

01669

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

"EFECTO DE LA SOMATOTROPINA SOBRE LA CALIDAD EMBRIONARIA  
EN CABRAS SUPEROVULADAS CON HORMONA FOLICULO  
ESTIMULANTE"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL: REPRODUCCION.

P R E S E N T A :

MVZ JOSE LUIS CERBON GUTIERREZ

ASESORES: DVM. JAVIER DE JESUS VALENCIA MENDEZ

PhD. LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO



MEXICO, D.F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

## **DEDICATORIAS**

**A Margarita por estar y ser, por el apoyo, la comprensión, la confianza, el amor, la evolución y los instantes.**

**Chelita muchas gracias por todas las cosas tan complejas pero tan sencillas de comprender, como ella una sola, la vida.**

**A Cerbón, mi padre, por mostrarme que la perseverancia y la responsabilidad no solo se enseñan, también se heredan.**

**Claudia por los momentos felices que aún vivimos y por esos enanos que son mis sobrinos.**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: \_\_\_\_\_

*José Luis Cerbón Gutiérrez*

FECHA: *Mayo 24, 2004*

FIRMA: *José Luis Cerbón Gutiérrez*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis asesores: Dr. Javier Valencia Méndez y Dr. Luis A. Zarco Quintero, quienes hicieron posible la realización del presente trabajo. Por todo el apoyo y ayuda incondicional que siempre me han brindado, Finalmente, por su invaluable amistad y confianza.

A los integrantes del jurado: Dr. Raymundo Rangel Santos, Dr. Joel Hernández Cerón, MPA. Adriana Saharrea Medina, MPA. Alberto Balcázar Sánchez y Dr. Javier Valencia Méndez.

A mis amigos y colaboradores quienes ayudaron durante el desarrollo de la fase experimental, la medición hormonal y la impresión final de la tesis: José Ramón Mier<sup>††</sup> (se que andas por ahí), Verónica Caballero, Alberto Balcázar, Miguel A. Cuevas, Víctor Martínez, Clara Murcia, Susana Rojas, Adriana Saharrea, Mariana y Toñita Bernal y de forma muy especial a Ernesto Valencia Gutiérrez.

A mis amigos y colaboradores del Departamento de Reproducción, Joel Hernández, Carlos Gutiérrez, Antonio Porras, Rosa Páramo, Carlos Galina, Carlos Esquivel, Miriam Boeta, Gerardo Perera, Lucía Rancel, Arantza Lassala y Giselle García.

Al Dr. Miguel Ángel Pérez Razo por su importante aportación y desinteresada ayuda.

A la FMVZ y la División de Estudios de Posgrado, por su colaboración y apoyo. Por darme la oportunidad de ser profesionista.

A mis amigos del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Bovina y Caprina (CEIEPBC "Cuatro Milpas"), Ernesto Valencia, Vicente Lemus, Ricardo Armendáriz, Benjamín Villagrán y Alejandra Sánchez. Por brindarme todas las facilidades y apoyo para la realización de los estudios de posgrado y su culminación con esta tesis.

## CONTENIDO

<b>I INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Objetivo general</i>	4
1.2 <i>Objetivos específicos</i>	4
<b>II REVISION DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Superovulación</i>	5
2.2 <i>Alteraciones del desarrollo y función folicular en animales superovulados</i>	7
2.3 <i>Regresión prematura del cuerpo lúteo en cabras superovuladas, efecto en la sobrevivencia y calidad embrionaria</i>	8
2.4 <i>Efecto de la somatotropina sobre el desarrollo folicular</i>	9
2.5 <i>Efecto de la somatotropina sobre la superovulación</i>	11
2.6 <i>Efecto de la somatotropina sobre la producción de IGF's en el ovario</i>	12
2.7 <i>Efecto de la somatotropina sobre la calidad del cuerpo lúteo</i>	14
2.8 <i>Efecto de la somatotropina sobre la producción y calidad embrionaria</i>	16
2.9 <i>Factores de crecimiento parecidos a la insulina y sus efectos sobre la comunicación materno-embionaria y el establecimiento de la gestación</i>	18
2.10 <i>Técnicas de colección embrionaria</i>	20
<b>III MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>22</b>
3.1 <i>Localización</i>	22
3.2 <i>Animales experimentales</i>	22
3.3 <i>Manejo de las hembras donadoras</i>	22
3.4 <i>Manejo de las hembras receptoras</i>	23
3.5 <i>Evaluación embrionaria</i>	24
3.6 <i>Toma de muestras</i>	25
3.7 <i>Análisis estadístico</i>	25
<b>IV RESULTADOS</b>	<b>26</b>
4.1 <i>Cabras donadoras</i>	26
4.2 <i>Cabras receptoras</i>	28
<b>V DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>VI CONCLUSIONES</b>	<b>37</b>
<b>VII LITERATURA CITADA</b>	<b>38</b>

## RESUMEN

El presente estudio fue desarrollado con el objetivo de evaluar la influencia de la somatotropina bovina (rbST) sobre la respuesta superovulatoria y la calidad embrionaria en cabras donadoras. Así como determinar el efecto de la rbST sobre los niveles de progesterona en las hembras donadoras y receptoras, así como sobre los porcentajes de gestación y prolificidad. Las donadoras fueron sincronizadas utilizando esponjas intravaginales impregnadas con 45 mg. de acetato de fluorogestona durante 9 días y la aplicación de 12.5 mg. de PGF<sub>2α</sub> al día 8 de colocada la esponja. La superovulación fue realizada aplicando una dosis total de 188 mg. de FSH-P a dosis decrecientes cada 12 h durante cuatro. Al momento de detectado el estro (estro = día 0) 15 donadoras recibieron una dosis única de 100 mg. de rbST (Lactotropina, Monsanto) por vía subcutánea, y las 15 restantes (testigos) recibieron una aplicación de solución salina fisiológica (1.0 ml.). Las hembras donadoras fueron inseminadas intrauterinamente por laparoscopia a las 24 h del inicio del celo, utilizando semen congelado de un macho de la raza Alpino Francesa. La colección de los embriones se realizó el día 5 post-estro por medio de laparotomía media ventral. No se encontraron diferencias entre el grupo testigo y el tratado en el número de cuerpos lúteos normales ( $8.7 \pm 2.5$  vs  $11.5 \pm 2.1$ ) y cuerpo lúteos con regresión prematura ( $0.9 \pm 0.9$  vs  $0.6 \pm 0.3$ ). La cantidad de folículos menores a 5 mm. ( $1.8 \pm 1.0$  vs  $3.3 \pm 1.1$ , grupo control y grupo tratado respectivamente) y mayores a 5 mm. ( $0.6 \pm 0.2$  vs  $0.6 \pm 0.4$ , grupo control y grupo tratado respectivamente) fue similar. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el porcentaje de donadoras que produjeron embriones siendo de 66.66% para el grupo control y 85.7% para el grupo tratado con rbST. El número de embriones producidos en el grupo control fue de  $3.5 \pm 1.3$  mientras que para el grupo con rbST fue de  $7.6 \pm 1.7$  ( $P > 0.05$ ), se obtuvieron  $3.5 \pm 1.3$  y  $7.1 \pm 1.6$  embriones transferibles en los grupos control y grupo con rbST respectivamente ( $P > 0.05$ ). En las hembras en las cuales se recuperaron embriones se obtuvieron  $9.5 \pm 1.8$  y  $10.2 \pm 1.8$  embriones ( $P > 0.05$ ),  $9.3 \pm 1.8$  y  $9.5 \pm 1.6$  embriones transferibles ( $P > 0.05$ ) para el grupo control y tratado respectivamente. En lo referente a los niveles de progesterona no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) desde el día del estro (día=0) hasta el día 6 (día de la colección embrionaria). El 56.8% del total de las hembras receptoras que recibieron embriones quedaron

gestantes. Los porcentajes de gestación fueron similares entre ambos grupos, siendo para receptoras testigo y que recibieron embriones provenientes de donadoras que recibieron o no tratamiento con rbST, 83.3% y 50.0% ( $P>0.05$ ) respectivamente, y para las receptoras tratadas con rbST que recibieron embriones de donadoras tratadas y no tratadas con rbST fueron de 54.5% y 55.08% ( $P>0.05$ ) respectivamente. No se encontraron diferencias en los niveles de progesterona durante los días evaluados ( $P>0.05$ ). En el grupo tratado con rbST las concentraciones promedio tendieron a ser mayores, siendo significativas únicamente en los días 16 y 18 ( $P<0.05$ ). No se observaron diferencias significativas en la prolificidad de las receptoras, las hembras con mayor prolificidad fueron las del grupo tratado con rbST y que recibieron embriones de las donadoras que recibieron el mismo tratamiento. La administración de una dosis de 100 mg. rbST vía subcutánea, en el primer día del estro de cabras superovuladas con FSH incrementa el número de donadoras que producen embriones, resultando así en un mayor número de embriones obtenidos.



## I. INTRODUCCIÓN

La transferencia de embriones es una técnica que consiste en obtener los embriones de una hembra superovulada (donadora) y transferirlos al útero de otra hembra previamente sincronizada (receptora). La donadora provee la base genética de la cría y la receptora sirve para desarrollar el embrión y el feto resultante (Flores, 1992). En la cabra el interés primordial de la transferencia de embriones se ha centrado en la reproducción de animales superiores para la producción de leche, pelo y carne. Sin embargo, en las cabras superovuladas es común encontrar que un alto porcentaje de los embriones se encuentran en estado de degeneración (Armstrong et al. 1983a; Gilbert et al. 1990; Pendleton et al. 1992; Saharrea et al. 1998). Una de las causas de esta condición es que se presenta un alto índice de regresión prematura de los cuerpos lúteos, que dejan de producir progesterona entre el tercer y el quinto día posterior a la ovulación (Gilbert et al. 1990). La falta de apoyo progestacional provoca que al momento de la recolección embrionaria muchos embriones se encuentran en degeneración.

En otros casos, un ambiente uterino inapropiado puede provocar un retraso en el desarrollo embrionario, hasta el punto en que se produzca una asincronía materno embrionaria que resulta en la muerte del embrión (Zarco et al. 1994).

La regulación de la sincronía entre el desarrollo del embrión y el ambiente uterino es compleja, y al parecer los factores de crecimiento o somatomedinas juegan un papel importante en la iniciación, establecimiento y mantenimiento de la gestación (Simmen et al. 1993). Estas sustancias actúan principalmente como hormonas parácrinas o autócrinas en diferentes tejidos. Una clase especial de factores de crecimiento son los factores de crecimiento parecidos a la insulina tipo 1 (IGF-1) (Hill et al. 1989), los cuales parecen funcionar como mediadores para la sincronía entre el desarrollo del medio ambiente uterino y el del embrión durante la gestación temprana (Simmen et al. 1993). Los IGF-1

estimulan la diferenciación de las células de la granulosa y de la teca, así como la esteroidogénesis y la maduración de los ovocitos en una gran variedad de especies (Hammond et al. 1991).

Se ha informado la presencia de receptores para IGF-1 en la membrana de las células del endometrio y del miometrio, y se ha observado que los IGF's exógenos inducen un aumento en los índices de mitosis de las células epiteliales y del estroma endometrial (Ko et al. 1991). También se han encontrado receptores para IGF-1 en embriones de 8 células, tanto de bovinos como de roedores (Herrler et al. 1992). Además, existen datos que sustentan la hipótesis de que los niveles de IGF-1 presentes en el líquido folicular actúan como una señal autócrina, incrementando el número de receptores para LH, lo que estimula la producción de progesterona (Spicer et al. 1988; Schem et al. 1990)

La síntesis del IGF-1 es inducida por la hormona del crecimiento o somatotropina (bST), siendo el hígado el sitio primario de acción de la somatotropina con respecto a la liberación de los diferentes tipos de factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF), sin embargo, tanto el útero como los ovarios presentan receptores para la hormona de crecimiento (Lucy et al. 1992), y son sitios potenciales de acción para esta hormona (Hammond et al. 1988).

