

## RESPUESTA OVÁRICA A TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS CON DOSIS CONSTANTES Y DECRECIENTES DE FSHp EVALUADA POR LAPAROSCOPIA EN OVEJAS CRUZA TEXEL

OVARIAN RESPONSE TO SUPEROVULATORY TREATMENT WITH CONSTANT AND DECREASING FSHp DOSE ASSESSED BY LAPAROSCOPIC IN TEXEL CROSSBRED SHEEP

Harasymowycz J<sup>1</sup>, Benítez M<sup>1</sup>, Morales C<sup>1</sup>, Paul A<sup>1</sup>, Checo F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Reproducción Animal y Genética - Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de Asunción - San Lorenzo - Paraguay*

**RESUMEN.** El presente estudio fue realizado en el Distrito de Altos, Departamento de Cordillera (Latitud 58°, Longitud 26°) Paraguay. El objetivo fue evaluar laparoscópicamente la respuesta ovárica de dos protocolos de superovulación, uno a dosis decreciente (DEC) y otro a dosis constante (CON) de la Hormona Folículo estimulante porcino (FSHp). Se utilizaron ovejas cruza Texel (n=10) divididas al azar en dos grupos. Las ovejas fueron sometidas a un tratamiento de sincronización de celo previo al inicio del tratamiento superovulatorio, posteriormente el servicio fue realizado por monta natural con carneros con examen andrológico aprobado. En el grupo DEC se obtuvo un total de 92 cuerpos lúteos (CL), con un promedio de 18,4 CL por animal; mientras que para el lote CON se obtuvo un total de 61 CL, con un promedio de 12,2 CL por animal. Estos resultados fueron estadísticamente significativos a favor del tratamiento de superovulación con dosis decrecientes (p<0,05).

**Palabras clave:** laparoscopia, ovario, cuerpo lúteo, FSHp, superovulación, ovejas.

**ABSTRACT.** This study was conducted in Altos District, Cordillera Department (58° Latitude, 26° Longitude) Paraguay. The objective was to evaluate laparoscopically two superovulation protocols effects over ovarian response, one at decreasing doses (DEC) and another by constant dose (CON) using porcine follicle stimulating Hormone (FSHp). Texel crossbred sheep (n = 10) were randomly divided into two groups. Sheep were subjected to estrus synchronization treatment prior to superovulatory treatment start, afterwards natural mating service was performed with approved andrological examination rams. In the DEC group, 92 corpus luteum (CL) was obtained, with an average of 18.4 CL per animal; while lot CON, 61 CL was obtained, with an average of 12.2 CL per animal. These results were statistically significant in favor to superovulation treatment with decreasing doses (p<0,05).

**Keywords:** laparoscopy, ovary, corpus luteum, FSHp, superovulation, sheep.

---

**Dirección para correspondencia:** Prof. Dr. Jaroslaw Harasymowycz - Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Casilla de Correo N° 1061 - Ruta Mcal. Estigarribia km 10,5 - Campus Universitario - San Lorenzo - Paraguay

**E-Mail:** jharasymowycz@vet.una.py

**Recibido:** 25 de noviembre de 2013 / **Aceptado:** 09 de junio de 2014

## INTRODUCCIÓN

La cría de ovinos en Paraguay ha presentado en los últimos años un desarrollo importante, debido principalmente a la introducción de reproductores genéticamente superiores.

La aplicación de diferentes biotecnologías reproductivas permitirá acortar los tiempos para lograr la disseminación de genética superior en las majadas. Los tratamientos de superovulación y posterior colecta e implantación de embriones en fresco podrían significar biotecnologías complementarias, que ayuden a este objetivo; ya que se estarían multiplicando individuos, crías de madre y padre superiores (5). Las tecnologías de superovulación y la transferencia embrionaria hicieron mejoramientos sustanciales en las ovejas en muchos países del mundo. Sin embargo, un factor limitante importante en el éxito de los programas es la variabilidad de la respuesta ovárica y la recuperación de los embriones (7).

Otro factor importante en la tasa de colecta de embriones luego del tratamiento superovulatorio es la Inseminación Artificial. La descongelación del semen del carnero produce una capacitación prematura del espermatozoide. Por tanto, el semen conserva una alta capacidad fertilizante sólo cuando se deposita intrauterinamente cerca del oviducto, próximo al momento de la ovulación (4, 8). Estudios anteriores encontraron que la Inseminación Artificial (IA) intrauterina con laparoscopia en ovejas utilizando áspics, induce niveles de fertilidad más altos que los obtenidos por inseminación vaginal, peri y transcervical, independientemente de si se utiliza semen fresco o congelado (8).

