

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**

**DEPARTAMENTO ACADEMICO DE PRODUCCION ANIMAL**



**“EFECTO DEL ESTRADIOL Y EL FACTOR LIBERADOR DE  
GONADOTROPINAS  
SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR DE VACAS HOLSTEIN”**

**Presentado por**

JESÚS ANTONIO MERCADO BARRETO

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE:**

INGENIERO ZOOTECNISTA

LA MOLINA 2015

## **DEDICATORIA**

A mi abuelito Víctor Mercado Palacios, que demostró a lo largo de toda su vida un incansable deber del trabajo y amor a su familia, a mi abuelita Olga Jáuregui Martínez que fue para mí una segunda madre y a la que recodare toda una vida por siempre preocuparse que todos en la familia estemos bien, a mis padres José y María en gratitud a todas sus enseñanzas, apoyo y amor que me brindaron desde pequeño y a mis hermanas Candy y Carolina, los quiero mucho a todos y siempre los tendré en mi corazón.

## **AGRADECIMIENTO**

Al ingeniero Edwin Mellisho Salas por su paciencia, apoyo y asesoramiento en todo el proceso de desarrollo esta investigación.

Al ingeniero Próspero Cabrera Villanueva por su apoyo en la culminación de este trabajo.

Al ingeniero Jorge Vargas Morán jefe del PIPS en leche y al doctor M.V. Segundo gamarra Carrillo jefe de la UEZ, por permitir el desarrollo de la parte experimental de esta tesis.

A los ingenieros Esteban Mixan y Eduardo Fernández por quienes me facilitaron la realización de esta investigación.

A mis tíos Víctor, Giovanna, Rosa y primos, muchas gracias por su apoyo.

A todos mis amigos(as): Carlos Quispe, Deysi Dipaz, Edith Ancco, Duriel Mamani, Katherine Oriundo, Marco Calderón, Emmanuel Sessarego, Diego Hidalgo, Jesús Vásquez, Climar Gonzales, Homero Céliz, Giovanna Ramos, Karin Calderón, Raquel Taipe, Roberto Camacho y a Isabel Vásquez un sincero agradecimiento por ayudarme.

A todos los trabajadores de la Unidad Experimental de Zootecnia “Renato Zeppilli Ferrazza”, del Programa de Investigación y Proyección Social en leche de la Facultad de Zootecnia.

**“EFECTO DEL ESTRADIOL Y EL FACTOR LIBERADOR DE  
GONADOTROPINAS  
SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR DE VACAS HOLSTEIN”**

**RESUMEN**

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto del Estradiol y GnRH sobre la dinámica folicular, en función a la cantidad de folículos, presencia de cuerpos lúteos, folículos dominantes y folículos quísticos en vacas de la raza Holstein con la ayuda de un monitoreo ecográfico de los ovarios. Para ello en la investigación se realizó una sincronización de la dinámica folicular de 29 animales, divididos en 2 tratamientos. Los tratamientos para el estudio fueron: T1(n =16), (día 0): aplicación de 1.2 mg de Estradiol (i.m.), inserción intravaginal de 1 DIB por 4 días y aplicación de 2 mg PGF2 $\alpha$  (i.m.); T2 (n =13), (día 0): aplicación 3 mg GnRH (i.m.), inserción intravaginal de 1 DIB por 4 días y aplicación de 2 mg PGF2 $\alpha$  (i.m.). Para analizar la dinámica folicular se realizó una exploración ecográfica en el (día 0) previo al tratamiento y luego en el (día 4). Los resultados del estudio permitieron observar el estatus folicular inicial de las vacas de alta producción del establo y también demostraron que en el tratamiento T1 con Estradiol, la emergencia de la nueva onda folicular obtuvo en promedio un nuevo grupo de (10.4) folículos menores a 8 mm de diámetro. Sin embargo el tratamiento T2 con GnRH resultó en la emergencia folicular de un número menor (6.9) de folículos menores a 8 mm y diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) al grupo tratado con estradiol/progesterona; Así también que la cantidad de folículos de 2 a 4 mm de diámetro reclutados con el tratamiento T1 de Estradiol (8.1) fue mayor al tratamiento T2 de GnRH (4.2), con una diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ). En la presencia de cuerpos lúteos después del tratamiento, se obtuvo una mejor reducción de 29% en el grupo de vacas tratadas hormonalmente con GnRH; Así también en la presencia de folículos dominantes después del tratamiento, el Estradiol obtuvo una mayor reducción de 50%. Por último los tratamientos de sincronización de onda folicular a base de Estradiol y GnRH, además de producir una adecuada sincronización de la emergencia folicular, permitieron corregir en el 57% (4/7) de los casos la presencia de quiste folicular.

# **“EFFECT OF ESTRADIOL AND THE RELEASE FACTOR OF GONADOTROPIN ON DYNAMICS FOLLICULAR OF HOLSTEIN COWS”**

## **ABSTRACT**

This study aims to evaluate the effect of estradiol and GnRH on follicular dynamics, according to the number of follicles, presence of corpora lutea, dominant follicles and cystic follicles in cows of the breed Holstein with the help of an ultrasound monitoring of ovaries. For this, in the research was made a synchronization of follicular dynamics in 29 animals, divided in two treatments. The two treatments for both studies were: T1 (n =16), (day 0): application of 1.2 mg of Estradiol (i.m.), an intravaginal insertion of 1 DIB for 4 days and application of 2 mg PGF2 $\alpha$  (i.m.). T2 (n =13), (day 0): application of 3 mg GnRH (i.m.), intravaginal insertion of 1 DIB for 4 days and application of 2 mg PGF2 $\alpha$  (i.m.). To analyze follicular dynamics was made an ultrasound examination of the (day 0) before treatment and then the (day 4). The study results allowed to observe the initial follicular status of high producing cows from the barn and also demonstrated that treatment T1 with Estradiol, the emergence of a new follicular wave obtained a new group average (10.4), and follicles smaller than 8mm in diameter. However, the treatment with GnRH T2 resulted in the follicular emergence of a lesser number (6.9) of follicles, lesser than 8 mm and statistically different ( $p < 0.05$ ) compared from the other group treated with estradiol/progesterone. Also the number of follicles 2 to 4 mm in diameter recruited with the treatment T1 Estradiol (8.1) was higher than treatment T2 GnRH (4.2), with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). So in the presence of corpora lutea after treatment, better reduction of 29% was obtained in the group of cows hormonally treated with GnRH; In the presence of dominant follicles after treatment, estradiol obtained a higher reduction of 50%. Finally the treatment of follicular wave synchronization based in estradiol and GnRH, also of produce an adequate follicular synchronization emergence, it allowed to correct in 57% (4/7) of cases the presence of follicular cyst.

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tablas</b>	<b>Página</b>
1. Intervalo entre tratamiento y el inicio de la emergencia de la nueva onda folicular en bovinos, durante periodos de elevada concentración de progesterona exógena.	16
2. Hitos de la introducción de la tecnología de ultrasonido en el estudio del tracto reproductor de animales de Granja	26
3. Detección con ultrasonografía de las características del embrión bovino	30
4. Porcentaje de ingredientes del concentrado utilizado en vacas en producción “Establo La Molina”	35
5. Protocolos de sincronización de ambos tratamientos	39
6. Estatus ovárico (folículos y cuerpo lúteo) al inicio (D, 0) de los tratamientos hormonales	42
7. Estatus ovárico (folículos y cuerpo lúteo) post tratamiento (D, 4) de los tratamiento hormonal	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
1. Establecimiento y mantenimiento de la preñez en bovino	5
2. Dinámica de onda folicular (3 ondas) en bovino	6
3. Fases de onda folicular , durante el ciclo estral en bovino	8
4. Eventos que ocurren en una onda folicular. Reclutamiento, selección y dominancia	11
5. Imagen de la ultrasonografía de los folículos en el ovario e ilustración de la aspiración del contenido folicular	13
6. Emergencia de onda folicular y crecimiento folicular en vacas con OPU 1 y 2 veces por semana	14
7. Concentraciones de progesterona, estradiol, LH y FSH en vacas ovariectomizadas que recibieron un implante CIDR e inyección de 100 mg de progesterona y una dosis de 5mg 17B-estradiol (E-17), benzoato de estradiol (EB) o valerato de estradiol (EV). El CIDR fue retirado el día 7.	18
8. Curva de sobrevivencia para a) momento a primera inseminacion (izquierda) y b) momento de preñez (derecho) en vacas, comparando performance reproductivo de vacas control (IA 12h despues de la deteccion de celo) e inseminación a tiepo fijo con protocolo ovsynh	20
9. Tratamiento hormonal, con tres protocolos de presincroización a ovsynch	21
10. Evaluación del tracto reproductivo de una vaca, sujetando en transductor endorectal lineal.	23
11. Diagrama y partes de un transductor de tipo convexo	25
12. Gama de transductores más comunes para uso veterinario (endorectal lineal, convexo, microconvexo, fase array de baja frecuencia y alta frecuencia	27
13. Representación esquemática de la dinámica folicular en bovinos durante el ciclo estral con 2 y 3 ondas	28
14. Imágenes de ultrasonido de las diferentes etapas de desarrollo de un embrión bovino	31
15. Mapa de ubicación de la Universidad Nacional Agraria La Molina	32

16. Bretes de manejo de vacas lecheras, para seguimiento ecográfico	34
17. Sistema digital de adquisición de imágenes de diagnóstico por ecografía (DP-50, Mindray®, China) y Guía de aspiración	36
18. Proceso de ecografía transvaginal en vaca Holstein	38
19. Esquema de ecografía transvaginal (punción ovárica en bovinos)	38
20. Imagen ecografía transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 681. (Izquierda) Estatus de ovario izquierdo y (derecho) Estatus de ovario derecho, al inicio del tratamiento “D, 0”(un folículo dominante > 8 mm en ambos ovarios).	43
21. Imagen ecografía transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de la vaca 1063 y la 681. (Izquierda) Estatus de ovario izquierdo y (derecho) Estatus de ovario derecho, al inicio del tratamiento “D, 0”(un folículo dominante > 8 mm en ambos ovarios).	44
22. Balance energético (EB, MJ/d) de vacas con ovulación postparto (OC) y anovulación postparto (AC) en las 8 semanas post parto	45
23. Imagen ecografía transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 681. (Izquierda) Estatus de ovario izquierdo y (derecho) Estatus de ovario derecho, después de la aplicación de estradiol/progesterona “D, 4” (más de 15 folículos entre 2 a 8mm de diámetro en ambos ovarios).	47
24. Imagen ecografía transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca1063 y 681. (Izquierda) Estatus de ovario derecho al inicio de tratamiento y (derecho) Estatus de ovario derecho, después del tratamiento “D, 4”.	48
25. Imagen ecografía transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 811, al lado derecho muestra una masa gris redondeada, que representa presencia de cuerpo luteo de 15mm de diámetro en ovario	50

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Número</b>		<b>Página</b>
1.	Ficha técnica del benzoato del Lutaprost® 250 de Agrovvetmarket S.A	66
2.	Ficha técnica del Conceptase® de Agrovvetmarket S.A	67
3.	Ficha técnica del Estrovet® de Montana S.A	68
4.	Ficha técnica del implante de progesterona DIB® de Sintex S.A	69
5.	Datos recogidos antes de los tratamientos	70
6.	Datos recogidos después de los tratamientos	71
7.	Imágenes del tratamiento con Estradiol	72
8.	Imágenes del tratamiento con GnrH	80



# INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>- 1 -</b>
<b>II. REVISION LITERARIA .....</b>	<b>- 2 -</b>
<b>2.1 CICLO ESTRAL.....</b>	<b>- 2 -</b>
2.1.1 FASES DEL CICLO ESTRAL .....	- 2 -
<b>2.1. DINÁMICA FOLICULAR.....</b>	<b>- 6 -</b>
2.2.1. Fases de la dinámica folicular .....	- 7 -
2.2.2. Control de la dinámica folicular.....	- 12 -
<b>2.3. USO DE LA ECOGRAFÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL .....</b>	<b>- 22 -</b>
2.3.1. Funcionamiento del ecógrafo .....	- 24 -
2.3.2. Exploración de los ovarios y útero con uso de ecógrafo .....	- 27 -
2.3.3. Diagnóstico precoz de gestación .....	- 29 -
<b>III. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>- 32 -</b>
<b>3.1 Lugar .....</b>	<b>- 32 -</b>
<b>3.2 Instalaciones.....</b>	<b>- 33 -</b>
<b>3.3 Animales experimentales .....</b>	<b>- 34 -</b>
<b>3.4 Ecografía transvaginal.....</b>	<b>- 36 -</b>
<b>3.5 Proceso de ecografía transvaginal .....</b>	<b>- 37 -</b>
<b>3.6 Sincronización de dinámica folicular, tratamientos.....</b>	<b>- 39 -</b>
<b>3.7 Variables a evaluar.....</b>	<b>- 40 -</b>
3.7.1 Número de folículos .....	- 40 -
3.7.2 Presencia del cuerpo lúteo.....	- 40 -
3.7.3 Presencia de folículo dominante.....	- 40 -
<b>3.8 Análisis estadístico.....</b>	<b>- 40 -</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>- 42 -</b>
<b>4.1 Estatus folicular al iniciar el tratamiento hormonal .....</b>	<b>- 42 -</b>
<b>4.2 Estatus folicular post tratamiento hormonal.....</b>	<b>- 46 -</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>- 51 -</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>- 52 -</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>- 53 -</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>- 65 -</b>

## I. INTRODUCCIÓN

La industria lechera viene siendo una de las actividades pecuarias más importantes en nuestro país, con un creciente consumo de leche y sus derivados lácteos a nivel nacional, sin embargo uno de los problemas más importantes que viene aquejando en los últimos años es la disminución de fertilidad de vacas en lactación opuesto al incremento de la producción de leche.

La reproducción es fundamental para preservar la especie. Es una función biológica de todo organismo animal que se da con regularidad y normalidad cuando el organismo se encuentra en perfecto equilibrio, es decir, en perfecta adaptación con el ambiente en que vive y un correcto funcionamiento interno. En la actividad ganadera, la reproducción mantiene el ciclo productivo y asegura su continuidad y crecimiento.

La dinámica folicular en la hembra bovina es desencadenante de los procesos reproductivos y de las fases del ciclo estral; sin embargo, estos eventos están regulados por un complejo conjunto de factores que se interrelacionan y permiten que se presente la ovulación como punto final del ciclo estral y punto inicial en la vida reproductiva. Entre estos factores juega un papel importante la influencia de las hormonas sexuales involucradas en el ciclo estral, hormonas que se encuentran reguladas por el sistema neuroendocrino del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios-útero.

Gracias al uso de la tecnología de ultrasonido en la reproducción bovina, se ha podido conocer más sobre la dinámica folicular del ovario, pudiéndose visualizar las diferentes estructuras del mismo, permitiendo el monitoreo folicular.

Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo principal evaluar el efecto del Estradiol y GnRH sobre la dinámica folicular, en función a la cantidad de folículos y de forma secundaria la presencia de cuerpos lúteos, folículos dominantes y folículos quísticos en vacas Holstein con la ayuda de un monitoreo ecográfico de los ovarios.

## II. REVISION LITERARIA

### 2.1 CICLO ESTRAL

El ciclo estral es el tiempo transcurrido entre dos períodos de estro o calor y varía normalmente entre 18 a 24 días, con un tiempo promedio de 21 días (Duby y Prange, 1996). Presenta un patrón cíclico de actividad ovárica que facilita a las hembras pasar de un período reproductivo de no receptividad a uno de receptividad y permitir el apareamiento y el subsecuente proceso de gestación (Forde *et al.*, 2011). El inicio del ciclo estral ocurre al momento de la pubertad, en donde la hembra bovina entra a un período de ciclicidad reproductiva que continua a lo largo de toda su vida, a excepción del período de gestación o de balance energético negativo en el cual prevalece el anestro (Sartori y Barros, 2011).

#### 2.1.1 FASES DEL CICLO ESTRAL

Según Callejas (1995), el ciclo estral se puede dividir en tres fases: fase folicular de regresión lútea (proestro), fase periovulatoria (estro y metaestro), fase luteal (diestro); mientras que para Rathbone *et al.* (2001), teniendo en cuenta las estructuras ováricas se divide en dos fases: 1) la fase luteal (período de desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo), y 2) la fase folicular (Período que prima el crecimiento folicular, ovulación y luteinización de la cavidad ovulatoria).

##### A. Proestro

La actividad ovárica durante el proestro es iniciada por la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior. Los niveles de progesterona descienden rápidamente y el crecimiento del folículo ovulatorio tiene lugar. Durante este período el folículo es destinado a ovular crece a partir de una estructura microscópica a ser una estructura llena de fluido, de una ampolla de 3/4 pulgada a 1 pulgada de diámetro. Mientras que varios folículos grandes pueden desarrollar durante este período, sólo 1 (2 o 3 en el caso de gemelos o trillizos) serán seleccionados para ovular. Este folículo dominante se diferencia de los otros por ser estimulado por la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), para producir estrógenos. Los estrógenos son producidos por las células que forman la pared del folículo en desarrollo. Las capas más externas de las células son las células de la teca, mientras que en capas interiores están las células de la

granulosa. Estos dos tipos de células funcionan cooperativamente durante el desarrollo del folículo para producir estrógenos. Células de la teca se unen al LH para producir andrógenos que se convierte a continuación estrógenos por células de la granulosa que han sido estimuladas por FSH (Duby y Prange, 1996).

## **B. Fase periovulatoria (estro y metaestro)**

El estro o celo se define como el período de receptividad sexual de la hembra, observándose una serie de signos característicos como el dejarse montar, inquietud, inflamación de la vulva, secreción de moco claro y transparente que sale de la vulva (Shearer, 2003). La duración de celo es muy variable considerándose un tiempo promedio  $16 \pm 14$  horas (Lucy, 2006).

En esta fase continúa la producción de estrógenos por el desarrollo del folículo en un aumento de la liberación de LH y FSH de la pituitaria que estimula la máxima producción de estrógenos por el folículo. Los altos niveles de estrógenos son responsables de signos de comportamiento de estro. También aumentan las contracciones del tracto reproductivo para facilitar del transporte del espermatozoide y el óvulo. Durante el estro las células de la granulosa también liberan inhibina, una hormona que previene la liberación de FSH de la pituitaria. Así, durante el proestro y estro, el crecimiento folicular se ha completado, el óvulo está listo para ser lanzado a la ovulación (Duby y Prange, 1996). Luego de 12 a 24 horas de comenzado el celo, el sistema nervioso de la vaca se torna refractario al estradiol y cesan todas las manifestaciones psíquicas del mismo; (Luiz , 2002).

En el metaestro fase posterior al estro, según Arthur (1975), la capa de células epiteliales de la ruptura del folículo sufren una rápida hipertrofia e inicia la luteinización, formando el cuerpo lúteo, las glándulas uterinas son activas, el músculo uterino relajado y el cérvix está constreñido, el moco vaginocervical es escaso y pegajoso, la mucosa vaginal es pálida.

Para Luiz (2002), en la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se produce una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que permiten que las células foliculares se transformen en células luteales, cambios que finalizan al séptimo día con un cuerpo lúteo funcional.

Los 3-4 días inmediatamente siguientes al estro, se denomina metaestro. El pico de LH y FSH durante estro conduce a la ruptura del folículo sobre 30 horas después del inicio de "celo", ó 10-14 horas después del final del estro y la liberación del óvulo desde el interior. Las células de la granulosa y de la teca que recubren el folículo se vuelven sensibles a la LH y formará el CL o "cuerpo amarillo" y comenzara a producir progesterona. Esta hormona es responsable de preparar el útero para el embarazo y la inhibición de la actividad del ciclo estral (Duby y Prange, 1996).

El comienzo de la fase lútea también se conoce como metaestro y dura normalmente 3-4 días. Se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo (CL) del colapsado folículo que ha ovulado (cuerpo hemorrágico). Después de la ovulación, las concentraciones de progesterona comienzan a aumentar debido a la formación del CL, en el que las células de granulosa y de la teca del folículo ovulado producen progesterona en preparación para el establecimiento y mantenimiento del embarazo y / o la reanudación del ciclo estral (Niswender, 1981)

### **C. Fase luteal (diestro)**

Durante la fase del diestro, las concentraciones de progesterona permanecen elevadas y recurrentes ondas de desarrollo folicular son iniciadas por el pico de FSH de la pituitaria anterior. Sin embargo, estos folículos dominantes que crecen durante la fase lútea del ciclo estral no ovulan. La progesterona es dominante en esta fase lútea del ciclo estral, a través de la retroalimentación negativa, no permite la secreción de LH con mayor frecuencia, no siendo suficiente para provocar la ovulación del folículo dominante (Rahe *et al.*, 1980).

El cuerpo lúteo se desarrolla principalmente a partir las células de la granulosa que recubren las paredes del folículo colapsado. En efecto, la LH que induce la ovulación es responsable de los cambios en receptores a LH en las células de la granulosa que forman al cuerpo lúteo y este alcanza el tamaño máximo en 8-10 días después de la ovulación. Los niveles de progesterona en la sangre son paralelos al crecimiento del cuerpo lúteo y los niveles máximos se alcanzan alrededor del día 10 y se mantiene hasta el día 16-18 del ciclo (Duby y Prange, 1996).

Los días 16 a 18 del ciclo son críticos para el mantenimiento de la función CL. Si la vaca no inicia la preñez, el CL ingresa a la regresión por efecto de la prostaglandina  $F2\alpha$  producida en el útero. En cambio, en una hembra “preñada”, el embrión viable produce una secreción de interferón Tau ( $IFN-\tau$ ) como señal molecular de importancia para el reconocimiento de la preñez y en el útero se bloquea la síntesis de prostaglandina  $F2\alpha$  (figura 1)

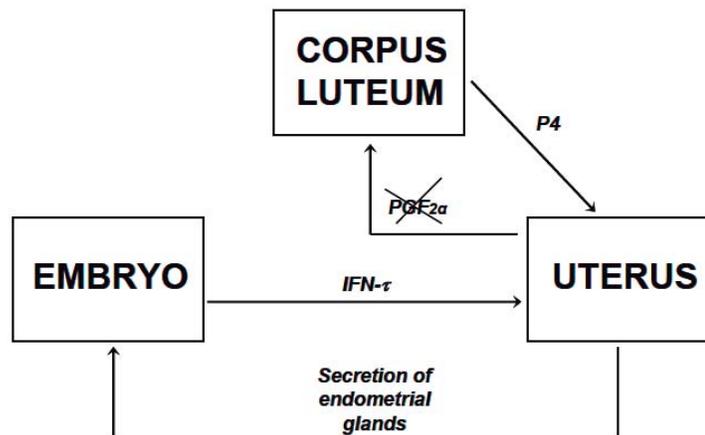


Figura 1: Establecimiento y mantenimiento de la preñez en bovino (McNeil *et al.*, 2006)

La  $PGF2\alpha$  es transportada al ovario, donde provoca lisis de CL y disminuye los niveles de progesterona en la sangre. Esto permite a la FSH y LH estimular el desarrollo del folículo dominante en los próximos 3-4 días y a medida que el folículo crece y madura, el nivel de estrógenos incrementa y actúa con feed back positivo e incrementa los pulsos de LH y posteriormente provocará un pico de LH y activará el mecanismo de ovulación (Duby y Prange, 1996). La  $PGF2\alpha$  tiene una acción directa causando la luteólisis o regresión del cuerpo lúteo en ruminantes (Lamb *et al.*, 2009). Con la regresión del cuerpo lúteo, comienza la disminución de los niveles de progesterona, finaliza la fase luteal o diestro y da inicio a un nuevo ciclo estral.

## 2.1. DINÁMICA FOLICULAR

Se conoce como dinámica folicular al proceso de crecimiento continuo y regresión de folículos antrales que conduce al desarrollo del folículo preovulatorio y se refiere al crecimiento de dichas estructuras en oleadas o grupos. Durante un ciclo estral pueden ocurrir una o más oleadas (Lucy *et al.*, 1992) (ver figura 2).

Independientemente de la especie y del número de oleadas (Armstrong y Webb, 1997), cada una tiene tres fases: 1) reclutamiento, en la que un grupo de folículos adquiere la habilidad para responder a las gonadotropinas y empieza a crecer rápidamente; 2) selección, en la que uno o un grupo de folículos es escogido para escapar del proceso de atresia y continuar creciendo, y 3) dominancia, en la que un folículo (en especies monótonas) se desarrolla de forma más rápida que el resto, suprimiendo el crecimiento de los subordinados e impidiendo el reclutamiento de un nuevo grupo de estructuras foliculares.