Simmen et al. 1993, indican que la transferencia de embriones se podría favorecer con la aplicación de factores de crecimiento parecidos a la insulina, ya que podría mejorar la viabilidad embrionaria, "rescatar" los embriones con menor desarrollo, y mejorar la sincronía entre el desarrollo embrionario y el medio ambiente uterino, incrementando la supervivencia embrionaria y la eficiencia reproductiva. Sin embargo, debido a que no existe disponibilidad comercial de IGF's, la alternativa lógica es la administración de rbST para estimular la producción endógena de IGF-1, y de esta forma lograr los efectos benéficos de este factor en un programa de superovulación y transferencia embrionaria.

En bovinos los tratamientos con somatotropina bovina recombinante (rbST) resultan en un aumento significativo en las concentraciones periféricas de hormona del crecimiento, lo que es seguido dentro de las siguientes 24 horas por un incremento en las concentraciones de IGF-1. La elevación en las concentraciones de la hormona del crecimiento y el IGF-1 se mantiene aproximadamente durante 8 días (Gong et al. 1993b).

El tratamiento con rbST, directamente o a través de IGF's podría estimular la actividad secretora del oviducto (Herrler et al. 1994), y tener efectos sobre el útero materno y/o al desarrollo embrionario (Simmen et al. 1993; Herrler et al. 1994), además puede provocar una elevación en las concentraciones de progesterona debido a sus efectos estimulantes de la función lútea (Simmen et al. 1993).

Estos efectos podrían evitar la degeneración embrionaria que se produce en animales superovulados o en otras condiciones en las que la degeneración embrionaria tiene su origen en una asincronía materno-embrionaria. Por ejemplo, Morales-Roura et al. 2001, encontraron un aumento muy significativo en la fertilidad de vacas repetidoras a las que se les administró rbST al momento de la inseminación. Por otra parte, Rosas 2001, encontró que el tratamiento con rbST en ovejas superovuladas resultó en una menor incidencia de regresión prematura de los cuerpos lúteos, mayores concentraciones de progesterona durante los primeros 6 días posteriores a la ovulación, y una mayor proporción de embriones en estados avanzados de desarrollo, aunque no resultó en la recuperación de un mayor número de embriones transferibles. En la cabra es más probable que la administración de rbST tenga efectos positivos sobre la sobrevivencia embrionaria, ya que después de la superovulación de esta especie existe una incidencia mucho mayor de regresión prematura del cuerpo lúteo que en la oveja (Saharrea et al. 1998). Sin embargo, en esta especie no se han evaluado los efectos de los tratamientos con rbST.

# OBJETIVOS

## 1.1 Objetivo general

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la administración de rbST al inicio del estro sobre la respuesta ovárica y la sobrevivencia de embriones en cabras superovuladas, así como sus efectos sobre la fertilidad y prolificidad de cabras receptoras.

## 1.2 Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de la administración de rbST sobre la tasa ovulatoria en cabras superovuladas.
2. Determinar el efecto de la administración de rbST sobre el funcionamiento del cuerpo lúteo durante los cinco primeros días de la gestación en cabras superovuladas.
3. Evaluar el efecto de la administración de rbST en cabras superovuladas sobre el desarrollo y calidad de los embriones recolectados.
4. Determinar si existe relación entre las concentraciones de progesterona durante la fase lútea temprana y el desarrollo embrionario.
5. Evaluar el efecto de la administración de rbST a cabras superovuladas sobre el índice de concepción obtenido al transferir los embriones a cabras receptoras.
6. Evaluar el efecto de la administración de rbST a cabras receptoras sobre las concentraciones de progesterona posteriores a la transferencia de embriones.
7. Evaluar el efecto de la rbST en cabras receptoras sobre la supervivencia de los embriones transferidos.
8. Determinar si existe relación entre la concentración de progesterona presente en la receptora al recibir el embrión y la probabilidad de que se establezca exitosamente la gestación.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Superovulación.

La superovulación es una técnica que se ha utilizado en especies domésticas para incrementar la producción de ovocitos viables (Armstrong et al. 1983a; Alwan et al. 1988), lo que resulta de gran utilidad para la producción de embriones de animales genéticamente superiores (Maxwell et al. 1993).

Las hormonas más utilizadas para lograr la superovulación son la foliculo estimulante (FSH) y otras hormonas con efecto similar al de la FSH, como la gonadotropina coriónica equina (eCG o PMSG) y la gonadotropina menopáusica humana (hMG.) (Wollen et al. 1985; Driancourt y Fry, 1992). Estas hormonas estimulan a los receptores para FSH en los folículos ováricos, lo que provoca un aumento en el reclutamiento de folículos menores a 2 mm. de diámetro, además de estimular el crecimiento sostenido de folículos mayores de 4 mm., dando como resultado el aumento del número de folículos preovulatorios presentes en los ovarios al producirse el pico de LH (McNatty et al. 1982; Driancourt y Fry, 1992).

A pesar de que al utilizar eCG como tratamiento superovulatorio se requiere de una sola aplicación (1,500 UI), su uso no es del todo recomendable, ya que se produce un fuerte incremento en el número de ovocitos no fertilizados, además, como la eCG tiene una vida media muy larga en la circulación, continúa estimulando el desarrollo folicular durante varios días, lo que ocasiona que a nivel ovárico se sigan desarrollando pequeños folículos después de ocurrida la superovulación. Estos folículos pueden persistir hasta el momento en que se realiza el lavado para la recolección de embriones, y los estrógenos producidos por dichos folículos pueden causar la regresión prematura de los cuerpos lúteo (Battye et al. 1988; Saharrea et al. 1998), ya que estimulan la síntesis de receptores para oxitocina en el endometrio, con lo cual la oxitocina puede estimular la secreción pulsátil de PGF2 $\alpha$  endometrial (McCracken et al. 1984).

Por lo anterior es más común la utilización de FSH, a pesar de que, por su vida media corta, se tiene que

administrar cada 12 horas durante 3 o 4 días para lograr la superovulación (Dattena et al. 1994). La FSH es la hormona responsable del crecimiento del folículo y de la selección del folículo destinado a ovular (Driancourt y Fry, 1992). La aplicación exógena de FSH causa que los folículos destinados a sufrir atresia maduren hasta una etapa preovulatoria, por lo que la utilización de FSH para la superovulación resulta en un mayor número de ovulaciones, menor número de folículos anovulatorios, y la recuperación de más embriones transferibles que cuando se utilizan otras hormonas (Cognie et al. 1985). Además, la FSH produce una respuesta aceptable y consistente (Schiewe et al. 1990). Existen diferentes esquemas de aplicación de FSH, los cuales varían en dosis, frecuencia y duración del tratamiento (Dattena et al. 1994).

Durante un ciclo normal tanto la LH como la FSH tienen importantes efectos sobre la actividad esteroidogénica del folículo, ya que cuando la LH se acopla a su receptor en la célula de la teca se producen una serie de cambios bioquímicos encaminados a sintetizar andrógenos a partir de colesterol. Dichos andrógenos son subsecuentemente aromatizados a estradiol en la célula de la granulosa como resultado del acople de la FSH a su receptor (Driancourt y Fry, 1992). Al administrar FSH para provocar la superovulación, los estrógenos producidos por los folículos actúan en forma sinérgica con la FSH exógena, estimulando la mitosis de las células de la granulosa de folículos que normalmente estarían destinados a sufrir atresia por falta de estimulación con FSH. Esto permite que un mayor número de folículos maduren hasta el estado ovulatorio, produciéndose así la superovulación (Newman, 1991).

Las dosis de FSH utilizadas varían según las características de los animales en estudio (Hawk et al. 1987; Driancourt y Fry, 1992). En bovinos se ha demostrado que la respuesta a la superovulación es mayor al aplicar el tratamiento en dosis decrecientes en comparación con la aplicación en dosis constantes (Chupin et al. 1985). En ovinos las mejores respuestas se obtienen aplicando los tratamientos cada 12 horas durante 2 o 3 días en dosis decrecientes (Lopez-Sebastian, 1990; Thompson et al. 1990). En todas las especies existe una alta variabilidad en la respuesta, que parece deberse en parte al estado de la población folicular al iniciarse el tratamiento.

Se ha informado que los regímenes de superovulación con FSH pueden ser mejorados con el uso suplementario de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) o de gonadotropina coriónica humana

(hCG), las cuales provocan la ovulación de mayor cantidad de folículos (Barry et al. 1988; Walker et al. 1989; Krisher et al. 1994).

## **2.2 Alteraciones del desarrollo y función folicular en animales superovulados.**

La administración de gonadotropinas exógenas en el momento adecuado del ciclo resulta en el reclutamiento, selección y ovulación de un número de folículos mayor al normal para la especie (superovulación). Existen tres posibles formas en que las gonadotropinas exógenas estimulan la formación de folículos adicionales:

- 1) Las gonadotropinas exógenas provocan el reclutamiento de una mayor cantidad de folículos a partir de la población de folículos en crecimiento (folículos >2mm. de diámetro)
- 2) Las gonadotropinas pueden estimular la maduración de folículos que estaban destinados a sufrir atresia.
- 3) Las gonadotropinas pueden rescatar folículos con cierto grado de atresia (Dott et al. 1979)

Ni el desarrollo ni la función de los folículos así estimulados son completamente normales, por lo que se presentan alteraciones en la actividad ovárica que persisten aún después de que la mayoría de los folículos estimulados exógenamente han ovulado (Foote y Ellington, 1988). En numerosos experimentos se ha encontrado que generalmente la superovulación con FSH es preferible a la realizada con eCG. Así, Armstrong et al. 1983a, encontraron valores significativamente mayores de LH durante el pico preovulatorio en cabras superovuladas con FSH en comparación con eCG ( $21.6 \pm 6.8$  vs  $4.1 \pm 1.2$ ,  $P < 0.05$ ); así mismo Kumar et al. 1992, observaron que los patrones de secreción de FSH, LH, progesterona y estradiol son más parecidos a los normales al superovular con FSH que al utilizar eCG.



Se conoce que la eCG causa disturbios en la esteroidogénesis folicular in vivo debido a su larga vida media y a que su actividad de LH puede estimular la síntesis de precursores de andrógenos en la teca interna del folículo (Armstrong et al. 1983b; Kumar et al. 1992). Las concentraciones de estradiol en el líquido folicular fueron significativamente mayores en el grupo de animales superovulados con eCG, que en los animales testigo y en los superovulados con FSH (Kumar et al. 1992).

Se ha encontrado que al superovular vacas y cabras con eCG sucede una activación prematura del ovocito, lo cual esta asociado con disturbios en las concentraciones de esteroides en el fluido folicular (Kumar et al. 1992). Igualmente, en cabras superovuladas con eCG existe una proporción significativamente mayor de animales con condensación prematura de la cromatina que en los animales superovulados con FSH (Kumar et al. 1992).

### **2.3 Regresión prematura del cuerpo lúteo en cabras superovuladas, efecto en la sobrevivencia y calidad embrionaria.**

Uno de los principales problemas en los programas de transferencia de embriones en cabras es el bajo índice de colección de embriones, el cual se ha atribuido a la regresión prematura de los cuerpos lúteos (Battye et al. 1988; Saharrea et al. 1998). Esta luteólisis prematura generalmente ocurre dentro de los primeros días posteriores a la ovulación (Camp et al. 1983), y como resultado los niveles de progesterona disminuyen entre el día tres y cinco del ciclo, hasta llegar a niveles basales en el día 6 (Stubbings et al. 1986; Schiwe et al. 1990; Hunter, 1991; Saharrea et al. 1998).

En cabras con regresión prematura del cuerpo lúteo se ha demostrado que se presenta una secreción pulsátil de  $PGF2\alpha$ , que se inicia alrededor del día dos post-ovulación (Battye et al. 1988). La producción de estrógenos provenientes de folículos anovulatorios, que permanecen en los ovarios después de que la mayoría de los folículos estimulados por el tratamiento superovulatorio han ovulado, provoca la aparición prematura de receptores para oxitocina (Hunter, 1991), lo que resulta en una liberación prematura de  $PGF2\alpha$  (Stubbings et al. 1986; Dalley et al. 1992; Garverick et al. 1992; Burke et al. 1994).



