

Influencia del nivel de progesterona plasmática sobre el porcentaje de preñez en hembras bovinas receptoras de embriones

Jesús Ricardo Aké López*

Lubos Holy**

Ana María Aguayo Arceo*

José Martín Medina Zaldívar*

Resumen

Se obtuvieron muestras sanguíneas de 84 hembras bovinas receptoras de embriones el día de la transferencia y se determinó el nivel de progesterona para conocer si había diferencia entre el nivel promedio de progesterona de las receptoras que lograron una gestación y aquellas que no lo lograron. También se estudió la relación entre diversos niveles de progesterona y el porcentaje de preñez. La transferencia de los embriones se realizó 7 días después del estro por el método no quirúrgico. La sangre se recolectó inmediatamente después de la transferencia, se centrifugó y el plasma se congeló; la concentración de progesterona se determinó por radioinmunoanálisis. El diagnóstico de preñez se realizó por palpación transrectal 42 días después de la transferencia. El análisis estadístico reveló que el nivel promedio de progesterona plasmática de las receptoras que quedaron gestantes (3.005 ± 0.96 ng/ml) no fue diferente significativamente ($P > 0.05$) del nivel promedio de las receptoras no gestantes (3.218 ± 1.08 ng/ml). Tampoco se encontró diferencia entre el porcentaje de preñez de los 3 diferentes grupos de progesterona estudiados. Las receptoras con ≤ 2.4 ng/ml de progesterona tuvieron 47.3% de preñez, las que tuvieron entre 2.5 y 4.9 ng/ml, un 60% y las que tuvieron ≥ 5 ng/ml, un 40%. En este estudio no se encontró evidencia de que la concentración de progesterona plasmática de la receptora al momento de la transferencia, sea una causa que influya sobre el porcentaje de preñez.

Introducción

El desarrollo de las técnicas de medición hormonal permite actualmente conocer los perfiles endocrinos

y aclarar los complejos eventos fisiológicos que controlan la función reproductiva. La determinación del nivel de progesterona es de gran importancia para conocer el estado reproductivo de la hembra, ya que su concentración en plasma es un indicador preciso del estado funcional del ovario.¹² Por esta razón, la progesterona se ha utilizado para estudiar, entre otras cosas, la subfertilidad y mortalidad embrionaria,^{3,8,17} para caracterizar las diferentes fases de la función reproductiva como el ciclo estral⁶ y el periodo posparto.^{9,14}

Britt y Holt¹ y Reinders y Aman,¹⁶ consideran que el nivel de progesterona plasmática también puede usarse como una herramienta para identificar a las receptoras que poseen un cuerpo lúteo funcional el día de la transferencia, y que por lo tanto, pueden recibir un embrión. Estos autores sugieren que la selección de las receptoras no debe llevarse a cabo exclusivamente por palpación transrectal, ya que existe un porcentaje de hembras que puede ser excluido del grupo, a pesar de tener un cuerpo lúteo funcional no detectable por palpación, pero que produce suficiente progesterona.

Como resultado de la importante función de la progesterona en el reconocimiento de la gestación y sobrevivencia embrional, se han efectuado varios trabajos que intentan relacionar los niveles circulantes de esta hormona con el porcentaje de preñez en las receptoras de embriones al momento de la transferencia.^{2,10,15,19} Sin embargo, los resultados encontrados son aún contradictorios, por lo que es necesario realizar más estudios al respecto.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar si existe diferencia en el nivel promedio de progesterona plasmática de las receptoras que lograron una gestación y las que no lo lograron, así como comparar la relación entre distintos niveles de progesterona y el porcentaje de preñez.

Material y métodos

El trabajo se realizó bajo condiciones de campo en tres ranchos de la zona centro del estado de Yucatán, el cual tiene un clima cálido subhúmedo con lluvias

Recibido para su publicación el 9 de septiembre de 1994.

* Departamento de Reproducción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Apdo. postal 4-116, Mérida, Yucatán, México.

** Departamento de Reproducción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria de Brno. Palackého 1/3 61242 Brno. Česká Republika.

en verano.* Se utilizaron como receptoras de embriones, 84 novillas F1 (Suizo-Cebú; Simental-Cebú; Holstein-Cebú), que tenían entre 18 y 22 meses de edad y un peso promedio de 350 kilos. A la evaluación visual, los animales contaban con una condición corporal buena, puntaje 3 en una escala de 1 a 5 donde 1 = es muy delgado y 5 = es muy gordo.⁵

La superovulación de las vacas donadoras (Holstein, Gelbvieh, Suizo Pardo), fue iniciada el día 11 del ciclo estral (estro = día 0), se utilizó una dosis total que varió entre 38 y 45 mg de hormona folículo estimulante (FSH - P),** la FSH - P se inyectó cada 12 horas durante 4 días a dosis decrecientes.

