

Efecto del líquido folicular equino y la somatotropina bovina en la sobrevivencia de embriones ovinos transferidos asincrónicamente

Octavio Mejía Villanueva*

Luis A. Zarco Quintero*

Susana Rojas Martínez*

Marcelino Rosas García**

Javier Valencia Méndez*

Abstract

Maternal-embryonary asynchrony could be overcome by increasing progesterone (P4) levels to improve embryo development or by delaying luteolysis. With this aim, asynchronous recipients were treated with bovine somatotropin (ST) or equine follicular fluid (EFF). Six day embryos were collected from 25 donors. Estrous was synchronized with fluorogestone acetate and PGF2 α . Progestagen was removed in asynchronous recipients 3.5 days before the donors. Recipients were allocated to 5 groups: synchronous (syn), n=15; asynchronous (asyn), n=16; asynchronous + EFF (asyneff), n=19; asynchronous + ST (asynst), n=7 and asynchronous + EFF + ST (asynfst), n=10. Progesterone levels were higher (3.3 ng/ml) in asyneff recipients ($P<0.05$), and the lowest levels (1.4 ng/ml) were found in the asynst ones. Luteal phase was longer (16.8 days) in the non pregnant ewes of the asyn group. Luteolysis was delayed in 4 ewes of the asyneff until day 19. Pregnancy rate was not different between the syn and asyn groups (86.6 vs. 68.7%). Treatment with EFF and ST did not improve pregnancy rates in asynchronous recipients even when P4 levels were increased in pregnant asyneff and asynfst recipients or when luteolysis was delayed in the asyneff ones.

Key words: OVINE, EMBRYO TRANSFER, ASYNCHRONOUS, EQUINE FOLLICULAR FLUID, BOVINE SOMATOTROPIN.

Resumen

La asincronía materno-embrionaria pudiera resolverse incrementando los niveles de progesterona (P4) para promover el desarrollo embrionario, o retrasando la luteólisis. Para tal fin se administró somatotropina bovina (ST), líquido folicular equino (LFE) o ambos, a receptoras de embriones en asincronía. Se recolectaron embriones en 25 donadoras el día 6 posestro. Las receptoras se sincronizaron con acetato de fluorogestona y PGF2 α , y en las asincrónicas de todos los grupos se retiró el progestágeno 3.5 días antes que en las donadoras. Se dividieron en cinco tratamientos: sincronía (sin), n=15; asincronía (asin), n=16; asincronía + LFE (asinlfe), n=19; asincronía + ST (asinst), n=7; y asincronía + LFE + ST (asinlfst), n=10. Las concentraciones de progesterona (3.3 ng/ml) fueron mayores en el grupo asinlfe ($P<0.05$). Las menores concentraciones (1.4 ng/ml) se presentaron en el asinst. La fase lútea de mayor duración, 16.8 días promedio, se presentó en las no gestantes del grupo asin. En cuatro ovejas del asinlfe se retrasó la luteólisis hasta el día 19. La fertilidad del grupo sin (86.6%) no fue diferente a la del asin (68.7%). Los tratamientos no mejoraron la fertilidad a pesar de incrementarse la P4 en las gestantes asinlfe y asinlfst o retrasarse la

Recibido el 30 de marzo de 1998 y aceptado el 16 de junio de 1998.

* Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

** Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

luteólisis en las asinlfé. Se propone que antes de modificar la asincronía materno-embionaria se determine el grado de asincronía tolerable de manera natural en los ovinos.

Palabras clave: OVINOS, TRANSFERENCIA EMBRIONARIA, ASINCRÓNICO, LÍQUIDO FOLICULAR EQUINO, SOMATOTROPINA BOVINA.

Introducción

Los eventos que permiten el reconocimiento de la gestación en la oveja tienen una relación cronológica precisa, ya que el útero está programado para establecer alrededor del día 14 o 15 del ciclo estral un patrón de secreción pulsátil y luteolítico de la prostaglandina F₂ alfa (PGF₂α), que origina una disminución en los niveles de progesterona, pasando de más de 1 ng/ml a menos de 0.2 ng/ml.^{1,2} En la oveja gestante es necesario modificar la secreción de prostaglandina hacia un patrón no pulsátil, por lo que el embrión secreta alrededor del día 12 del ciclo, cantidades apreciables de interferón-tau ovino (oIFN-τ),^{3,4} lo que constituye el mensaje más importante para el reconocimiento materno de la gestación.⁵ Como el intervalo entre el momento en que se inicia la liberación luteolítica de PGF₂α por parte del útero y en que el embrión comienza a producir oIFN-τ es corto, una de las causas más importantes de infertilidad en rumiantes es la asincronía entre estos eventos.^{5,6} Esta asincronía materno-embionaria puede deberse tanto al adelanto en la liberación de PGF₂α como a un retraso en el desarrollo embionario.^{7,8}

Si se conocen los mecanismos de control endocrino de la secreción uterina de PGF₂α, se puede buscar inhibir el establecimiento de su patrón de secreción. La inhibición de la hormona folículo estimulante (FSH) mediante inhibina⁹ o preparaciones con alto contenido de ésta, permite retrasar el desarrollo folicular y la secreción de estradiol,¹⁰ por lo que se puede esperar que también se retrase la destrucción del cuerpo lúteo. Una forma de reducir la secreción de FSH es utilizar líquido folicular bovino, porcino, ovino¹¹ o equino,¹² libre de esteroides.