El problema de regresión prematura es más común cuando se utiliza eCG para la superovulación. Esto es debido a que la larga vida media de la eCG provoca que se siga estimulando el desarrollo folicular, y por lo tanto la secreción de estrógenos, aún después de que se han producido las ovulaciones estimuladas por el tratamiento. Esto provoca un bajo índice de colección de embriones en comparación con la FSH (Armstrong et al. 1987).

Además de inducir la regresión prematura de los cuerpos lúteos, la presencia de folículos anovulatorios después de la ovulación del resto de los folículos podría estar modificando el balance endocrino esencial para el éxito en la colección embrionaria, ya que producen estrógenos que podrían alterar el transporte de gametos, y la fertilización (Foote y Ellington, 1988; Schiewe et al. 1990).

La administración de hCG o GnRH durante la fase lútea temprana en animales superovulados con eCG, reduce la incidencia de cuerpos lúteos con regresión prematura (Saharrea et al. 1998). La administración de hCG 84 horas después de presentado el estro evita la regresión lútea prematura y se presentan concentraciones mayores de progesterona en cabras superovuladas con eCG (Saharrea et al. 1998).

## **2.4 Efecto de la somatotropina sobre el desarrollo folicular**

En los bovinos la mayor parte de los receptores para somatotropina bovina (bST) se encuentran localizados en el hígado, donde la unión de la bST con sus receptores induce la síntesis y secreción de factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF). Sin embargo, los IGF también se producen en el útero y los ovarios, los cuales contienen receptores para bST y son sitios potenciales de acción para esta hormona.(De La Sota et al. 1993). El tratamiento con bST recombinante (rbST) en vacas lactantes resulta en mayores concentraciones de glucosa, colesterol, bST e IGF-1 en plasma, así como en un aumento en la producción láctea. En las vacas no lactantes tratadas con rbST se elevan las concentraciones plasmáticas de insulina. Se sabe que la administración de rbST en vacas altera la dinámica folicular. Por

ejemplo, en vacas lactando, el tratamiento con rbST durante la primera onda folicular provocó un aumento en el número de folículos de 6 a 9 mm. (De La Sota et al. 1993) .

La aplicación de rbST aumenta las concentraciones periféricas de GH dentro de las primeras 24 horas de la aplicación(Gong et al. 1993a), y permanecen significativamente altas durante 7 días. El incremento en las concentraciones de GH es seguido a las pocas horas por un incremento en los niveles periféricos de IGF-1, que se mantienen elevadas hasta por 8 días (Gong et al. 1993b). El incremento en el número de folículos pequeños se detecta aproximadamente 24 horas después del aumento en las concentraciones periféricas de GH, IGF e insulina. Por todo lo anterior se infiere que el tratamiento con rbST puede incrementar la población de pequeños folículos, y que este efecto posiblemente es mediado por el aumento en las concentraciones circulantes de GH, IGF e insulina (Gong et al. 1993a). En contraste con lo que ocurre con los folículos pequeños, el tratamiento con rbST no tiene un efecto sobre el número de folículos medianos y grandes presentes en cada onda folicular (De La Sota et al. 1993).

Con la finalidad de explorar el posible efecto de la rbST sobre la foliculogénesis y la tasa de ovulación, Gong et al. 1993b, aplicaron diariamente 25 mg. de rbST durante 2 ciclos estrales en vacas, encontrando que el grupo tratado tuvo concentraciones mas altas de GH e IGF-1 que el testigo durante todo el tratamiento. También detectaron un aumento en la población de folículos antrales de 2 a 5 mm. y asumieron que esto podría deberse directamente al aumento en las concentraciones de IGF, ya que el tratamiento con rbST no tuvo efectos sobre las concentraciones de FSH, LH, progesterona o estradiol.

Tampoco puede descartarse un efecto directo de la somatotropina en el folículo, ya que los tratamientos con rbST incrementan las concentraciones periféricas de GH durante todo el periodo del tratamiento (Gong et al. 1991).

No se ha encontrado un aumento en la tasa ovulatoria en diferentes estudios en los que se ha administrado rbST al momento de la inseminación en bovinos (Herrler et al. 1994). Tampoco se encontraron efectos sobre la tasa ovulatoria en cabras sincronizadas tratadas con 100 mg. de rbST cinco o diez días antes del retiro de esponjas de acetato de fluorogestona (Domínguez et al. 2001). El aumento

en la tasa de ovulación se ha reportado únicamente en vacas productoras de leche cuando la rbST se aplica por lo menos 72 horas antes de iniciar el tratamiento superovulatorio (Keuhner et al. 1993).

## **2.5 Efecto de la somatotropina sobre la superovulación**

Un problema mayor asociado a la superovulación es la gran variabilidad individual en la respuesta. Esto ha limitado la eficiencia de la transferencia embrionaria debido a la incertidumbre con respecto a la eficiencia de la recuperación y el número de embriones obtenidos. Se ha propuesto que los dos puntos determinantes en la obtención de un adecuado número de embriones viables son la administración de preparaciones hormonales apropiadas y el número de folículos viables que puedan responder al momento de la estimulación con gonadotropinas.(Gong et al. 1993b). Por ésta razón, y conociendo que en los folículos ováricos existen receptores para somatotropina, se han realizado diversos experimentos para evaluar el potencial de ésta hormona como moduladora de la respuesta superovulatoria.

Se ha encontrado que en el bovino los tratamientos con rbST aumentan el número de folículos antrales de 2 a 5 mm. de diámetro, lo que puede tener importancia práctica ya que se ha sugerido que el número de folículos ováricos sanos mayores a 1.7 mm. de diámetro presentes al momento del tratamiento con gonadotropinas puede ser muy importante en la subsiguiente respuesta superovulatoria. Por lo tanto, si los folículos pequeños inducidos por los tratamientos con rbST son funcionalmente sanos, el incremento en el número de folículos antrales pequeños inducidos por el tratamiento con rbST antes de iniciar el tratamiento superovulatorio podría favorecer la respuesta (Gong et al. 1993b).

La somatotropina estimula la síntesis de IGF-1 en varios tejidos y órganos. En el ovario, el IGF-1 es encontrado en altas concentraciones en el líquido folicular, particularmente en el folículo dominante (Gong et al. 1993a; Eden et al. 1988). Dado que la somatotropina puede estimular la síntesis ovárica de IGF-1, y que los IGF-1 estimulan las funciones de las células de la granulosa (Hammond et al. 1991), es razonable asumir que el tratamiento con somatotropina puede afectar la respuesta a los tratamientos superovulatorios. Sin embargo, Rieger et al. 1991, no pudieron demostrar que el tratamiento con rbST en

vaquillas superovuladas afectara la respuesta superovulatoria, pero si encontraron que el tratamiento con rbST resultó en un incremento significativo en la concentración de progesterona plasmática al día 6 post-estro, sugiriendo que la rbST podría aumentar la capacidad esteroidogénica de las células lúteas. Cognie et al. 1992, no encontraron un efecto de la somatotropina administrada en el último día de la superovulación de la oveja sobre el número de ovulaciones.

Al aplicar rbST al momento de la aparición del estro en ovejas superovuladas, Rosas, 2001, encontró un número significativamente mayor de cuerpos lúteos en las ovejas tratadas con rbST en comparación con las ovejas del grupo testigo. También encontró que los animales tratados con rbST tuvieron más cuerpos lúteos normales y menos cuerpos lúteos con regresión prematura que las ovejas superovuladas que no habían sido tratadas con somatotropina (Rosas et al. 2001). Como resultado, las ovejas que recibieron somatotropina tenían concentraciones significativamente más altas de progesterona al momento de colectar los embriones.

## **2.6 Efecto de la somatotropina sobre la producción de IGF's en el ovario**

Los IGF's son secretados en el ovario y son activos en las células ováricas. Las gonadotropinas facilitan tanto la secreción como la acción de los IGF's ováricos. Estos péptidos constituyen un posible sistema de amplificación local para la acción de las gonadotropinas, lo que podría incrementar la probabilidad de que un folículo sobreviva hasta la ovulación. (Hammond et al. 1991). La insulina y los IGF's también estimulan las funciones de las células de la granulosa y de la teca, y parecen ser esenciales para los efectos óptimos de la FSH. Además, es necesario que los IGF's estén presentes y / o sean secretados en el ovario para que puedan realizar sus acciones autócrinas o parácrinas (Hammond et al. 1991).

En condiciones in vitro, los efectos de los IGF's sobre la secreción de progesterona solamente ocurren cuando hay presencia simultanea de gonadotropinas, por lo que se considera que las gonadotropinas y los IGF's tienen efectos sinérgicos. La administración de gonadotropinas y hormona del crecimiento en bovinos aumenta las concentraciones de IGF-1 en el líquido folicular (Gong et al. 1993a).

El papel de los IGF's en la regulación de los índices de ovulación ha sido examinado en varios modelos animales para incrementar la fecundidad (Hammond et al. 1991; Khalid et al. 2000). Aunque, como ya se mencionó, la administración de rbST provoca un aumento en el número de folículos pequeños, no causa cambios mayores en los patrones de crecimiento de los folículos dominantes, lo que indica que la regulación del número de folículos dominantes no es influenciada por la hormona del crecimiento. En contraste, los folículos no dominantes de la primera o de la segunda oleada folicular son de mayor tamaño en las vacas tratadas con rbST, lo que sugiere que la rbST o los IGF-1 pueden estimular directamente a los folículos en crecimiento. Una explicación alternativa es que la rbST altera la relación entre los folículos dominantes y los subordinados. Las vacas tratadas con rbST podrían tener folículos dominantes menos capaces de inhibir el crecimiento y viabilidad de los folículos subordinados (De La Sota et al. 1993).

Una de las formas en que se pueden incrementar directamente los niveles circulantes de IGF-1 es a través de la aplicación de rbST, ya que los niveles de IGF-1 se incrementan notoriamente dentro de las 48 horas posteriores a la aplicación de la rbST (Gong et al. 1993a). Diversos estudios han demostrado que la aplicación exógena de hormona de crecimiento bovina tiene un efecto sobre varias funciones reproductivas. Eckery et al. 1993, al aplicar somatotropina recombinante bovina a 6 borregas hipofisectomizadas por un periodo de 12 días y a una dosis de 80 $\mu$ g/kg, seguidos por eCG al octavo día, logró el desarrollo folicular y la ovulación en el 83.33% de las ovejas tratadas, mientras que la administración de la gonadotropina sola no fue capaz de mantener el desarrollo folicular en las ovejas hipofisectomizadas, con lo cual se confirmó que la somatotropina juega un papel importante en el mantenimiento de la sensibilidad de los folículos a las gonadotropinas,

Esto también se ha demostrado en vaquillas a las cuales se les aplicó rbST en el día 7 del ciclo, seguido 5 días después por 2000 u.i. de eCG para inducir la superovulación, lográndose aumentar al doble el número de folículos antrales pequeños (2 a 5 mm.) (Gong et al. 1993a). Estos aumentos se han observado con anterioridad en vacas lactantes en lo que respecta a folículos de tamaño medio (De la Sota et al. 1993)

## **2.7 Efecto de la somatotropina sobre la calidad del cuerpo lúteo**

En algunos trabajos sobre aplicación de rbST en bovinos tanto en la fase lútea temprana como en la tardía se ha encontrado un aumento en el peso de los cuerpos lúteos, en las concentraciones de progesterona en sangre, y en el número de folículos (Lucy et al. 1993a). Estos efectos pueden ser debidos a acciones directas de la rbST a nivel ovárico, o pueden estar asociadas con aumentos en las concentraciones de IGF's en sangre y en el líquido folicular. La progesterona se incrementa en cultivos de células de la granulosa y de células lúteas tratados con IGF-1, y se han encontrado correlaciones positivas entre IGF-1 y progesterona en el líquido folicular (Lucy et al. 1994a).