El estro de las donadoras y receptoras se indujo y sincronizó con un análogo de la prostaglandina $F_2\alpha$ (Luprostiol-Prosolvín).*** El celo se observó 4 veces al día (06:00, 11:00, 16:00 y 21:00 horas), la inseminación de las donadoras se efectuó por 3 ocasiones, al momento de detectar el estro (hora 0), 12 y 24 horas más tarde. La recolección embrionaria se realizó 7 días después de la primera inseminación por el método no quirúrgico/gravitacional,⁴ la evaluación embrionaria se hizo con base en lo descrito por Lyndner y Wright.⁷

La transferencia de los embriones (blastocistos) se efectuó 7 días después del estro de la receptora, por el método no quirúrgico, utilizando equipo elástico de transferencia embrional.⁴ Las 84 receptoras se encontraban en promedio -12 y +12 horas de sincronía en relación al estro (hora 0) de la donadora.

Inmediatamente después de la transferencia, se obtuvo una muestra de sangre que se tomó de la vena coccígea de la receptora. La sangre se recolectó en un tubo vacutainer con anticoagulante (EDTA al 10%), se refrigeró y posteriormente se centrifugó a 1590 gravedades durante 10 minutos para obtener el plasma. Una vez recuperado éste, se congeló y conservó a -20 °C hasta su análisis. La concentración de progesterona se cuantificó mediante radioinmunoensayo de fase sólida que usa como marcador el I^{125} .† El método fue altamente específico para la progesterona, con menos de 5% de reacción cruzada con la 20α dihidroprogesterona, el límite de detección fue de 0.05 ng/ml, los coeficientes de variación intraensayo e interensayo fueron de 7.5% y 10%, respectivamente.

El nivel promedio de la progesterona de las receptoras gestantes y no gestantes se comparó mediante análisis de varianza de una vía, y las diferencias del porcentaje de gestación de los diferentes grupos de progesterona se analizaron por el método de Ji-cuadrada.¹⁸ Se formaron 3 grupos de animales de acuer-

do a la concentración de progesterona plasmática que tenían al momento de la transferencia, ≤ 2.4 ng/ml, 2.5-4.9 ng/ml y ≥ 5 ng/ml, que resultó similar a lo realizado en otros estudios.^{10,15,19}

Resultados

De un total de 84 receptoras, 47 quedaron gestantes (55.95%) y 37 no quedaron gestantes (44.04%). El nivel promedio de progesterona de las receptoras que quedaron gestantes (3.005 ± 0.98 ng/ml) no fue diferente significativamente ($P > 0.05$) del nivel promedio de las receptoras no gestantes (3.218 ± 1.08 ng/ml).

No se encontró diferencia ($P > 0.05$) en el porcentaje de preñez entre los 3 grupos de receptoras conforme al nivel de progesterona plasmática al momento de la transferencia. El primer grupo que tenía ≤ 2.4 ng/ml de progesterona tuvo 47.3% de preñez, el segundo grupo que tenía entre 2.5 y 4.9 ng/ml, tuvo un 60% de preñez y el tercer grupo que tuvo una concentración de progesterona ≥ 5 ng/ml registró un 40% de preñez. En el segundo grupo de receptoras (2.5 y 4.9 ng/ml de progesterona) se observó la mayor proporción de animales (71.42%) y también el mejor porcentaje de preñez (60%) (Cuadro 1).

Cuadro 1 EFECTO DEL NIVEL DE PROGESTERONA EL DIA DE LA TRANSFERENCIA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ EN RECEPTORAS DE EMBRIONES BOVINOS			
Progesterona ng/ml	n	Gestantes	%
≤ 2.4	19	9	47.3
2.5-4.9	60	36	60.0
≥ 5	5	2	40.0
Total	84	47	55.95

El nivel mínimo de progesterona plasmática con el que se obtuvo preñez fue de 1.5 ng/ml, y el nivel máximo de 6.6 ng/ml. Para las receptoras que no gestaron, el nivel mínimo de progesterona observado fue de 1.3 ng/ml (con excepción de un animal que tuvo 0.8 ng/ml) y el nivel máximo de 5.8 ng/ml.