En anteriores trabajos se ha demostrado que el líquido folicular equino inhibe la secreción de FSH y el desarrollo folicular en ovejas.¹³ También ha permitido alargar la vida de un cuerpo lúteo destinado a tener corta duración en ovejas en anestro estacional, inducidas a ovular con hCG^{14,15} y ha retrasado la luteólisis en algunas ovejas a las que se les transfieren embriones en asincronía.¹⁶

Una relativa asincronía entre el ciclo estral de la donadora y la receptora es bien tolerada en las ovejas, ya que cuando existe una asincronía de hasta 48 horas, disminuye poco el porcentaje de fertilidad, en comparación con transferencias embionarias realizadas en sincronía.¹⁷ En cambio, cuando la asincronía entre la donadora y la receptora es de 72 horas o más, sólo un pequeño porcentaje de ovejas queda gestante (8%), a pesar de transferirse embriones con mayores posibili-

dades de sobrevivencia, como aquellos que son colectados entre los días 5 a 6 posestro y cuyo estadio de desarrollo correspondería al de mórula o blastocito, respectivamente.^{18,19}

Cuando la asincronía materno-embionaria se ha tratado de resolver exclusivamente mediante el retraso de la regresión del cuerpo lúteo, ya sea con la administración de líquido folicular equino,¹⁶ o utilizando inhibidores de la síntesis de prostaglandinas,²⁰ la sobrevivencia de embriones transferidos en asincronía no ha logrado mejorarse de manera significativa, lo que indicaría que no es suficiente el alargar la fase lútea para favorecer el reconocimiento de la gestación. Este hecho sugiere que, además de retrasar la regresión del cuerpo lúteo, sería necesario estimular el desarrollo embionario con la finalidad de compensar el ambiente uterino inadecuado.

La administración de somatotropina bovina a hembras bovinas subfértiles aumenta las concentraciones de la progesterona circulante y provoca un aumento significativo en la fertilidad.²¹ Estos efectos de la somatotropina son mediados principalmente por el factor de crecimiento parecido a la insulina-I (IGF-I),²² y su administración estimula la actividad de la enzima aromatasa e incrementa la síntesis de esteroides como la progesterona.^{23,24} Aunada al efecto de la somatotropina, la administración de líquido folicular equino en ovejas inducidas a ciclar con hCG o en ovejas ciclando incrementa los niveles plasmáticos de la progesterona,^{14,15,16} por lo que, al reforzar la función del cuerpo lúteo, este efecto puede contribuir al mantenimiento de la gestación en ovejas receptoras de embriones.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la somatotropina bovina y del líquido folicular equino sobre las concentraciones de progesterona, la duración de la fase lútea y la fertilidad en hembras receptoras de embriones asincrónicos.

Material y métodos

Este trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (CEPIER), y en el Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. El CEPIER está ubicado en el km 29 de la Carretera Federal México-Cuernavaca, a 2760 msnm, 19° latitud norte y 99° longitud oeste. El clima de la región es de tipo c(w) (w) b (ij), que corresponde a semifrío-

semihúmedo, con lluvias en verano y una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm.

Se utilizaron 25 ovejas donadoras y 67 receptoras que se encontraban ciclando en plena época reproductiva. Para la sincronización del estro de las donadoras se usaron esponjas intravaginales,* con 40 mg de FGA durante 12 días, y se superovularon con 200 UI de hormona folículo estimulante.**

Para detectar calores en las donadoras, se utilizaron dos veces al día, machos enteros cubiertos con un mandil, 24 horas después de retirar la esponja. A las que presentaron celo conductual (día 0 del ciclo estral) se les dio monta cada ocho horas mientras permanecieron receptoras.

La recolección de los embriones se realizó por laparotomía medio ventral el día 6 postservicio.²⁵ Los embriones colectados se evaluaron morfológicamente en un microscopio estereoscópico y se clasificaron de acuerdo a su calidad y grado de desarrollo.²⁶ Las mórulas y blastocitos calidad I o II se consideraron como embriones transferibles.²⁷

Las ovejas receptoras se sincronizaron con 40 mg de FGA y dos días antes del retiro del progestágeno se les administraron 7.5 mg de PGF2 α ,*** e inicialmente se dividieron al azar en dos grandes grupos; el primero quedó formado por 15 ovejas en sincronía (sin), con el ciclo estral de las donadoras, y el segundo, por 52 hembras, en las que tanto la colocación de las esponjas intravaginales como su retiro se realizó 3.5 días antes que en las donadoras, con el objeto de asegurar una asincronía mínima de 3 días entre donadoras y receptoras. Las receptoras en asincronía se asignaron al azar a uno de cuatro tratamientos: grupo ASINCRÓNICO + LFE (asinlfe), integrado por 19 ovejas que recibieron 3 ml de líquido folicular equino cada 8 horas durante 10 días, iniciando un día después de la transferencia embrionaria (día 10); grupo ASINCRÓNICO + ST (asinst), formado con 7 ovejas a las que se les aplicaron 100 mg de somatotropina bovina los días 2 y 10 postestro; grupo ASINCRÓNICO + LFE + ST (asinlfst) con 10 ovejas, a las que se les administraron 100 mg de somatotropina bovina los días 2 y 10 postestro, más 3 ml de líquido folicular equino cada 8 horas durante 10 días, iniciando un día después de la transferencia de los embriones; grupo ASINCRÓNICO (asin), formado por 16 ovejas que no recibieron somatotropina ni líquido folicular. Las receptoras que al momento de la transferencia presentaron un cuerpo lúteo bien desarrollado, recibieron mediante laparoscopia 2 embriones mórulas o blastocitos transferibles provenientes de la misma donadora.²⁵

En los tratamientos se utilizó somatotropina bovina† y líquido folicular equino. El líquido folicular equino

(LFE) se aspiró de folículos ováricos de yeguas sacrificadas en un rastro local. Para su preparación, inicialmente se mezcló todo el líquido folicular recolectado y se sometió a una primera centrifugación a 1000 g durante 15 minutos a 4°C para eliminar los detritus celulares. Con la finalidad de remover las hormonas esteroides presentes en el líquido folicular, se añadió carbón activado (10 mg/ml) más dextran (0.1 mg/ml) y se agitó durante 1 hora a 25°C, el carbón activado más dextran se retiró mediante centrifugación a 3000 g durante 30 minutos a 4°C. Finalmente, se añadió penicilina G sódica (100 UI/ml) para evitar la contaminación microbiana. El líquido folicular equino se mantuvo a -20°C hasta su utilización.²⁸ Se obtuvieron muestras de sangre de todas las receptoras durante 10 días, a partir del segundo día de la transferencia embrionaria (días 10 al 19 postestro en las asincrónicas). Para evaluar la función lútea se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona. El diagnóstico de gestación de las receptoras transferidas se realizó mediante ultrasonografía de tiempo real durante los días 30 y 60 postservicio.²⁹