En vaquillas tratadas con rbST se han encontrado cuerpos lúteos de mayor tamaño y concentraciones de progesterona mas elevadas durante las fases temprana (día 0 al 10) y tardía (día 15 al 21) del ciclo (Lucy et al. 1994) Así mismo, la aplicación de rbST acelera el crecimiento inicial del cuerpo lúteo y extiende su función, provocando además un adelanto de la segunda oleada folicular. El efecto estimulante de la rbST sobre el peso y capacidad esteroidogénica del cuerpo lúteo puede estar asociada a cambios celulares durante el desarrollo temprano del cuerpo lúteo (antes del día 9), o ser debidas a un efecto directo de la rbST en el CL maduro (después del día 9). También es posible una combinación de ambos efectos.

Los cambios en el tamaño del CL fueron seguidos por cambios en las concentraciones plasmáticas de progesterona, lo que sugiere que la cantidad total de tejido lúteo fue incrementada por la rbST, y esto a su vez se reflejó en el incremento de la progesterona plasmática. Las altas concentraciones de IGF-1 encontradas en la sangre de los animales tratados con rbST pueden haber influido también en el incremento de la producción de progesterona (Lucy et al. 1994).

Se ha demostrado que el tratamiento con IGF-1 de células de la granulosa y lúteas in vitro resulta en un aumento de la secreción de progesterona. Aunque la IGF-1 es expresada en el tejido lúteo bovino, un posible efecto de la IGF-1 periférica en el cuerpo lúteo es incierto. (Gong et al. 1991), sin embargo, es posible que la combinación de las acciones directas de la rbST a nivel ovárico, con las acciones

endocrinas de los IGF-1, actúen de manera acumulativa o sinérgica para estimular la función del cuerpo lúteo (Lucy et al. 1994).

La GH ha demostrado estimular la producción de IGF-1 y en menor grado la producción de progesterona in vitro en células de la granulosa de origen porcino. Gong et al. 1991, encontraron que las concentraciones periféricas de progesterona se cuadruplica cuando se administra somatotropina combinada con tratamientos a base de FSH y estradiol (Gong et al. 1991).

Morales-Roura et al. 2001, administraron a vacas repetidores 500 mg. de rbST por vía subcutánea al momento de presentar el celo, y de nuevo a los 10 días, encontrando que los niveles de progesterona tendieron a aumentar, lo que se asoció con un aumento muy significativo en el índice de concepción de los animales tratados con respecto a los testigos.

Los mecanismos mediante los cuales la rbST incrementa la progesterona plasmática son desconocidos, aunque es posible que la rbST afecte directamente el tejido lúteo. Se ha demostrado que las células de la granulosa de los folículos antrales son capaces de secretar IGF-1 in vitro, así mismo se ha propuesto que los IGF-1 pueden actuar como una señal autócrina que aumenta el número de receptores para LH y la producción de progesterona. Las células lúteas grandes pueden ser la fuente de IGF-1 y / o células blanco para su acción, y ser las responsables del incremento de progesterona plasmática observada en vacas tratadas con rbST (Schemm et al. 1990).

Rosas et al. 2001, al trabajar con ovejas superovuladas tratadas con 100 mg. de rbST al momento de detectado el estro observaron que las concentraciones de progesterona fueron significativamente más elevadas en el grupo tratado que en el testigo ( $P \leq 0.05$ ). Esta diferencia se debió a que en el grupo tratado las concentraciones de la hormona se elevaron significativamente el día 3 y 4, y continuaron elevándose hasta el día 6, mientras que en el grupo testigo las concentraciones de progesterona permanecieron básicamente estables.



## 2.8 Efecto de la somatotropina sobre la producción y calidad embrionaria

En vaquillas Holstein se ha encontrado que el número promedio de embriones por colección es ligeramente mayor después del tratamiento con rbST, sin embargo, no se ha encontrado diferencia en el número de embriones transferibles y pueden requerirse dosis mayores de 20 mg. de rbST para promover las funciones foliculares e incrementar la producción embrionaria. También resulta ventajoso utilizar el tratamiento con rbST antes de iniciar el tratamiento con FSH con la finalidad de incrementar el número de folículos antrales capaces de responder a las gonadotropinas (Rieger et al. 1991).

En un programa de superovulación utilizando eCG, en las vaquillas tratadas previamente con rbST se recolectaron un mayor número de embriones, pero el número de embriones transferibles no fue diferente al obtenido en el grupo control, ya que el número de ovocitos y de embriones de baja calidad fue mayor en el grupo tratado con rbST (Gong et al. 1993b). El tratamiento con rbST elevó entre 2 y 2.5 veces los niveles de progesterona y  $17\beta$ -estradiol, por lo que se sugirió que el aumento en los niveles de estradiol puede haber afectado la fertilización de los ovocitos y/o en el subsiguiente desarrollo embrionario.

Con la finalidad de obtener un efecto favorable sobre el desarrollo del embrión y en consecuencia sobre la fertilidad de vacas repetidoras, Morales-Roura et al. 2001, administraron 500 mg. de rbST en el día del estro, y una segunda dosis a los 10 de la primera aplicación. Este tratamiento mejoró significativamente el porcentaje de concepción y se observó cierta tendencia en las vacas tratadas con rbST a presentar concentraciones mayores de progesterona (Morales, 1993). Mendoza, 2000, encontró resultados similares al utilizar una sola aplicación de rbST al momento de la inseminación en vacas al primer servicio y en vacas repetidoras, encontrando niveles más altos de IGF-1 en las vacas tratadas con rbST que en las vacas testigo. En otro estudio realizado en vacas de primer servicio y repetidoras que fueron superovuladas y tratadas con rbST (500 mg. al momento de la inseminación) con la finalidad de mejorar la calidad embrionaria, se encontró que en los animales de primer servicio el porcentaje de embriones transferibles fue similar para los animales tratados con rbST y los del grupo control, en cambio, en las vacas repetidoras si se presentó un efecto positivo del tratamiento con rbST sobre el porcentaje de



embriones transferibles (Morales, 2000). Esto sugiere que la administración de somatotropina puede ser especialmente valiosa cuando existen condiciones que ponen en riesgo el desarrollo normal del embrión. Moreira et al, 2002, llevaron a cabo la superovulación en vacas Holstein con el objeto de determinar los efectos de la somatotropina bovina en la fertilización y el desarrollo embrionario temprano, además de demostrar que los embriones recuperados de las hembras tratadas con rbST tenían mayores probabilidades de supervivencia al ser transferidos a las hembras receptoras, así como evaluar si el tratamiento con rbST en las receptoras tiene relación con las tasas de gestación. En este trabajo las hembras donadoras del grupo tratado recibieron 500 mg de rbST al momento de la detección del estro, dosis similar a la administrada en las receptoras del grupo tratado. El número de ovocitos recuperados en las hembras del grupo tratado con rbST fue menor en comparación con el grupo control ( $1.0 \pm 0.9$  y  $3.7 \pm 0.9$ ,  $P < 0.04$ , respectivamente) y no existieron diferencias en número total de embriones recuperados ( $9.4 \pm 1.5$  y  $9.3 \pm 1.4$ , respectivamente). Sin embargo se encontraron diferencias estadísticamente significativas a favor de las donadoras tratadas con rbST en lo referente al número de embriones transferibles ( $7.4 \pm 1.4$  y  $5.4 \pm 1.4$ , respectivamente) y al número de blastocitos recuperados ( $0.4 \pm 0.6$  y  $2.4 \pm 0.6$ , respectivamente). En lo que respecta a las receptoras, el porcentaje de gestación fue similar en las hembras tratadas y las del grupo control, sin embargo se encontraron diferencias entre las receptoras tratadas con rbST con las receptoras del grupo control que recibieron embriones de donadoras del grupo control.

En contraste Rodríguez, 1999, administró rbST en el día 3 posterior la inseminación de vacas repetidores y de primer servicio, y en ninguno de los dos casos logró mejorar los índices de concepción. Esto sugiere que en bovinos el efecto positivo de la rbST sobre los embriones encontrado por Morales, 2000, y Morales et al. 2001, es mediado por alteraciones en la función del oviducto durante los primeros días de vida del embrión, por lo que es importante aplicar el tratamiento el día del estro para mantener niveles sanguíneos elevados de IGF-1 desde el inicio de la gestación.

También en la oveja se ha encontrado que la administración de rbST en el día del estro puede tener efectos sobre el desarrollo embrionario. Así, al realizar estudios en ovejas superovuladas con FSH-p y tratadas con rbST en el día del estro, Rosas, 2001, encontró que las ovejas del grupo tratado con rbST

presentaron más blastocitos en estados avanzados, lo que se asoció con concentraciones más elevadas de progesterona en dichas ovejas.

## **2.9 Factores de crecimiento parecidos a la insulina y sus efectos sobre la comunicación materno-embriónica y el establecimiento de la gestación.**

Las interacciones entre el útero materno y el producto en desarrollo son esenciales para lograr el desarrollo normal del blastocito y una gestación exitosa (Zarco et al. 1994). La familia de los factores de crecimiento parecidos a la insulina parece funcionar como mediadores clave del desarrollo coordinado del útero y del producto durante la gestación temprana, por virtud de su habilidad de influenciar, directa o indirectamente, la síntesis y secreción de proteínas secretoras en el útero y en el producto. La acción autócrina y parácrina de los factores parecidos a la insulina son modulados dentro del micromedio uterino por los receptores Tipo I para IGF y por las proteínas ligadoras de IGF (IGFBP's), que están sujetas a una regulación local tanto en el útero como en el producto. La comprensión del mecanismo por el cual los IGF's regulan la expresión de las señales del producto para el reconocimiento de la gestación puede proporcionar aplicaciones prácticas para incrementar la eficiencia reproductiva (Simmen et al. 1993).

La naturaleza y los mecanismos de acción de los productos secretorios del útero y del producto que juegan un papel en la comunicación materno-embriónica han sido parcialmente descritos. El embrión induce el reconocimiento materno de la gestación a través de la secreción de estrógenos en el cerdo, de proteína trofoblástica ovina I (oTP-1) en el ovino, proteína trofoblástica caprina I (cTP-1) en la cabra, y de proteína trofoblástica bovina – 1 (bTP-1) en el bovino (Knickerbocker y Niswender, 1989; Ko et al. 1991). Estas moléculas regulatorias, actuando como señales antiluteolíticas permiten que en el animal gestante la función del cuerpo lúteo se mantenga más allá del momento en el que se produce la regresión lútea en los animales no gestantes (Zarco et al. 1994). Los factores de crecimiento parecen ser muy importantes para la respuesta del útero a las señales embriónicas para el reconocimiento de la gestación (Simmen et al. 1993).

Los genes para IGF-1 y -2 se expresan fuertemente en el endometrio uterino de cerdas, vacas y ovejas ciclando y en gestación temprana, además de que el IGF-1 y -2 están presentes en las secreciones uterinas de dichas especies durante el periodo de peri-implantación (Simmen et al. 1993). En ovejas se encontró que el contenido de IGF-1 en el fluido luminal uterino fue mayor en el día 14 de la gestación, que corresponde precisamente al nivel máximo de síntesis y secreción de la oTP-I por los productos en elongación (Knickerbocker y Niswender, 1989; Ko et al 1991), y la secreción de oTP-I está correlacionada positivamente con el tamaño del producto y su morfología.

La presencia de factores de crecimiento durante el periodo de pre-implantación en la cabra sugiere su participación en la proliferación y la diferenciación que ocurre durante la implantación y el desarrollo embrionario (Flores et al. 1998). En el lumen uterino del ovino se ha demostrado la presencia de al menos dos factores mitogénicos distintos: IGF-1 e IGF-2, cuya síntesis y secreción por el útero es regulada por el estado de la gestación y por las concentraciones de estrógenos y progesterona. Las células del endometrio y miometrio expresan receptores superficiales para IGF's, y responden a los IGF's exógenos con un incremento en la mitosis (Ko et al. 1991)

El oviducto y el útero contienen factores del crecimiento que pueden estimular la proliferación celular en el embrión, y en algunos casos estimular la diferenciación de los embriones durante el periodo previo a la implantación (Izadyar et al. 1997). Estos factores actúan en forma parácrina, uniéndose a receptores específicos en las células embrionarias. Además, el embrión por si mismo produce algunos factores del crecimiento autócrinos.