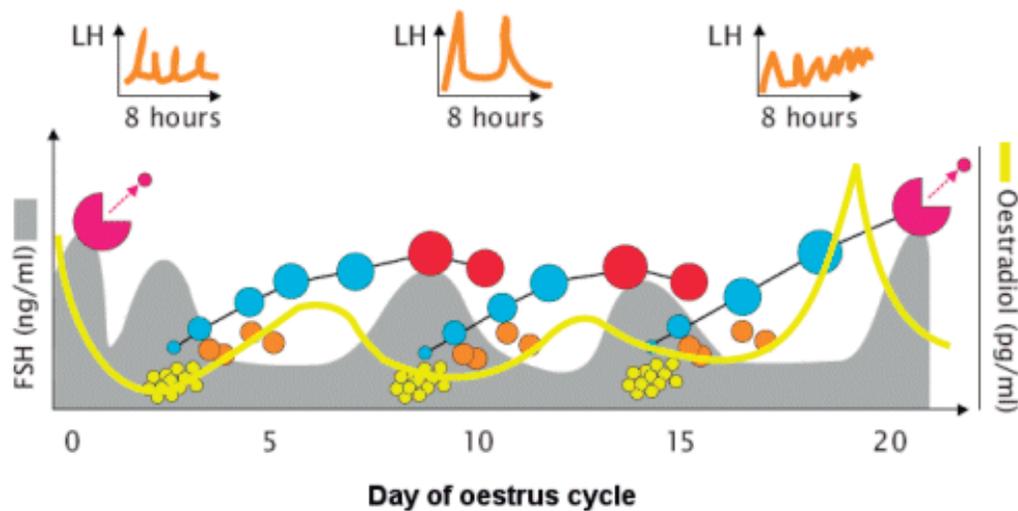


Figura 2: Dinámica de onda folicular (3 ondas) en bovino (Lucy *et al.*, 1992).

### 2.2.1. Fases de la dinámica folicular

Los ovarios contienen dos diferentes poblaciones de folículos; a) los que no se encuentran en crecimiento y b) los que están en crecimiento folicular. Los primeros contienen a los folículos primordiales, mientras que los segundos contienen a los folículos primarios, secundarios y terciarios (Kanitz *et al.*, 2001). La entrada de los folículos primordiales en la fase de crecimiento ocurre durante toda la vida reproductiva. Los folículos primordiales que pasan a la fase de crecimiento, son sometidos a un proceso de transición de folículos primordiales a folículos primarios. Los ovocitos aumentan de tamaño y las células de la granulosa pre-escamosas circundante se vuelven cuboidales y proliferan para formar una capa de células cúbicas alrededor del ovocito creciente (Fortune *et al.*, 2000). El folículo ahora se llama folículo primario. Los mecanismos responsables de la iniciación del crecimiento folicular en esta etapa son poco conocidos aunque se ha propuesto a las (Gonadotropinas, factores de crecimiento) (Webb *et al.*, 1999) (figura 3).

En la mayoría de los ciclos estrales en vacas constan de 2 ó 3 ondas foliculares. Noseir (2003) reporta que el 71,4% de las vacas tenían 3 ondas de desarrollo folicular. La duración media de los intervalos interovulatorios de vacas con 2 ondas fue de  $19,8 \pm 0,6$  días, siendo significativamente ( $p \leq 0,05$ ) más corto que vacas con 3 ondas foliculares de  $22,5 \pm 0,8$  días.

Los andrógenos tienen un papel importante en el crecimiento folicular y función ovárica. La variación en la producción de estos andrógenos es importante para determinar el número de folículos reclutados, siendo más alta la concentración de testosterona circulante en vacas de mayor población folicular, y muy bajo el nivel de testosterona en vacas de población folicular inferior (Mossa *et al.*, 2010)

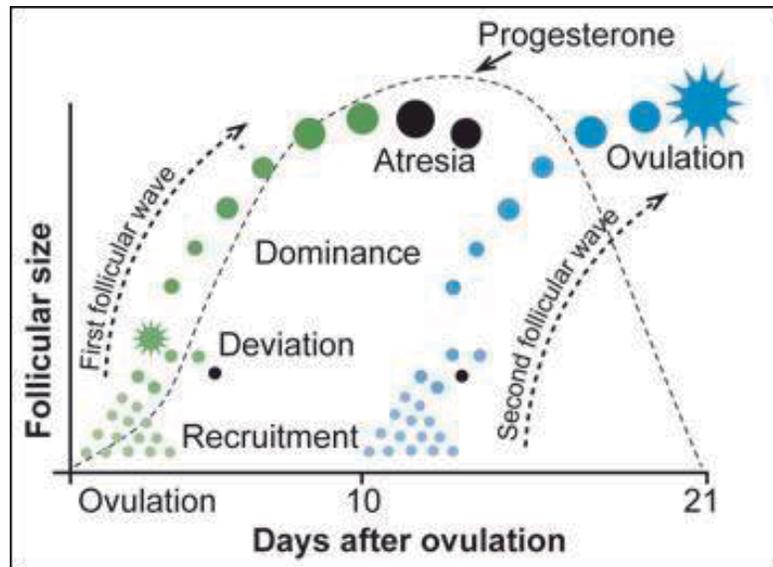


Figura 3: Fases de onda folicular, durante el ciclo estral en bovino (Poock y Hamilton, 2012)

Las diferentes etapas de crecimiento folicular y atresia se han asociado con los cambios en la expresión de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) para los receptores de gonadotropina, enzimas esteroidogénicas y factores de crecimiento (IGF-I y II) y sus proteínas de unión (IGFBP). En general, la expresión de ARNm de los receptores de gonadotropina, enzimas androgénicas y proteína reguladora aguda de esteroidogénesis (StAR) aumenta con el desarrollo folicular progresivo y es más alta cuando los folículos dominantes se acercan al tamaño máximo. La expresión de ARNm disminuye rápidamente y se convierte en baja o indetectable en los folículos atrésicos. La selección de los folículos dominantes se asocia con la expresión de ARNm para los receptores de LH en células de la granulosa. Por lo tanto, los cambios en la expresión de genes probablemente son importantes para el reclutamiento, la selección, la dominación, y la atresia de los folículos ováricos (Bao y Garverick., 1998).

#### A. Reclutamiento de folículos primarios

En cada onda folicular es reclutado un grupo de folículos primordiales que crecen de manera continua debido a los incrementos en las concentraciones de FSH (Webb *et al.*, 2003). El concepto de reclutamiento se utiliza para la entrada de los folículos en el grupo de crecimiento, pero también para los procesos asociados con la entrada de los folículos en una onda como el

patrón de crecimiento. La FSH es la hormona clave para la iniciación endocrina de ocurrencia de la onda folicular (Adams *et al*, 1992; Sunderland *et al*, 1994; Fricke *et al*, 1997).

Al inicio del ciclo estral, un número de folículos es reclutado del *pool* de folículos antrales más pequeños (2 a 4 mm). El reclutamiento no es un fenómeno aislado o al azar. Parece que los folículos a ser reclutados como grupo han recibido anteriormente una señal que les permite crecer y desarrollarse en vez de sufrir regresión (Fortune *et al.*, 1991).

El mecanismo que controla el reclutamiento de estos pequeños folículos y determina que folículos son reclutados, se desconoce. La señal que estimula el reclutamiento parece ser una ligera elevación de FSH en el plasma (Fortune *et al.*, 1991). Así, Xu *et al.* (1995a) sugirieron que los cambios en la expresión del ARNm para receptores de FSH y LH pueden ser importantes para el reclutamiento de un grupo de folículos y selección y atresia del folículo dominante en bovinos. Sin embargo, el nivel de ARNm para receptores de FSH en folículos sanos, no se correlaciona con el tamaño folicular, ni con los cambios en el nivel de ARNm para el receptor de FSH durante la primera onda folicular.

En la última década se han propuesto dos conceptos en cuanto al reclutamiento folicular, el reclutamiento inicial y el reclutamiento cíclico (McGee y Hsueh, 2000). El reclutamiento inicial se atribuye a que dejan de estar presentes algunos factores inhibitorios que mantenían a los folículos en latencia. Se considera que es un proceso continuo que se inicia poco después de la formación del folículo, mucho antes de la pubertad (McGee y Hsueh, 2000). Tan pronto como ocurre la formación del folículo, algunos de ellos dejan la reserva y empiezan a crecer. Este proceso se conoce como activación folicular (Fortune, 2002). Cuando algún folículo sale de esta reserva, sigue creciendo hasta la ovulación o hasta que degenera (Hafez y Hafez, 2000).

El reclutamiento cíclico tiene inicio después de la pubertad y resulta del incremento en los niveles de la FSH en la circulación sanguínea durante cada ciclo ovárico en que se rescata a un grupo de folículos antrales de la atresia (McGee y Hsueh, 2000). Antes de la formación del antro, el ovocito no es capaz de crecer más allá del diploteno de la primera división meiótica (Eppig, 2001).

## **B. Selección de folículos ováricos**

La selección folicular ocurre al final de la fase común de crecimiento (Ginther *et al.*, 2001). Este proceso de selección significa que el número de folículos en crecimiento se pone en línea con el número de la ovulación específico de la especie (Fortune, 1991). Después del reclutamiento cada vez menos folículos reclutados continúan en crecimiento hasta que se seleccione un folículo para convertirse en dominante, mientras que los restantes miembros de los folículos reclutados se vuelven estáticos y se someten a la apoptosis a través de la atresia.

Los procesos de selección se producen en virtud de la disminución de las concentraciones de FSH y toman de 2 a 3 días (Evans *et al.*, 1997; Austin *et al.*, 2001). Gibbons *et al.* (1999) reporta que los folículos  $\leq 3$  mm no tienen capacidad de crecimiento cuando se reduce drásticamente la FSH, en comparación a los folículos  $\geq 5$  mm. Así también, Kaneko *et al.*, (1997) demostraron que la inhibina es uno de los factores de importancia en la regulación negativa de la secreción de FSH durante la fase luteal temprana, cuando la secreción de estradiol y la progesterona son normalmente altas. Ginther *et al.* (2001a) sostienen que la inhibina es el supresor de FSH primario en este momento. Al comienzo de la desviación folicular, las emisiones de estradiol aumentan en la sangre, y el estradiol liberado está implicado en la depresión continua de concentraciones de FSH por debajo de la exigencia de los folículos más pequeños, pero no del folículo más grande (Ginther *et al.*, 1999; Ginther *et al.*, 2000).

Otros trabajos de investigación, sostiene que el crecimiento folicular continua hasta que se llega a una fase llamada desviación, según Kulick *et al.* (1999) reportaron que la desviación ocurre cuando los 2 folículos más grandes fueron  $8.3 \pm 0.2$  y  $7.8 \pm 0.2$  mm. Esto fue observado después de  $61.0 \pm 3.7$  h después de la onda emergente. Similares resultados en diámetro y tiempo para la desviación fueron reportados por Ginther *et al.* (2000) ver figura 4.

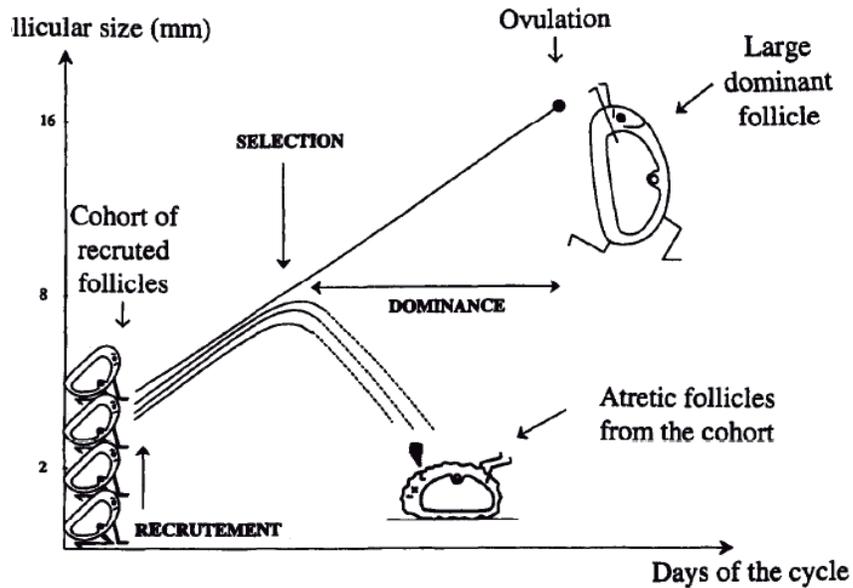


Figura 4: Eventos que ocurren en una onda folicular. Reclutamiento, selección y dominancia (Driancourt, 2001)

### C. Dominancia del folículo ovárico

Una característica del folículo seleccionado es su mayor capacidad para la producción de estradiol en vacas (Ginther *et al.*, 2003). El estradiol en la hembra bovina empieza a incrementarse en la circulación al momento en que inicia la desviación (Kulick *et al.*, 1999), lo que ocasiona el descenso de la FSH (Ginther *et al.*, 2001). En cada onda folicular, el folículo dominante adquiere receptores para LH y continúa su crecimiento mientras que los folículos subordinados que continúan dependiendo del FSH entran en atresia (Ginther *et al.*, 2001).

El folículo dominante requiere de LH para terminar su desarrollo folicular posterior a la desviación, de manera que el folículo seleccionado, que inicialmente fue dependiente de FSH, cambia su dependencia a la LH para continuar su crecimiento y sintetizar estradiol y posteriormente progesterona (Evans *et al.*, 1994). El folículo seleccionado preovulatorio presenta mayor cantidad de receptores para LH y estos incrementan de manera sustantiva hasta antes de que el folículo dominante ovule (15 mm-23 mm).

Los folículos adquieren la capacidad ovulatoria a aproximadamente 10 mm, correspondiente a aproximadamente 1 día después del inicio de la desviación folicular, pero requiere una dosis

mayor de LH para inducir la ovulación en comparación con los folículos más grandes. Se especuló que la adquisición de la capacidad ovulatoria puede implicar un aumento de la expresión de receptores de LH en las células de la granulosa del folículo dominante y que este cambio puede ser importante para un mayor crecimiento del folículo dominante (Sartori *et al.*, 2011).

El folículo dominante crece a una tasa constante y el resto de los folículos subordinados sufren atresia o temporalmente crecen a una velocidad menor y posteriormente dejan de hacerlo (Ginther *et al.*, 1997). Este efecto inhibitorio se mantiene hasta que esta dominancia desaparece bien porque el folículo dominante muere o porque el folículo es ovulado (Lamb *et al.*, 2009). Con la ovulación o destrucción del folículo dominante, se produce un nuevo incremento de FSH y un nuevo reclutamiento folicular, iniciando la onda folicular.

### **2.2.2. Control de la dinámica folicular**

El uso de la ultrasonografía para estudiar el efecto de los diferentes tratamientos hormonales sobre la dinámica folicular en el bovino llevó a conducir protocolos que permiten manipular eficientemente el ciclo estral y la ovulación (Bó, 2002).

#### **a) Ablación folicular**

La ablación de los folículos ováricos existentes induce la secreción de la FSH de la pituitaria y el reclutamiento de los folículos pequeños (Tohei *et al.*, 2001). El crecimiento y la función de los folículos reclutados  $\geq 4$  mm de diámetro dependen en gran medida tanto de la FSH y la LH (Blondin and Sirard, 1995). Es así que Sasamoto *et al.* (2004) sugieren que las secreciones de FSH / LH requeridas para el reclutamiento y crecimiento folicular durante los principios del período de post parto es similar al requerido después de la reanudación del ciclo estral.

La aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonido u *ovum pick-up* (OPU) se ha convertido en la técnica de opción para recuperar los complejos *cumulus*-ovocito (COC) para la producción de embriones, tanto en medicina humana como en la industria ganadera (Galli *et al.*,

2001). El rendimiento y eficiencia de OPU depende del *pool* de folículos antrales disponibles para la aspiración (Bols *et al.*, 1994). Por tanto el manejo de la onda folicular es muy importante para el desarrollo de esta técnica.

Para Kruip *et al.* (1994) la técnica de aspiración folicular por ultrasonografía transvaginal guiada en bovinos fue desarrollada con el fin de obtener repetidamente ovocitos de vacas y vaquillas vivas previamente seleccionadas por su alto valor genético, además, se considera un método poco invasivo y con alta repetibilidad (ver figura 5).

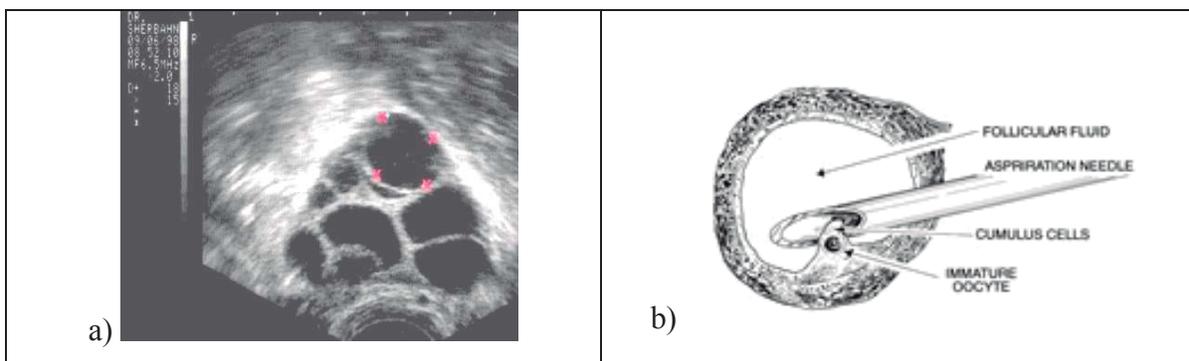


Figura 5: a) Imagen de la ultrasonografía de los folículos en el ovario y b) ilustración de la aspiración del contenido folicular

Las ventajas de la técnica de recolección son su fácil utilización a nivel de campo, menor riesgo para el paciente y menor invasividad comparada con la laparoscopia. Las desventajas de esta técnica son el elevado costo relativo del equipo y la necesidad de personal capacitado para la punción y procedimientos en laboratorio (Galli *et al.*, 2001).

La frecuencia de colección utilizada para recuperar ovocitos debe adaptarse según el objetivo del programa. La colección dos veces por semana permite una máxima recuperación de ovocitos de calidad conveniente para la producción de embriones en un intervalo corto. La colección una vez por semana resulta en la recuperación de un número pequeño de ovocitos de menor calidad, algunos con cumulus expandido y otros en atresia, Figura 6 (García y Salaheddine, 1998 y Galli *et al.*, 2001).

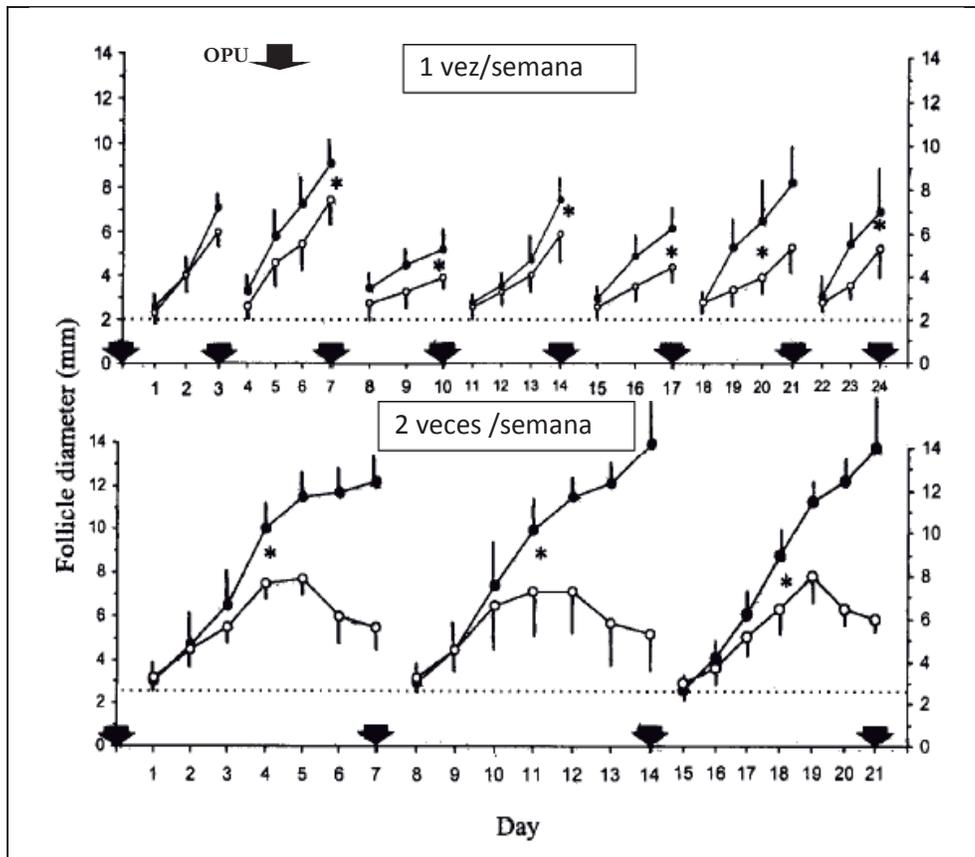


Figura 6: Emergencia de onda folicular y crecimiento folicular en vacas con OPU 1 y 2 veces por semana (García y Salaheddine, 1998)

En una aspiración de dos veces por semana se aspiran todos los folículos viables y no hay desarrollo de un folículo dominante. En la mayoría de las colecciones de una vez por semana un folículo dominante que causa la regresión y la degeneración de los folículos subordinados está presente en cada colección sucesiva. Además, las donantes sometidas a la frecuencia de una vez por semana pueden entrar en estro, mientras que esto nunca ocurre en las donantes sometidas la frecuencia de dos veces por semana. Algunos autores prefieren combinar la superestimulación y efectuar el OPU antes del inicio del estro (Bousquet *et al.*, 1999), pero en este caso, el procedimiento solo se puede repetir cada dos semanas.

Viana *et al.*, (2009) sostienen que las sucesivas aspiraciones foliculares alteran la dinámica folicular, posiblemente aumentando la tasa de crecimiento folicular, la dominancia folicular podría establecerse en vacas sometidas a dos veces a la semana OPU y la presencia de un

foliculo dominante durante los intervalos inter-OPU cortos no puede afectar calidad de los ovocitos recuperados, excepto cuando un foliculo codominante estaba presente.

### **b) Tratamiento hormonal**

El grupo de folículos reclutados son generalmente dependientes de FSH, después de la selección, el estrógeno activa al foliculo dominante que es dependiente de LH. Este mecanismo fisiológico, puede ser imitado con el uso exógeno de progestágenos y estrógenos, para sincronizar emergencia de onda folicular por supresión de FSH y/o LH (Diskin *et al.*, 2002)

Un tratamiento exógeno hormonal simple e independiente de la fase de onda folicular no predice con exactitud la emergencia de la onda, debemos tener en cuenta que la FSH y LH son regulados diferencialmente y que el foliculo dominante es un regulador clave de incremento y disminución de esteroides y gonadotropinas. Las funciones específicas del estradiol, inhibina no están totalmente dilucidados (Bo *et al.*, 1995)

- *Uso de progestágenos y estrógenos*

El uso de progesterona en los programas de sincronización tiene muchos beneficios, tales como; inducción de ciclos estrales en vaquillas prepúberes, vacas postparto y anéstricas; reducción de la incidencia de cuerpos lúteos de corta vida media asociado con la primera ovulación en vacas anéstricas; incremento del número de vacas que responden a una simple aplicación de PGF<sub>2</sub>∞ a pesar de que pueda estar en fase de regresión luteal y la supresión de estro en vacas administradas exógenamente con estradiol o que estén en procedimiento de superovulación para programas de transferencia de embriones (Burke *et al.*, 2000).