Las concentraciones diarias de progesterona (días 10 a 19) en las ovejas gestantes y no gestantes se calcularon mediante el método de cuadrados mínimos del procedimiento de modelos lineales generales, analizando en los modelos las variables tratamiento, día del ciclo y la interacción tratamiento-día del ciclo. Los valores de la progesterona entre los grupos se compararon mediante diferencia de medias (prueba de Bonferroni).³⁰

En las ovejas no gestantes se midió la duración de la fase lútea, considerando el periodo en que los niveles de progesterona se mantuvieron superiores a 1.0 ng/ml. Este periodo se comparó entre tratamientos mediante la prueba de t. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para comparar el efecto de los tratamientos sobre los porcentajes de fertilidad.³¹

Resultados

En el Cuadro 1 se muestran las concentraciones promedio de la progesterona plasmática (ng/ml) obtenidas entre el día 10 y 19 postestro, tanto en gestantes como en vacías, según el resultado de la transferencia de embriones. Las concentraciones de progesterona (3.3 ± 0.1) fueron significativamente mayores ($P < 0.05$) en el grupo en asincronía tratado con líquido folicular equino (asinlfe).

Este efecto se debió principalmente a los altos valores presentados por las ovejas gestantes de dicho grupo (4.3 ± 0.2), ya que en las ovejas vacías las concentraciones fueron similares (2.3 ± 0.1) a las de los grupos en asincronía (asin) (2.5 ± 0.2) y en sincronía (sin) (2.5 ± 0.5) que no recibieron tratamiento ($P > 0.05$). Las menores concentraciones promedio de progesterona (1.4 ± 0.2) se presentaron en el grupo asincrónico tratado con somatotropina (asinst) tanto en las ovejas gestantes

* Chronogest, Intervet-México.

** Pluset, Serono-México.

***Prosolvlin, Serono-México.

† Lactotropina, Monsanto-México.

(2.1 ± 0.3) como en las vacías (0.6 ± 0.2). Similar comportamiento se presentó en las ovejas vacías del grupo asincrónico tratado con líquido folicular equino y somatotropina (asinlft), ya que sus concentraciones de progesterona fueron de 0.9 ± 0.2 ng/ml.

En el Cuadro 2 se presentan las concentraciones diarias (días 10 a 19) de la progesterona plasmática de las ovejas gestantes en cada uno de los tratamientos. De manera general, las mayores concentraciones de progesterona se alcanzaron en los grupos en asincronía tratado con líquido folicular equino (asinlfe) y en asincronía tratado con líquido folicular y somatotropina bovina (asinlft), esta tendencia se mantuvo del día 12 del ciclo estral hasta el día 19. Sin embargo, las diferencias entre grupos no fueron estadísticamente significativas en ninguno de los días ($P > 0.05$).

En el Cuadro 3 se presentan las concentraciones diarias (días 10 a 19) de la progesterona plasmática de las ovejas no gestantes en cada uno de los tratamientos. En general, las concentraciones de progesterona permanecieron superiores a 1 ng/ml en los grupos en asincronía tratado con líquido folicular equino (asinlfe)

Cuadro 1
CONCENTRACIONES PROMEDIO ($\pm$ E.E.)
DE PROGESTERONA PLASMÁTICA (NG/ML)
EN RECEPTORAS GESTANTES Y VACÍAS
DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

Tratamiento	Gestantes	Vacías	
asinlfe	4.3 ± 0.2^a (6)	2.3 ± 0.1^d (13)	3.3 ± 0.1^b (19)
asin	3.3 ± 0.1^b (11)	2.5 ± 0.2^{cd} (5)	2.9 ± 0.1^c (16)
sin	2.5 ± 0.1^{cd} (13)	2.5 ± 0.5^{cd} (2)	2.5 ± 0.2^{cd} (15)
asinlft	3.9 ± 0.3^{ab} (2)	0.9 ± 0.2^f (8)	2.4 ± 0.2^{cd} (10)
asinst	2.1 ± 0.3^d (2)	0.6 ± 0.2^f (5)	1.4 ± 0.2^e (7)

a,b,c,d,e,f Valores con la misma literal no son diferentes ($P > 0.05$)

Cuadro 2
CONCENTRACIONES DIARIAS (PROMEDIO $\pm$ E.E.) DE PROGESTERONA (NG/ML) EN LAS OVEJAS GESTANTES

Día del ciclo	Tratamiento				
	asin (11)	asinlfe (6)	asinlft (2)	asinst (2)	sin (13)
10	1.92 ± 0.4	1.91 ± 0.60	1.56 ± 1.0	2.73 ± 1.0	1.18 ± 0.3
11	2.48 ± 0.4	3.35 ± 0.60	2.08 ± 1.0	2.06 ± 1.0	1.94 ± 0.3
12	3.50 ± 0.4	5.07 ± 0.60	4.12 ± 1.0	2.21 ± 1.0	2.52 ± 0.3
13	3.22 ± 0.4	4.72 ± 0.60	4.06 ± 1.0	2.35 ± 1.0	2.42 ± 0.3
14	3.20 ± 0.4	4.72 ± 0.60	4.74 ± 1.0	2.12 ± 1.0	2.52 ± 0.3
15	3.61 ± 0.4	5.22 ± 0.60	4.09 ± 1.0	1.90 ± 1.0	2.52 ± 0.3
16	4.10 ± 0.4	5.11 ± 0.60	5.15 ± 1.0	1.84 ± 1.0	3.02 ± 0.3
17	3.50 ± 0.4	5.01 ± 0.60	4.48 ± 1.0	1.97 ± 1.0	3.02 ± 0.3
18	3.55 ± 0.4	3.87 ± 0.60	4.16 ± 1.0	2.31 ± 1.0	2.89 ± 0.3
19	3.68 ± 0.4	4.31 ± 0.60	5.01 ± 1.0	1.94 ± 1.0	2.97 ± 0.3

No hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en ninguno de los días ($P > 0.05$).

y en asincronía (asin), tendencia que se mantuvo en el grupo asinlfe durante los días 10 a 19, mientras que en el grupo asin, los niveles de P4 fueron inferiores a 1 ng/ml hasta el día 18.