Discusión

El nivel promedio de progesterona plasmática al momento de la transferencia fue similar en las receptoras gestantes y en las no gestantes, tal resultado es similar a lo que informaron Hasler *et al.*,² y Payas *et al.*,¹³ quienes utilizaron el método quirúrgico para transferir a los embriones. Cuando el método para realizar la transferencia embrional no es quirúrgico,

* Anuario estadístico del estado de Yucatán 1993. INEGI y Gobierno del estado de Yucatán.

** Laboratorios Schering Plough.

*** Laboratorios Intervet.

† Coat - a - Count Procedure, diagnostic products corporation, Los Angeles, Ca. 90045.

tampoco se observa diferencia en la concentración promedio de progesterona de las receptoras gestantes y las no gestantes.^{10,19} Payas *et al.*,¹³ mencionan que la relación entre la progesterona y la gestación no es significativa cuando la progesterona se considera como un solo factor en un análisis de regresión.

En otros estudios,^{11,15} se informa que las receptoras gestantes tienen niveles de progesterona más elevados que las receptoras no gestantes, lo cual difiere de los resultados de este estudio. Northey *et al.*,¹¹ registran valores de 4.16 ± 0.265 ng/ml de progesterona para las receptoras gestantes y 3.25 ± 0.29 ng/ml para las no gestantes.

Por otra parte, en este estudio no se encontró diferencia significativa en el porcentaje de preñez en los 3 grupos de animales formados de acuerdo a la concentración de progesterona plasmática al momento de la transferencia, sin embargo se observó un mayor porcentaje de preñez en el grupo de animales que tenían entre 2.5 y 4.9 ng/ml de progesterona. Tal resultado es similar a lo que han informado otros investigadores,^{10,11,15} quienes encontraron diferencia significativa en el porcentaje de preñez en los diversos grupos de progesterona estudiados. Remsen y Roussel¹⁵ y Northey *et al.*,¹¹ señalan que niveles por debajo de 2 ng/ml y por arriba de 5 ng/ml de progesterona al momento de la transferencia, afectan negativamente el porcentaje de preñez de la receptora.

Remsen y Roussel¹⁵ y Niemann *et al.*,¹⁰ registran porcentajes de preñez de 74% y 51%, respectivamente, para las receptoras que tienen niveles de progesterona entre 2 y 5 ng/ml; Northey *et al.*,¹¹ encontraron 69.1% de preñez para las receptoras que tienen entre 2 y 6 ng/ml de progesterona el día de la transferencia. El porcentaje de preñez obtenido en este estudio para el grupo de animales que tenían entre 2.5 y 4.9 ng/ml de progesterona, es similar a lo informado por Niemann *et al.*,¹⁰ y Northey *et al.*,¹¹ pero menor que el porcentaje señalado por Remsen y Roussel.¹⁵

El bajo porcentaje de preñez obtenido en los grupos con niveles de progesterona inferiores a 2 ng/ml o superiores a 5 ng/ml, podría deberse a un desequilibrio entre la progesterona y los estrógenos, lo cual puede ejercer un efecto negativo sobre el medio ambiente uterino y la sobrevivencia embrional.^{9,15}

Aunque una sola muestra de progesterona pueda tener limitaciones para relacionarla con el porcentaje de preñez —debido a su fluctuación en la preñez temprana y en un mismo animal—, puede ofrecer valiosa información acerca de la funcionalidad del cuerpo lúteo,^{10,12} niveles de progesterona inferiores a 1 ng/ml en el día de la transferencia (día 7 después del estro), puede indicar una función insuficiente del cuerpo lúteo o bien la ausencia del mismo.^{10,12} En este estudio una receptora tuvo al momento de la transferencia, un nivel inferior a 1 ng/ml de progesterona plasmática, esta receptora no quedó gestante. La concentración por debajo de 1 ng/ml de progesterona en

esta novilla, podría deberse a la ausencia de un cuerpo lúteo o bien como se ha mencionado, a una función insuficiente del mismo.^{10,12}

La diferencia en los resultados de los diversos estudios en cuanto a que si existe o no relación entre la progesterona y la preñez, podría explicarse en parte por la forma específica de muestreo de cada estudio, el tipo de animales utilizados, o a factores específicos (factores endocrinos, medioambientales, embrionarios, etc.), que pueden afectar la sobrevivencia embrional.^{9,10,12,15,17}

En conclusión, bajo las condiciones de este estudio, la concentración plasmática de progesterona de la receptora al momento de la transferencia embrional, no parece influir sobre el porcentaje de preñez.