## **2.10 Técnicas de colección embrionaria.**

La colección embrionaria puede realizarse mediante técnicas quirúrgicas o no quirúrgicas. Las técnicas quirúrgicas involucran cirugía mayor por medio de laparotomía, a través de la cual se realiza la exposición del útero (Boundy et al. 1985). Esto permite examinar el número, tamaño y apariencia general de los folículos y cuerpos lúteos, así como manipular el útero durante la recolección embrionaria. Para la

recolección quirúrgica se realiza una perforación en cada cuerno cerca de la bifurcación uterina, a través de la cual se inserta un catéter de Foley. Se introduce un total 40 a 50 ml. del medio de lavado uterino, a razón de 5 a 10 ml. por lavado. El medio se colecta en una jeringa mientras se realiza un ligero masaje en el cuerno uterino. Este mismo procedimiento se repite de 5 a 8 veces por cuerno. Al final del procedimiento se retiran los catéteres y se suturan los sitios de perforación (Schiewe et al. 1990).

Ruttle et al. 1988, desarrollaron una variación de esta técnica, en la cual además del cateter de Foley se inserta un catéter intravenoso en la unión útero tubárica, por el cual se recolecta el medio, que es introducido a través del catéter localizado cerca de la bifurcación uterina.

Estas técnicas estándar de colección embrionaria por laparotomía resultan en la formación de adherencias del aparato genital, el omento y la pared abdominal, lo que puede reducir la subsiguiente fertilidad de las ovejas donadoras. También dificultan la realización de la cirugía en intentos subsecuentes de colección de embriones, y eventualmente esta se vuelve imposible, por lo que el resultado es la reducción de la vida reproductiva promedio de cada oveja donadora (McKelvey et al. 1986).

La transferencia embrionaria se ve entonces limitada debido a la colección quirúrgica, por lo que se han desarrollado más métodos no quirúrgicos para la colección embrionaria en pequeños rumiantes. Existen varias alternativas eficaces, tales como la colección embrionaria no quirúrgica y la colección por laparoscopia (Kraemer, 1989).

La colección embrionaria no quirúrgica involucra el pasar los anillos cervicales mediante la dilatación de los mismos, y la introducción de un catéter adecuado para la colección. Las desventajas de este método son la baja efectividad al tratar de dilatar el cérvix, y la presión que se requiere aplicar, que puede impulsar el medio a través de la unión útero-tubárica, lo que podría provocar la pérdida de los embriones en la cavidad abdominal (Kraemer, 1989).

Capehart, 1984, desarrollaron una técnica para la colección de embriones por laparoscopia en ovejas, utilizando el endoscopio para visualizar la respuesta ovárica y exteriorizar los cuernos uterinos. Con ésta

técnica se inyecta simultáneamente el fluido de colección en ambos cuernos uterinos, y se colecta por vía cervical a través de una sonda de Foley. La exteriorización parcial de los cuernos uterinos provoca pequeñas adherencias en la unión útero tubárica. Más recientemente, McKelvey et al (1986) desarrolló una técnica en la cual no es necesario exteriorizar el aparato reproductor y permite que las ovejas o cabras puedan utilizarse repetidamente como donadoras. La técnica consiste en colocar tres trocares-cánula, por los cuales se insertan el laparoscopio y un par de fórceps para laparoscopia. Se realiza una incisión en la pared uterina y se introduce un catéter pediátrico de Foley, mientras que en la unión útero tubárica se inserta un catéter intravenoso. El medio de lavado que se introduce por el catéter intravenoso es colectado por el catéter de Foley. Esta última es la técnica que se utilizó en el presente trabajo.

### **III. MATERIAL Y METODOS.**

#### **3.1 Localización**

El presente trabajo se realizó en el hato caprino del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Bovina y Caprina (CEIEPBC), "Rancho Cuatro Milpas", de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el municipio de Tepetzotlán, Estado de México, a una altura de 2,450 msnm, 19° 43' de latitud norte, y 94° 14' de longitud oeste. El clima de la región es C (WO) (W) b (i') que corresponde a templado subhúmedo con lluvias en verano, y precipitación pluvial de 610.6 mm.

#### **3.2 Animales experimentales.**

El trabajo se realizó durante la época reproductiva (septiembre a diciembre). Se utilizaron 150 cabras de las razas Alpino Francesa y Toggenburg, 32 de las cuales fueron donadoras y 120 receptoras de embriones. Los animales fueron asignados a los diferentes tratamientos en forma balanceada de acuerdo a la raza. La mitad de las hembras donadoras (n=16) y la mitad de las hembras receptoras (n=60) fueron tratadas con somatotropina recombinante bovina (rbST).

#### **3.3 Manejo de las hembras donadoras.**

Todas las donadoras fueron sincronizadas utilizando esponjas intravaginales impregnadas con 45 mg. de acetato de fluorogestona (Chronogest, Intervet, México) durante 9 días, combinadas con la aplicación de 12.5 mg. de PGF<sub>2α</sub> (Lutalyse, Upjohn, México) en el día previo al retiro de la esponja (Hafez, 1993).

Para la superovulación se aplicó a cada animal una dosis total de 188 mg. de FSH (Folltropin-V, Vetrepharm) de la siguiente manera: en día 7 de colocada la esponja se aplicaron 56 mg. (28 mg. en la mañana y 28 mg. en la noche); en el día 8 se aplicaron 52 mg. (28 mg. en la mañana y 24 mg. por la noche); en el día 9 se inyectaron 44 mg. (24 mg. en la mañana y 20 mg. en la noche) y en el día del retiro de la esponja se aplicaron 36 mg. (20 mg. en la mañana y 16 mg. por la noche) (Thompson et al. 1990).

A partir de 24 horas después del retiro de la esponja se realizó la detección de estros cada 6 horas, utilizando para ello un macho vasectomizado y provisto con un mandil para evitar la cópula. Al momento de detectado el estro (estro = día 0) las 15 donadoras del grupo experimental recibieron una dosis única de 100 mg. de rbST (Lactotropina, Monsanto, México) por vía subcutánea (Rosas et al. 1995), mientras que las 15 donadoras restantes (testigos) recibieron una aplicación de 1 ml. de solución salina fisiológica.

Todas las donadoras fueron inseminadas intrauterinamente por laparoscopia (Cerbón et al. 1995; Mier et al. 1995) a las 24 h del inicio del celo utilizando semen congelado de un macho de la raza Alpino Francesa.

La colección de embriones se realizó el día 6 post-estro por medio de laparotomía media ventral (Flores, 1992). Durante la cirugía para la recolección embrionaria se exteriorizaron los ovarios y se contó el número de cuerpos lúteos con apariencia normal y el número de cuerpos lúteos en regresión (Cerbón, 1995). También se contó el número de folículos menores y mayores a 5 mm.

### **3.4 Manejo de las hembras receptoras.**

Todas las receptoras fueron sincronizadas utilizando esponjas intravaginales impregnadas con 45 mg. de acetato de fluorogestona (Chronogest, Intervet, México) durante 9 días, y una aplicación de 12.5 mg. de PGF<sub>2α</sub> (Lutalyse, Upjohn) el día anterior al retiro de esponja. Las esponjas se colocaron y retiraron de las receptoras un día antes que en sus correspondientes donadoras.

A partir de 24 horas de retirada la esponja se realizó la detección de estros cada 6 horas, utilizando un macho vasectomizado provisto con mandil para evitar la cópula. Doce horas después de detectado el estro, la mitad de las receptoras (n=60) recibieron una inyección única de 100 mg. de somatotropina bovina (Lactotropina, Monsanto, México) por vía subcutánea, repitiéndose el tratamiento 10 días después. Las 60 hembras restantes recibieron una aplicación de solución salina fisiológica (1.0 ml.) doce horas después de detectado el estro y una segunda aplicación 10 días después.

La transferencia de embriones fue realizada el mismo día de la colección embrionaria (día 5). Solamente se utilizaron como receptoras hembras en las que a la observación laparoscópica de los ovarios presentaron por lo menos un cuerpo lúteo normal. Los embriones fueron transferidos al cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo normal encontrado. La mitad de las receptoras de cada grupo (tratadas con rbST o con solución salina) se programó para recibir embriones provenientes de donadoras tratadas con rbST (n=60) y la otra mitad (n=60) para recibir embriones provenientes de donadoras del grupo testigo, procurando transferir a cada grupo embriones de similar estadio y calidad. En todos los casos se transfirieron dos embriones a cada receptora.

### **3.5 Evaluación embrionaria.**

Los embriones colectados fueron clasificados de acuerdo a su estadio en embriones de una célula, 2 células, 4-8 células, 8-16 células, mórulas tempranas (16-32 células), mórulas compactas (32-64 células), blastocitos tempranos, blastocitos maduros y blastocitos eclosionados, y clasificados en base a su calidad en excelentes (1), buenos (2), regulares (3) y malos (4) (Pendleton et al. 1992). Únicamente se transfirieron los embriones de calidad excelente o buena que fueron clasificados como mórulas compactas o blastocitos en cualquier estadio.



### **3.6 Toma de muestras.**

En todas las hembras donadoras y receptoras se obtuvieron muestras de sangre diariamente desde el día del estro sincronizado (día 0) hasta el día 24 post-estro. Las muestras se obtuvieron por punción yugular utilizando tubos al vacío heparinizados y fueron centrifugadas a 3,000 rpm durante 10 minutos para la separación del plasma (Navarro et al. 1990), manteniéndose en congelación hasta la determinación de las concentraciones de progesterona por radioinmunoanálisis de fase sólida.

### **3.7 Análisis estadístico**

En las hembras donadoras se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar los efectos del tratamiento sobre el número total de cuerpos lúteos, número de cuerpos lúteos normales, número de cuerpos lúteos en regresión, número de folículos mayores a 5 mm., número de embriones totales y número de embriones transferibles. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para comparar la distribución de los embriones en las diferentes categorías de desarrollo y de calidad. Las concentraciones promedio de progesterona en cada día post-estro se compararon mediante un análisis de varianza para mediciones repetidas, utilizando el tratamiento y el día post-estro como factores principales, y el efecto del animal anidado dentro del tratamiento. Se realizó un análisis de regresión entre la producción total de progesterona hasta el día 6 (área bajo la curva) y el grado de desarrollo embrionario, para lo cual se asignó una calificación numérica del 1 al 9 al desarrollo embrionario, donde 1 es un embrión de 1 célula y 9 un blastocito eclosionado.

En las receptoras se realizó un análisis de varianza igual al descrito para donadoras para evaluar el efecto del tratamiento rbST sobre las concentraciones diarias de progesterona. Además se realizó una prueba de t para comparar las concentraciones de progesterona al momento de la transferencia en las hembras que queden gestantes y las no gestantes. Se utilizó una prueba de  $X^2$  para comparar los porcentajes de gestación de acuerdo al origen del embrión (donadora tratada o no con rbST) y al tipo de receptora (tratada o no con rbST).

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Cabras donadoras

Los promedios de los datos relativos a la respuesta ovárica, tomando en cuenta a todos los animales de cada grupo, son mostrados en el cuadro 1. No hubo diferencia entre el grupo control y el grupo tratado con rbST con respecto a la cantidad de cuerpos lúteos normales, número de cuerpos lúteos con regresión prematura, folículos menores a 5 mm. ni folículos mayores a 5 mm.

**Cuadro 1. Estructuras ováricas encontradas al momento de la colección embrionaria en cabras superovuladas tratadas o no con rbST**

<i>ESTRUCTURA</i>	<i>TESTIGO (n = 16)</i>			<i>rbST (n = 16)</i>		
	<i>X</i>	<i>±</i>	<i>E.S.</i>	<i>X</i>	<i>±</i>	<i>E.S.</i>
Número de cuerpos lúteos	8.7	±	2.5	11.5	±	2.1
Número de cuerpos lúteos en regresión	0.9	±	0.9	0.6	±	0.3
Folículos < 5 mm.	1.8	±	1.0	3.3	±	1.1
Folículos > 5 mm.	0.6	±	0.2	0.6	±	0.4

Las diferencias entre grupos no son significativas ( $P > 0.05$ )

En el cuadro 2 se muestran las concentraciones de progesterona plasmáticas desde el día del estro (día 0) hasta el día de la colección embrionaria (día 6). No existieron diferencias significativas entre grupos en ninguno de los días evaluados ( $P > 0.05$ ).