El grupo sin presentó en los días 13 y 14 las mayores concentraciones de P4 (5.30 y 6.10, respectivamente), siendo el valor del día estadísticamente diferente ($P < 0.05$) al valor de los grupos asinst y asinlft. Para el día 14 las concentraciones de P4 del grupo sin fueron estadísticamente diferentes a los de los grupos asinlfe, asinlft y asinst, mientras que en el día 16 el valor de la progesterona plasmática del grupo asinlft fue el menor ($P < 0.05$).

En el Cuadro 4 se presenta la duración de la fase lútea en las ovejas no gestantes de los diferentes tratamientos, considerando los días en que los niveles de progesterona se mantuvieron superiores a 1.0 ng/ml. Las ovejas que presentaron el mayor periodo con cuerpo lúteo funcional (16.8 días en promedio) fueron las del grupo asin, y dicho valor fue estadísticamente diferente al de los grupos asinlft y asinst. La menor duración de la fase lútea (12.4 días), correspondió al grupo asinst, sin ser diferente a la del grupo asinlft.

En la Figura 1 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 19 posestro para algunas ovejas no gestantes en las que la regresión del

Cuadro 3
CONCENTRACIONES DIARIAS (PROMEDIO $\pm$ E.E.) DE PROGESTERONA (NG/ML) EN LAS OVEJAS NO GESTANTES

Día del ciclo	Tratamiento				
	asin (5)	asinlfe (13)	asinlfst (8)	asinst (5)	sin (2)
10	1.51 $\pm$ 0.7 ^a	1.65 $\pm$ 0.4 ^a	1.04 $\pm$ 0.5 ^a	1.39 $\pm$ 0.7 ^a	1.04 $\pm$ 1.6 ^a
11	2.41 $\pm$ 0.7 ^a	2.21 $\pm$ 0.4 ^a	1.55 $\pm$ 0.5 ^a	1.80 $\pm$ 0.7 ^a	2.45 $\pm$ 1.6 ^a
12	3.49 $\pm$ 0.7 ^a	3.20 $\pm$ 0.4 ^a	2.27 $\pm$ 0.5 ^a	1.24 $\pm$ 0.7 ^a	3.40 $\pm$ 1.6 ^a
13	2.23 $\pm$ 0.7 ^{ab}	3.37 $\pm$ 0.4 ^b	1.87 $\pm$ 0.5 ^a	0.85 $\pm$ 0.7 ^a	5.30 $\pm$ 1.6 ^b
14	3.70 $\pm$ 0.7 ^{ac}	3.00 $\pm$ 0.4 ^a	0.88 $\pm$ 0.5 ^b	0.23 $\pm$ 0.7 ^b	6.10 $\pm$ 1.6 ^c
15	2.65 $\pm$ 0.7 ^a	2.38 $\pm$ 0.4 ^a	0.48 $\pm$ 0.5 ^b	0.14 $\pm$ 0.7 ^b	2.20 $\pm$ 1.6 ^a
16	3.15 $\pm$ 0.7 ^a	2.04 $\pm$ 0.4 ^a	0.10 $\pm$ 0.5 ^b	0.12 $\pm$ 0.7 ^{ab}	2.50 $\pm$ 1.6 ^a
17	2.76 $\pm$ 0.7 ^a	2.30 $\pm$ 0.4 ^a	0.12 $\pm$ 0.5 ^{ab}	0.03 $\pm$ 0.7 ^b	0.85 $\pm$ 1.6 ^a
18	2.18 $\pm$ 0.7 ^a	1.46 $\pm$ 0.4 ^a	0.20 $\pm$ 0.5 ^a	0.23 $\pm$ 0.7 ^a	0.80 $\pm$ 1.6 ^a
19	0.52 $\pm$ 0.7 ^a	1.13 $\pm$ 0.4 ^a	0.09 $\pm$ 0.5 ^a	0.22 $\pm$ 0.7 ^a	0.77 $\pm$ 1.6 ^a

^{a,b} Para un determinado día (renglón) los valores que no comparten literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05).

Cuadro 4
DÍAS PROMEDIO EN QUE LOS NIVELES DE PROGESTERONA DE LAS OVEJAS NO GESTANTES SE MANTUVIERON SUPERIORES A 1 NG/ML

Tratamiento	Media $\pm$ d.e.
asin	16.8 $\pm$ 2.7 ^a
asinlfe	16.4 $\pm$ 2.5 ^a
asinlfst	13.7 $\pm$ 1.1 ^{bc}
asinst	12.4 $\pm$ 0.9 ^b
sin	15.5 $\pm$ 0.7 ^{ac}

^{a, b, c} Valores que comparten la misma literal no son estadísticamente diferentes (P > 0.05).

Cuadro 5
NÚMERO DE OVEJAS GESTANTES Y VACÍAS DE CADA TRATAMIENTO Y PORCENTAJES DE FERTILIDAD

Tratamiento	Gestantes	Vacías	% de fertilidad
sin	13	2	86.66 ^a
asin	11	5	68.75 ^{ab}
asinlfe	6	13	31.57 ^{bc}
asinst	2	5	28.57 ^{bc}
asinlfst	2	8	20.00 ^c

^{a,b,c} Valores con la misma literal no son diferentes (P > 0.05)

cuerpo lúteo ocurrió alrededor de los días 13 a 15, equivalente a un ciclo estral normal.