Una estrategia para superar el problema del desarrollo de los folículos persistentes, cuando se utilizan los implantes de progesterona para sincronizar el estro, es el manejo de la población "normal" de folículos que existen en el ovario. Una herramienta excelente para este propósito es el uso de estradiol para restablecer el desarrollo folicular a través de la inducción de la atresia de folículos ováricos antes del desarrollo de folículos persistentes que ocurren en tratamientos basados en progesterona (Bo *et al.*, 1995). Sin embargo, la aplicación de estradiol a los sistemas de control de estro se extiende más allá de la capacidad de regular el proceso de reclutamiento

folicular. Estradiol también se puede utilizar para sincronizar los eventos del estro y la ovulación después de retirar los implantes de progesterona.

Varios tipos de estrógenos (17 $\beta$ -estradiol, Benzoato de estradiol, cipionato de estradiol y valerato de estradiol) han sido usados complementariamente a los implantes de progesterona, para protocolos de sincronizar el estro y/o reclutamiento folicular, siendo las bajas dosis con resultados más favorables (tabla 1)

Tabla 1: Intervalo entre tratamiento y el inicio de la emergencia de la nueva onda folicular en bovinos, durante períodos de elevada concentración de progesterona exógena.

Estrógenos (dosis/vía)	Intervalo a emergencia folicular (día)	Raza	Estado folicular	Referencia
17 $\beta$ -estradiol				
5mg / i.m.	4.3	Carne vacas /vaq	Crecim./domin.	Bo et al., 1995
5mg / i.m.	3.4	Carne vaquillas	Al azar	Martinez <i>et al.</i> , 2000
Benzoato de estradiol				
1mg/ i.m.	3.0	Carne Anestro lact.	Varios	Salfen <i>et al.</i> , 2001
10 mg/i.v.	4.0	Vaca lechera	Crecim./domin.	Burke <i>et al.</i> , 1999
1mg/ i.m.	4.5	Vaca lechera	Crecim./domin.	Burke <i>et al.</i> , 2000
1mg/ i.m.	2.8	Vaq. Lechera	Crecim./domin.	Burke <i>et al.</i> , 1998
2 mg/ i.m.	3.2	Vaq. lechera	Crecim./domin.	Burke <i>et al.</i> , 1998
Cipionato de estradiol				
0.5mg/ i.m.	6.5	Vaca lechera	Crecim./domin.	Thundathil <i>et al.</i> , 1998
1mg/ i.m.	5.8	Vaca lechera	Crecim./domin	Thundathil <i>et al.</i> , 1998

En una serie de estudios, han demostrado que el tratamiento con estradiol suprime el crecimiento de folículos antrales, la supresión resultó ser más efectiva cuando se le dió estradiol después de la inserción de progesterona. Este mecanismo de supresión inducido por el estrógeno hacia el crecimiento folicular parece ser sistémico e implica la supresión de la hormona FSH (Bo *et al.*, 1993). Una vez que el estradiol es metabolizado, hay un aumento de FSH y ocurre un nuevo reclutamiento folicular.

Cuando las concentraciones de progesterona son elevadas en la circulación sanguínea, el estradiol es más eficiente en sincronizar la nueva onda folicular comparada con una aplicación simple (Roche *et al.*, 1999). La eficacia de la dosis de benzoato de estradiol (1mg/500kgPV) para provocar atresia folicular y emergencia de la nueva onda de 36 a 48h post aplicación es muy importante, ya que una administración superior a 2mg/500kg PV, puede retrasar la emergencia de la onda de 3 a 5 días (Burcke *et al.*, 2003).

El valerato de estradiol (VE) tiene una vida media larga, prolongando su efecto de supresión de la FSH y crecimiento folicular y la dosis de 2 mg es la más eficiente para sincronizar onda folicular que 5 mg de VE (Mapletoft *et al.*, 2004). Asimismo, la aplicación de 2.5mg de Benzoato de estradiol con inserción de dispositivo de progesterona (CIDR) fue más efectivo para sincronizar la emergencia de onda folicular que una dosis de 5 mg de benzoato de estradiol (Bo *et al.*, 2006) (figura 7).

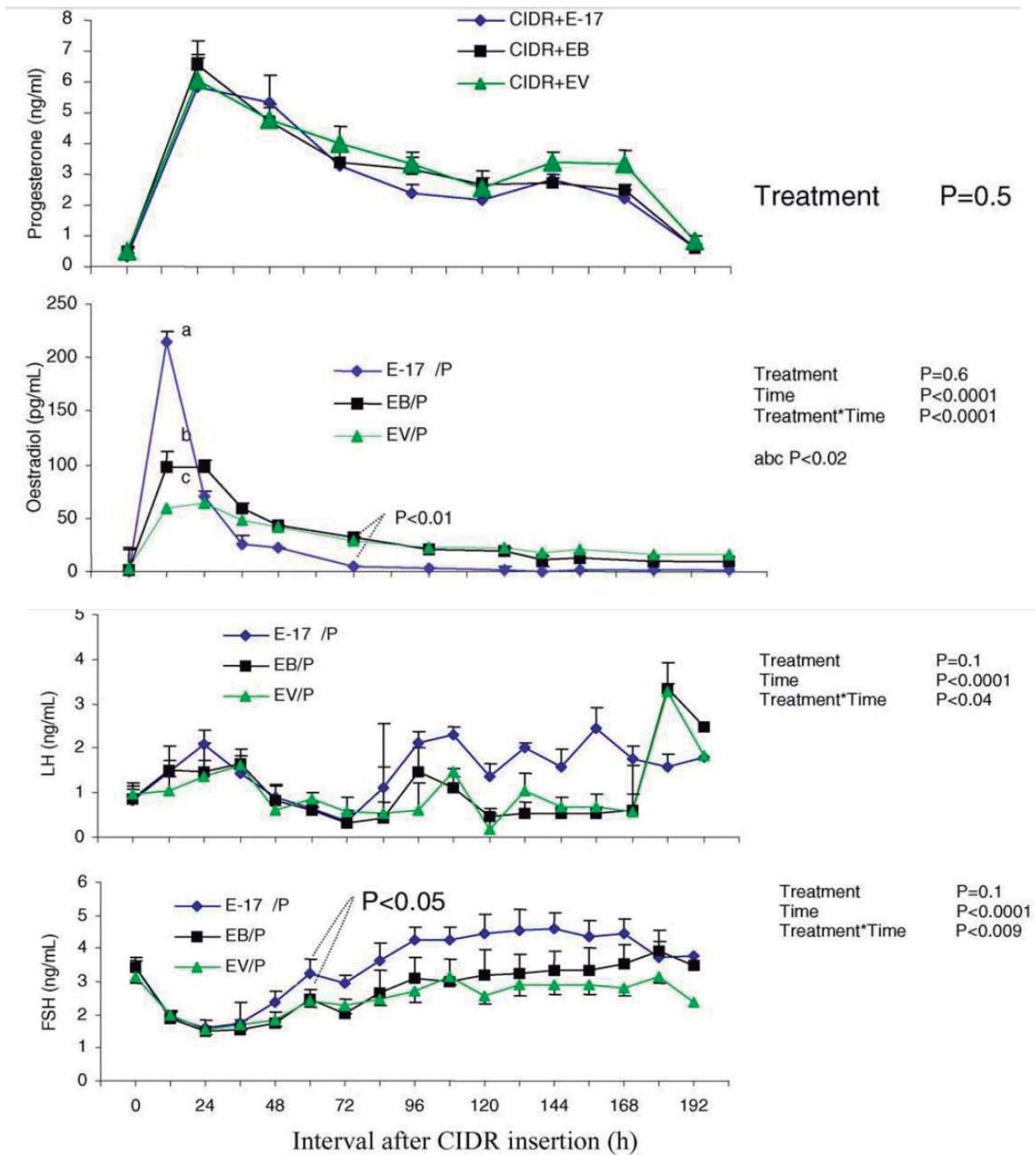


Figura 7: Concentraciones de progesterona, estradiol, LH y FSH en vacas ovariectomizadas que recibieron un implante CIDR e inyección de 100 mg de progesterona y una dosis de 5mg 17B-estradiol (E-17), benzoato de estradiol (EB) o valerato de estradiol (EV). El CIDR fue retirado el día 7 (Martínez *et al.*, 2005).

El uso de la combinación de estradiol y progesterona tiene prolongada supresión en los niveles de FSH y LH plasmático, estos niveles de LH se incrementan solo cuando el CIDR es retirado en vacas que se les aplicó 5 mg de Benzoato de estradiol y 5 mg Valerato de estradiol, sin embargo a la aplicación de 5mg de 17b estradiol tenían altos niveles de LH durante fase progestacional, al mismo tiempo la fase de reclutamiento fue más temprana con 17b estradiol que con el uso de EB y EV. En contraste, EB y EV tienen una baja tasa de absorción comparado con E-17b y la concentración de estradiol en el plasma aparentemente fue insuficiente para inducir la liberación de LH en la fase elevada de circulación de progesterona (Martinez et al., 2005).

El comportamiento de estro o celo es un requisito en varios programas de inseminación artificial basados en detección de celo. Sin embargo la eficiencia de detección de celo varía de acuerdo a los sistemas de producción, también es muy importante el estatus reproductivo y metabólico, el medio ambiente y la interacción que tienen con otros animales. Una elevada concentración de estradiol y ausencia de niveles de progesterona circulantes (después de la retirada de los implantes de progesterona), es un requerimiento hormonal para un comportamiento de celo y el pico de LH, mecanismo que inicia la ovulación (Burke *et al.*, 2000)

El uso racional de estradiol después del retiro de progesterona, ha sido descrito en programas de tratamiento de vacas anéstricas. En vacas de alta producción el uso de estradiol después del tratamiento de progesterona es beneficioso y reduce el problema de baja expresión de celo, que es característico en vacas con demanda metabólica muy alta (Day *et al.*, 2000). Sin el uso de estradiol al retiro del implante, la tasa de celos se puede reducir entre 5 a 46%. (Rhodes *et al.*, 2003)

- *Uso de GnRH*

En 1995, se publicó un nuevo método denominado “ovsynch” para sincronizar la ovulación usando dos tratamientos de GnRH y una dosis de PGF2a (Pursley *et al.*, 1995). Desafortunadamente, este método no produce una perfecta sincronización de todas las vacas, pero, las tasas de fertilidad con ovsynch fueron similares a las reportadas de inseminación con celo natural en vacas lecheras de alta producción (Pursley *et al.*, 1997). Asimismo, este método se ha popularizado en el mundo y muchos artículos hacen referencia a este método. Además, se

ha aplicado en otras especies domésticas como búfalo de agua, cabras, ovejas, yaks, etc (Wiltbank y Pursley, 2014).

El uso extendido de ovsynch, permitió lograr algunos beneficios, tales como; reducción de la variabilidad de los días a primera inseminación post parto, reduciendo los días vacíos, no por mejora de la fertilidad, si no por el incremento de la tasa de servicios, ya que la sincronización ovsynch permitió la inseminación a tiempo fijo (López *et al.*, 2004) (ver figura 8).

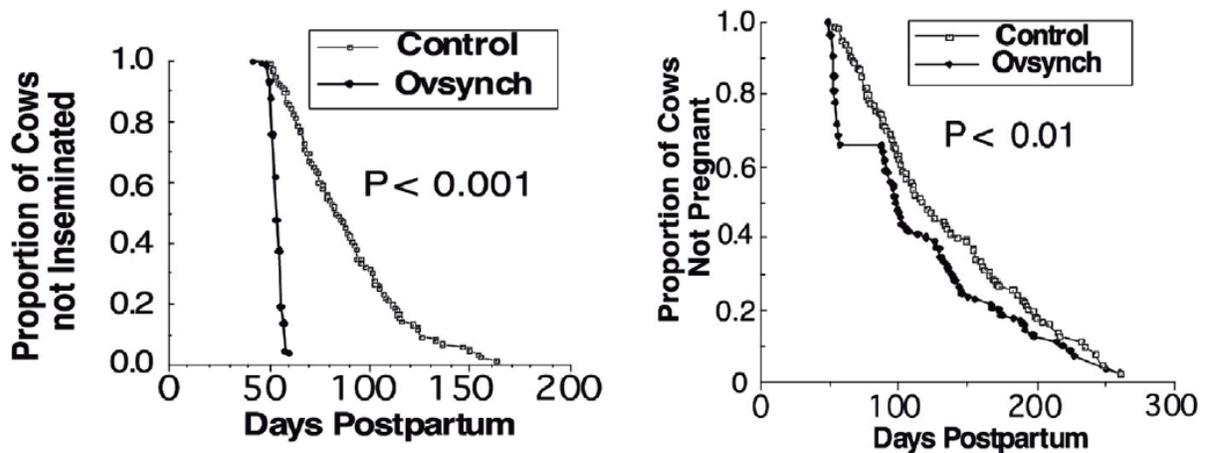


Figura 8: Curva de sobrevivencia para a) momento a primera inseminación (izquierda) y b) momento de preñez (derecho) en vacas, comparando performance reproductiva de vacas control (IA 12h después de la detección de celo) e inseminación a tiempo fijo con protocolo ovsynch (Wiltbank y Pursley, 2014).

La hormona liberadora Gonadotropina (GnRH) regula la liberación de LH, por lo tanto la administración de progesterona es importante en la frecuencia de pulsos de LH. Sin embargo, se han observado cambios en la frecuencia de pulsos de LH durante la fase lútea, que son difíciles de explicar debido a cambios en la progesterona periférica o concentraciones de estradiol (Cupp *et al.*, 1995). Un enfoque no esteroideo alternativo es la administración de GnRH para inducir la liberación de LH y la FSH endógena que causa luteinización o la ovulación de un folículo dominante existente, permitiendo de ese modo sincrónico que se produzca la emergencia de una nueva onda (Twagiramungu *et al.*, 1995).

El interés de lograr mayores tasas de preñez en los programas de sincronización con Ovsynch, muchos investigadores como el Dr. Willian Thatcher, evaluaron algunas alternativas, tales como uso de agonista de GnRH, hCG como remplazo de la última dosis de GnRH, presynch, doble ovsynch, co-synch, suplementación de progesterona durante el ovsynch, pre-sincronización con PGf2 $\alpha$  y GnRH (G6G), etc. ((Wiltbank y Pursley, 2014) (ver figura 9).

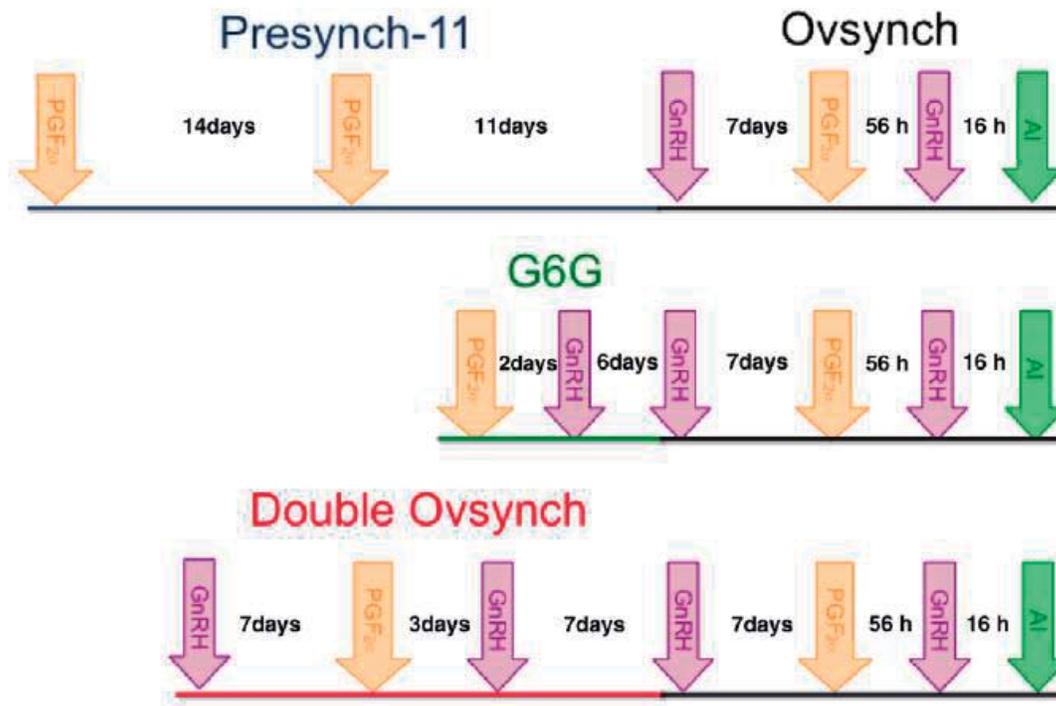


Figura 9: Tratamiento hormonal, con tres protocolos de presincroización a ovsynch (Wiltbank y Pursley, 2014).

Los métodos de presincronización son potencialmente mejores para incrementar la fertilidad. En general doble ovsynch es un sistema que puede mejorar la fertilidad comparado al método ovsynch convencional. Asimismo, estudios realizados por Wiltbank y Pursley (2014) demostraron que la tasa de ovulación a primer tratamiento con GnRH fue 90% para doble ovsynch, 85% para G6G y 80% para presynch-11. Sin embargo las tasas de preñez fueron similares para los tres grupos de vacas lactantes.

En el ganado bovino el tratamiento con GnRH ha servido para inducir a folículos dominantes en crecimiento (menores a 10mm de diámetro) y a la ovulación (Macmillan y Thatcher, 1991) con una nueva emergencia de una nueva onda folicular aproximadamente 2 días después del tratamiento (Twagiramungu *et al.*, 1995), pero sólo cuando la ovulación se produjo (Martínez *et al.*, 1999).

Naseer *et al.* (2012) no reportaron diferencias significativas en la emergencia de la onda folicular utilizando GnRH y el benzoato de estradiol (EB), en combinación a inserción de CIDR en la emergencia de una onda folicular. Sin embargo, Ui-Hyung *et al.* (2005) reportaron diferencias en la emergencia de la onda folicular, fue más pronto y menos variable ( $2.9 \pm 0.2$  días) en tratamiento con GnRH versus más larga y variable, en el grupo de EB ( $4.7 \pm 0.5$  días).

### **2.3. USO DE LA ECOGRAFÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

La disponibilidad de equipos (ultrasonido a tiempo real) permite el escaneo de los órganos reproductivos que proporcionan un enfoque nuevo y valioso al estudio de la dinámica folicular en los animales. La ultrasonografía, es actualmente, la base de una técnica muy precisa para la estimación de la población de folículos antrales dentro de los límites impuestos por la resolución del ecógrafo (Gordon, 2004).

La aplicación de la ecografía transrectal en tiempo real para el estudio de la reproducción bovina representa un avance tecnológico que ha revolucionado el conocimiento de la biología reproductiva. La nueva Información de investigaciones generadas a través de formación de imágenes ultrasónicas ha aclarado la naturaleza de los procesos reproductivos complejos como la dinámica folicular ovárica, función del cuerpo lúteo y desarrollo fetal. La pronta integración de

la tecnología de ultrasonido para la industria láctea incluye aplicaciones como la aspiración folicular transvaginal y la recuperación de los ovocitos (Pieterse *et al.*, 1988;. Pieterse et al., 1991; Meintjes *et al.*, 1993) y como una tecnología complementaria para los procedimientos de transferencia de embriones. Sin embargo estas aplicaciones son especializadas y no constituyen el uso generalizado de la ecografía en la industria láctea (ver figura 10).

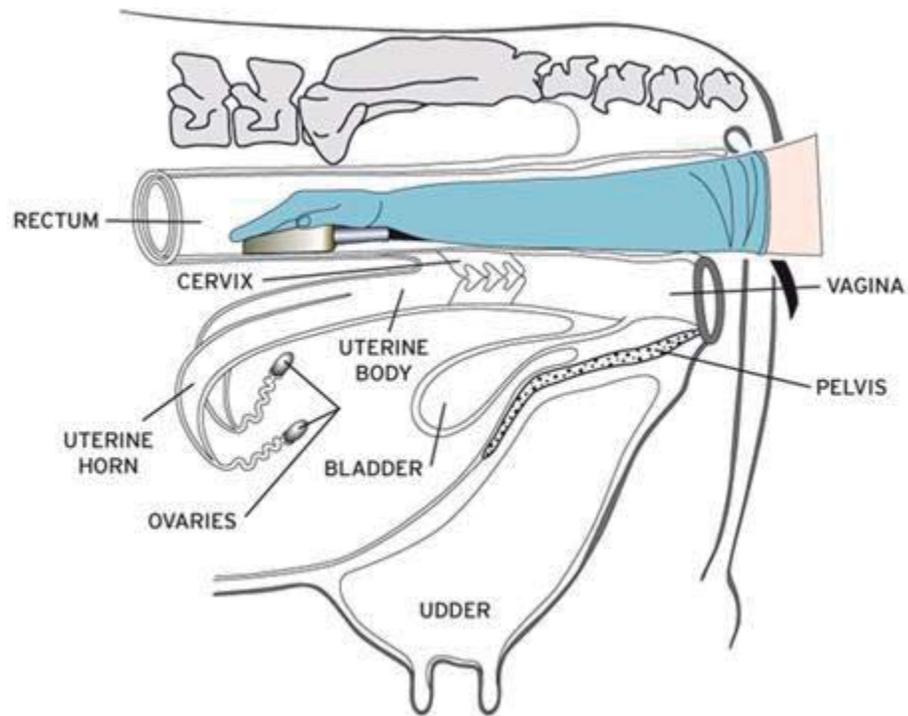


Figura 10: Evaluación del tracto reproductivo de una vaca, sujetando el transductor endorrectal lineal.

La ultrasonografía comparada a la palpación rectal permite una mejor estimación del número de folículos y su tamaño es determinado más precisamente. Sin embargo, en el diagnóstico de quiste folicular la ultrasonografía es más sensible que la palpación siendo los valores 75 y 66%, respectivamente, y en el diagnóstico de quiste luteal su sensibilidad es de 86 y 66%, respectivamente (Hanzen *et al.*, 2000).

El uso de la ecografía en la actualidad, permite la valoración del estatus folicular a tiempo real y permite el desarrollo de estudios sobre los factores limitantes de la respuesta ovulatoria a un tratamiento de superovulación, tanto los dependientes del tratamiento (tipo de gonadotropina y protocolo de administración) como aquellos dependientes del animal (estatus folicular), que pueden conducir a la mejora de los protocolos de superovulación utilizados (Gonzales-Bulnes *et al.*, 2002)

### **2.3.1. Funcionamiento del ecógrafo**

El descubrimiento de la ultrasonografía fue reportado por Palmer and Driancourt (1980) con imágenes ecográficas de tracto reproductor de yegua. El reporte fue publicado 100 años después del descubrimiento del efecto de cristales piezoeléctricos, que tienen la característica de expandirse y contraerse como respuesta de alternar la polaridad de las señales eléctricas. El cristal en el transductor produce ondas de ultrasonido que aplicadas a un tejido y recibe y convierte el resultado del eco que retorna en señales eléctricas. Las señales eléctricas se convierten y en una pantalla se representa en diferente intensidad de gris (Ginther, 2014) ver Figura 11.

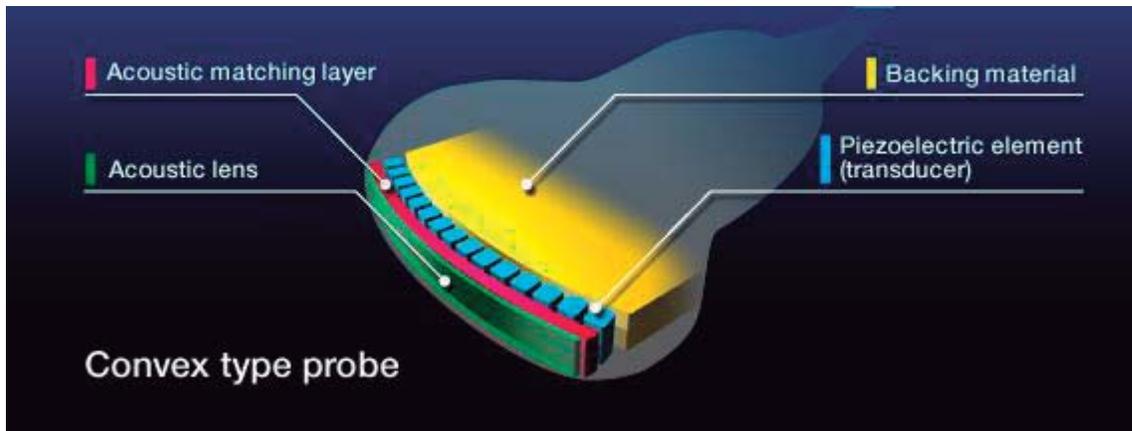


Figura 11: Diagrama y partes de un transductor de tipo convexo  
([www.ndk.com/en/sensor/ultrasonic](http://www.ndk.com/en/sensor/ultrasonic))

El ecógrafo consta de un conjunto de importantes componentes como: el transductor o sonda encargado de convertir la señal eléctrica a frecuencias ultrasónicas en una señal de presión acústica que se propaga por el aire. El transmisor que regula el envío de ultrasonidos por parte del transductor. El receptor y amplificador de señales que recoge los impulsos isoelectrónicos generados por el transductor. Y por último el osciloscopio encargado de procesar los ecos que llegan desde el amplificador de señales (Fernández, 2012).