El aumento de la fertilidad, incrementando la tasa de ovulación, mejora invariablemente la prolificidad. La técnica de transferencia de embriones, luego del tratamiento superovulatorio, es considerada parte de una serie de técnicas reproductivas para mejorar la cantidad de animales genéticamente superiores y así aumentar la productividad de la especie al permitir transferir dichos embriones antes de la implantación, a una madre portadora (receptora) quien desarrollará el embrión hasta llegar a término (1, 2, 3).

Hay estudios que han demostrado que los folículos que crecen en patrones de onda en las

ovejas y cabras tienen un mayor impacto en la aplicación de tecnologías reproductivas asistidas en estas especies. Lo que se encuentra con mayor frecuencia es la ocurrencia de 3 ondas foliculares durante el ciclo estral de las ovejas. Cada onda folicular está precedida por el aumento de la concentración de FSH. Considerando la dominancia folicular y la superovulación, varios estudios sostienen la idea de que los tratamientos estimulantes iniciados en ausencia de folículos dominantes resultan en el mejoramiento del reclutamiento folicular, en las tasas ovulatorias y/o en la recuperación embrionaria en ovejas. Ciertos datos sugieren que este efecto es más evidente durante la estación reproductiva que fuera de la estación reproductiva (6, 9).

Los tratamientos superovulatorios tienen la finalidad de aumentar la tasa ovulatoria de las hembras a través del uso de hormonas gonadotrópicas. Consistiendo básicamente, en la estimulación del desarrollo folicular ovárico mediante la aplicación exógena de hormona folículo estimulante (FSH), gonadotropina coriónica equina (eCG) y en menor medida mediante extracto hipofisario equino (HAP) (1,5). También se han realizado diferentes trabajos orientados a determinar las variaciones en el número de dosis y tiempo en la administración de las drogas (1,2).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta ovárica a dos tratamientos superovulatorios basados en la aplicación exógena de dosis decrecientes y constantes de FSHp en ovinos cruza Texel.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el Establecimiento Don Máximo (Distrito de Altos, Departamento de Cordillera, Paraguay) se seleccionaron y utilizaron ovejas cruza Texel (n=10) aptas reproductivamente, mayores de 2 años, con cría al pie y con una condición corporal mínima de 2,5 (escala 1 - 5). Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria en 2 lotes de 5 animales cada uno.

En el tratamiento, el lote 1 (DEC) recibió una dosis total de 240mg de FSHp (Laboratorio Syntex) en dosis decrecientes, cada 12hs, durante 4 días. Las dosis utilizadas decrecieron cada 24hs y fueron de 50mg; 36mg; 24mg y 10mg, los días 1, 2, 3 y 4, respectivamente. El lote 2 (CON) recibió dosis

constantes de 30mg de la misma hormona cada 12hs durante 4 días.

Se procedió a la sincronización de celo en la totalidad de las ovejas, lo que se llevó a cabo mediante un tratamiento corto (6 días) de utilización de esponjas intravaginales impregnadas con 60mg de medroxiprogesterona (Laboratorio Syntex). Al retiro de las esponjas intravaginales se aplicó una dosis de prostaglandina F2 $\alpha$  (D+ clorprostenol - Laboratorio Cherry) vía intramuscular de 50ug y una dosis de gonadotropina coriónica equina (Laboratorio Syntex) vía intramuscular IM de 500UI. A las 24hs del retiro de las esponjas intravaginales se procedió a la aplicación de una dosis de 1,5mg del análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas (buserelina - Laboratorio Over) intramuscular y dos días posteriores al retiro de las esponjas intravaginales se dió inicio al tratamiento superovulatorio.

Todas las ovejas de ambos lotes recibieron con la última aplicación de FSHp una dosis de prostaglandina F2 $\alpha$  (D+ clorprostenol - Laboratorio Cherry) de 50ug vía intramuscular y a las 24hs de la última dosis de FSHp se le aplicó una dosis del análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas (buserelina - Laboratorio Over) por vía intramuscular de 1,5mg.