En la Figura 2 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 19 postestro, para algunas ovejas no gestantes del grupo asinlfe. En estas ovejas los niveles de progesterona permanecieron superiores a 1 ng/ml mientras duró el muestreo, lo que indica una fase lútea de mayor duración a lo normal.

En la Figura 3 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 19 postestro, para algunas ovejas no gestantes del grupo asinlfe. En estas ovejas los niveles de progesterona permanecieron superiores a 1 ng/ml mientras duró el muestreo, lo que indica una fase lútea de mayor duración a lo normal.

En el Cuadro 5 se presenta el número de ovejas gestantes y vacías, así como el porcentaje de fertilidad por tratamiento. La mayor fertilidad correspondió al grupo sin (86.66%) y no fue estadísticamente diferente

a la del grupo asin (P > 0.05). La menor fertilidad se obtuvo en el grupo asinlfst, pero dicha fertilidad no fue estadísticamente diferente a la de los grupos asinst y asinlfe (P > 0.05).

Discusión

Niveles de progesterona

En diferentes trabajos realizados en bovinos se ha demostrado que la administración de somatotropina bovina favorece la función lútea e incrementa los niveles de progesterona, según la fase del ciclo estral en que se administre. Así, en hembras bovinas subfértiles, Morales²¹ encontró que un tratamiento corto con somatotropina bovina, administrada al momento de la inseminación artificial, mejoró la fertilidad e incrementó las concentraciones de progesterona de las hembras tratadas.

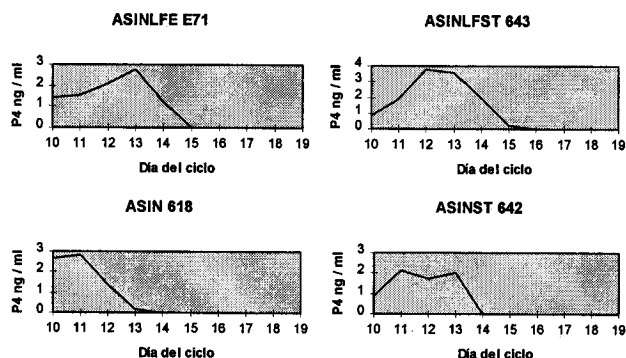


Figura 1. Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas no gestantes que tuvieron una duración normal de la fase lútea.

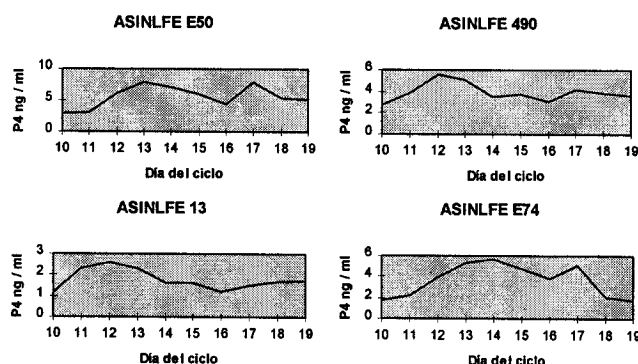


Figura 2. Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas no gestantes del grupo asinlfe que mostraron retraso en la regresión del cuerpo lúteo.

Por su parte, Lucy *et al.*³² encontraron que cuando la somatotropina se administra durante los primeros 9 días del ciclo estral, estimula el desarrollo del cuerpo lúteo y origina un mayor tamaño, así como una producción de progesterona más alta. Este efecto se observó también cuando la somatotropina fue administrada entre los días 16 y 21 del ciclo, pero no cuando se administró entre los días 10 a 15. También se ha informado de incrementos en los niveles de la progesterona circulante, durante los dos ciclos estrales posteriores a la administración de somatotropina en vacas no gestantes,^{33,34} y dicho efecto se mantiene incluso durante toda la gestación.³⁴ Sin embargo, Lucy *et al.*³⁵ informan que durante el reconocimiento de la gestación en vacas en lactancia (alrededor del día 16 postestro), la administración de somatotropina incrementó el peso del cuerpo lúteo, pero no la producción de progesterona, ni modificó el desarrollo de los embriones colectados al día 17 posterior al estro.

Rosas *et al.*³⁶ encontraron que en ovejas donadoras de embriones tratadas con somatotropina bovina al momento de ser detectadas en estro, las concentraciones promedio de la progesterona plasmática fueron superiores a las de las ovejas no tratadas. Sin embargo, en el

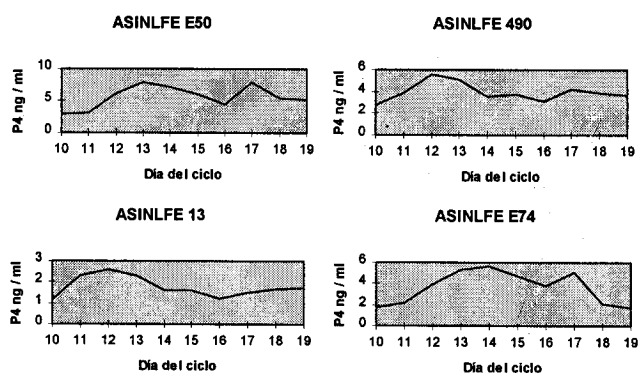


Figura 3. Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas no gestantes del grupo asinlfe que mostraron retraso en la regresión del cuerpo lúteo.

presente estudio las ovejas gestantes del grupo asinst tuvieron las menores concentraciones promedio de progesterona, comportándose de la misma manera las no gestantes de dicho grupo, aunque sus valores no fueron significativamente diferentes a las no gestantes de los otros tratamientos (Cuadros 1, 2 y 3).