El diagnóstico ecográfico utilizando imágenes de ultrasonido en escala de grises han sido utilizados en la reproducción de equinos, bovinos, ovinos, caprinos, camélidos, búfalos, etc (ver tabla 2). Uno de los últimos avances en este campo, son las imágenes doppler color, que se utiliza para diferencias flujo sanguíneo de arterias y venas y la ubicación de estas, está permitiendo a nuevos investigadores entender mejor, los mecanismos fisiológicos reproductivos

Tabla 2: Hitos de la introducción de la tecnología de ultrasonido en el estudio del tracto reproductor de animales de granja (Ginther, 2014)

Año	Tecnología de ultrasonido	Referencia
1980	Imagen ultrasónica de ovarios y útero en yeguas	Palmer y Driancourt, 1980
1983	Imágenes con transductor lineal-transrectal 5.0 MHz	Ginther y Pierson, 1983
1984	Imágenes de ovario, utero y feto bovino	Reeves et al., 1984
1987	Imágenes de tracto reproductor de potro	Weber et al., 1990
1988	Imágenes de tracto reproductor de toro	Weber et al., 1988
1989	Imágenes de ovario y útero de Llama	Adams et al., 1989
1994-7	Imágenes de dinámica folicular en oveja, marrana, búfalo	Ginther et al., 1995 Ryan et al., 1994
1998	Ultrasonografía de arterias uterinas en yegua	Bollwein et al., 2000
2002	Imágenes doppler color de ovarios de marrana	Acosta et al., 2002
2004	Imágenes doppler color de ovarios de yegua	Acosta et al., 2004

El transductor es el componente más frágil del aparato de ultrasonido. En el mercado veterinario, hay transductores que tienen una frecuencia de 3.5, 5.0 o 7.5 MHz, la cuales tienen mayor resolución al incrementar la frecuencia, pero se reduce la penetración (DesCôteaux *et al.*, 2006). Existen varios modelos de transductores, y estas pueden variar de acuerdo a la aplicación o tejido a diagnosticar (ver figura 12). Los fluidos, tales como la sangre o líquidos foliculares, no reflejan las ondas de sonido y tienen imagen negra en la pantalla. El hueso es un tejido más denso y refleja las ondas sonoras que representan casi por completo como imágenes en blanco. Otros tejidos reflejan proporciones variables de las ondas sonoras y producen imágenes en distintos tonos de gris (Broaddus *et al.*, 2005).



Figura 12: Gama de transductores más comunes para uso veterinario (endorectal lineal, convexo, microconvexo, fase array de baja frecuencia y alta frecuencia (Imotek®, International)

### 2.3.2. Exploración de los ovarios y útero con uso de ecógrafo

Un examen a fondo de la parte reproductiva en el ganado precisa de la visualización de las principales estructuras. Aunque la palpación rectal puede ser un método preciso para el diagnóstico de preñez, no es un buen método para la evaluación de los folículos ováricos (Pieterse *et al.*, 1990b). La formación de imágenes ultrasónicas es un método altamente preciso y rápido para evaluar las estructuras ováricas (Griffin y Ginther, 1992).

De todas las aplicaciones con ultrasonido utilizadas por los técnicos la exploración del útero y los diagnósticos de preñez temprana, son las practicadas comercialmente en la industria lechera. En una vaca no gestante, que este ciclando, el tejido uterino aparece como una estructura algo ecogénica (tejido blando que se aprecia de color gris en distintas tonalidades), debido a que está compuesto de tejido blando que absorbe una parte de las ondas de ultrasonido. De esta manera podemos identificar el útero como una estructura de color gris en la pantalla. En una vista de sección transversal del útero, se muestra como una "roseta" y se distingue fácilmente de otros tejidos periféricos, mientras que la sección longitudinal es menos reconocible. Los cambios

fisiológicos durante el ciclo estral conducen a cambios físicos (como el tono) en el útero, lo que altera las propiedades ecogénicas del útero (Pierson y Ginther, 1987a).

En la exploración de la cavidad pélvica en primer lugar se debe tomar como referencia la anatomía de la vejiga, que fácilmente se encuentra como una estructura anecogénica (tejido lleno del líquido que se aprecia de color negro), inmediatamente después, se puede localizar el útero delante de la vejiga. En la exploración del útero, se visualiza varias secciones de los cuernos y de cuerpo uterino (durante la fase folicular los cuernos están curvados, y en los ovarios podemos reconocer a las estructuras funcionales como los folículos y el cuerpo lúteo. Los folículos son visibles como cavidades negras o anecogénica, con un borde muy fino y a veces de contorno irregular por la compresión de otras estructuras del ovario. El tamaño de los folículos va creciendo durante el ciclo estral de la vaca a razón de 1.5 a 2.5mm por día llegando al folículo dominante que es de 15 a 18 mm en el momento previo a la ovulación. El cuerpo lúteo puede ser identificado a partir de 2 a 3 días después de la ovulación y crece de 1 mm a 2 mm por día, hasta alcanzar un tamaño máximo entre los 7 a 12 días post ovulación. El cuerpo lúteo aparece como una estructura grisácea y muchas veces con una cavidad central y alguna trabécula visible (60-70%). Los quistes en el ovario son definidos como anormales, anovulatorios y con un diámetro mayor a 25 mm (Bellenda, 2003) (ver figura 13).

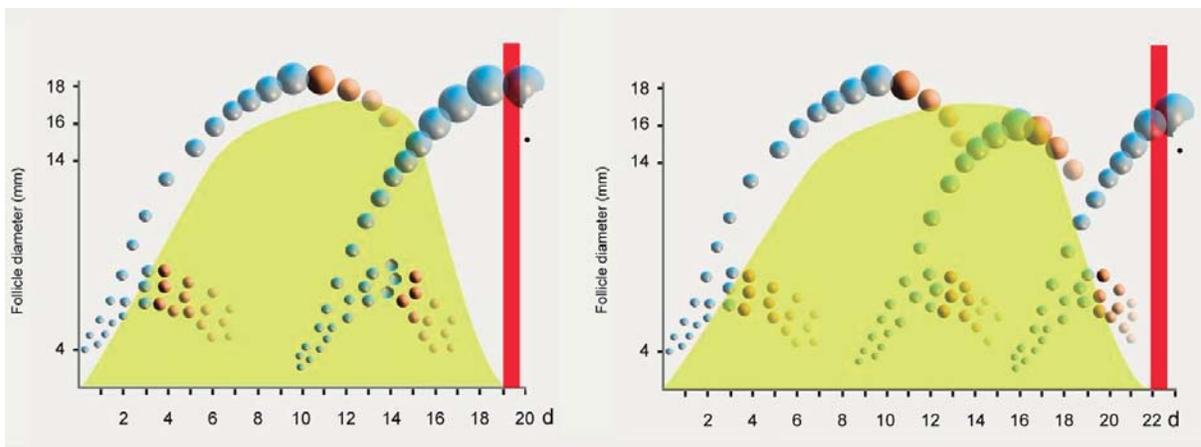


Figura 13: Representación esquemática de la dinámica folicular en bovinos durante el ciclo estral con 2 y 3 ondas (Espinoza, 2007).

### 2.3.3. Diagnóstico precoz de gestación

El uso de la ultrasonografía transrectal para evaluar estado de preñez precoz durante la gestación es una de las aplicaciones más prácticas de la ecografía, para la reproducción del ganado lechero. La identificación temprana de las vacas no preñadas post parto mejora la eficiencia reproductiva y la tasa de preñez en el ganado, al disminuir el intervalo entre servicios de inseminación artificial y el aumentar de la tasa de servicio (Kastelic *et al.*, 1991)

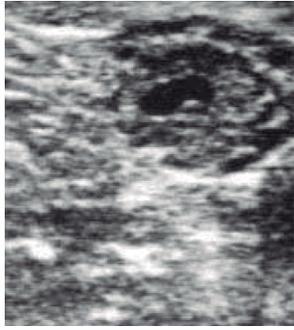
Bajo la mayoría de las diferentes condiciones de las explotaciones, el diagnóstico de gestación se puede realizar con rapidez y precisión mediante ultrasonidos tan pronto pasado los 26 días post inseminación (Kastelic *et al.*, 1991; Filteau y Descoteaux, 1998). La sensibilidad (detección de preñez cuando el animal es verdaderamente preñado) y especificidad de preñez con el diagnóstico de ultrasonidos fue 44,8 y 82,3%, respectivamente, cuando se llevó a cabo entre los días 21 de y 25 post inseminación pero aumentó a 97,7 y 87,7%, respectivamente, cuando se realiza entre el intervalo 26 y 33 post inseminación artificial (Pieterse *et al.*, 1990a) así podemos observar en el cuadro 1 las características del embrión en función a los días post servicio.

El uso de la ecografía a partir del día 28 del embarazo nos permite obtener un valor predictivo del 95% para una prueba negativa. Este valor se eleva a 98 y el 100% si el diagnóstico de gestación se realiza, respectivamente, después de los días 30 y 31 días de la inseminación (Filteau y Descoteaux, 1998).

La ecografía es menos traumática y más precisa que la palpación transrectal para el diagnóstico de gestación en vacas lecheras antes del día 35; también nos permite disminuir el riesgo de muerte embrionaria; además es una herramienta confiable y fácil de usar para las visitas de salud preventivas al hato (DesCôteaux *et al.*, 2006) ver tabla 3.

Tabla 3. Detección con ultrasonografía de las características del embrión bovino (Curran *et al.*, 1986.)

Características	Primeros día de detección	
	Promedio	Rango
Embrión	20.3	19 a 24
Latidos del corazón	20.9	19 a 24
Alantoides	23.2	22 a 25
Médula espinal	29.1	26 a 33
Botones del miembro Anterior	29.1	28 a 31
Amnion	29.5	28 a 33
Orbita ocular	30.2	29 a 33
Botones del miembro inferior	31.2	30 a 33
Placentomas	35.2	33 a 38
División de pezuñas	44.6	42 a 49
Movimiento fetal	44.8	42 a 50
Costillas	52.8	51 a 55



25 días de preñez



30 días de preñez



35 días de preñez



43 días de preñez



50 días de preñez



100 días de preñez

Figura 14. Imágenes de ultrasonido de las diferentes etapas de desarrollo de un embrión bovino (Cliff and Arthington, 2001)

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Lugar

La presente investigación se realizó en la Unidad Experimental de Zootecnia “Renato Zeppilli Ferrazza”, del Programa de Investigación y Proyección Social en leche, Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria la Molina, ubicado en el distrito de la Molina, provincia de Lima que está a una altitud de 238 m.s.n.m. latitud 12°05'06” Sur y longitud 76°57'09” Oeste (ver figura 15).

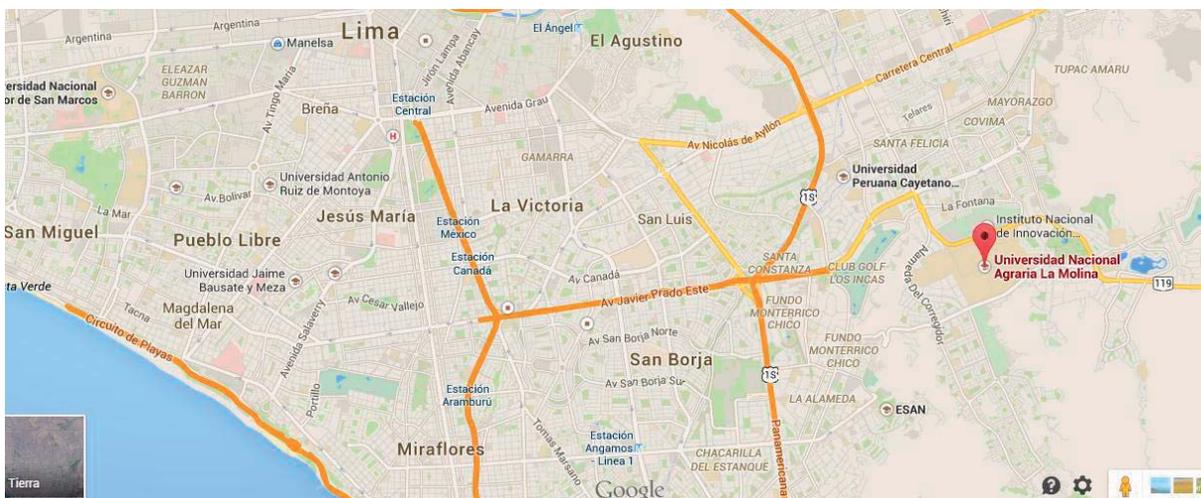


Figura 15: Mapa de ubicación de la Universidad Nacional Agraria La Molina (google maps)

La duración del experimento, consistió en dos fases la primera la pre experimental que fue entre junio a agosto de 2013 y la segunda, la fase experimental, que se realizó en el período de septiembre a diciembre del 2013.

### **3.2 Instalaciones**

El establo cuenta con cercos de madera, piso de tierra y mandiles de concreto, los cuales se dividen según la edad del animal y su categoría. Cada corral de vacas en ordeño mide aproximadamente 680m<sup>2</sup> y está provisto de un bebedero, un comedero y sombras en el comedero y la parte media del corral.

El ordeño realizado es mecánico del tipo Tándem de una sola hilera, esto permite ordeñar hasta 6 vacas a la vez y se realiza dos veces al día. Solo a las vacas de alta producción y con una buena condición corporal se les realiza tres ordeños al día. El recorrido rutinario de las vacas durante el día es de los corrales hacia una manga que conduce a una sala de espera e ingresan a la sala de ordeño en grupos de seis y de ahí retornan por otra manga a sus corrales. El sistema de ordeño es semi automatizado, que permite identificar y almacenar información de podómetros y producción de leche, automáticamente.

Para el trabajo de seguimiento de ecografía, las vacas en grupos eran conducidas a otra área techada, con fluido eléctrico, de fácil limpieza y bretes de sujeción, para facilitar el trabajo de ultrasonografía endorectal. Los bretes de manejo tienen un ancho de 1.20 m por 1.80 m de longitud. En el lugar, se construyeron 03 bretes para espera de vacas y 02 bretes para trabajo ecográfico.



Figura 16: Bretes de manejo de vacas lecheras, para seguimiento inmovilización del animal y realizar el diagnóstico ecográfico.

### 3.3 Animales experimentales

En el establo “La Molina” el 75% de la población de bovinos, pertenece a la raza Holstein y el 25% restante, corresponde a la raza Brown Swiss y Simmental. De las cuales se adquiere pajillas de semen. El 85% de las vacas en el hato “La Molina” son inseminadas con celo natural detectado por observación, el 15% de las vacas se trabajan en el proyecto de investigaciones de MOET y FIV (donantes y receptoras) aplicadas a las mejores vacas lecheras.

Los animales (n= 29) para el experimento fueron elegidos del grupo de vacas de raza Holstein de acuerdo al número de partos, buena condición corporal y no presentaban problemas productivos, reproductivos y/o sanitarios. Los índices promedios de las vacas trabajadas fueron:  $156 \pm 59$  días en lactancia,  $1.96 \pm 0.8$  número de partos,  $2.7 \pm 0.4$  condición corporal (escala 1 a 5) y  $33.0 \pm 5.6$  kg de leche/día.

Los animales son criados estabulados con una alimentación que se lleva a cabo de acuerdo a la edad y fisiología del animal. Las vacas en producción reciben un concentrado según su categoría (alta, media, baja), ofreciéndoles en promedio de 6 a 13 Kg. de concentrado y 30 a 37 Kg. de forraje (chala chocleada picada) de manera separada. La dieta es dividida en 4 raciones al día, iniciándose con la primera ración a las 7 a.m. y la última ración a las 6 p.m., permitiendo la disponibilidad de alimento gran parte del día. Ver composición de la ración de vaca lechera en establo “La Molina”.

Tabla 4: Porcentaje de ingredientes del concentrado utilizado en vacas en producción “Establo La Molina”

INSUMO	%
Subproducto de trigo	18.0
Forraje de Marigol	5.0
Pepa de algodón	7.0
Maíz grano	35.0
Torta de soya	22.4
Melaza de caña	5.5
Carbonato de calcio	1.5
Sal	0.6
Premix leche 108 Y (Premezcla de vitaminas y minerales)	0.3
Energy Fat (Grasa protegida)	2.8
Nitroshure (Urea protegida)	0.7
Bicarbonato Sodio	0.5
Mycosorb (Secuestrante de micotoxinas)	0.1
Glukogen C40 (Promotor del metabolismo energetico)	0.2
Urea	0.4
Sel-Plex (Antioxidante)	0.023
<b>TOTAL</b>	<b>100.0</b>

Nutrientes: Materia seca (88.7%), Nutrientes digestibles totales (78.5%), Proteína total (23.4%), Fibra cruda (5.8%) y ENL (1.93%)

### 3.4 Ecografía transvaginal

La exploración a tiempo real de los ovarios de las vacas en el experimento, se realizaron utilizando un transductor microconvexo (65C15EA, Mindray®, China) de 8.5 MHz colocada en un adaptador de Guía de aspiración (WTAVET®, Brasil) para ecografía transvaginal de tipo sectorial y un equipo de ultrasonografía DP-50 (MINDRAY®, China) (ver figura 17, 18 y 19)



Figura 17: (Izquierda) Sistema digital de adquisición de imágenes de diagnóstico por ecografía (DP-50, Mindray®, China) y (derecha) Guía de aspiración (WTAVET®, Brasil).

La exploración ecográfica se realizó en dos oportunidades a cada vaca. Primero luego de la selección de la vaca para el experimento y previo a la aplicación de los productos hormonales. Segundo, al día 4 de la aplicación de las hormonas (inserción de implante de progesterona y Estradiol o GnRH).

### **3.5 Proceso de ecografía transvaginal**

El proceso inicia con una previa limpieza manual del recto y de la parte externa de la vulva, de tal manera que las excretas no interfieran en la manipulación ovárica y la suciedad externa de la vulva no contamine el tracto reproductor. Seguidamente con la mano izquierda se procede por vía rectal a ubicar y reconocer el tracto reproductor, iniciando por la cérvix, útero, cuernos y ovarios, luego de manera cuidadosa con la otra mano se introduce el transductor vía intra vaginal. El ovario fijado se le ubica pegado al transductor, el cual se debe estar situado en la base de la vagina (fornix) para proceder a reconocer las estructuras ováricas. Los folículos se observan en el ecógrafo como estructuras de color negro es decir anecogénicas, debido a que el líquido folicular no refleja las ondas de ultrasonido y los cuerpos lúteos se observan como estructuras de color gris o ecogénicas es decir que una parte de las ondas atraviesa esta estructura y otra es reflejada. .

La medición del tamaño folicular está en función a su diámetro, una vez fijado el ovario se congela y guarda la imagen para realizar el conteo de folículos y medir el diámetro de cada uno de ellos, el equipo de ecografía cuenta con una opción de medición en el que se traza una línea recta por el diámetro del folículo y la distancia se muestra en milímetros. Aquí podemos identificar a los folículos menores a 4 mm, de 4 a 8 mm, folículos dominantes (> 8 mm) y folículos quísticos (>23 mm). Del mismo modo el conteo de cuerpos lúteos se pudo realizar con la visualización e identificación de los mismos.

Para mayor esclarecimiento de las estructuras ováricas se procedió a rotar el ovario en diferentes sentidos y tomar de 2 a 3 imágenes de diferentes caras por ovario, de tal forma que se pueda visualizar la cantidad real de estructuras por ovario.



Figura 18: Proceso de ecografía transvaginal en vaca Holstein

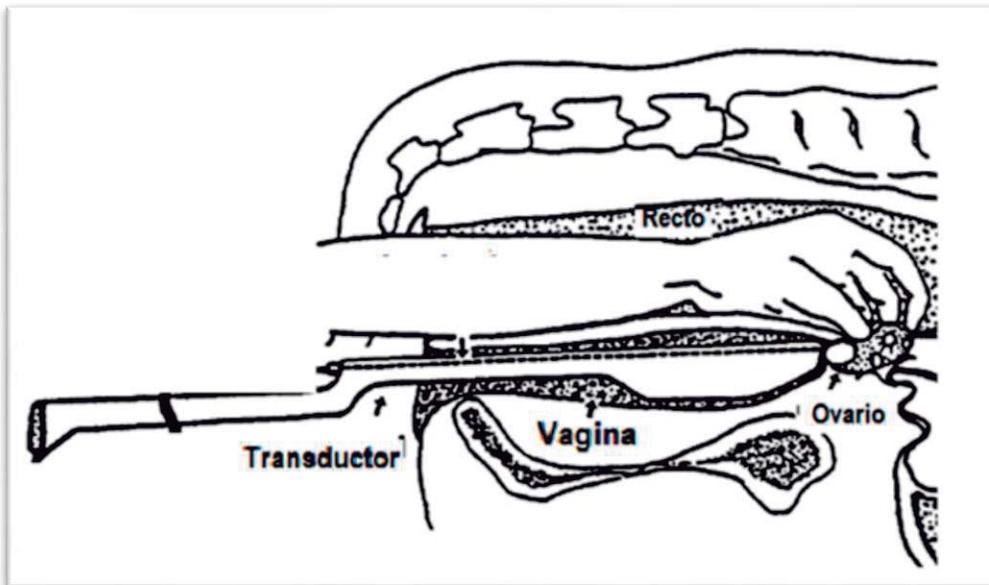


Figura 19: Esquema de ecografía transvaginal

### 3.6 Sincronización de dinámica folicular, tratamientos

La sincronización de la dinámica folicular en este trabajo, se basó en los nuevos protocolos de superestimulación ovárica, como parte esencial de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) y consiste que al 4to día (a.m.) de la inserción del implante de progesterona, se inicia la aplicación de las 6 a 8 dosis de FSH, con el fin de evitar la regresión de los folículos que inicia con la selección folicular (Bó y Mapletoft, 2014).

Los grupos de animales a tratamiento hormonal, tuvieron el siguiente protocolo:

Tabla 5: Protocolos de sincronización de ambos tratamientos

item	Tratamiento E2	Tratamiento GnRH
n	16	13
Día "0"	Exploración ecográfica de los ovarios Inserción intravaginal DIB Aplicación PGF2 $\alpha$ (i.m.) Aplicación Estradiol (i.m.)	Exploración ecográfica de los ovarios Inserción intravaginal DIB Aplicación PGF2 $\alpha$ (i.m.) Aplicación GnRH (i.m.)
Día "4"	Retiro de DIB Exploración ecográfica de los ovarios	Retiro de DIB Exploración ecográfica de los ovarios

Dosis y productos comerciales utilizados:

- Implante de progesterona: DIB® 1g, Syntex, Argentina
- PGF2 $\alpha$  (coprostenol): Lutaprost® 2ml, Agrovvet Market, Perú
- Estradiol: Estrovvet ® 1.2 ml, Montana SA, Perú
- GnRH (buserelina): Conceptase® 3.0ml, Agrovvet Market, Perú

### **3.7 Variables a evaluar**

#### **3.7.1 Número de folículos**

El conteo de folículos que se encuentren en ambos ovarios fue mediante la ecografía transvaginal y estos fueron clasificados por su tamaño en dos grupos 2-4 mm y folículos de 4 - 8mm de diámetro folicular.

#### **3.7.2 Presencia del cuerpo lúteo**

Se evalúa la presencia de cuerpo lúteo, antes y después del tratamiento hormonal, con el uso de ecografía para observar los ovarios. Asimismo, el uso de PGF2a al inicio del protocolo es para eliminar el cuerpo lúteo existente.

#### **3.7.3 Presencia de folículo dominante**

Se determinó la presencia de folículos dominantes, es decir, folículos mayores en tamaño a 8 mm de diámetro.