**Cuadro 2. Concentraciones promedio de progesterona (ng/ml) durante los primeros 6 días post-estro en cabras superovuladas tratadas o no con rbST.**

<i>DIA DEL CICLO</i>	<i>GRUPO TESTIGO</i>			<i>GRUPO rbST</i>		
	<i>X</i>	<i>±</i>	<i>E.S.</i>	<i>X</i>	<i>±</i>	<i>E.S.</i>
0	0.2	±	1.7	0.1	±	2.0
1	0.3	±	1.7	0.3	±	2.0
3	5.0	±	1.7	4.8	±	2.0
5	11.4	±	1.7	13.7	±	2.0
6	12.9	±	1.7	15.1	±	2.0

No existieron diferencias significativas entre grupos ( $P > 0.05$ ).

En el grupo testigo siete animales no respondieron a la superovulación, por lo que solamente se lavaron nueve animales, recuperándose embriones solamente en seis cabras, que corresponden al 66.6 % de las hembras lavadas. En el grupo tratado con rbST respondieron a la superovulación catorce cabras, siendo posible obtener embriones a partir de doce de ellas, que corresponden al 85.7 % de las hembras lavadas. La diferencia en el porcentaje de hembras lavadas que produjeron embriones es significativa ( $P < 0.05$ ). Todos los embriones colectados tenían calidad de embrión transferible, por lo que en el cuadro los valores para embriones y embriones transferibles son idénticos en todos los casos.

En el cuadro 3 se observa que en el grupo tratado con rbST, al tomar en cuenta a todas las hembras superovuladas se obtuvieron en promedio más del doble de embriones y embriones transferibles que en el grupo testigo. Sin embargo, debido a la considerable variación entre individuos las diferencias no fueron significativas ( $P > 0.05$ ). Por otra parte, el mayor número de embriones por cabra superovuladas en las cabras tratadas con rbST se debió por completo a que en éste grupo la proporción de cabras que produjeron embriones fue mucho mayor que en el grupo testigo. Así, si se toman en cuenta solamente a las cabras que produjeron embriones, el número promedio de embriones colectados fue muy similar en ambos grupos, aunque en las cabras testigo se colectó además un número muy elevado de ovocitos.

**Cuadro 3. Ovocitos, embriones y embriones transferibles colectados en cabras superovuladas tratadas o no con rbST.**

	<i>GRUPO TESTIGO (n=16)</i>	<i>GRUPO rbST (n=16)</i>
Cabras superovuladas	16	16
Cabras lavadas	9	14
Cabras que produjeron embriones	6	12
<b>OVOCITOS</b>		
Por cabra superovulada	1.8±0.9	1.0±0.4
Por cabra lavada	3.3±1.5	1.1±0.5
Por cabra que produjo embriones	0.3±0.2	0.9±0.4
<b>EMBRIONES</b>		
Por cabra superovulada	3.5±1.3	7.6±1.7
Por cabra lavada	6.3±1.9	8.7±1.8
Por cabra que produjo embriones	9.5±1.8	10.2±1.8
<b>EMBRIONES TRANSFERIBLES</b>		
Por cabra superovulada	3.5±1.3	7.1±1.6
Por cabra lavada	6.2±1.9	8.1±1.6
Por cabra que produjo embriones	9.3±1.8	9.5±1.6

No existieron diferencias significativas entre grupos ( $P>0.05$ )

## 4.2 Cabras receptoras

A lo largo del trabajo hubo cuarenta hembras receptoras que fueron preparadas y que no pudieron ser utilizadas para la transferencia de embriones debido a que en las cabras programadas para donarles embriones no tuvieron producción. Adicionalmente, otras 22 receptoras no recibieron embriones debido a que la laparoscopia reveló que no tenían un cuerpo lúteo funcional en el día programado para la transferencia. Como resultado, el número total de receptoras del grupo testigo que recibieron embriones fue de 28, mientras que 30 receptoras del grupo rbST fueron transferidas.

Debido a que se produjeron más embriones en el grupo rbST, y a efectos aleatorios con respecto a la coincidencia del tipo de donadoras que produjeron embriones en un día en particular y el tipo de receptoras que tenían un cuerpo lúteo en ese mismo día, la distribución de embriones provenientes de hembras testigo o tratadas con rbST no fue homogénea para las receptoras testigo o tratadas con rbST. Así, de las 28 receptoras testigo transferidas, 6 recibieron embriones de las donadoras del grupo control

y 22 de donadoras tratadas con rbST. En lo referente a las 30 receptoras tratadas con rbST que fueron transferidas, 10 recibieron embriones provenientes del grupo control, mientras que a 20 les fueron transferidos embriones del grupo tratado con rbST.

En el cuadro 4 se observa que el 56.8 % del total de las receptoras que recibieron embriones quedaron gestantes. El porcentaje de gestación global de las receptoras que recibieron rbST fue similar al de las del grupo control. También fueron similares los porcentajes de gestación globales que se obtuvieron con embriones provenientes de donadoras testigo o con donadoras tratadas con rbST. Al observar los resultados de las combinaciones existe una aparente mayor fertilidad cuando se combinan donadoras y receptoras testigo en comparación con las otras combinaciones. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que el número de hembras transferidas en la combinación testigo-testigo fue muy bajo, por lo que el resultado es poco confiable. Por ésta razón las diferencias no fueron significativas ( $P>0.05$ )

**Cuadro 4. Porcentaje de gestación en receptoras tratadas o no con rbST que recibieron embriones provenientes de donadoras tratadas o no con rbST.**

<i>DONADORA</i>	<i>RECEPTORA TESTIGO</i>	<i>RECEPTORA rbST</i>	<i>TOTAL</i>
Testigo	83.3 % (5/6)	50.0 % (5/10)	62.5 % (10/16)
RbST	54.5 % (12/22)	55.0% (11/20)	54.8 % (23/42)
Total	60.7 % (17/28)	53.3 % (16/30)	56.8 % (33/58)

Las diferencias no son significativas ( $P>0.05$ )

En el cuadro 5 se muestran las concentraciones promedio de progesterona en las hembras receptoras que resultaron gestantes. No se encontraron diferencias significativas entre grupos en ninguno de los días evaluados.

**Cuadro 5. Concentraciones promedio de progesterona (ng/ml) durante los primeros 21 días de la gestación en cabras receptoras de embriones que quedaron gestantes**

DIA	TESTIGO (n=17)		RBST (n=16)	
	X	± E.S.	X	± E.S.
0	0.025	± 0.379	0.0	± 0.5
1	0.040	± 0.379	0.0	± 0.5
3	0.553	± 0.379	1.0	± 0.5
5	1.933	± 0.379	3.1	± 0.5
6	3.122	± 0.379	4.1	± 0.5
8	4.022	± 0.379	5.4	± 0.5
10	4.115	± 0.379	4.9	± 0.5
12	5.584	± 0.379	5.5	± 0.5
14	5.692	± 0.379	6.2	± 0.5
16	6.222	± 0.379	6.7	± 0.5
18	5.492	± 0.379	6.0	± 0.5
21	4.589	± 0.379	6.4	± 0.5

Las diferencias entre grupos no son significativas ( $P > 0.05$ )

En el cuadro 6 se muestran las concentraciones de progesterona en las receptoras que no quedaron gestantes en ambos grupos. A partir del día 12 las concentraciones promedio tendieron a ser superiores en el grupo tratado con rbST. Sin embargo, las diferencias entre los grupos solamente fueron significativas en los días 16 y 18 ( $P < 0.05$ ). En este último día las concentraciones promedio de progesterona en el grupo testigo fueron menores a 1 ng/ml., mientras que en el grupo tratado con rbST en ese mismo día se encontraron concentraciones de progesterona características de la fase lútea.

**Cuadro 6. Concentraciones de progesterona (mg/ml) en cabras receptoras de embriones tratadas o no con rbST que no quedaron gestantes como resultado de la transferencia de embriones**

DIA	TESTIGO (n=11)	rbST (n=14)
	X ± E.S	X ± E.S.
0	0.1 ± 0.7	0.1 ± 0.7
1	0.1 ± 0.7	0.1 ± 0.7
3	0.8 ± 0.7	0.4 ± 0.7
5	2.2 ± 0.7	1.3 ± 0.7
6	3.8 ± 0.7	2.4 ± 0.7
8	4.2 ± 0.7	3.3 ± 0.7
10	4.5 ± 0.7	2.9 ± 0.7
12	4.0 ± 0.7	5.6 ± 0.7
14	3.2 ± 0.7	5.6 ± 0.7
16	2.9 ± 0.7	5.9 ± 0.7
18	0.9 ± 0.7	5.3 ± 0.7
21	1.7 ± 0.7	2.9 ± 0.7

\*En estos días las diferencias entre grupos son significativas (P<0.05)

En la figura 1 se muestran el número promedio de cabritos nacidos de las hembras receptoras que quedaron gestantes en los grupos testigo y rbST que recibieron embriones provenientes de donadoras tratadas o no con rbST. Aparentemente las hembras con mayor prolificidad fueron las receptoras tratadas con rbST que recibieron embriones de cabras donadoras que también habían sido tratadas con rbST. La menor prolificidad se obtuvo en hembras tratadas con rbST que recibieron embriones de donadoras que no habían sido tratadas con somatotropina. Sin embargo, las diferencias en prolificidad no fueron significativas en ningún caso (P>0.05).

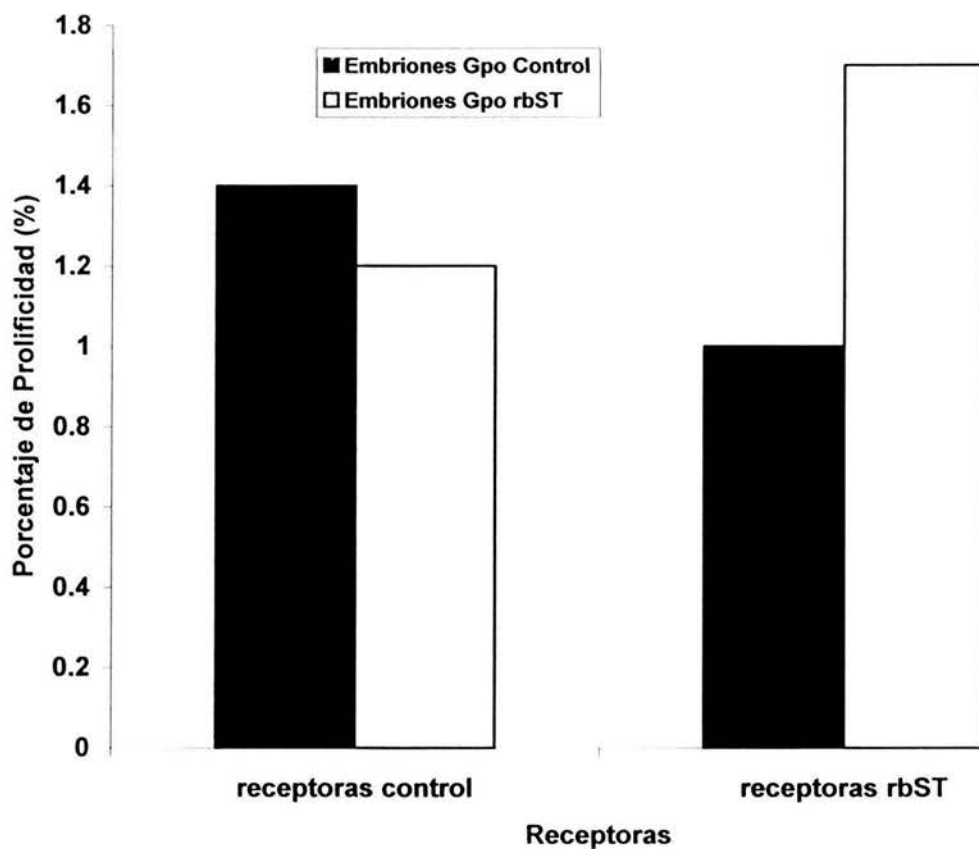


Figura 1. Prolificidad (número de cabritos nacidos por hembra gestante) de cabras receptoras de embriones tratadas o no con rbST, que recibieron embriones de donadoras que habían sido tratadas o no con rbST. No existieron diferencias significativas entre grupos ( $P > 0.05$ )



## V. DISCUSION

Los resultados del presente estudio indican que la aplicación de rbST durante el día del estro en cabras superovuladas no tiene un efecto significativo sobre el número de ovulaciones ni sobre la función de los cuerpos lúteos resultantes de la superovulación. Así, no existieron diferencias significativas entre grupos en el número de cuerpos lúteos encontrados en las donadoras en el día 6 (Cuadro 1), ni tampoco en el de cuerpos lúteos con regresión prematura. Como resultado, las concentraciones de progesterona durante los primeros 6 días posteriores al estro fueron similares en las hembras que habían sido tratadas con rbST y en aquellas que no habían recibido el tratamiento (Cuadro 2).