Culminado el tratamiento superovulatorio se procedió al servicio por monta natural libre con carneros aptos reproductivamente (n=2) por un lapso de 24hs. Luego de 7 días de finalizado el servicio se realizó el conteo de cuerpos lúteos por vía laparoscópica abdominal, para lo cual las ovejas fueron sedadas con xilacina (Laboratorio Over) a dosis de 0,1mg/kpv, por vía IM.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba estadística de t de Student.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el lote 1 (DEC) se contabilizaron un total de 92 cuerpos lúteos (Figura 1), de los cuales 50 correspondieron al ovario izquierdo y 42 al derecho; en el lote 2 (CON) fueron observados un total de 61 cuerpos lúteos, de los cuales 38 correspondieron al ovario izquierdo y 23 al ovario derecho (Figura 2).

En este estudio, en el lote 1 (DEC) se observaron en promedio  $18,4 \pm 1,6$  CL por animal,

con un rango de 17 a 21, mientras que en el lote 2 (CON) se encontró un promedio de  $12,2 \pm 3,4$  CL por animal, con un rango de 8 a 17 CL. La diferencia en la cantidad de cuerpos lúteos contabilizados en ambos lotes resultó estadísticamente significativa a favor del tratamiento de superovulación a dosis decrecientes ( $p \leq 0,05$ ). Estos resultados podrían deberse al hecho de que en el protocolo de dosis decrecientes la administración de la FSH se asemeja más al patrón de secreción hipofisaria de esta hormona (Figura 3).

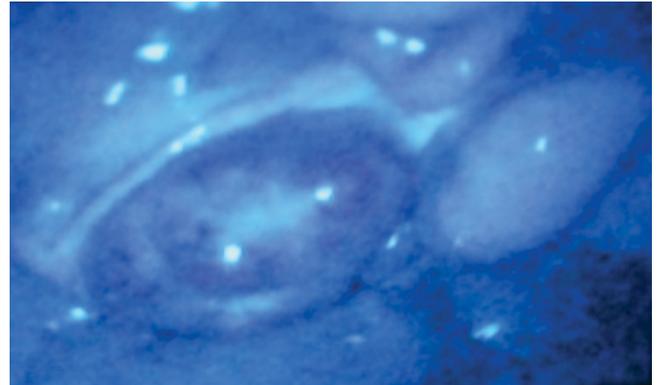


Figura 1. Ovario con cuerpos lúteos.

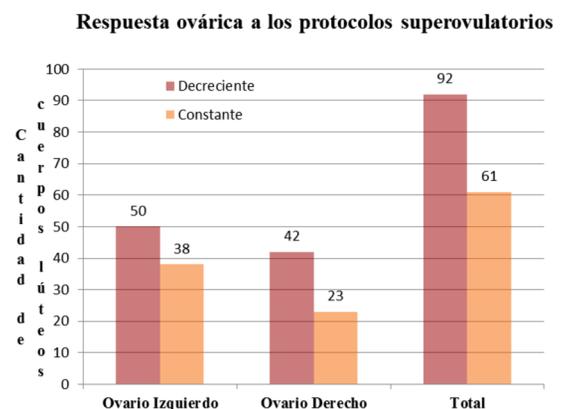
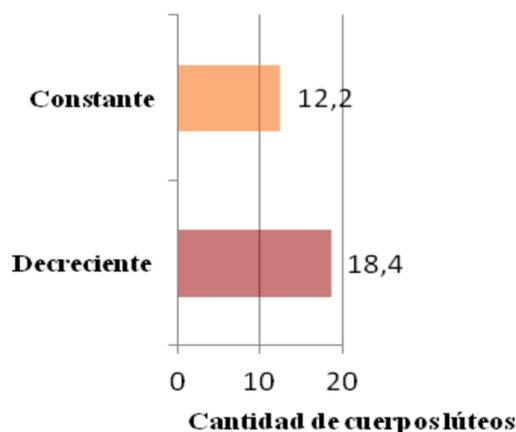


Figura 2. Cantidad de cuerpos lúteos en los dos ovarios y el total de ambos lotes.