Tanto en ovinos como en bovinos, las concentraciones de progesterona se elevan cuando la somatotropina se administra al inicio del ciclo estral y no cuando se administra a la mitad del ciclo, lo que podría sugerir que el efecto es mayor sobre la formación del cuerpo lúteo que sobre su función esteroidogénica. Así, a diferencia del tratamiento realizado por Rosas *et al.*,³⁶ en el presente trabajo la primera administración de somatotropina se realizó el día 2 postestro, para no afectar el desarrollo folicular, ya que se ha demostrado que la somatotropina favorece la foliculogénesis al rescatar un mayor número de folículos, lo que origina la formación de un mayor número de cuerpos lúteos de buena calidad y, en consecuencia, la producción de mayores niveles de progesterona. Este hecho explica, que tanto en ovinos³⁶ como en caprinos,³⁷ la administración de somatotropina al momento del celo origine una menor o nula formación de cuerpos lúteos con regresión prematura.

Como la administración de somatotropina bovina en los días 2 y 10 posteriores al estro no incrementa las concentraciones de progesterona en ovejas receptoras de embriones en asincronía, el efecto podría lograrse si se administrara desde el día en que las receptoras presentan estro.

En el presente trabajo no se demostró que la administración de líquido folicular equino incrementa significativamente las concentraciones diarias de la progesterona en ovejas receptoras en asincronía. Sin embargo, las concentraciones promedio en las hembras gestantes de los grupos asinlfe y asinlfe tendieron a ser mayores a las de las hembras gestantes del grupo sin. Aunque las concentraciones diarias no fueron estadísticamente diferentes, pudiera pensarse que un embrión asincrónico transferido a una hembra que mantiene durante la gestación temprana altos niveles de proges-

terona tiene mayores probabilidades de sobrevivir, al ser estimulado su desarrollo y compensar su menor edad en relación con el útero al que es transferido. En este sentido, Ashworth y Bazer³⁸ demostraron que la administración de progesterona a hembras receptoras estimulan la síntesis de proteínas embrionarias que son diferentes a las sintetizadas por los embriones de las receptoras que no reciben progesterona.

Además, Geisert *et al.*³⁹ determinaron que la administración de progesterona a hembras receptoras provoca una aceleración del desarrollo embrionario y en el caso del bovino, la administración de progesterona a hembras transferidas en asincronía eleva los porcentajes de fertilidad hasta niveles cercanos a los logrados en las hembras en sincronía.

Duración de la fase lútea en ovejas no gestantes

En el presente trabajo la administración de líquido folicular equino provocó el alargamiento de la fase lútea en cuatro de las trece (30.76 %) ovejas no gestantes del grupo asinlfe (Figura 3). A pesar de que las diferencias entre los grupos asin y asinlfe no son significativas, estos resultados confirman los obtenidos en trabajos previos, en los que la administración de líquido folicular equino ha logrado retrasar la luteólisis en algunas ovejas a las que se les transfirieron embriones en asincronía,¹⁶ así como en ovejas inducidas a ovular durante la época de anestro.¹⁴

Aun cuando se ha informado que la luteólisis se retrasa mientras se administre diariamente somatotropina bovina en vacas, entre los días 10 a 19 del ciclo estral,³² este retraso no se observó en el presente trabajo. Por el contrario, en las ovejas no gestantes de los dos grupos que recibieron somatotropina bovina (asinst y asinlfe) la regresión del cuerpo lúteo ocurrió antes que en las ovejas asincrónicas que no recibieron tratamiento (Cuadros 3 y 4).

Fertilidad

A pesar de que en algunas ovejas del grupo asinlfe se alargó la fase lútea, el porcentaje de fertilidad de las ovejas de este grupo no fue estadísticamente diferente al de los grupos en asin y asinst, lo que indica que el alargar la fase lútea con el objeto de favorecer el reconocimiento de la gestación no es suficiente para lograr el establecimiento de los embriones asincrónicos.

Asimismo, Odensvik y Gustafsson²⁰ encontraron que en vacas a las que se les transfiere un embrión con 3 días de asincronía, la administración de flunixin meglumine, potente inhibidor de la síntesis de PGF₂ α , retrasa la luteólisis y prolonga la vida del cuerpo lúteo. Sin embargo, aunque se permite el desarrollo y la sobrevivencia temporal de los embriones asincrónicos, éstos

no tienen la capacidad para implantarse con éxito, por lo que puede pensarse que cuando los embriones son depositados en un útero asincrónico sufren un daño irreversible.

Existe evidencia de que un ambiente uterino de asincronía puede causar en forma inmediata alteraciones en el desarrollo embrionario. Así, en ovejas receptoras de embriones de 4 días de edad, que se encuentran en el día 1 o 2 posestro y a las cuales se les mantiene el cuerpo lúteo mediante hemihisterectomía, dichos embriones al ser colectados posteriormente, aparecen retrasados en su desarrollo y son incapaces de superar el estadio de blastocito temprano.⁴⁰

En cambio, embriones de 4 días de edad, transferidos a receptoras hemihisterectomizadas que se encuentran en el día 6 o 7 posestro, presentan un desarrollo acelerado que se mantiene hasta que el útero alcanza el día 12 de gestación, lo que significa que el útero produce señales que tratan de estimular al embrión asincrónico para que logre sincronizarse con el útero.

Sin embargo, a pesar de que el desarrollo acelerado parece ser un mecanismo para compensar la diferencia de edad entre el embrión y el útero, la mayoría de los embriones mueren posteriormente, lo que indica que ese desarrollo acelerado no es normal, aun cuando algunos de ellos son capaces de continuar creciendo hasta la cuarta semana de gestación, siempre y cuando el cuerpo lúteo se mantenga mediante la hemihisterectomía.⁴⁰ Por el contrario, cuando el cuerpo lúteo no es mantenido mediante hemihisterectomía, la mayoría de los embriones se pierden al ser destruidos cuando ocurre la regresión del cuerpo lúteo, y son expulsados del útero al iniciar el siguiente estro.⁴⁰

Esto indicaría que en algunos casos el mantenimiento del cuerpo lúteo puede ayudar a que la gestación continúe, pero que en otros, el daño inicial sufrido por el embrión al ser transferido en condiciones de asincronía es irreversible.