### **3.8 Análisis estadístico**

- a) Para las variables; número de folículos clasificados en dos grupos: 2 a 4mm y 4 a 8 mm, en respuesta al tratamiento de sincronización de dinámica folicular E2 y GnRH, se utilizó el diseño completamente al azar. Los análisis de varianza de los datos registrados se llevaron a cabo utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS, 1999).

Siendo el modelo lineal:

$$VR_{ij} = \mu + \text{Hormonas}_i + \text{Error}_{ij}$$

Dónde:

$VR_{ij}$ : Es la respuesta de los números de folículos en crecimiento evaluando con la i-ésima hormona y j-ésima vaca.

$\mu$ : Es el promedio poblacional.

Hormona i: Es el efecto de la i-ésima hormona.

Error $_{ij}$ : Es el error experimental.

- b) Para las variables; presencia o ausencia de cuerpo lúteo y presencia de folículo dominante, en respuesta al tratamiento de sincronización de dinámica folicular P4-E2 y P4-GnRH, se utilizó la prueba estadística de Distribución Binomial.

$$\text{Función de una distribución binomial: } f(x) = C_x^r \pi^x (1 - \pi)^{n-x}$$

Dónde:

r: Es el número de repeticiones

$\pi$ : Probabilidad del éxito

x: Se define como el número de éxitos en n intentos

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Estatus folicular al iniciar el tratamiento hormonal

Las vacas elegidas en el experimento, se encontraban en una etapa de alta producción de leche (33 kg de leche/día), estaban ciclando lo que permitió uniformizar los grupos para los tratamientos. Las vacas tenían en su mayoría (87.5 y 84.6%) folículo dominante y el 37.5 y 53.85%, presentaban cuerpo lúteo, lo que reflejó la ciclicidad ovárica de estas vacas (ver tabla 6). En una rebaño de vacas cíclicas y siendo el diestro (presencia de cuerpo lúteo) el período de mayor duración (14 a 15 días), se espera que el 50 a 60% de los animales cíclicos estén en etapa diestro y presenten cuerpo lúteo visible a la imagen ecográfica, lo cual en nuestros resultados muestran una mayor ecogenisidad durante el diestro, lo que concuerda con Hanzen *et al.* (2000) que afirman que la ecogenisidad de una estructura luteal se incrementa durante el diestro, un cuerpo lúteo tiene una apariencia de una masa gris en el área demarcada como cuerpo lúteo y es muy similar el cuerpo lúteo de una vaca preñada al de una vaca vacía y es imposible de distinguir en particular el día del diestro, asimismo, los cuerpos lúteos cavitarios pueden ser confundidos con folículos.

Tabla 6: Estatus ovárico (folículos y cuerpo lúteo) al inicio (Día 0) de los tratamientos hormonales

Tratamiento	n	Folículos (<4mm)	Folículos (4-8mm)	Folículos (>8mm)	Folículos Totales	Presencia Cuerpo lúteo	Presencia Folículo Dominante (>8mm)
Grupo E2	16	5.1	1.8	1.5	8.3	37.5%	87.5%
Grupo GnRH	13	4.4	1.4	1.5	7.3	53.8%	84.6%

El estatus ovárico (folículo y cuerpo lúteo) determinado por imagen de ecografía transvaginal, corresponde a una foto del momento (ver figura 20). No es posible, con esta foto, definir exactamente la fase de onda folicular en que se encuentran. Folículos menores a 8mm en el estudio pueden indicar que están en etapa de crecimiento, selección ó regresión, semejante a lo afirmado por Sarttorelli *et al.*, (2005) afirman que la desviación de los folículos se inicia entre 7.7 a 8.3mm de diámetro en vacas Holstein, definiendo la desviación folicular como una parte muy importante de la selección folicular y es el cambio diferencial en las tasas de crecimiento que diferencian a los folículos dominantes. Asimismo, un seguimiento en el diagnóstico ecográfico de los ovarios, si permite definir la dinámica folicular.

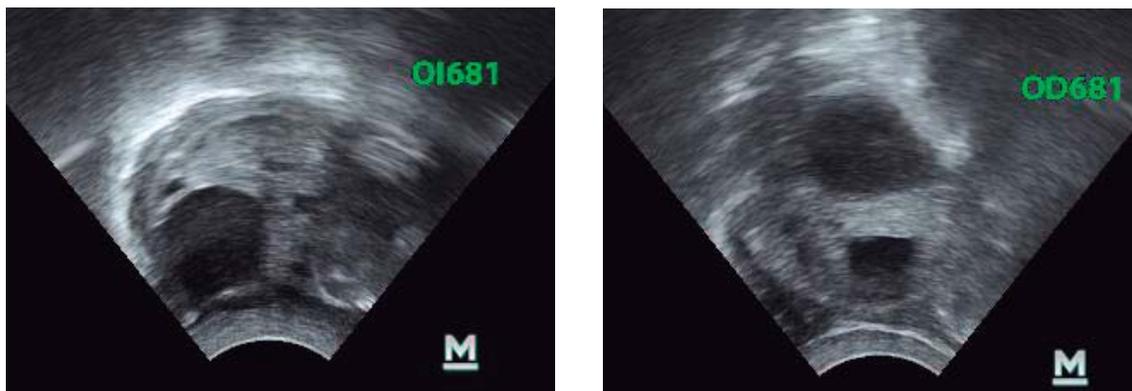


Figura 20: Imagen ecográfica transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 681. (Izquierda) Estatus de ovario izquierdo y (derecho) Estatus de ovario derecho, al inicio del tratamiento “D, 0”(un folículo dominante > 8 mm en ambos ovarios).

En nuestro estudio la presencia de quiste folicular (folículos >25mm de diámetro) diagnóstico por ecografía ovárica al inicio del tratamiento fue alta de 24.1% (7/29) en el grupo de vacas elegidas para tratamiento (ver figura 21), semejante a lo confirmado por Kumar *et al.* (2004) que reportaron la incidencia de quistes ováricos (foliculares y luteínicos) fue de 23%, en el grupo de vacas con retraso en ovulaciones mayores a 60 días post parto, que fueron el 47% de las vacas post parto. Sin embargo, esta condición de quistes foliculares ocurre en 10 a 13% de vacas lecheras y define una vaca con quiste folicular cuando se diagnostica la presencia de estructura folicular  $\geq 25$ mm de diámetro y ausencia de cuerpo lúteo (Garverick, 1997).

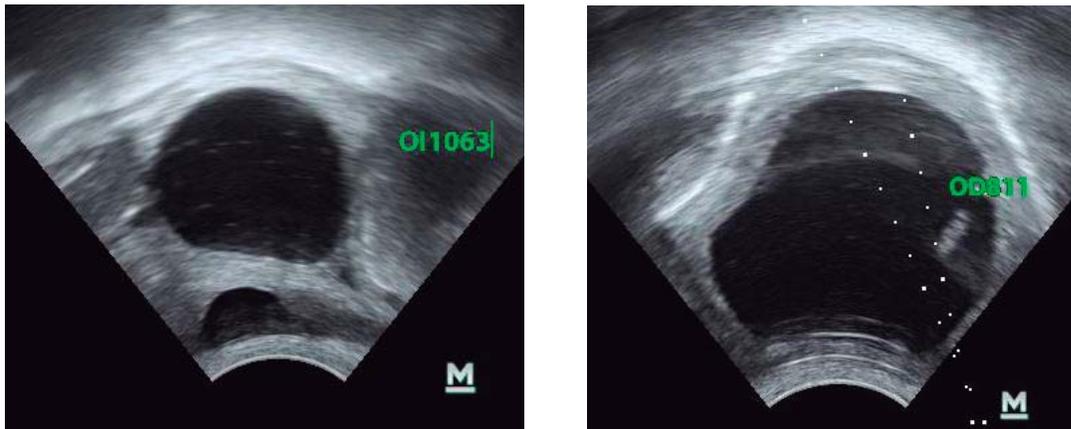


Figura 21: Imagen ecográfica transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de la vaca 1063 y la 811. (Izquierda) Estatus de ovario izquierdo y (derecho) Estatus de ovario derecho, al inicio del tratamiento. (quiste folicular >25mm).

Igualmente en vacas Holstein de alta producción (>9000 kg de leche a 305d) la disfunción ovárica postparto afecta su performance reproductiva futura. Según, Kumar *et al.* (2004) el reinicio de la actividad ovárica normal debe ser dentro de 60-65 días post parto, asegurando una preñez temprana. Estudios realizados por Opsomer *et al.* (1998) reportaron una actividad ovárica normal se presenta en el 54–68% de las vacas paridas y Kumar *et al.* (2004) en el 54% de las vacas postparto Holstein. Siendo las principales causas del retraso de la actividad ovárica post parto (aciclica) en vacas de alta producción es inactividad ovárica (54%) quistes ováricos (23%) y cuerpo lúteo no funcional (23%) y siendo un denominador en común en la mayoría de las vacas (80%) que presentaron flujo cervical-vaginal anormal y/o involución uterina incompleta dentro de los 30 días post parto (Kumar *et al.*, 2004).

Castro *et al.* (2012) demostraron que el balance energético y el metabolismo durante el periodo seco, son las principales condicionantes para la reanudación de actividad ovárica. Asimismo, las concentraciones de IGF-1 (insulin-like growth factor-1), T3 (3,5,3'-triiodothyronine), T4 (thyroxine) fueron elevados y el balance energético (EB, MJ/d) tenía una tendencia positiva en vacas que reanudaron ovulación (OC) versus vacas que no reanudaron actividad ovárica (AC) en

las 8 semanas post parto. Según Reist *et al.* (2003) los niveles de T3 (3,5,3'-triiodothyronine), T4 (thyroxine) están relacionados con el reinicio temprano de la actividad ovárica y cíclica. Similares resultados reportados por Kawashima *et al.* (2007) quienes detectaron altas concentraciones en plasma de glucosa, insulina y IGF-1 durante el periodo postparto de vacas con onda folicular y ovulación versus vacas no ovulatorias. Taylor *et al.* (2004) demostraron que bajos niveles circulantes de IGF-1 está relacionada con el retraso a la primera ovulación e infertilidad (ver figura 22).

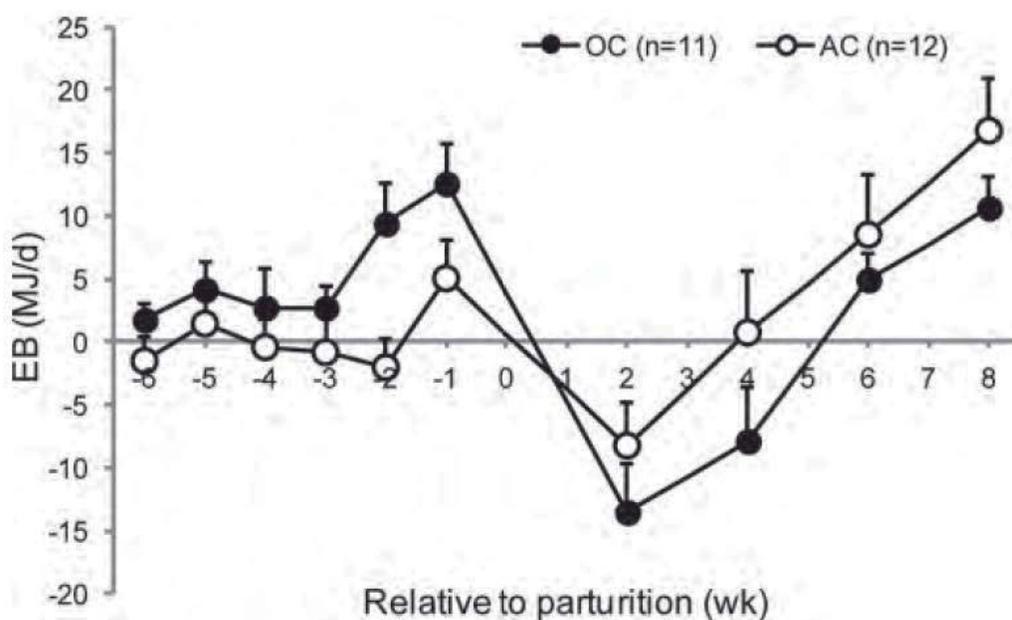


Figura 22. Balance energético (EB, MJ/d) de vacas con ovulación postparto (OC) y anovulación postparto (AC) en las 8 semanas post parto (Castro *et al.* 2012)

## 4.2 Estatus folicular post tratamiento hormonal

En el presente estudio, la inclusión de una dosis de 1.2ml de Estrovet® (3.6mg de benzoato de estradiol) en el tratamiento inicial con el implante de DIB® (1.0g de progesterona) resulto en la emergencia de la nueva onda folicular, la cual fue demostrada con imagen ecográfica y siendo el nuevo grupo de 10.4 folículos menores a 8 mm de diámetro. Sin embargo, la inclusión de 3.0ml de Conceptase® (24ug de buserelina sódica) en el tratamiento inicial con implante de progesterona resulto en la emergencia folicular de un número más bajo (6.9) de folículos menores a 8 mm y diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) al grupo tratado con estradiol/progesterona (ver tabla 7 y figura 23). Concidiendo con Bó et al., 1995 que menciona que los diferentes estrógenos (17 $\beta$ -estradiol, valerato de estradiol, benzoato de estradiol, cipionato de estradiol) han sido usados exitosamente en la sincronización de la emergencia folicular en vacas de leche. Es así que la asociación de estradiol y progestágenos en vacas, induce la regresión de los folículos y subsecuente sincronización de la emergencia folicular.

Tabla 7. Estatus ovárico (folículos y cuerpo lúteo) post tratamiento (D, 4) de los tratamientos hormonales

	n	Folículos (<4mm)	Folículos (4-8mm)	Folículos (>8mm)	Folículos Totales	Presencia Cuerpo lúteo	Presencia Folículo Dominante (>8mm)
Grupo E2	16	8.1 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	0.7 $\pm$ 0.6	11.0	31.2%	43.7%
Grupo GnRH	13	4.2 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	2.7 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	1.1 $\pm$ 0.9	8.0	38.4%	61.5%

La comparación de medias es entre grupos de tratamiento

a,b. letras diferentes significa que hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

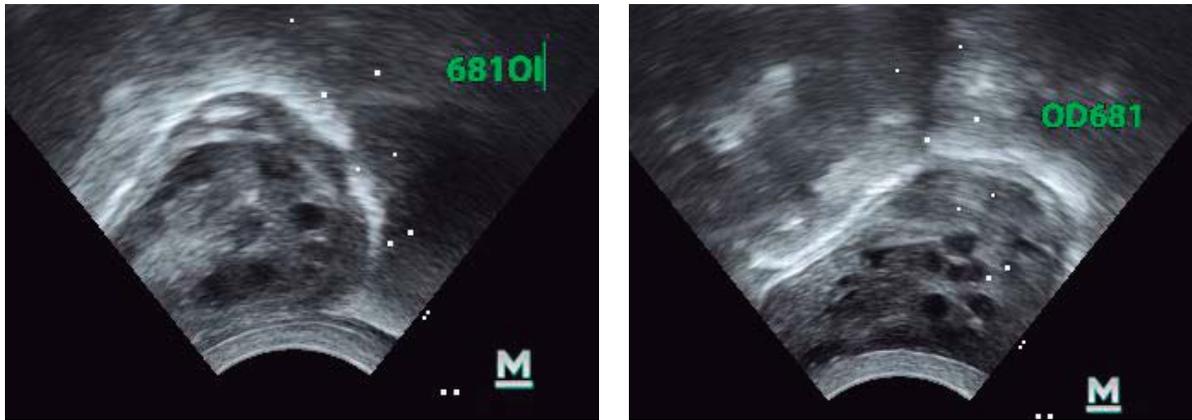


Figura 23: Imagen ecográfica transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 681. Estatus del ovario izquierdo (681OI) y derecho (681OD), después de la aplicación de estradiol/progesterona al día 4 (más de 15 folículos entre 2 a 8mm de diámetro en ambos ovarios).

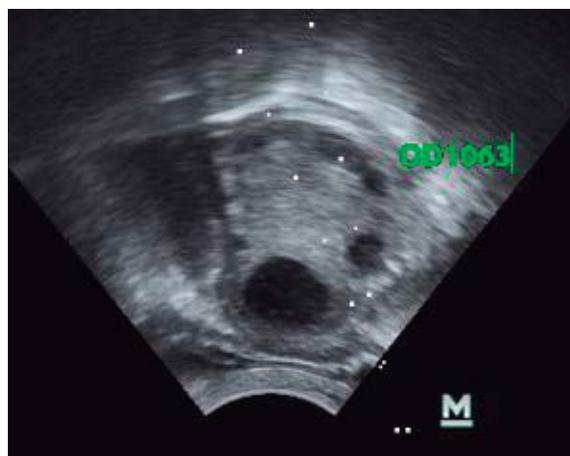
En la tabla 7, se observa que la cantidad de folículos de 2 a 4 mm de diámetro reclutados con el tratamiento de Estradiol/progesterona (8.1) fue mayor al tratamiento de GnRH/progesterona (4.2), con una diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, Naseer *et al.* (2012) sostienen que los tratamiento de GnRH y benzoato de estradiol en base progesterona circulante, son igualmente efectivos para sincronizar la emergencia de la onda folicular, ovulación espontánea, animales en estro y tasa de preñez, en búfalos.

En un tratamiento de sincronización de emergencia de onda folicular, la misión es reclutar un grupo nuevo de folículos a crecimiento a una tasa de 1 a 2 mm por día, por lo que no se debería encontrar folículos superiores a 8mm de diámetro, sin embargo se encontró en los ovarios de vacas tratadas (0.7 y 1.1 folículos) y pudo deberse a dos situaciones; a) El uso de implante de progesterona de 1g, no fue suficiente para el adecuado control endocrino (feed back negativo a LH) en especial en vacas de mayor peso que es característico en vacas Holstein de más de 3 partos y b) La alta frecuencia de vacas con quistes foliculares (24.1%) en las vacas tratadas, siendo la frecuencia normal entre 10 a 13% en vacas lecheras de alta producción (Garverick, 1997).

El tratamiento de sincronización de onda folicular a base de estradiol/progesterona y GnRH/progesterona, tuvo una respuesta adecuada en la emergencia folicular y permitió corregir en el 57% (4/7) de los casos la presencia de quiste folicular, tal como se puede observar en la figura 24, la vaca 1063 y 681. Estos resultados, concuerdan con la información que provee Garverick (1997) quien sostiene que un 30% de las vacas con quiste folicular responden al tratamiento hormonal.



Día, 0: Inicio de tratamiento



Día, 4: Tratamiento hormonal con E2



Día, 0: Inicio de tratamiento



Día, 4: Tratamiento hormonal con GnRH

Figura 24: Imagen ecográfica transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 1063 y 681. (Izquierda) Estatus de ovario derecho al inicio de tratamiento y (derecha) Estatus de ovario derecho, después del tratamiento “Día 4”.

En vacas *Bos taurus* el valerato de estradiol tiene una vida media mayor a benzoato de estradiol o17 $\beta$ -estradiol, por lo tanto ha sido reportado que la supresión al pico de FSH es más larga, retrasando la emergencia folicular (Martinez et al., 2005). Una dosis de 2 mg de valerato de estradiol es la más recomendada y que la respuesta de sincronización de la emergencia folicular es dependiente de la dosis y el tipo de estradiol, siendo, la ocurrencia de la emergencia folicular entre 2 a 4 días post aplicación de estrógenos (Mapletoft *et al.*, 2004). Sin embargo, Kim *et al.* (2007) en un experimento realizado en vacas Holstein de alta producción, reportaron que la aplicación inicial de GnRH (250 $\mu$ g de Gonadorelina)/progesterona (CIDR, 1.9g progesterona) permitió un reclutamiento folicular más temprano (2.3días) que el tratamiento a base de 1 mg de benzoato de estradiol/progesterona (4.4días) y ninguno de los tratamientos no afectaron la tasa de preñez a inseminación a tiempo fijo que fue superior al 50%. Así también, Ui-Hyung Kima *et al.* (2005) reportaron que la GnRH/progesterona (2.9 $\pm$ 0.2 días) *versus* benzoato de estradiol/progesterona (4.7 $\pm$  0.5 días), permite más pronta sincronización de la emergencia folicular.

La presencia de cuerpo lúteo después del tratamiento fue mayor y estadísticamente superior ( $p < 0.05$ ) en el grupo de vacas tratadas hormonalmente con GnRH/progesterona (61.5%) *versus* las tratadas con estradiol/progesterona (43,7%). Esta característica es propio de los tratamientos a base de GnRH, que favorece la ovulación y formación de cuerpo lúteo, tal como lo afirma Bó *et al.* (1995) y Martinez *et al.* (2005). Por otra parte, la presencia de cuerpo lúteo funcional en el ovario en programas de sincronización con el uso de progestágenos de baja dosis de progesterona puede favorecer el *feed back* negativo y permitir una adecuada sincronización del crecimiento de los folículos.



Figura 25: Imagen ecográfica transvaginal con 8.5Mhz, DP-50 (MINDRAY®, China) de vaca 81, al lado derecho muestra una masa gris redondeada, que representa presencia de cuerpo luteo de 15mm de diámetro en ovario.

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevaron a cabo el presente estudio, se pueden establecer las siguientes conclusiones:

1. Los tratamientos con Estradiol y GnRH favorecen la sincronización de la emergencia folicular. Sin embargo, el número folículos entre 2 a 8 mm fue de 10.4 y 6.9, respectivamente, mostrando que existe diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), a favor del tratamiento con Estradiol.
2. La alta frecuencia de quiste folicular (24.1%, 7/29) en vacas Holstein de alta producción (33 kg leche/día) probablemente pudiera afectar la dinámica folicular de las vacas tratadas, ya que el 57% de las vacas con quiste respondieron efectivamente a la sincronización.

## VI. RECOMENDACIONES

Bajo las condiciones experimentales y de acuerdo con los resultados obtenidos en el desarrollo del presente trabajo de investigación se recomienda:

1. Realizar un seguimiento ecográfico diario que permita determinar la dinámica folicular en unidad de tiempo y tamaño de folículos durante la emergencia, selección, desviación y dominancia folicular en vacas lecheras de alta producción en condiciones de crianza de la costa Peruana.
2. Comparar métodos mecánicos de ruptura folicular (ablación folicular) versus otros métodos hormonales en la sincronización de la emergencia de la onda folicular.
3. Evaluar el tratamiento hormonal de vacas con problemas de quiste folicular, mediante seguimiento de ecografía ovárica.
4. Utilizar la hormona Estradiol dentro de métodos de sincronización de emergencia folicular para posteriores trabajos de súper ovulación.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- **ACOSTA TJ, GASTAL EL, GASTAL MO, BEG MA, GINTHER OJ. 2004.** Differential blood flow changes between the future dominant and subordinate follicles precede diameter changes during follicle selection in mares. *Biol Reprod*; 71:502–7.
- **ACOSTA TJ, YOSHIZAWA N, OHTANI M, MIYAMOTO A. 2002.** Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F2a injection in the cow. *Biol Reprod*; 66:651–8.
- **ADAMS GP, GRIFFIN PG, GINTHER OJ. 1989.** In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biol Reprod*; 41:551–8.
- **ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.; GINTHER, O.J. 1992.** Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fert.* 94, 177-188.
- **ARMSTRONG DG, WEBB R 1997.** Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod.* (2): 139-146.
- **ARTHUR, G.H. 1975** Veterinary reproduction and obstetrics. Fourth edition. London: Baillière- Tindall. 616p.
- **AUSTIN, E.J.; MIHM, M.; EVANS, A.C.O.; KNIGHT, P.G.; IRELAND, J.L.H.; IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. 2001.** Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles of the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biol. Reprod.* 64, 839-848
- **BAO, B.; GARVERICK, H.A. 1998.** Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J. Anim. Sci.* (76): 1903-1921.
- **BELLEND A O. 2003.** La Ecografía Aplicada a la Reproducción en especies de interés reproductivo Escuela de Veterinaria de la Universidad de Glasgow PUBLICACION Pagina web <http://www.ecografiavet.com>, pag. 1-6.
- **BLONDIN, P. AND SIRARD, M. A. 1995.** Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol. Reprod. Dev.* ,41 : 54-62.