Abstract

In order to study the relationship between plasma progesterone at the moment of embryo transfer and subsequent rate pregnancy, eighty four bovine recipients were bled immediately after non-surgical transference. Embryos were transferred seven days after oestrus using elastic equipment. Blood samples were collected by coccygeal vein venipuncture, and plasma progesterone concentration was measured by radio-immunoassay. Diagnosis of pregnancy was determined by rectal palpation 42 days after the transfer. Data was analyzed by ANOVA and Chi-square. Plasma progesterone level on the day of the transfer for pregnant (3.005 ± 0.98 ng/ml) and non-pregnant recipients (3.218 ± 1.08 ng/ml) was not significantly different ($P > 0.05$). Recipients showing progesterone concentration of ≤ 2.4 ng/ml; 2.5-4.9 ng/ml and ≥ 5 ng/ml had 47.37%, 60% and 40% of pregnancy rates, respectively ($P > 0.05$). There was no evidence to sustain that progesterone concentration at the moment of embryo transfer is related to pregnancy rates of bovine recipients in this study.

Literatura citada

1. Britt, J.H. and Holt, L.C.: Endocrinological screening of embryo donors and embryo transfer recipients: A review of research in cattle. *Theriogenology*, 29: 189-202 (1988).
2. Hasler, J.F., Bowen, R.E., Nelson, L.D. and Seidel, G.E.: Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. *J. Reprod. Fertil.*, 38: 71-77 (1980).
3. Hernández, C.J., Zarco, Q.L. y Lima, T.V.: Niveles de progesterona plasmática durante los primeros siete días posinseminación en vaquillas Holstein repetidoras y de su primer servicio. *Vet. Méx.*, 23: 189-192 (1992).
4. Holy, L. y Lopatarova, M.: Transplante Embrional Transcervical del Ganado Bovino en las Condiciones de Europa Central: Informe y Reseña Científico-Técnica 1984-1989. *Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México*, 1992.
5. Houghton, P.L., Lemenager, R.P., Horstman, L.A., Hendrix, K.S. and Moss, G.E.: Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on

- reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J. Anim. Sci.*, 68: 1438-1446 (1990).
6. Lamothe, Z.C.: Reproductive performance of Zebu cattle in Mexico. M. Sc. thesis. *Fac. of Vet. Med.* Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden, 1990.
 7. Lyndner, G.M. and Wright, R.W.: Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20: 407-416 (1983).
 8. Markette, K.L., Seidel Jr., G.E. and Elsdon, R.P.: Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. *Theriogenology*, 23: 45-62 (1985).
 9. Mukasa-Mugerwa, E., Tegegne, A. and Ketema, H.: Patterns of postpartum oestrus onset and associated plasma progesterone profiles in *Bos indicus* cows in Ethiopia. *Anim. Reprod. Sci.*, 24: 73-84 (1991).
 10. Niemann, H., Sacher, B. and Elsaesser, F.: Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 23: 214-239 (1985).
 11. Northey, D.L., Barnes, F.L., Eyestone, W.H. and First, N.L.: Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 23: 214 (1985) (Abstr.).
 12. Oyedipe, E.O., Pathiraja, N., Voh Jr., A.A. and Buvaendran, V.: Use of plasma progesterone profiles for the assessment of reproductive functions in indigenous Nigerian Zebu cattle. *Theriogenology*, 30: 629-641 (1988).
 13. Payas, A.J., Broadbent, P.J., Dolman, D.F. and Christie, W.B.: Factors affecting pregnancy rates in embryo transfer recipients with reference to plasma progesterone. *Theriogenology*, 31: 238 (1989) (Abstr.).
 14. Rajamahendran, R. and Taylor, C.: Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim. Reprod. Sci.*, 22: 171-180 (1990).
 15. Remsen, L.G. and Roussel, J.D.: Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology*, 18: 365-372 (1983).
 16. Reinders, J.M.C. and Aman, B.A.: The optimal use of recipients in a large scale embryo transfer program. Proceedings of the 12th International Congress of Animal Reproduction. The Hague, Netherlands. 1992. 308-310. *The Netherlands Congress Centre*. The Hague, Netherlands (1992).
 17. Sreenan, J.M. and Diskin, M.G.: Early embryonic mortality in the cow: Its relationship with progesterone concentration. *Vet. Rec.*, 112: 517-521 (1983).
 18. Steel, R.G.D. y Torrie, J.D.B.: Bioestadística. Principios y Procedimientos. *McGraw-Hill*, México, D.F., 1985.
 19. Stubbings, R.B. and Walton, J.S.: Relationship between plasma progesterone concentrations and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or previously frozen embryos. *Theriogenology*, 26: 145-155 (1986).