Las causas por las que mueren los embriones transferidos en asincronía son complejas y difíciles de explicar. Wilmut y Sales¹⁹ encontraron que cuando se transfieren embriones de 3 o 6 días de edad a una primer receptora con 3 días de asincronía (día 6 o 9 posestro, respectivamente), y se colectan tres días después, dichos embriones son aparentemente viables. De los embriones de 3 días de edad transferidos a una primer receptora en el día 6 posestro (asincronía), y posteriormente transferidos a una segunda receptora en el día 6 (sincronía), el 70 % llegaron a término. Sin embargo, la mayoría (86 %) de los embriones de 6 días de edad transferidos a una primera receptora en el día 9 posestro (asincronía), perdieron la capacidad de llegar a término, al ser nuevamente transferidos a una segunda receptora que también se encontraba en el día 9 (en sincronía). Esto indicaría que durante los tres días en que el embrión se encuentra en el útero asincrónico se produce una alteración que morfológicamente no es visible, pero que daña definitivamente al embrión. Además sugiere que los embriones

de 3 días de edad son más resistentes al daño producido por una asincronía temporal, en comparación con los embriones de 6 días de edad. En un trabajo similar, Xueshi *et al.*⁴¹ transfirieron embriones de 6 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 3 del ciclo, y al recolectarlos tres días después encontraron que el porcentaje de embriones viables era de 20, por lo que al parecer, el ambiente uterino asincrónico afecta el desarrollo embrionario de diferente manera, según la edad del embrión.

En el presente trabajo se encontró que las ovejas a las que se les transfirieron embriones de 6 días en sincronía (sin) tuvieron mayor fertilidad (86.66 %). Sin embargo, ésta no fue estadísticamente superior a la del grupo en asincronía (asin) (68.75 %). Los porcentajes de fertilidad entre los grupos asin, asinlfe y asinst no fueron estadísticamente diferentes, por lo que la fertilidad no se incrementó con ninguno de los tratamientos. De cualquier manera, independientemente del tratamiento, el número de hembras que quedaron gestantes en los grupos asincrónicos fue superior al esperado, ya que de acuerdo a la literatura cuando se transfieren embriones de 6 días de edad a receptoras con 72 horas de asincronía los porcentajes de fertilidad son muy bajos.⁴² Así, Rowson y Moor¹⁸ obtuvieron 8% de fertilidad al transferir embriones de 5 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 2 u 8 postestro, mientras que Wilmut y Sales¹⁹ transfirieron embriones de 6 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 9 postestro (3 días de asincronía) y ninguno llegó a término.

En el presente trabajo, a pesar de utilizarse un estricto criterio de por lo menos 72 horas de asincronía entre el ciclo estral de las donadoras de los embriones y sus receptoras, se obtuvo un alto porcentaje de fertilidad en los grupos asincrónicos, que no coincide con lo notificado por otros autores.^{18,38} El hecho de haber transferido dos embriones a cada receptora no puede explicar la fertilidad obtenida en las ovejas asincrónicas, ya que tanto en los experimentos de Ashworth y Bazer³⁸ y Odensvik y Gustafsson,²⁰ en los que solamente se transfirió un embrión por receptora, como en los de Moore y Shelton,¹⁷ Rowson y Moor¹⁸ y Albinh *et al.*,⁴³ en donde se transfirieron 2 embriones por receptora, la fertilidad de los grupos en asincronía fue mucho menor que el de las receptoras sincrónicas. Es posible que el alto porcentaje de fertilidad obtenido en las ovejas en asincronía en el presente trabajo se deba, al menos en parte, a los progresos que se tienen actualmente en cuanto a la técnica de recolección, manejo y transferencia de embriones.

Los tratamientos no mejoraron la fertilidad a pesar de incrementarse la P4 en las gestantes asinlfe y asinlfs o retrasarse la luteólisis en las asinlfe. Se propone que antes de modificar la asincronía materno-embrionaria se determine el grado de asincronía que los embriones ovinos toleran de manera natural.

Agradecimientos

Se agradece a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a los programas PAPIIT y PADEP, y a la DGAPA, dependientes de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su apoyo académico y económico para la realización del trabajo. Asimismo, a la Dra. María del Carmen Becerril Cortés, por su colaboración en las cirugías y en la elaboración del manuscrito.

Referencias

1. Zarco QL, Stabenfeldt GH, Kindahl H, Quirke JF, Gransstrom E. Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. *Anim Reprod Sci* 1984;7:245-267.
2. Zarco QL, Stabenfeldt GH, Quirke JF, Kindahl H, Bradford GE. Release of prostaglandin F2 α and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. *J Reprod Fertil* 1988;83:517-526.
3. Roberts RM, Scalue-Francis T. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 1990;33:175-183.
4. Roberts RM, Leaman WD, Cross CJ. Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in ruminants. *Soc Exp Biol Med* 1992;200:7-18.
5. Hunter MG. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fertil* 1991;43(Suppl.):91-99.
6. 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.
7. Thatcher WW, Bazer FW, Sharp DC, Roberts RM. Interrelationship between uterus and conceptus to maintain corpus luteum function during early pregnancy: sheep, cattle, pig and horses. *J Anim Sci* 1986;67(Suppl. 2):47-61.
8. Putney DJ, Malayer JR, Gross TS, Thatcher WW, Hansen PJ, Drost M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. *Biol Reprod* 1988;39:717-728.
9. Burger HG. Inhibin: definition and nomenclature, including related substances. *J Endocrinol* 1988;17:150-160.
10. Baird DT, Campbell BK, Mann GE, McNeilly AS. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Reprod Fert* 1991;43 (Suppl.):125-138.
11. Grootenhuys AJ, Steenberger J, De Jong FH. Inhibin and activin-like activity in fluids from male and female gonads: different molecular weight forms and bioactivity/immunoactivity ratios. *J Endocrinol* 1989;22:293-301.
12. Gremmes S. Sekretionsmuster der Gonadotropine nach hormoneller Intervention bei der Stute (doctoral dissertation). Hannover, Deutschland: Tierärztliche Hochschule, 1990.
13. Hernández J, Murcia C, Valencia J, Rojas S, Zárate J, Zarco L. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la secreción de FSH en ovejas en anestro y la presentación del estro inducido con PGF2 α en ovejas ciclando. *Vet Méx* 1997;28:117-122.