- **BO GA, ADAMS GP, NASSER LF, PIERSON RA, MAPLETOFT RJ. 1993.** Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*, 40:225-239.
- **BO GA, ADAMS GP, PIERSON RA, MAPLETOFT RJ. 1995.** Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*; 43:31–40.
- **BO GA. 2002.** Dinámica folicular y tratamientos hormonales para la sincronizar la ovulación en el ganado bovino. XI Congreso Venezolano de producción e Industria Animal. 1- 5.
- **BÓ GA, R. MAPLETOFT. 2014.** Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology* 81: 38–48.
- **BO´ GA, P. BARUSELLI, P. CHESTA, C. MARTIN. 2006.** The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 65: 89–101.
- **BOLLWEIN H, MEYER HH, MAIERL J, WEBER F, BAUMGARTNER U, STOLLA R. 2000.** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology*; 53:1541–52.
- **BOLS PE, YSEBAERT MT, LEIN A, CORYN M, VAN SOOM A, DE KRUIF A 1994.** Effects of long-term treatment with bovine somatotropin on follicular dynamics and subsequent oocyte and blastocyst yield in an OPU-IVF program. *Theriogenology*; 49:983–95.
- **BOUSQUET, D., H. TWAGIRAMUNGU, N. MORIN, C. BRISSON, C. CARBONEAU, J. DUROCHER. 1999.** *In vitro* embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, 51: 59-70.
- **BROADDUS1, B.; VRIES, A. 2005.** A Comparison of Methods for Early Pregnancy Diagnosis. Proceedings 2nd Florida Dairy Road Show. 22- 29.
- **BURKE C.R., M.L. MUSSARD, C.L. GASSER, D.E. GRUM, M.L. DAY. 2003.** Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology*, 60: 647–658
- **BURKE CR, BOLAND MP, MACMILLAN KL. 1999.** Ovarian responses to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle. *Anim Reprod Sci*; 55:23–33.

- **BURKE CR, DAY ML, BUNT CR, MACMILLAN KL. 2000.** Use of a low dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J Anim Sci*; 78:145–51.
- **BURKE CR, MORGAN S, CLARK BA, RHODES FM. 1998.** Effect of luteolysis on control of ovarian follicles using oestradiol benzoate and progesterone in cattle. *Proc New Zealand Soc Anim Prod Massey Univ Palmerston North, New Zealand*; 58:89–91.
- **BURKE CR, MUSSARD ML, GRUM DE, DAY ML.2001.** Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Anim Reprod Sci*; 66: 161–74.
- **CALLEJAS, S. 1995** Fisiología del ciclo estral bovino. *Jornadas de biotecnología de la reproducción en hembras de interés zootécnico, UNLZ y SYNTEX S.A., Lomas de Zamora.*
- **CASTRO N., C. KAWASHIMA, H. A. VAN DORLAND, I. MOREL, A. MIYAMOTO, R. M. BRUCKMAIER. 2012.** Metabolic and energy status during the dry period is crucial for the resumption of ovarian activity postpartum in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95 :5804–5812
- **CLIFF G.; ARTHINGTON, J. 2001.** Practical Uses for Ultrasound in Managing Beef Cow Reproduction. Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- **CUPP AS, STUMPF TT, KOJIMA FN, WERTH LA, WOLFE MW, ROBERSON MS, KITOK RJ, KINDER JE. 1995.** Secretions of gonadotrophins change during the luteal phase of the bovine oestrous cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17 $\beta$ -oestradiol. *Anim Reprod Sci*; 37:109–19.
- **CURRAN, S., R. A. PIERSON, AND O. J. GINTHER. 1986.** Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from d 20 through 60. *JAVMA* 189:1295–1302.
- **DAY, M. L., C. R. BURKE, V. K. TAUFU, A. M. DAY, AND K. L. MACMILLAN. 2000.** The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin based estrus synchronization programs in seasonal dairy herds. *J. Anim. Sci.* 78:523-529.
- **DESCÔTEAUX, L.; CARRIÈRE, P.; DUROCHER, J. 2006.** Ultrasonography of the reproductive system of the cow: basic principles, practical uses and economic aspects of this diagnostic tool in dairy production. World buiatrics congress France. IVIS website.

- **DISKIN MG, EJ AUSTIN, JF ROCHE. 2002.** Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 211–228.
- **DRIANCOURT M. A. 2001.** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55:1211-1239.
- **DUBY, R.T.; PRANGE. R.W. 1996.** Physiology and Endocrinology of the Estrous Cycle. Dairy Integrated Reproductive Management. University of Massachusetts. IRM-2.
- **EPPIG JJ 2001.** Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 122: 829-838.
- **ESPINOZA, J.; ORTEGA, R.; PALACIOS, A.; VALENCIA, J.; FER NANDO, C. 2007.** Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: *Interciencia* 32 (2): 93-97.
- **EVANS ACO, ADAMS GP, RAWLINGS NC 1994.** Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepuberal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 100: 187- 194.
- **EVANS, A.; KOMAR, C.; WANDJI, S.; FORTUNE, J. 1997.** Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitude are associated with the recruitment and growth of ovarian follicles during the luteal phase of the bovine estrous cycle. *Biol. Reprod.* 57, 394-401.
- **FERNANDEZ M. 2012.** Reproducción y control ecográfico en vacuno.editorial Servet, 2- 15.
- **FILTEAU, V.; DESCÔTEAUX, L.1998.** Valeur prédictive de l'utilisation de l'appareil échographique pour le diagnostic précoce de la gestation chez la vache laitière. *Méd Vét Québec.* 28: 81-85.
- **FORDE N, BELTMAN M, LONERGAN P, DISKIN M, ROCHE J, CROWE M. 2011.** Oestrus cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124, 163-169.
- **FORTUNE JE, SIROIS J, TURZILLO AW, LAVER M. 1991.** Follicle selection in domestic ruminants. *J. Reprod. Fertil.* 43 (Suppl 1): 187.
- **FORTUNE JE. 2002.** Activation of primordial follicles. En Eppig J, Hegele-Hartung CH, Lessl M (Eds.) *The future of the oocyte basic and clinical aspects.* Springer. Nueva York, EEUU. pp. 11-21.
- **FORTUNE, J.E.; CUSHMAN, R.A.; WAHL, C.M.; KITO, S. 2000.** The primordial to primary follicle transition. *Mol. Cell Endocrinol.* (163): 53-60.

- **FRICKE, P.M.; AL HASSAN, M.J.; ROBERTS, A.J.; REYNOLDS, L.P.; REDMER, D.A.; FORD, J.J. 1997.** Effect of gonadotropin treatment on size, number, and cell proliferation of antral follicles in cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 14, 171-180
- **GALLI C, CROTTI G, NOTARI C, TURINI P, DUCHI R, LAZZARI G. 2001.** Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology*; 55:1341–57.
- **GARCIA, A., M. SALAHEDDINE. 1998.** Effects of repeated ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and subsequent follicular development. *Theriogenology*, 50:575-585.
- **GARVERICK H.A. 1997.** Ovarian Follicular Cysts in Dairy Cows. *J Dairy Sci* 80:995–1004.
- **GIBBSONS J.R.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. 1999.** Relationship between follicular development and decline in follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biol. Reprod.* 60, 72-74.
- **GINTHER O.J. 2014.** How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology* 81 (2014) 112–125
- **GINTHER OJ, BEG MA, BERGFELT DR, DONADEU FX, KOT K 2001.** Follicle selection in monovular species. *Biol. Reprod.* 65: 638- 647.
- **GINTHER OJ, BEG MA, DONADEU FX, BERGFELT DR 2003.** Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim. Reprod. Sci.* (78): 239-257.
- **GINTHER OJ, KOT K, WILTBANK MC.1995.** Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology*; 43:689–703
- **GINTHER OJ, PIERSON RA. 1983.** Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: principles, equipment, and techniques. *J Equine Vet Sci*; 3:195–201.
- **GINTHER, O.; BERGFELT, D.; KULICK, L.; KOT, K. 1999.** Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology* 52, 1079-1093.
- **GINTHER, O.; BERGFELT, D.; KULICK, L.; KOT, K. 2000.** Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. *Biol. Reprod.* 63, 383-389

- **GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. 1997.** Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: oestradiol concentrations early in a follicular wave. *J. Reprod. Fertil.* (109): 181-186.
- **GONZÁLEZ-BULNES A., J. SANTIAGO-MORENO, R.M. GARCÍA-GARCÍA, M.J. COCERO, A. LÓPEZ-SEBASTIÁN. 2002.** Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes (Revisión). *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.* 17 (1-2): 37-48.
- **GORDON, I. 2004.** Reproductive technologies in farm animals; Editorial: Cabi Publishing pag: 203-205.
- **GRIFFIN, P. G., AND O. J. GINTHER. 1992.** Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70:953–972.
- **HAFEZ ESE, HAFEZ B 2000.** Folliculogenesis, egg maturation, and ovulation. En Hafez ESE, Hafez B (Eds.) *Reproduction in Farm Animals.* Lippincott Williams and Wilkins. Pennsylvania, EEUU. pp. 68-81.
- **HANZEN CH., M. PIETERSE, O. SCENCZI, M. DROST. 2000.** Relative Accuracy of the Identification of Ovarian Structures in the Cow by Ultrasonography and Palpation *Per Rectum. The Veterinary Journal,* 159, 161–170
- **KANEKO, H.; TAYA, K.; WATANABE, G.; NOGUCHI, J.; KIKUCHI, K.; SHIMADA, A.; HASEGAWA, Y. 1997** Inhibin is involved in the suppression of FSH secretion in the growth phase of the dominant follicle during the early luteal phase in cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 14, 263-271.
- **KANITZ, W.; BRÜSSOW, K.P.; BECKER, F.; TORNER, H.; SCHNEIDER, F.; KUBELKA, M.; TOMEK, W. 2001.** Comparative aspects of follicular development, follicular and oocyte maturation and ovulation in cattle and pigs. *Arch. Anim. Breed., Dummerstorf* (44), 9-23
- **KASTELIC, J. P., D. R. BERGFELT, AND O. J. GINTHER. 1991.** Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology* 35:569–581.
- **KAWASHIMA, C., S. FUKIHARA, M. MAEDA, E. KANEKO, C. AMAYA MONTOKA, M. MATSUI, T. SHIMIZU, N. MATSUNAGA, K. KIDA, Y.-I. MIYAKE, D. SCHAMS, AND A. MIYAMOTO. 2007.** Relationship between

metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *Reproduction* 133:155–163.

- **KRUIP, T.A.M., R BONI, Y.A. WURTH, M.W.M. ROELOFSEN, M.C. PIETERSE. 1994.** Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*, 42: 675-684
- **KULICK, L.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J.1999.** Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology* 52, 913-921
- **KUMAR H., T.NAKAO, T. HIGAKI, T. SUZUKI, M. AKITA. 2004.** Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology* 61: 637–649
- **LAMB, G.C., M.F. SMITH, G.A. PERRY, J.A. ATKINS, M.E. RISLEY, D.C. BUSCH, AND D.J. PATTERSON. 2009.** Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle. North Florida Research and Education Center, University of Florida.
- **LOPEZ H, SATTER LD, WILTBANK MC. 2004.** Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 81:209–23.
- **LUCY MC, SAVIO JD, BADINGA L, DE LA SOTA RL, THATCHER WW 1992.** Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3615-3626.
- **LUCY, M.C. 2006.** Estrus: Basic Biology and Improving Estrous Detection. Proc. Dairy Cattle Reproductive Conference. Pag. 29-37.
- **LUIZ, E.R. 2002.** Dinamica Follicular en Bovinos.Monografía. UNESP-Botucatu.
- **MACMILLAN KL, THATCHER WW. 1991.** Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod*, (45):883-889.
- **MAPLETOFT, R.J., COLAZO, M.G., SMALL, J.A., WARD, D.R., KASTELIC, J.P., 2004.** Effect of dose of estradiol valerate on ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cows. *Reprod. Fertil. Dev.* 16, 130 (abstract).
- **MARTINEZ MF, GP ADAMS, JP KASTELIC,DR BERGFELT, R.J. MAPLETOF. 2000.** Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54:757-769.

- **MARTINEZ M.F., J.P. KASTELIC, G.A. BÓ, M. CACCIA, R.J. MAPLETOFT. 2005.** Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Animal Reproduction Science* 86: 37–52
- **MCGEE EA AND HSUEH AJW (2000)** Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr.Rev.* 21: 200-214.
- **MCNEILL RE, DISKIN MG, SREENAN JM, MORRIS DG. 2006.** Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*, 65(7):1435–1441
- **MEINTJES, M., M. S. BELLOW, J. R. BROUSSARD, J. B. PAUL, AND R. A. GODKE. 1993.** Transvaginal aspiration of bovine oocytes from hormone treated pregnant beef cattle for IVF. *Theriogenology* 39:266. (Abstr.).
- **MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER1, J.; IRELAND1, J.; SMITH2, G.; LONERGAN, P.; EVANS, A.; IRELAND, J. 2010.** Evidence that high variation in antral follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen production in cattle. *Society for Reproduction and Fertility* ISSN 1470–1626 (paper) 1741–7899.
- **NASEER, Z.; N. AHMAD N.; KHAN M.; AHMAD E.; TAHIR M.; SINGH, J. 2012.** Effect of gnrh and estradiol benzoate on follicular wave emergence, estrus, ovulation and pregnancy rate in cidr treated nili-ravi buffaloes. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(3 Suppl.): 142-146.
- **NISWENDER, G., 1981.** Mechanisms controlling luteolysis. Raven Press, New York.
- **NOSEIR, W. 2003.** Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1:50
- **OPSOMER G, CORYN M, DELUYKER H, DE KRUIF A. 1998.** An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod Dom Anim*; 33:193–204.
- **PALMER E, DRIANCOURT MA. 1980.** Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology*; 13:206–16.
- **PIERSON, R.; GINTHER, O. 1987.** Follicular populations during the estrous cycle in heifers I. Influence of day. *Anim. Reprod. Sci.* 14:165-176.

- **PIETERSE, M. C., K. A. KAPPEN, T. A. KRUIP, AND M. A. M. TAVERNE. 1988.** Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology* 30:751–762.
- **PIETERSE, M. C., O. SZENCI, A. H. WILLEMSE, C. S. A. BAJCSY, S. J. DIELEMAN, AND M. A. M. TAVERNE. 1990A.** Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology* 33:697–707.
- **PIETERSE, M. C., P. L. A. M. VOS, T. A. KRUIP, Y. A. WURTH, T. H. VAN BENEDEEN, A.H.WILLEMSE, AND M. A. M. TAVERNE. 1991.** Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology* 35:19–24.
- **PIETERSE, M. C.,M.A. TAVERNE, T. A. KRUIP, AND A. H. WILLEMSE. 1990b.** Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet. Rec.* 156:552–554.
- **POOCK S.; S.A. HAMILTON. 2012.** Dairy Grazing: Reproduction. University of Missouri Extension. M178, New May 2012.
- **PURSLEY JR, KOSOROK MR, WILTBANK MC. 1997.** Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci*; 80:301–6.
- **PURSLEY JR, MEE MO, WILTBANK MC. 1995.** Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*; 44: 915–23.
- **RAHE, C.H., OWENS, R.E., FLEEGER, J.L., NEWTON, H.J., HARMS, P.G., 1980.** Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology* 107, 498–503.
- **RATHBONE MJ, KINDER JE, FIKE K, KOJIMA F, CLOPTON D, OGLE CR, BUNT CR. 2001.** Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50: 277-320.
- **REEVES JJ, RANTANEN NW, HAUSER M. 1984.** Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. *Theriogenology*; 21:485–94.
- **REIST, M., D. K. ERDIN, D. VON EUW, K. M. TSCHUMPERLIN, H. LEUENBERGER, H. M. HAMMON, C. MOREL, C. PHILIPONA, Y. ZBINDEN, N. KUNZI, AND J. W. BLUM. 2003.** Postpartum reproductive function: Association

with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. *Theriogenology* 59:1707–1723.

- **RHODES FM, MCDOUGALL S, BURKE CR, VERKERK GA, MACMILLAN KL. 2003.** Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *J Dairy Sci.*86(6):1876-94.
- **ROCHE, J.F.; AUSTIN, E.J.; RYAN, M.; O'ROURKE, M.; MIHM, M.; DISKIN, M.G. 1999.** Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *J. Reprod. Fertil. Suppl* 54: 61-71.
- **RYAN DP, YAAKUB H, HARRINGTON D, LYNCH PB. 1994.** Follicular development during early pregnancy and the estrous cycle of the sow. *Theriogenology*; 42:623–32.
- **SALFEN BE, KOJIMA FN, BADER JF, SMITH MF, GARVERICK HA. 2001.** Effect of short-term calf removal at three stages of a follicular wave on fate of a dominant follicle in postpartum beef cows. *J Anim Sci*; 79: 2688–97.
- **SASAMOTO, Y.; NAGANO, M.; KATAGIR, S.; TAKAHASHI, Y. 2004.** Follicular development after ovum pick-up and fertilizability of retrieved oocytes in postpartum dairy cattle. *lpn. l. Vet. Res.* 51 (3 - 4) : 151-159.
- **SARTORELLI E.S., L.M. CARVALHO, D.R. BERGFELT, O.J. GINTHER, CIRO M. BARROS. 2005.** Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology* 63: 2382–2394.
- **SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.; GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C. 2001.** Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65: 1403-1409
- **SARTORI R, BARROS C. 2011.** Reproductive cycles in *bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science* 124: 244-250.
- **SHEARER, J.K. 2003.** *Reproductive Anatomy and Physiology of Dairy Cattle.* Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service. University of Florida. Original publication date September 1992. Reviewed June 2003. Publication N° 57.
- **SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. 1994.** Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 101, 547-555

- **TAYLOR, V. J., Z. CHENG, P. G. PUSHPAKUMARA, D. E. BEEVER, AND D. C. WATHES. 2004.** Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Vet. Rec.* 155:583–588.
- **THUNDATHIL J, KASTELIC JP, MAPLETOFT RJ. 1998.** The effect of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular development and ovulation in dairy cattle. *Can J Vet Res*; 62:314–6.
- **TOHEI, A., SHI, F. X., OZAWA, M., IMAI, K., TAKAHASHI, H., SHIMOHIRA, I., KOJIMA, T., WATANABE, G. AND TAYA, K. 2001.** Dynamic changes in plasma concentrations of gonadotropins, inhibin, estradiol - 17  $\beta$  and progesterone in cows with ultrasoundguided follicular aspiration. *J. Vet. Med. Sci.*,63 : 45-50.
- **TWAGIRAMUNGU H, GUILBAULT LA, DUFOUR JJ. 1995.** Synchronization of ovarian follicular waves with gonadotrophin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J Anim Sci* 1995;73:3141–51.
- **UI-HYUNG KIMA, GUK-HYUN SUHB, HYUN-WOOK NAMA, HYUN-GU KANGA, ILL-HWA KIM. 2005.** Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH or estradiol benzoate in a CIDR-treated, lactating Holstein cows. *Theriogenology* 63: 260–268.
- **VIANA, A.; PALHAO, B.; SIQUEIRA, C.; FONSECA, D.; CAMARGO, A. 2009.** Ovarian follicular dynamics, follicle deviation, and oocyte yield in Gyr breed (*Bos indicus*) cows undergoing repeated ovum pick-up. *Theriogenology* 73 (2010) 966–972.
- **WEBB R, NICHOLAS B, GONG JG, CAMPBELL BK, GUTIÉRREZ CG, GARVERICK HA, ARMSTRONGDG 2003.** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction* 61: 71-90.
- **WEBB, R.; GOSDEN, R.G.; TELFER, E.E.; MOOR. R.M. 1999.** Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Animal Science*, v.68: 257-284.
- **WEBER JA, GEARY RT, WOODS GL. 1990.** Changes in accessory sex glands of stallions after sexual preparation and ejaculation. *J Am Vet Med Assoc*; 196:1084–9.
- **WEBER JA, HILT CJ, WOODS GL. 1988.** Ultrasonographic appearance of bull accessory glands. *Theriogenology*; 29:1347–55.
- **WILTBANK M.C., J. R. PURSLEY. 2014.** The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 81: 170–185

- **XU, Z.Z., GARVERICK, H.A., SMITH, G.W., SMITH, M.F., HAMILTON, S.A., YOUNGQUIST, R.S., 1995A.** Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biology of Reproduction* 53:951-957.

## **VIII. ANEXOS**



# ANEXO II: FICHA TÉCNICA DEL CONCEPTASE® DE AGROVETMARKET S.A

## Conceptase®

Solución inyectable

Liberador Hormonal

agrovetmarket s.a.

### FÓRMULA ESTRUCTURAL

Cada mL de solución acuosa estéril contiene:

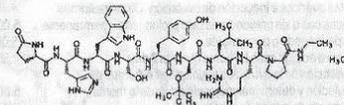
Buserelina acetato ..... 0.0084 mg

(equivalente a 0.008 mg de buserelina)

Excipientes ..... c.s.p. .... 1 mL

### FÓRMULA ESTRUCTURAL

$C_{26}H_{44}N_{10}O_4 \cdot C_2H_3O_2$



P.M.: 1298.67

CAS N°: 68630-75-1

### DESCRIPCIÓN

**Conceptase®** es una solución inyectable sobre la base de Buserelina acetato. La buserelina es un análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas natural (gonadorelina, GnRH; LHRH), con una marcada actividad biológica. El efecto farmacológico inicial de la buserelina es el de una hormona "releasing" sintética para estimular la secreción de las hormonas luteinizante (LH) y foliculo estimulante (FSH).

### FARMACOCINÉTICA

Estudios de farmacocinética han sido realizados *in vivo* (ratas, conejillos de indias, conejos y vacas) e *in vitro*. Aplicaciones intravenosas de buserelina fueron eliminadas rápidamente de la circulación sanguínea con una vida media inicial de 5 minutos (ratas) ó 12 minutos (conejo de indias). En las especies de estudio: vacas y conejas, la buserelina fue rápidamente eliminada del plasma después de la aplicación endovenosa. En leche, las concentraciones de buserelina después de una dosis intravenosa de 10 mg alcanzaron el pico máximo una hora después y fue decayendo a los niveles previos al tratamiento dentro de 10 a 24 horas después.

La biodisponibilidad de buserelina es aproximadamente del 50% tras la inyección subcutánea. La buserelina circula en el suero predominantemente en forma inalterada. La unión a proteínas es de aproximadamente el 15%. La buserelina se acumula preferentemente en hígado, riñones y lóbulo anterior de la hipófisis, que constituye el órgano biológico diana. La ruta principal de excreción de la buserelina es a través de la orina, a las 24 horas su eliminación es completa. Los estudios *in vitro* han demostrado que la buserelina es inactiva mediante peptidasas (piroglutamil peptidasa y endopeptidasas de tipo quimotripsina) en el hígado y los riñones. En la hipófisis la buserelina unida al receptor se inactiva mediante enzimas localizadas en la membrana.

### FARMACODINAMIA- MODO DE ACCIÓN

La acción farmacodinámica de la buserelina corresponde al de la natural LH-RH en estimular en la pituitaria la liberación de LH y FSH, y secundariamente, la secreción de esteroides gonadales. Su actividad liberadora de LH, es dependiendo de la ruta y momento de la administración, acerca de 18 a 322 veces más alta en comparación al del componente natural.

La administración repetida de altas dosis de buserelina o continuas infusiones intravenosas resultan en una inhibición de la secreción de gonadotropinas y/o esteroides gonadales, lo que se debe a la desensibilización de la pituitaria y a la pérdida de receptores de LH gonadal y prolactina. Los efectos supresivos son dependientes de dosis y tiempo y son reversibles.

Estudios de efectos secundarios de buserelina en sistema cardiovascular, renal, glucosa sanguínea, SNC o motilidad de músculos lisos fueron negativos.

La buserelina actúa directamente sobre la hipófisis anterior controlando la síntesis y liberación de gonadotropinas. La FSH estimula el crecimiento y la maduración del folículo, mientras la LH es responsable de la ovulación y de la formación del cuerpo lúteo.

### INDICACIONES

Está indicado en casos de fertilidad reducida por disfunciones ováricas, así mismo se aplica para inducción de ovulación y mejorar la tasa de concepción e índice de fecundidad.

#### Vacas:

- Problemas de quistes foliculares.
- Anestro, aciclia, ovulación retardada o atresia folicular.
- Incremento del índice de concepción en la inseminación artificial y también después de la sincronización del celo.
- Incremento de la tasa de concepción.
- Prevención de problemas en la fecundidad por inducción prematura del ciclo postparto.

