Incidence of Postpartum Anestrus in Suckled Beef Cattle: Treatments to Induce Estrus, Ovulation, and Conception. *The Professional Animal Scientist*. 2003; 19: 124-134.
34. Tortorella RD, Ferreira R, Tonello dos Santos J, Silveira de Andrade Neto O, Barreta MH, Oliveira JF, Gonçalves PB, Neves JP. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 2013; 79: 1204-1209.
35. Villarraza CJ, Antuña S, Tardivo MB, Rodríguez MC, Mussio P, Cattaneo L, Fontana D, Díaz PU, Ortega HH, Tribulo A, Macagno A, Bó GA, Ceaglio N, Prieto C. Development of a suitable manufacturing process for production of a bioactive recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in CHO-K1 cells. *Theriogenology*. 2021; 172, 8-19.
36. Villarraza J, Antuña S, Tardivo B, Rodríguez MC, Mussio P, Cattaneo L, Fontana D, Ceaglio N, Prieto C. Development of a suitable manufacturing process for production of a bioactive recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in CHO-K1 cells. This is a preprint and has not been peer reviewed. Data may be preliminary. 2020,
37. Walsh RB, LeBlanc SJ, Duffield TF, Kelton DF, Walton JS, Leslie KE. The effect of a progesterone releasing intravaginal device (PRID) on pregnancy risk to fixed-time insemination following diagnosis of non-pregnancy in dairy cows. *Theriogenology*. 2007; 67: 948-956.
38. Walsh RB, LeBlanc SJ, Vernoooy E, Leslie KE. Safety of a progesterone-releasing intravaginal device as assessed from vaginal mucosal integrity and indicators of systemic inflammation in postpartum dairy cows. *Can J Vet Res*. 2008; 72: 43-49.
39. Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 2002; 57: 21-52.
40. Yavas Y, Wallon JS., Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A review. *Theriogenology*. 2000; 54:1-23.
41. Zoovet 2020. FOLI-REC. eCG recombinante lista para usar!
<https://www.zoovet.com.ar/images/Folletos/folirec.pdf>. 42.