La falta de efecto sobre el número de ovulaciones de la rbST administrada al inicio del estro era de esperarse, ya que al momento de iniciarse el estro ya se han seleccionado los folículos que habrán de ovular en respuesta al pico preovulatorio de LH (Gong et al. 1993b). Sin embargo, probablemente el momento de administración de rbST no sea la única razón de la falta de efecto, ya que el número promedio de cuerpos lúteos obtenidos en respuesta a la superovulación en el presente trabajo fue similar al encontrado en cabras por D'Alessandro et al. 1997, quienes tampoco lograron influir sobre el número de ovulaciones a pesar de haber administrado la rbST al inicio del tratamiento superovulatorio.

Rosas et al. 1995, trabajando en ovejas a las que se les aplicó rbST al momento de la aparición del estro si encontraron diferencias significativas en el número de cuerpos lúteos totales a favor del grupo tratado. Sin embargo, ellos realizaron el conteo en el día 6, y observaron un número elevado de cuerpos lúteos en regresión, por lo que la diferencia observada pudo deberse a una diferente permanencia de los cuerpos lúteos hasta el día del conteo, más que a diferencias en el índice de ovulación.

En el presente trabajo la administración de rbST tampoco afectó el desarrollo folicular posterior a la superovulación, ya que el número y tamaño de los de folículos encontrados en el día 6 fue similar en ambos grupos (Cuadro 1). Posiblemente por ésta razón la administración de rbST tampoco influyó sobre

la incidencia de cuerpos lúteos con regresión prematura (Cuadro 1), ya que se conoce que dicha condición está asociada con una excesiva estimulación del desarrollo folicular posterior a la superovulación (Saharrea et al. 1998).

En el presente estudio el 85.7% de las hembras donadoras tratadas con rbST en el día del estro produjeron embriones, mientras que únicamente en el 66.6% de las donadoras del grupo control fue posible la recuperación embrionaria. Como resultado de esta importante diferencia, el número promedio de embriones obtenidos, así como el número de embriones transferibles obtenidos, prácticamente se duplicó en las donadoras tratadas con rbST. El efecto positivo de la rbST sobre la producción de embriones puede depender del momento en que se realice el tratamiento, ya que D'Alessandro et al. 1997, aplicando rbST al inicio del tratamiento superovulatorio, no encontraron ningún efecto. Los resultados del presente trabajo sugieren la posibilidad de que el tratamiento con rbST al momento del inicio del estro favorezca la fertilización, ya que en las hembras que produjeron embriones se encontró un número mayor de ovocitos en las hembras testigo en comparación a las que recibieron rbST (Cuadro 3). Otra posibilidad es que la rbST favorezca, en un esquema de todo o nada, la sobrevivencia de los embriones durante los primeros 6 días, ya que más hembras produjeron embriones en el grupo rbST, pero el número de embriones que encontrados en cada hembra que produjo embriones fue similar en ambos grupos.

Lo anterior sugeriría que el efecto de la rbST no sería un efecto sobre los embriones propiamente dichos, en cuyo caso se podría esperar un efecto sobre el número de embriones sobrevivientes en cada hembra, sino un efecto sobre el medio uterino, que aumentaría el porcentaje de hembras capaces de mantener vivos a sus embriones hasta el día 6. Sin embargo, Rosas, 2001, trabajando en ovinos, encontró que los embriones recuperados a partir de hembras superovuladas tratadas con rbST tenían estados más avanzados de desarrollo que los obtenidos a partir de hembras testigo, los cuales tienen mayor probabilidad de resultar en gestación, información que coincide con lo observado por Moreira et al, 2002, quienes encontraron diferencias significativamente significativas a favor del grupo tratado con rbST, en lo referente al número de embriones transferibles ( $7.4 \pm 1.4$  y  $5.4 \pm 1.4$ ) y el número de blastocitos recuperados ( $7.4 \pm 1.4$  y  $5.4 \pm 1.4$ ).

La capacidad de la rbST administrada al momento de la inseminación para favorecer la sobrevivencia embrionaria ha sido demostrada en bovinos, ya que Morales-Roura et al. 2001, lograron aumentar en forma muy significativa los índices de concepción de vacas repetidoras a las que se les administró la hormona de esta forma.

Como ya se mencionó, el mayor número de embriones producidos por el grupo tratado con rbST se debió en su totalidad a que en ese grupo hubo más hembras que produjeron embriones, ya que el número de embriones obtenidos por cabra, si se toma en cuenta solamente a las hembras que produjeron embriones, fue similar en ambos grupos. Estos datos coinciden con lo observado en ovinos por Rosas, 2001, quien al trabajar con ovejas superovuladas y tratadas con rbST no encontró diferencias estadísticas significativas entre ovejas tratadas y ovejas control en cuanto al número de embriones recuperados ni en el número de embriones transferibles. Moreira et al, 2002, trabajando en vacas Holstein no encontraron diferencias estadísticas significativas entre el grupo tratado con rbST y las del grupo control en lo referente al número de embriones recuperados.

En el grupo control el número de ovocitos obtenidos ( $1.875 \pm 0.956$ ) fue mayor que el obtenido en el grupo tratado con rbST ( $1.000 \pm 0.456$ ), datos que coinciden con lo observado en bovinos por Moreira et al, 2002, al obtener menor número de ovocitos en las hembras donadoras tratadas con rbST en comparación con el grupo control ( $1.0 \pm 0.9$  y  $3.7 \pm 0.9$ ,  $P < 0.04$ , respectivamente). Esta información difiere de lo encontrado en bovinos por Gong et al (1993 b), quienes indican que el número de ovocitos recuperados es mayor en vaquillas superovuladas con eCG y tratadas previamente con bST. Ellos indican que el tratamiento con bST puede incrementar la población de pequeños folículos en vaquillas maduras y que esto se correlaciona con el aumento de las concentraciones periféricas de IGF e insulina, o de ambos.

En el presente trabajo las concentraciones de progesterona plasmática en las hembras donadoras no se modificaron por efecto de la rbST. Esto contrasta con lo encontrado por Rosas, 2001, en ovejas sujetas al mismo tratamiento, en las que las concentraciones de progesterona se elevaron significativamente del día 3 y 4, y continuaron elevándose hasta el día 6, mientras que en el grupo testigo las concentraciones

de progesterona permanecieron básicamente estables. Sin embargo, en el trabajo de Rosas, 2001, se encontró una incidencia elevada de regresión prematura de cuerpos lúteos, por lo que el efecto sobre las concentraciones de progesterona pudo deberse a una reducción en dicha incidencia más que a una estimulación directa del cuerpo lúteo. Sin embargo, otros autores han encontrado que la administración de rbST aumenta las concentraciones plasmáticas de progesterona durante la fase lútea (Schemm et al. 1990; Lucy et al. 1994b; Rieger et al. 1991; Rosas et al. 1995) y aumenta el peso de los cuerpos lúteos.

En el presente trabajo, la única evidencia de estimulación sobre la función lútea o de protección contra la luteólisis por la administración de rbST se encontró en las cabras receptoras, en las concentraciones de progesterona de las hembras que no quedaron gestantes fueron significativamente mayores en las hembras tratadas con rbST que en las testigo en los días 16 y 18 del ciclo (Cuadro 6). Sin embargo, en las hembras que quedaron gestantes no se encontraron diferencias en la función lútea (Cuadro 5).

## **VI. CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que la administración de una dosis de 100 mg. rbST vía subcutánea, en el primer día del estro de cabras superovuladas con FSH incrementa el número de donadoras que producen embriones, lo que resulta en un mayor número de embriones obtenidos disponibles para la transferencia en un programa de superovulación y transferencia embrionaria.

## LITERATURA CITADA

Alwan SF, Boland MP, Gordon I. Superovulation and oocyte recovery in the ewe. *Theriogenology* 1998; 29 : 1143-1148.

Armstrong DT, Pfitzner A, Warnes GM, Ralph MM., Seamark R.F. Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J Reprod Fert* 1983a; 67: 395 – 401.

Armstrong DT, Pfitzner AP, Warnes GM, Seamark RF. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J Reprod Fer* 1983b; 67 :403-410.

Armstrong DT, Kiehm DJ, Warnes GM, Seamark RF. Corpus Luteum (CL) failure and embryonic loss in superovulated goats. *Theriogenology* 1987; 27:207.

Barry DM, Van Nickerk CH, Coetzer WA, Robertson MS. Superovulatory response and time of ovulation in sheep treated with FSH-p or PMSG followed by GnRH or hCG. *Theriogenology* 1988; 29 : 217.

Battye KM, Fairclough RJ, Cameron A, Trounson AD. Evidence of prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *J Reprod Fert* 1988; 84 : 425 - 430.

Boundy T, Clarkson MJ, Winter AC. Embryo transfer in sheep under practice conditions. *Vet Rec* 1985; 11 :379 - 381.

Burke CR, Mihm M, Macmillan KL, Roche JF. Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. *Anim Reprod Sci* 1994; 35 :27-39.

Camp JC, Wildt DE, Howard PK, Stuart LD, Chakraborty PK. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol Reprod* 1983; 28 : 673-681.

Capehart JS, Bowen MJ, Bassett JW, Shelton JM, Kraemer DC. A modified technique for the collection of uterine stage ovine embryos. *Theriogenology* 1984; 21: 227

Cerbón GJ. Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural (tesis de licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.

Cerbón JL, Valencia J, Balcázar JA, Zarco L, Luyando C, Saharrea A, Mejia O. Inseminación intrauterina con semen congelado en ovejas superovuladas. *Vet Méx* 1995; 26 (Supl 2) : 346.

Chupin D, Combarous Y, Procureur R. Different effect of LH on FSH induced superovulation in two breeds of cattle. *Theriogenology* 1985; 23 : 184.

Cognie Y, Chupin D, Saumande J. Comparison of two treatment schedules to induce superovulation in ewes. *Theriogenology* 1985; 23 : 185.

Cognie Y, Poulin N, Guérin Y, Martinat N. Administration of exogenous growth hormone in early follicular phase enhances embryo production in sheep. 12<sup>th</sup> Inter. Cong on Anim Reprod 1992; 785-787.

D'Alessandro A, Colonna MA, Cafueri C, Martemucci G. Trattamento con somatotropina bovina nelle capre. Risposta ovarica e produzione di embrioni in capre di razza Ionica superovulate con FSH-p. *Obiettivi-e-Documenti-Veterinari* 1997; 18: 57-61.

Dalley RA, Butcher RL, Inskeep EK, Lewis PE. Association of short luteal phases with follicular development in sheep and cows. *Bulletin Agricultural and Forestry Experiment Station West Virginia University* 1992; (706).

Dattena M, Vespignani S, Branca A, Gallus M, Ledda S, Naitana S, Capps P. Superovulatory response and quality of embryos recovered from anestrous ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 1994; 42 : 237 - 239.