#### Yeguas:

- Quistes ováricos e inducción de ovulación. Otros trastornos ováricos con o sin presencia de celo prolongado o permanente.
- Celos prolongados o permanentes.
- Anestro o aciclia.
- En inducción de la ovulación ayuda a fijar el tiempo de la ovulación y determinar mejor el tiempo de la monta.
- Incremento de la tasa de concepción.

#### Conejas:

- Inducción de la ovulación.
- Incremento de la tasa de concepción en la inseminación postparto.

## ANEXO I: FICHA TÉCNICA DEL ESTROVET DE MONTANA S.A

### 1.- Descripción del producto

El Benzoato de Estradiol es un derivado sintético del 17 b Estradiol, hormona esteroidea sintetizada por el folículo ovárico desarrollada para optimizar los resultados reproductivos de los tratamientos con progestágenos en bovinos. El uso de Benzoato de Estradiol al momento de la aplicación del progestágeno (considerado este como día 0) provoca una nueva onda folicular; la aplicación del Benzoato de Estradiol a la extracción del progestágeno induce un pico preovulatorio de LH a través del feed back positivo del estradiol sobre el GnRH y LH lo que resulta en una alta sincronía de ovulaciones.

### 2.- Composición

Cada 100 ml contiene:

Benzoato de Estradiol	300 mg.
Vehículo c.s.p.	100 ml.

## **ANEXO IV: FICHA TÉCNICA DEL DISPOSITIVO INTRA VAGINAL (DIB) DE SYNTEX S.A**

### 1.- Descripción del producto

El Dispositivo intravaginal Bovino Syntex (DIB) es un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona utilizado para la regulación del ciclo estral en bovinos.

La progesterona liberada a partir de la colocación del dispositivo tiene un rol importante sobre la dinámica folicular ovárica, los niveles supraluteales (>1 ng/ml) obtenidos a los pocos minutos de la introducción del dispositivos provocan la regresión del folículo dominante y aceleran el recambio de las ondas foliculares, este cese de la secreción de productos foliculares (estrógeno e inhibina) produce el aumento de FSH que va a ser la responsable del comienzo de la emergencia de la siguiente onda folicular. Por otro lado la extracción del dispositivo provoca la caída de Progesterona a niveles subluteales (< 1 ng/ml) que inducen el incremento de la frecuencia de los pulsos de LH, el crecimiento y la persistencia del folículo dominante con concentraciones muy altas de Estradiol que provocan por un lado el celo y a nivel endócrino inducen finalmente el pico de LH que es seguido por la ovulación.

### 2.- Composición

Progesterona	1 g.
Silicona inerte c.s.p.	1 dispositivo



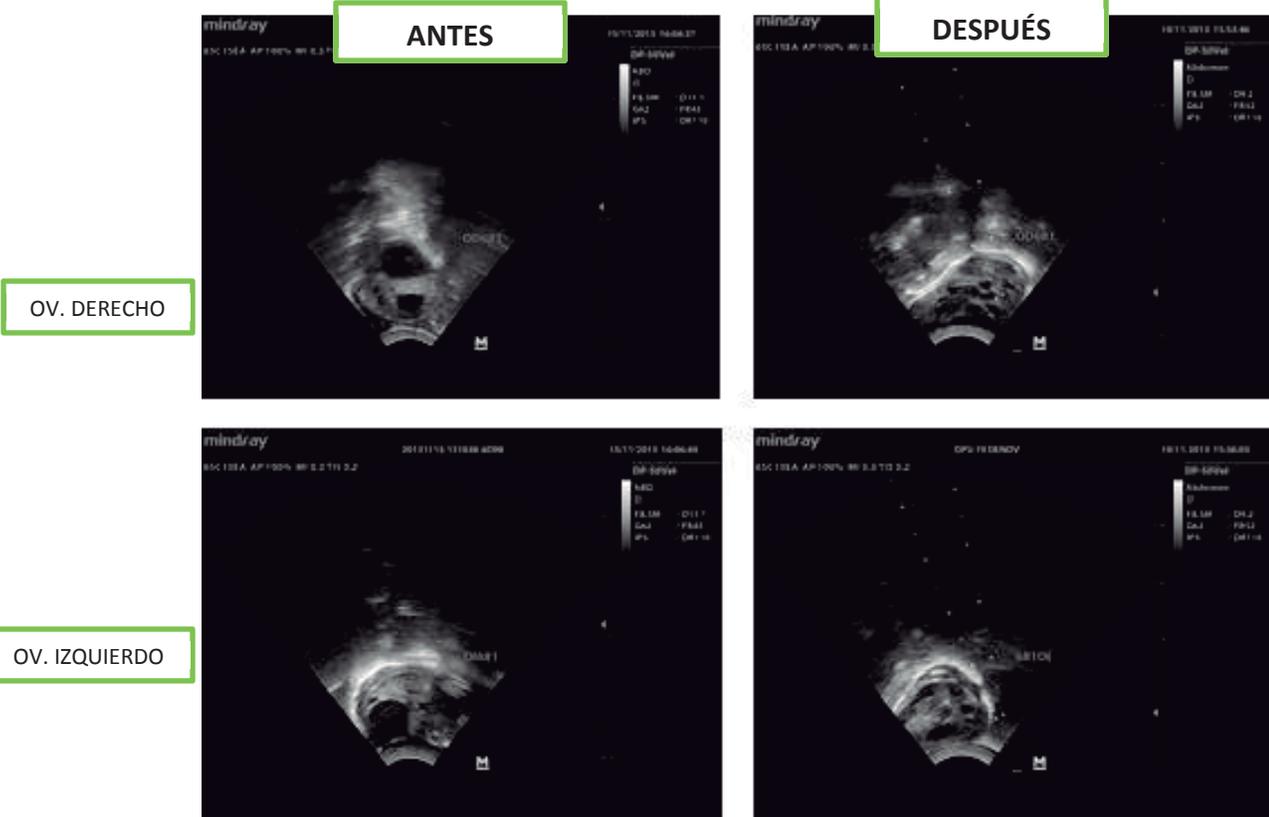
## ANEXO IV: DATOS RECOGIDOS DESPUES DE LOS TRATAMIENTOS

RESULTADO DESPUES DEL TRATAMIENTO													
TRATAMIENTO CON ESTRADIOL													
ANIMAL	OV. DERECHO				OV. IZQUIERDO				VALOR DE RESPUESTA DE LOS 2 OVARIOS				
	C.L	F(2-4mm)	F(4-8mm)	F(>8mm)	C.L	F(2-4mm)	F(4-8mm)	F(>8mm)	F(2-4mm)	F(4-8mm)	Fol. Totales	C.L	F(>8mm)
1	0	5	2	0	0	4	3	0	9	5	14	0	0
2	0	8	2	0	0	5	4	0	13	6	19	0	0
3	0	4	0	0	1	2	0	1	6	0	6	1	1
4	0	2	1	0	0	1	3	0	3	4	7	0	0
5	0	3	2	0	0	2	0	0	5	2	7	0	0
6	0	3	0	1	0	1	0	1	4	0	4	0	2
7	0	4	1	1	0	0	0	2	4	1	5	0	3
8	0	8	0	1	0	7	0	0	15	0	15	0	1
9	0	4	0	1	0	8	3	1	12	3	15	0	2
10	0	5	1	1	1	6	0	0	11	1	12	1	1
11	0	4	0	0	0	5	0	0	9	0	9	0	0
12	0	7	1	0	0	3	2	0	10	3	13	0	0
13	1	6	1	0	0	5	3	0	11	4	15	1	0
14	0	0	0	1	1	2	2	0	2	2	4	1	1
15	1	4	1	0	0	3	1	0	7	2	9	1	0
16	0	3	1	0	0	5	2	0	8	3	11	0	0
PROM.		4.38	0.81			3.69	1.44		8.06	2.25	10.31		0.69
									3.1875	1.53125			43.75
											% PRESENCIA	31.25	0.7734375
TRATAMIENTO CON GNRH													
ANIMAL	OV. DERECHO				OV. IZQUIERDO				GNRH				
	C.L	F(2-4mm)	F(4-8mm)	F(>8mm)	C.L	F(2-4mm)	F(4-8mm)	F(>8mm)	F(2-4mm)	F(4-8mm)	Fol. Totales	C.L	F(>8mm)
1	0	0	3	0	0	3	0	0	3	3	6	0	3
2	2	3	0	0	0	8	2	0	11	2	13	2	0
3	0	1	1	1	1	3	2	0	4	3	7	1	1
4	0	1	1	0	3	0	1	0	4	1	5	0	2
5	0	2	0	1	0	3	0	1	5	0	5	0	2
6	0	2	3	0	0	2	0	2	4	3	7	0	2
7	0	1	3	0	0	0	3	0	1	6	7	0	0
8	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	2	1	0
9	0	1	3	0	0	2	3	0	3	6	9	0	0
10	1	6	2	0	1	4	1	0	10	3	13	2	0
11	0	0	0	2	0	1	1	0	1	1	2	0	2
12	0	0	2	1	1	1	2	0	1	4	5	1	1
13	0	5	0	1	0	2	2	1	7	2	9	0	2
PROM.		1.77	1.46			2.46	1.23		4.23	2.69	6.92		1.13
											% PRESENCIA	38.46	61.54

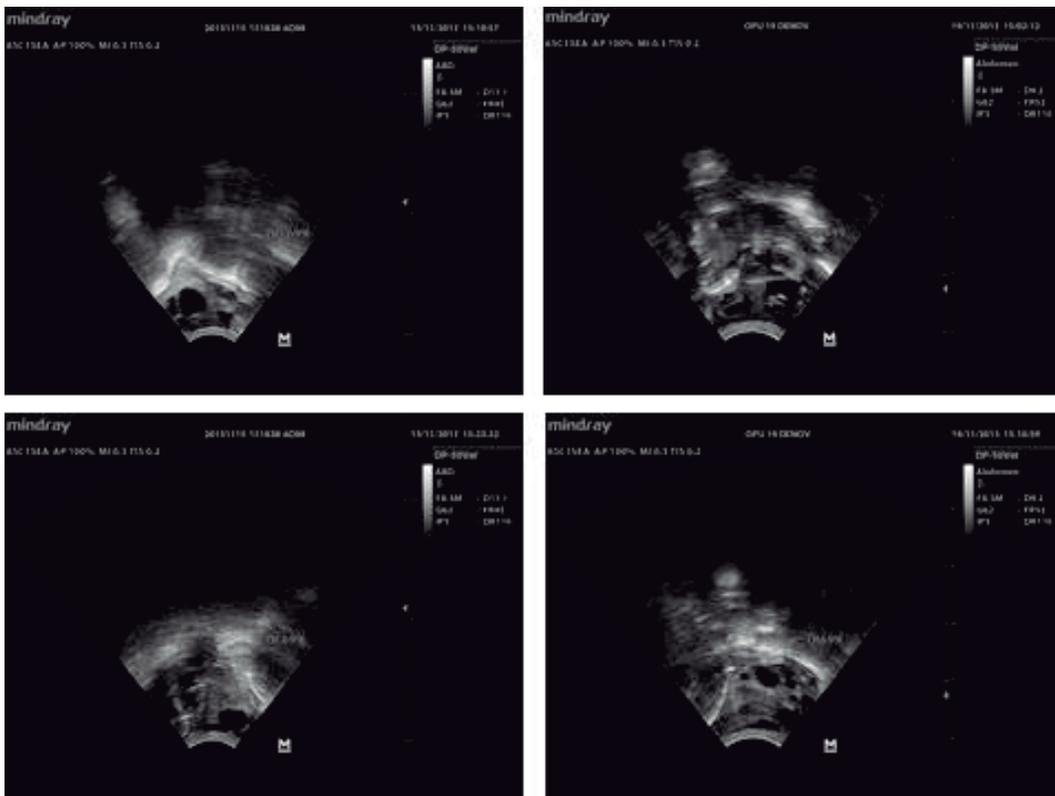
Cuerpo lúteo (C.L), folículos (F)

# ANEXO V: IMÁGENES DEL TRATAMIENTO CON ESTRADIOL

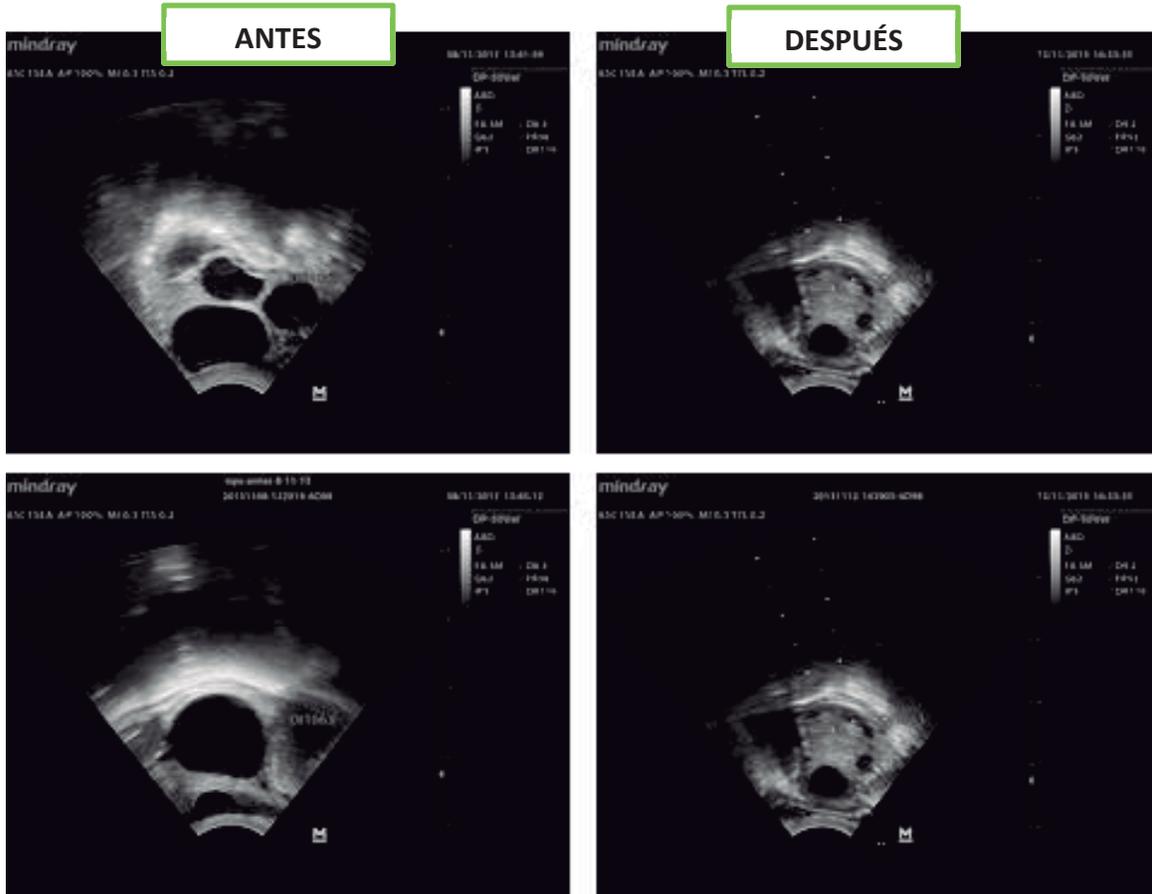
1)



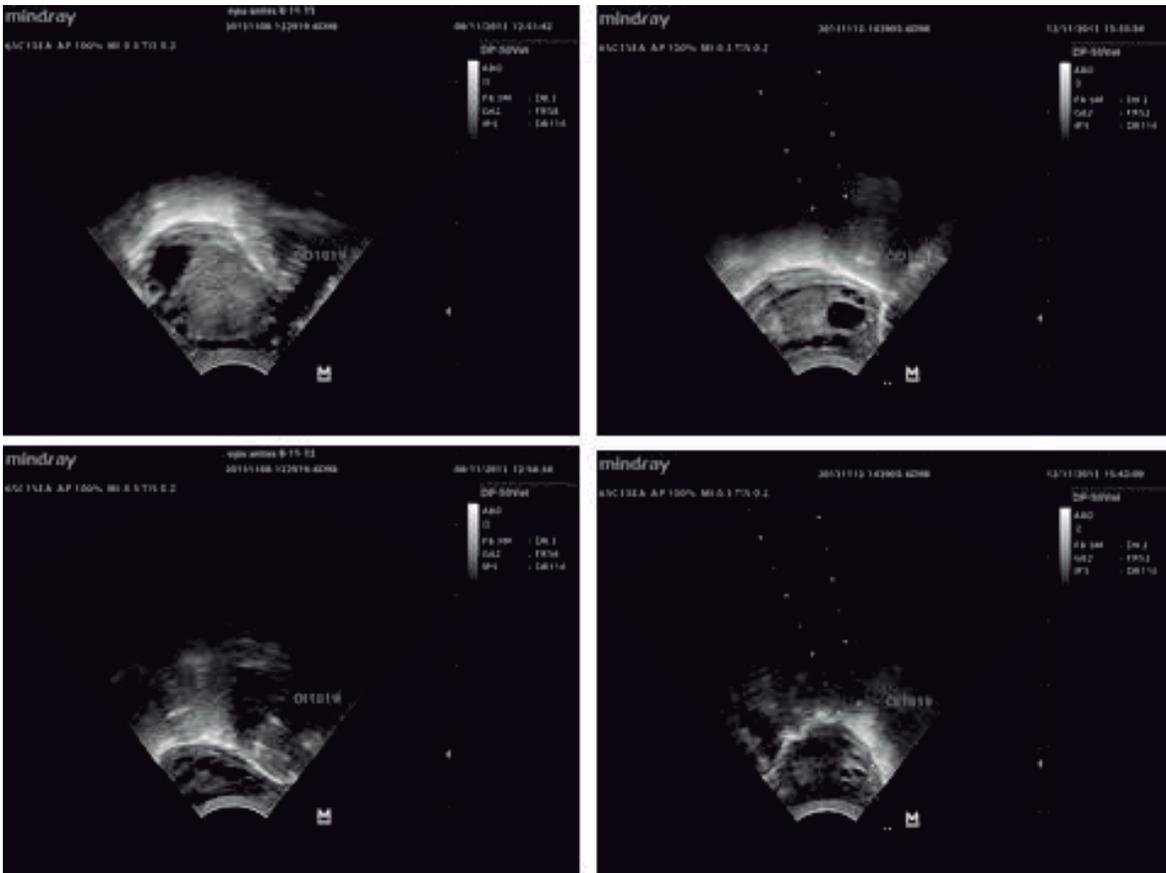
2)



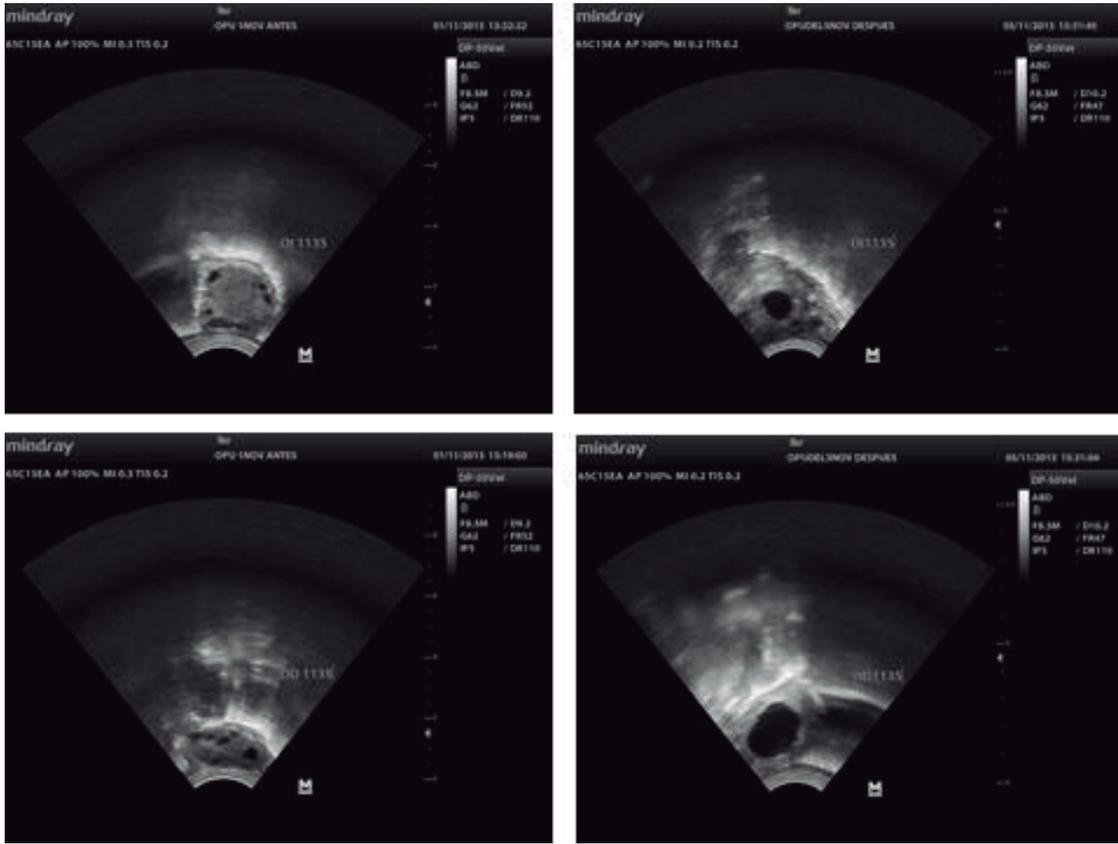
3)



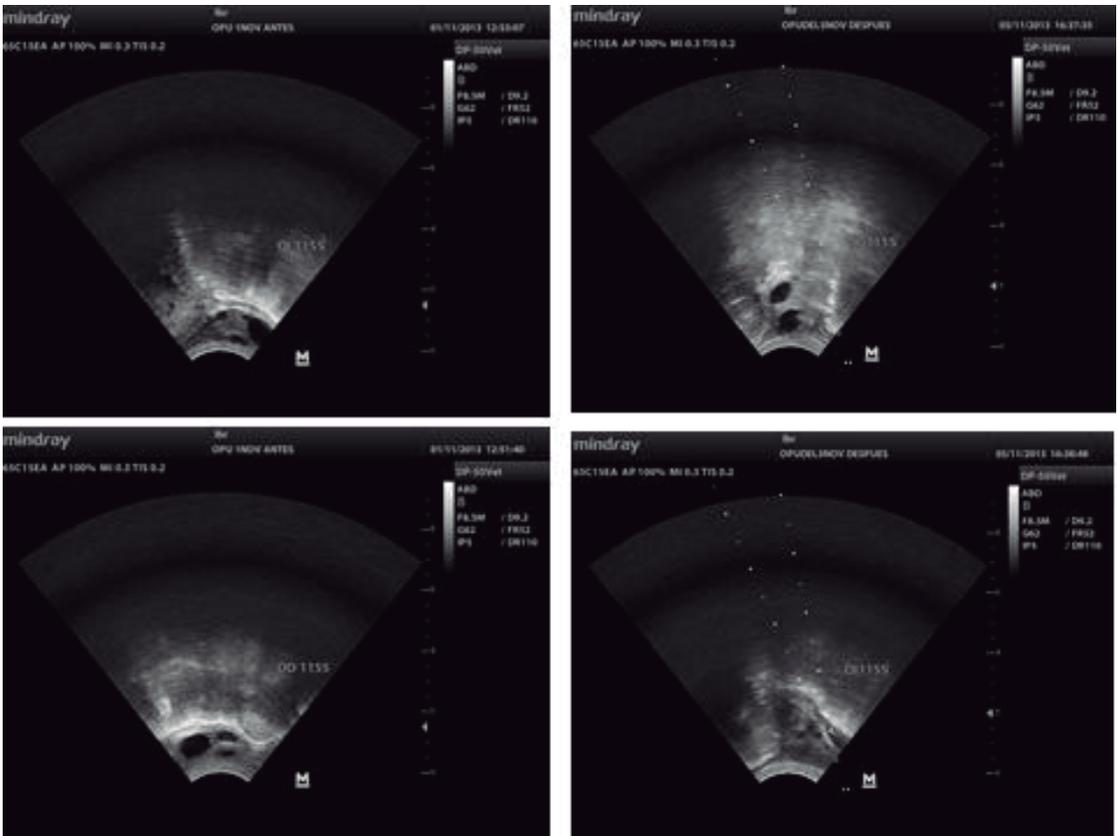
4)