Pliengo Palacios 2012, realizó un estudio de superovulación similar en ovejas de raza Pelibuey, aplicando FSHp. A un grupo administró como dosis total 280mg en forma decreciente (60mg, 40mg, 20mg, 20mg) hallando en promedio  $17,6 \pm 3,5$  cuerpos lúteos por animal, mientras que al otro grupo administrando una dosis total de 220 mg en dosis decrecientes (40mg, 30mg, 20mg, 20mg) obtuvo en promedio  $1,8 \pm 1,3$  cuerpos lúteos (1). Se dedujo que para el éxito de los programas de reproducción artificial existe una correlación estrecha entre los factores como adaptación, nutrición, pureza de la raza así como la dosis de hormonas utilizadas, observándose una mejor respuesta en animales sometidos a un tratamiento

de 280mg de FSHp que en aquellos que recibieron un estímulo superovulatorio de 220mg (Laboratorios Syntex) ( $p \leq 0,01$ ).



**Figura 3.** Cantidad promedio de cuerpos lúteos de ambos lotes.

En el trabajo de López et al. 2006, se utilizó 96UI como dosis total de la hormona folículo estimulante ovina (FSHo - Ovagen - Laboratorio Syntex); un grupo con dosis decrecientes (14,4UI, 12UI, 9,6UI) y otro en dosis constante (12UI)(10). La eficacia superovulatoria fue mayor en el protocolo decreciente, alcanzando diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) tanto para la variable Tasa de Recuperación (número de embriones recuperados/número de cuerpos lúteos contabilizados) como en Tasa de Viabilidad embrionaria (65,16% vs. 48,96%).

## CONCLUSIÓN

De la totalidad de cuerpos lúteos observados en ambos tratamientos, CON y DEC, fueron registrados mayor cantidad en los ovarios izquierdos; 62,2% y 54,3%, respectivamente.

El tratamiento superovulatorio que consistió en dosis decrecientes de FSHp en ovejas cruce Texel, se observó un total de 92 CL, promedio de 18,4 CL por animal. Mientras que la respuesta al tratamiento a dosis constante de la misma hormona resultó en 61 CL totales y 12,2 CL en promedio por animal.

La respuesta ovárica a dosis decrecientes de esta hormona demuestra mayor cantidad de cuerpos lúteos en comparación a la de dosis constantes. Esta diferencia fue significativa estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pliego Palacios G. Respuesta ovárica a un estímulo superovulatorio con diferentes niveles de FSH en ovinos Pelibuey. [Monografía en Internet]. Veracruz: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2005 [acceso 26 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/177/1/GuadalupePliegoPalacios.pdf>
2. Gibbons AE, Cueto MI. Transferencia de embriones en ovinos y caprinos. [Monografía de Internet]. Bariloche: INTA EEA; 1995 [acceso 26 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/210335.pdf>
3. Simonetti L. Simplificación de los métodos de superovulación en ovejas de la raza Corriedale. (Monografía de Internet). Valencia: Facultad Politécnica de Valencia; 2008 (acceso 26 de noviembre de 2012). Disponible en: <http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3784/tesisUPV2912.pdf>
4. Salamon S, Evans G, Maxwell WMC. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Zaragoza: Acribia; 1990.
5. Hafez ESE, Hafez B. Reproducción e inseminación artificial animales. 7a ed. South Carolina: Mc GrawHill Interamericana; 2000.
6. Menchaca A, Vilarino M, Crispo M, de Castro T, Rubianes E. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants. *ReprodFertil Dev (Aus)*. 2010; 22: 113-118.
7. Menchaca A, Vilariño M, Pinczak A, Kmaid M, Saldaña JM. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and day 0 Protocol for MOET programs in sheep. *Theriogenology Vet. Res. (North Carol.)*. 2009; 72 (4): 477-483.
8. Ramírez MA, Martínez RR, Mejía VO, Soto CR. Modificación de la técnica de inseminación artificial intrauterina mediante laparoscopia en ovejas Pelibuey. *Agrociencia. (Mx.)*. 2005. 39 (006): 589-593.
9. González BA, Santiago MJ, García GRM, Cocero MJ, López A. Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes (Revisión). *Departamento de Reproducción Animal INIA (Concep., Uruguay)*. 2002; 17 (1-2): 37-48.

10. López F, Caballero JR, Peña JC, García GRM, Cocero JM. Aplicación de dos protocolos de superovulación en un rebaño de ovejas de raza Manchega en producción láctea. Seoc. (León Esp.). 2006; 7: 398 - 400.