De La Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. Effects of recombinant bovine somatotropin (Somatotrope) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993; 76:1002-1013.

Domínguez Y, Hernández J, Rodríguez A, Gutiérrez CG. Efecto de la inyección de 100 mg. de bST 5 y 10 días antes del retiro de la esponja de FGA sobre la tasa ovulatoria y la fertilidad en cabras. *Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría*; 2001 agosto 16-18; Veracruz (Ver) México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 2001: 240

Dott HM, Hay MF, Cran DG, Moor RM. Effect of exogenous gonadotrophin (PMSG) on the antral follicle population in the sheep. *J Reprod Fert* 1979; 56 : 683-689.

Driancourt MA, Fry RC. Effect of superovulation with p-FSH or PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicles in sheep. *Anim Reprod Sci* 1992; 27: 279-292.

Eckery, DC, Moeller CL, Nett TM, Sawyer HR. Recombinant bovine somatotropin does not improve superovulatory response in sheep. *Journal of Animal Science* 1994; 72: 2425-2430.

Eden JA, Jones J, Carter GD, Alagband-Zadeh J. Does serum insulin-like growth factor I (IGF-1) have an endocrine role in the control of follicular function? *J Endocrin* 1988; 119 (suppl 1): 163

Flores FG. Embryo Transfer in Kenyan goats. *Proceedings of a workshop on embryo transfer*. Naivasha 1992.



Flores J M, Sánchez MA, García P, Sánchez B, Nieto A. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor, transforming growth factor  $\alpha$  and growth factor  $\beta$  in the caprine peri-implantation period. *Theriogenology* 1998; 50: 931-934.

Foote RH, Ellington JE. Is a superovulated oocyte normal ? *Theriogenology* 1988; 29 :111-123.

Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Reprod Sci* 1992; 28:111-124.

Gilbert DE, Coonrod SA, Whiting CJ, Pashen RL. Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDR TM) with flunixin meglumine (finadine TM) for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. *Theriogenology* 1990; 33 : 230.

Gong JG, Gramley TA, Webb R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. *Biology of Reproduction* 1991; 45: 941-949.

Gong JG, Bramley TA, Webb R. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 1993a; 97: 247-254.

Gong JG, Bramley TA, Wilmut I, Webb R. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. *Biol Reprod* 1993b; 48 : 1141 - 1149.

Hafez E. *Reproduction in Farm Animals*. 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

Hammond JM, Hsu CJ, Mondschein JS, Channing SF. Paracrine and autocrine functions of growth factors in the ovarian follicle. *J Anim Sci* 1988; 66 (Suppl 2) : 21.

Hammond JM, Mondschein JS, Samaras SE, Smith SA, Hagen DR. The ovarian insulin-like growth factor system. *J Reprod Fert* 1991; 43: 199 - 208.

Hawk HW, Cooper, BS, Conley HH. Inhibition of sperm transport and fertilization in superovulated ewes. *Theriogenology* 1987; 28 : 139 - 153.

Herrler A, Helgele-Hartung C, Beier HM. Immunohistological detection of IGF-1 in the rabbit oviduct and uterus during early pregnancy. *Acta Endocrinol* 1992; 126 (Suppl 4) : 79.

Herrler A, Einspanier, R, Schams D, Niemann H. Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on follicular IGF-1 contents and the ovarian response following superovulation treatment in dairy cows: a preliminary study. *Theriogenology* 1994; 41: 601 - 611.

Hill D.J. Growth factors and their cellular actions. *J Reprod Fert* 1989; 85 : 723-734.

Hunter MG.. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fertil* 1991; Suppl 43: 91-99.

Izadyar F, Colenbrander B, Bevers MM.. Growth hormone enhances fertilizability of in vitro matured bovine oocytes. *Theriogenology* 1997; 47: 191.

Khalid M, Haresing W, Luck MR. Secretion of IGF-1 by ovine granulosa cells: effects of growth hormone and follicle stimulating hormone. *Theriogenology* 2000; 58: 261-272.

Knickerbocker JJ, Niswender GD. Characterization of endometrial receptors for ovine trophoblast protein-1 during the estrous cycle and early pregnancy in sheep. *Biology of Reproduction* 1989;40:361-369.

Ko Y, Lee CY, Ott TL, Davis MA, Simmen RCM, Bazer FW, Simmen, F.A. Insulin-like growth factors in sheep uterine fluids: concentrations and relationship to ovine trophoblast protein-1 production during early pregnancy. *Biol Reprod* 1991; 45 : 135 - 142.

Kraemer C. Embryo collection and transfer in small ruminants. *Theriogenology* 1989; 31: 141-148.

Krisher RL, Gwazdauskas FC, Page RL, Russell CG, Canseco RS, Sparks AET, Velandier WH. Ovulation rate, zygote recovery and follicular population in FSH-superovulated goats treated with PGF2alpha and/or GnRH. *Theriogenology* 1994; 41 : 491-498.

Kuehner LF, Rieger D, Walton JS, Zhao X, Johnson WH. The effect of a depot injection of recombinant bovine somatotropina on follicular development and embryo yield in superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* 1993; 40: 1003 – 1013.

Kumar J, Osborn JC, Cameron Awn, Trounson AO. Follicular steroidogenesis and oocyte maturation after superovulation of goats (*Capra hircus*) with gonadotrophins. *J Reprod Fert* 1992; 95 :371-383.

López Sebastián A, Cognie Y, Cocero MJ, De la Puente J, Poulin N. Effect of season and duration of FSH treatment on embryo production in sheep. *Theriogenology* 1990; 34 : 175 -181.

Lucy MC, Thatcher WW, Savio JD, Danet-Desnoyen D, Moser MT, Badinga L, Simmen FA, Collier J. Effect of bovine somatotropin on ovarian follicles, corpora lutea (CL), and embryos during early pregnancy in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70 (Suppl 1): 271.

Lucy MC, Curran TL, Collier RJ, Cole, WJ. Extended function of the corpus luteum and increased follicle turnover in heifers treated with bovine somatotropina. *Biol of Reprod* 1993a; 61 (Suppl 1)

Lucy MC, Collier RJ, Kitchell MI, Dibner JJ, Hauser SD, Krivi GG. Immunohistochemical and nucleic analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. *Biol Reprod* 1993b; 48 : 1219 - 1227.

Lucy MC, Curran TL, Collier, RJ, Cole, WJ. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. *Theriogenology* 1994; 41 : 561 - 572.

Lucy MC, Byatt JC, Curran TL, Curran DF, Collier RJ. Placental lactogen and somatotropin: hormone binding to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. *Biology of Reproduction* 1994a; 50: 1136-1144.

Maxwell WMC, Evans G, Rhodes SL, Hillard MA, and Bindon BM. Fertility of superovulated ewes after intrauterine or oviductal insemination with low numbers of fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* 1993; 5 : 57-63.

McCracken JA, Schams W, Okulicz WC. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF<sub>2</sub>  $\alpha$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation during early pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1984; 7 : 31 - 55.

McKelvey WAC, Robinson JJ, Aitken RP, Robertson IS. Repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology* 1986; 25 : 855-865.

McNatty KP, Gibb M, Dobson C, Ball K, Custer ., Heath D, Thurley DC. Preovulatory follicular development in sheep treated with PMSG and/or prostaglandin. *J Reprod Fertil* 1982; 65 : 111 - 123.

Mendoza MG.. Efecto de una dosis de 500 mg. de somatotropina bovina recombinante (rbST) en la fertilidad de vacas Holstein al primer servicio y repetidoras. (tesis de maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2000.

Mier JR, Balcazár JA, Ortiz A, Angulo R, Mejía O. Fertilidad de ovejas anéstricas inducidas a ovular inseminadas intrauterinamente. *Vet Méx* 1995; 26 (Supl 2) : 343 1995.

Morales RS. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) al momento del estro sobre los niveles de concepción y función lútea en vacas repetidoras. (tesis de maestría). D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1993.

Morales RS. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina sobre niveles hormonales, actividad ovárica y desarrollo embrionario en hembras Holstein. (tesis de doctorado). D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 2000

Morales-Roura JS, Zarco L, Hernandez-Cerón J, Rodríguez G. Effect of short-term treatment with bovine somatotropina at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology* 2001; 55: 1831-1841.

Moreira F, Badinga L, Burnley C, Thatcher W. Bovine somatotropina increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology* 2002; 57: 1371-1387.

Navarro H, Zarco L, Ducoing A, Flores G, Valencia, J. Effect of time and temperature of incubation of heparinized caprine blood on the concentrations of progesterone detected in plasma. *Theriogenology* 1990; 33 : 749 - 756.

Newman A. Development of follicles in the mammalian ovary. *International Review of Ovology* 1991; 124 : 44 - 101.

Pendleton RJ, Youngs CR, Rorie RW, Pool SH, Memon MA, Godke RA. Follicle stimulating hormone versus pregnant serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Ruminant Research* 1992; 8: 217 - 224.

Rieger D, Walton JS, Goodwin ML., Johnson WH. The effect of co-treatment with recombinant bovine somatotrophin on plasma progesterone concentration and number of embryos collected from superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* 1991; 35:863-868.

Rodríguez TGR. Efecto de la administración de somatotropina bovina recombinante (rbST) los días 3 y 17 postinseminación sobre la fertilidad y la función del cuerpo lúteo en vacas Holstein de primer servicio y repetidoras. (tesis de maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.

Rosas J, Zarco L, Valencia, J. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre la función lútea y el desarrollo embrionario temprano en la oveja superovulada. *Vet Méx* 1995; 26 (Supl 2) : 339.

Rosas PJ Efectos de un tratamiento corto de rbST (Lactotropina) sobre la función ovárica y el desarrollo embrionario temprano en ovejas superovuladas (tesis de maestría). D.F. (México) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2001.

Ruttle J, Lucero S, Key D, Daniels M, Rodríguez F, Yim HS. Ovine estrus synchronization and superovulation using norgestomet B and follicle stimulating hormone-pituitary. *Theriogenology* 1988; 30 : 421 - 427.

Saharrea A, Valencia J, Balcázar A, Mejía O, Cerbón JL, Caballero V, Zarco L. Premature Luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology* 1998; 50: 1039-1052.

Schemm. SR, Deaver DR, Griel LC, Muller LD. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biol Reprod* 1990; 42 : 815 - 821.

Schiewe MC, Howard JG, Goodrowe KL, Stuart LD, Wildt DE. Human menopausal gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after prostaglandin F<sub>2</sub> α synchronization is compromised by premature luteal regresión. *Theriogenology* 1990; 34 : 3.

Simmen RCM, Ko Y, Simmen, FA. Insuline-like growth factors and blastocyst development. *Theriogenology* 1993; 39 : 163 - 175.

Spicer LJ, Echtenkamp SE, Canning SF, Hammond JM. Relationship between concentrations of imm.unoreactive insulin-like growth factor-1 in follicular fluid and various biochemical markers of differentiation in bovine antral follicles. *Biol Reprod* 1988; 39 : 573 - 580.

Stubbings RB, Bosu WTK, Barker CAV, King GJ. Serum progesterone concentrations associated with superovulation and premature corpus luteum failure in dairy goats. *Can J Vet Res* 1986; 50 : 369-373.

Thompson JGE, Simpson AC, James RW, Tervit HR. The application of progesterone-containing CIDR™ devices to superovulated ewes. *Theriogenology* 1990; 33 : 1297 - 1305.

Walker SK, Smith DH, Frensham A, Ashman RJ, Seamark RF. The use of synthetic gonadotropin releasing hormone treatment in the collection of sheep embryos. *Theriogenology* 1989; 31 : 741-52.

Wollen TS, Schlitz RH, Newkirk HL. Use and handling of drugs and biologicals in embryo transfer. *Theriogenology* 1985; 23 : 31-43.

Zarco L, Balcázar A, Mejía O. Infertilidad debida a asincronía materno-embrionaria en rumiantes. *Memorias XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Acapulco (Guerrero) México, 1994: 592.*