14. Balcázar A, Zarco L, Murcia M, Valencia J, Luyando C, Mejía O. Efecto del líquido folicular equino sobre la duración de la fase lútea en ovejas anéstricas inducidas a ovular con hCG. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995*; 1995 noviembre 21-22; México (DF). México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM, FMVZ, FESC. *Vet Méx* 1995;26(Suppl. 2):345.
15. Zárate J. Efecto de la aplicación de líquido folicular equino libre de esteroides sobre la función lútea de ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con hCG (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1996.
16. Mejía O, Balcázar J, Zarco L, Valencia J, Rojas S. Sobrevida de embriones ovinos transferidos en asincronía mediante la administración de líquido folicular equino. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995*; 1995 noviembre 21-22; México (DF). México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM, FMVZ, FESC. *Vet Méx* 1995;26(Suppl. 2):342.
17. Moore NW, Shelton JN. Egg transfer in sheep. *J Reprod Fert* 1964;7:145-152.
18. Rowson LEA, Moor RM. Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. *J Reprod Fert* 1966;11:207-212.
19. Wilmut I, Sales DI. Effect of an asynchronous environment on embryonic development in sheep. *J Reprod Fert* 1981;61:179-184.
20. Odensvik K, Gustafsson H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer. *Anim Reprod Sci* 1994;36:13-24.
21. Morales S. Efecto de un tratamiento corto de rbST (lactotropina) sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1993.
22. Hill DJ. Growth factors and their cellular actions. *J Reprod Fert* 1989;85:723-734.
23. Adashi EY, Resnick CE, Svoboda ME, Van Wyk JJ. Somatomedin-C enhances induction of luteinizing hormone receptors by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1985;116:2369-2375.
24. Carson RS, Zhang Z, Hutchinson LA, Herington AC, Findlay JK. Growth factors in ovarian function. *J Reprod Fert* 1989;85:735-746.
25. Mejía O, Balcázar A, Luyando C, Valencia J, Rojas S, Saharrea A, *et al.* Implementación de la transferencia de embriones en pequeños rumiantes. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995*; 1995 noviembre 21-22; México (DF). México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM, FMVZ, FESC. *Vet Méx* 1995;26(Suppl. 2):340.
26. Wintenberger-Torres S, Sevellec C. *Atlas of the early development of the sheep embryo*. Paris, France: INRA Station de Physiologie Animale, 1992.
27. Ruttle J, Lucero S, Key S, Daniels M, Rodríguez F, Yin HS. Ovine estrus synchronization and superovulation using norgestomet B and follicle stimulating hormone-pituitary. *Theriogenology* 1988;30:421-427.
28. Lussier JG. Modulation of ovarian follicular development in cattle by gonadotropins and bovine follicular fluid (thesis for degree of doctor philosophy). Saskatchewan, Canada: University of Saskatchewan, 1989.
29. Bretzlaff K, Edwards J, Forrest D, Nuti L. Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. *Vet Med* 1993;1:12-24.
30. SAS Institute Inc. SAS/STAT (computer program) version 6.03. Cary (NC): SAS Institute Inc., 1991.
31. Navarro FR. Introducción a la bioestadística. *Análisis de variables binarias*. México (DF): McGraw-Hill, 1988.
32. 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.
33. Schemm SR, Deaver DR, Griel LC, Muller LD. Effect of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biol Reprod* 1990;42:815-821.
34. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. *Can J Anim Sci* 1991;71:343-353.
35. Lucy MC, Thatcher WW, Collier JR, Simmen FA, Ko Y, Savio JD, Badinga L. Effect of somatotropin in the conceptus, uterus and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Domestic Anim Endocrinol* 1995;12:73-82.
36. 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. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995*; 1995 noviembre 21-22; México (DF). México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM, FMVZ, FESC. *Vet Méx* 1995;26(Suppl. 2):338.
37. Cerbón GJ. Efecto de la aplicación de somatotropina sobre la calidad embrionaria en cabras superovuladas con hormona folículo estimulante (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1998.
38. Ashworth CJ, Bazer FW. Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. *Biol Reprod* 1989;40:425-433.
39. Geisert DR, Fox CT, Morgan LG, Wells EM, Wettemann PR, Zavy TM. Survival of bovine embryos transferred to progesterone-treated asynchronous recipients. *J Reprod Fert* 1991;92:475-482.
40. Lawson RAS, Parr RA, Cahill LP. Evidence for maternal control of blastocyst growth after asynchronous transfer of embryos to the uterus of the ewe. *J Reprod Fert* 1983;67:477-483.
41. Xueshi S, Thomson MR, Wilmut I. Effect of asynchrony between donor and recipient on embryo development in sheep. *Acta Agric Shanghai* 1989;5:1-7.
42. Wilmut I, Ashworth CJ, Springbett AJ, Sales DI. Effect of variation in embryo stage on the establishment of pregnancy, and embryo survival and growth in ewes with embryos. *J Reprod Fert* 1988;83:233-237.
43. Albinh A, Gustafsson H, Rodríguez-Martínez H. Maternal influence on the early development of asynchronously transferred bovine embryos. *Anim Reprod Sci* 1991;24:25-35.