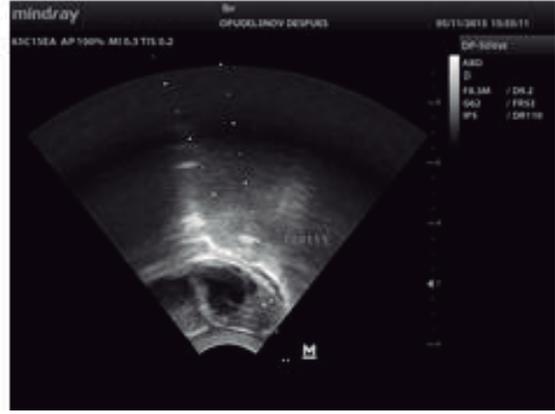
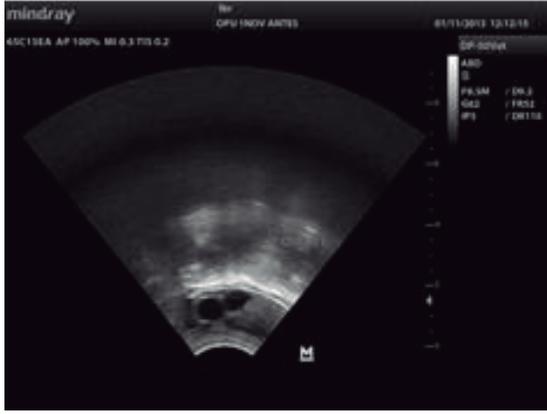
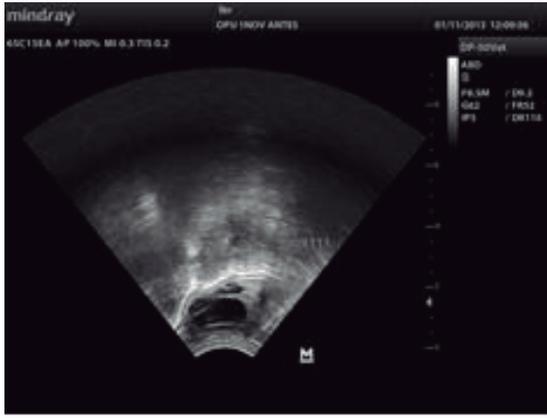
5)



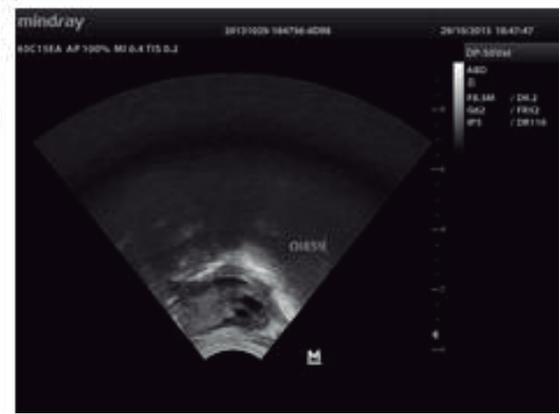
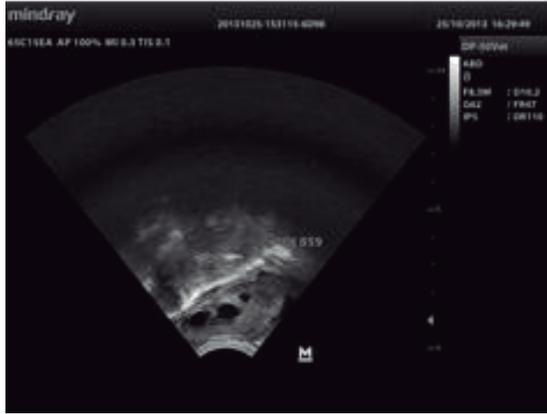
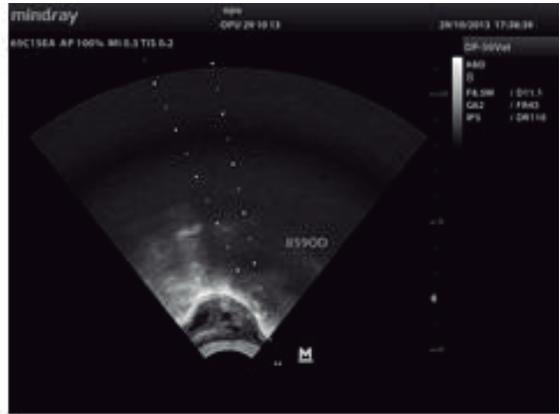
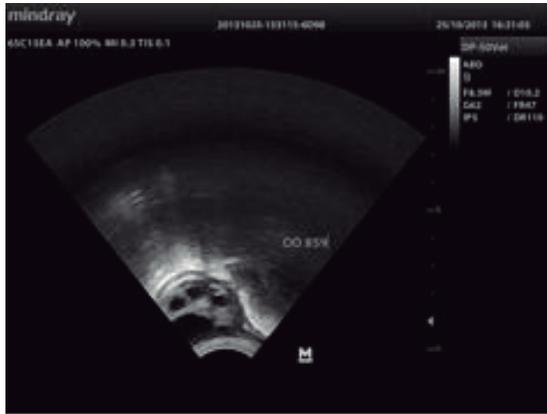
6)



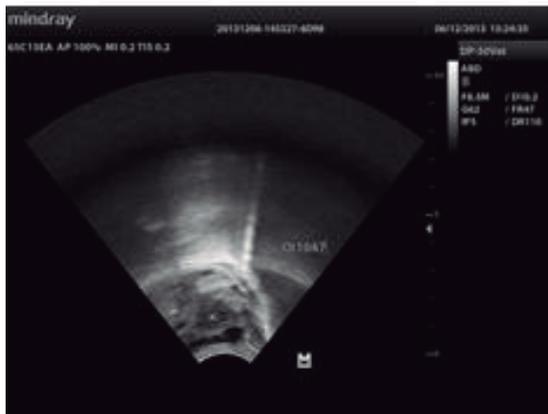
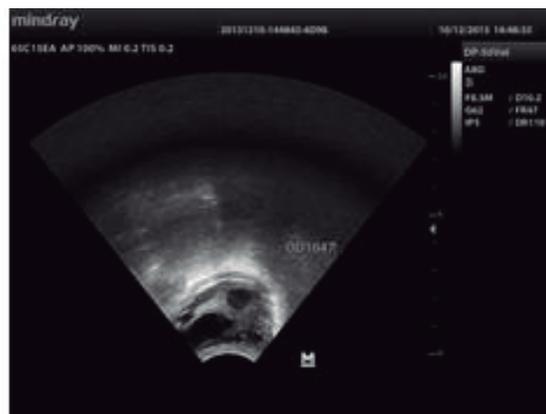
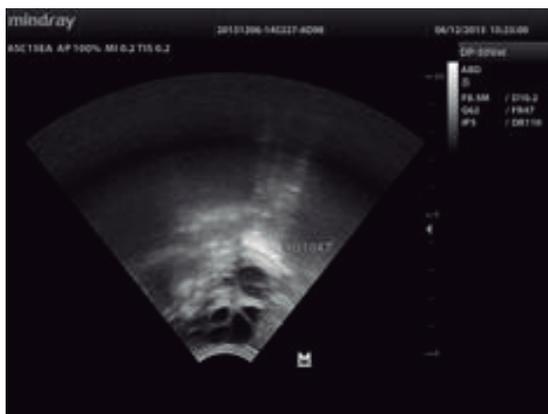
7)



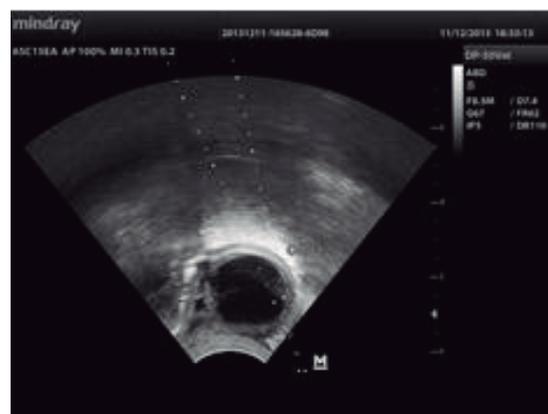
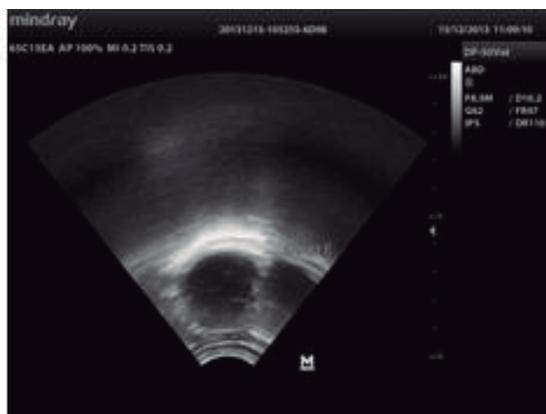
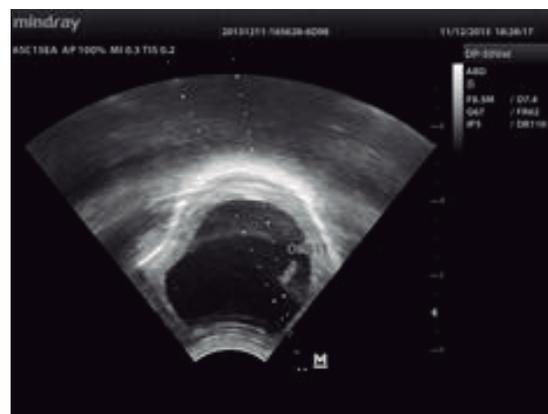
8)



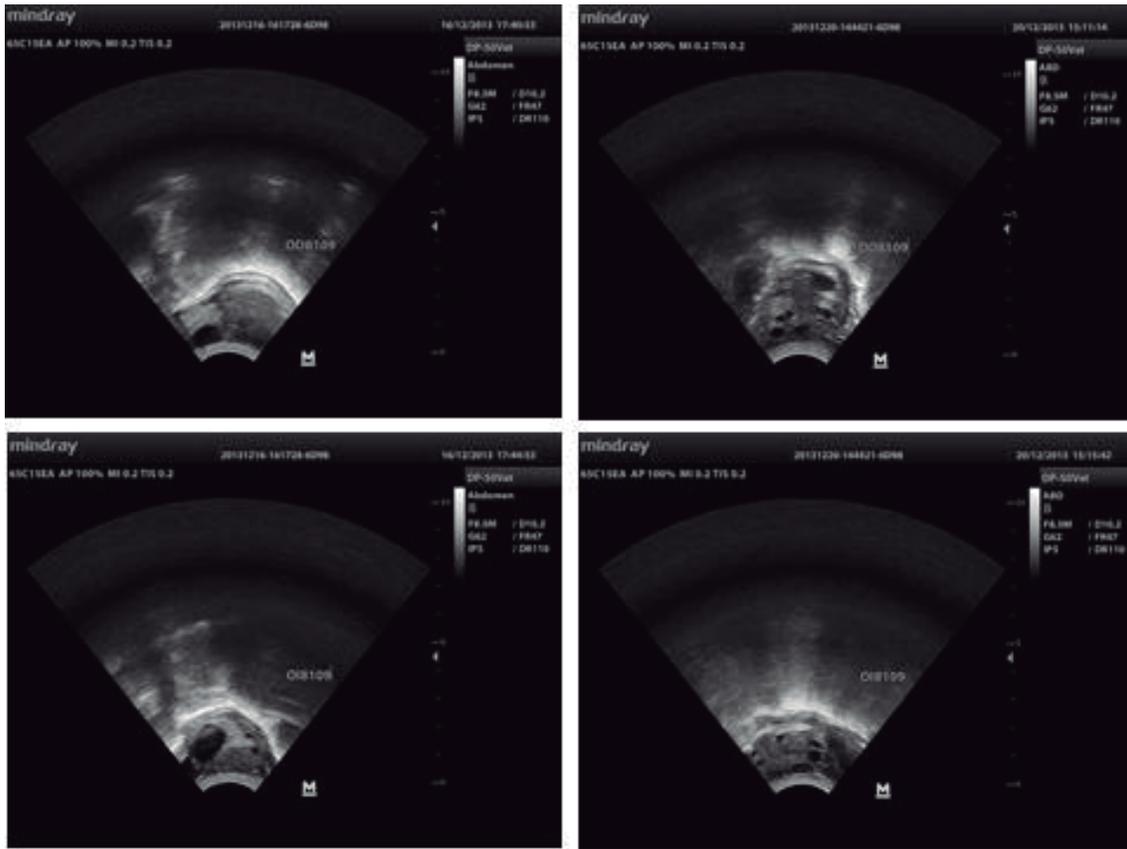
9)



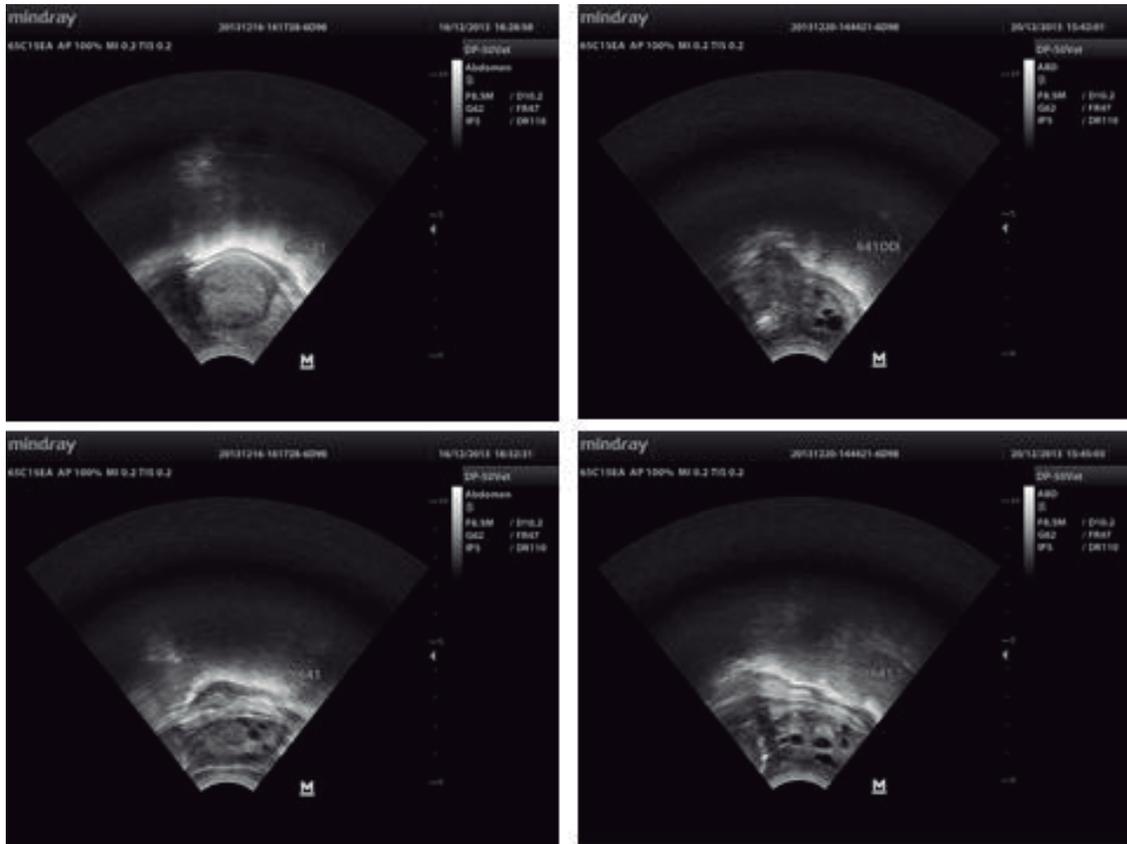
10)



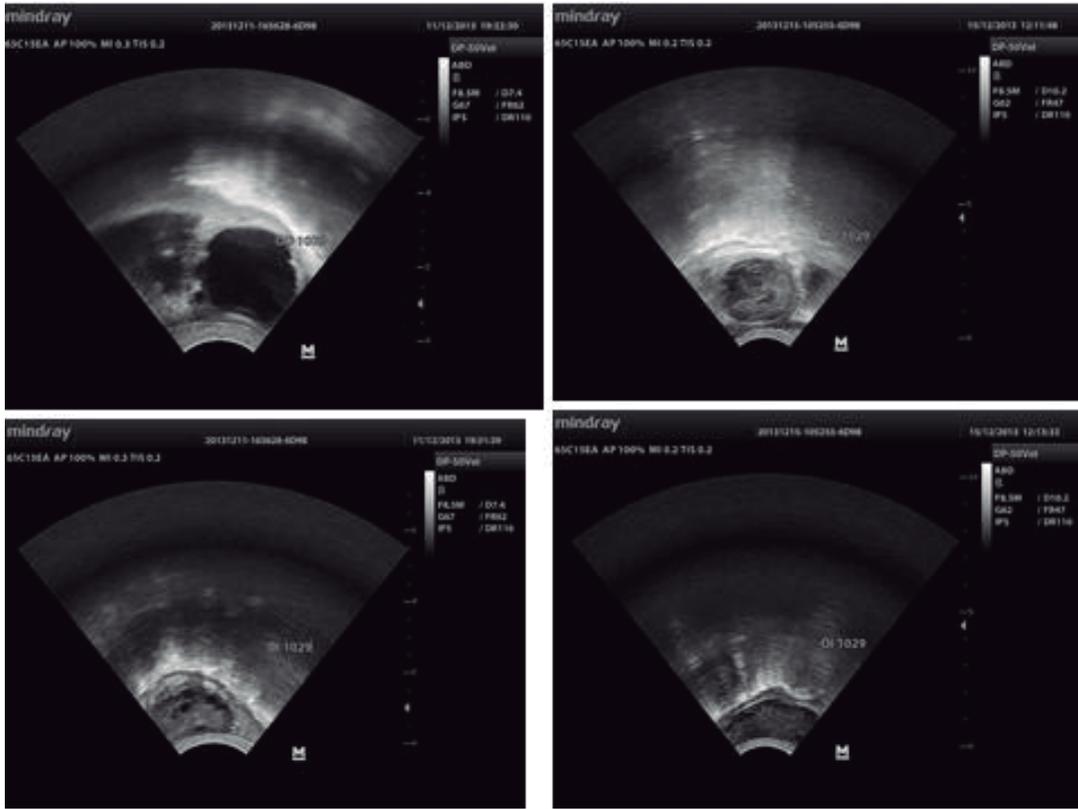
11)



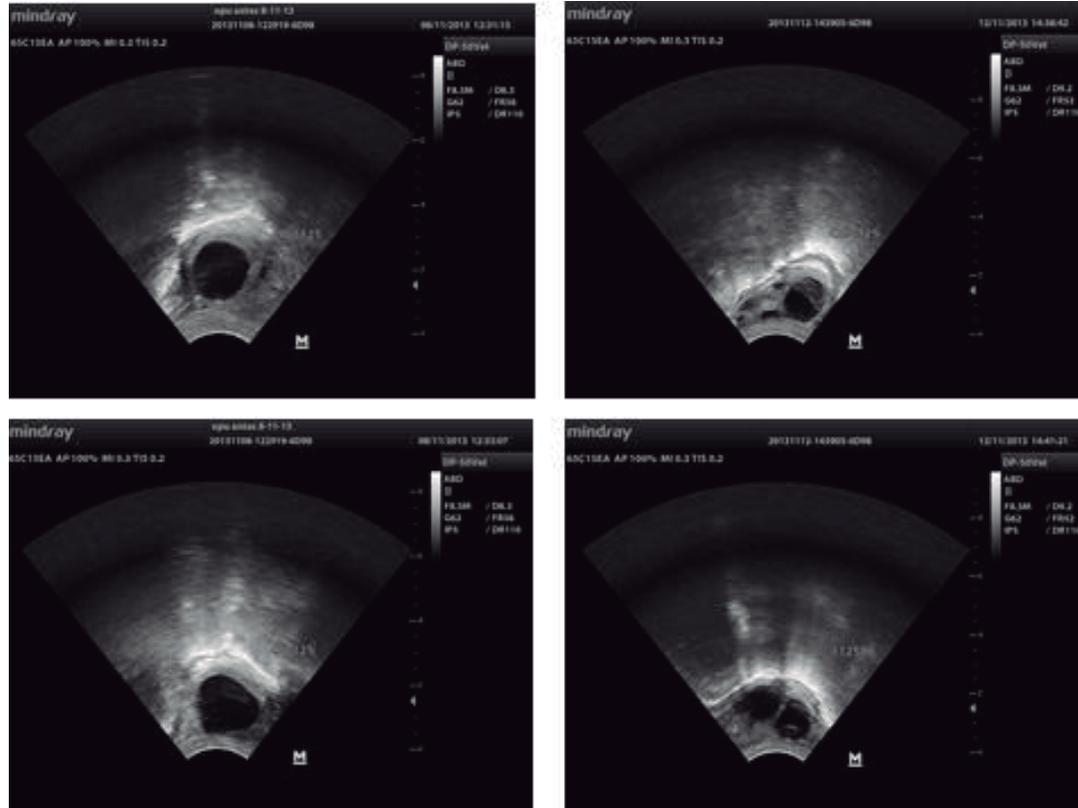
12)



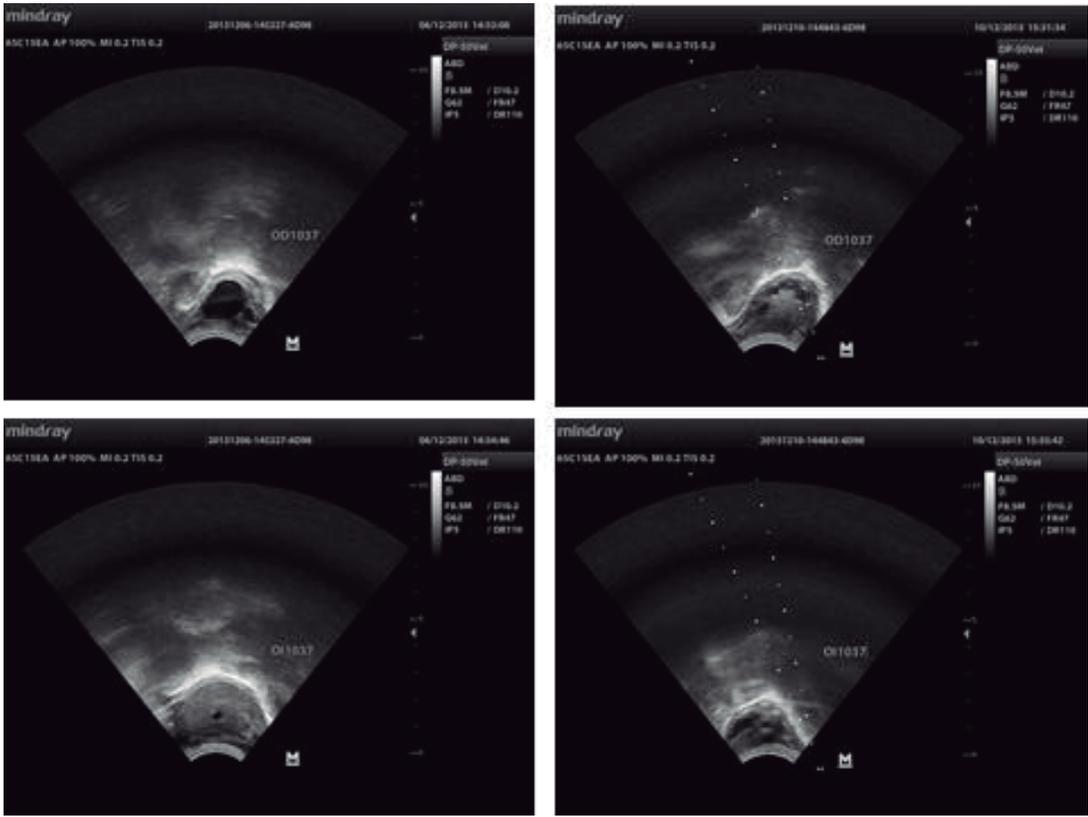
13)



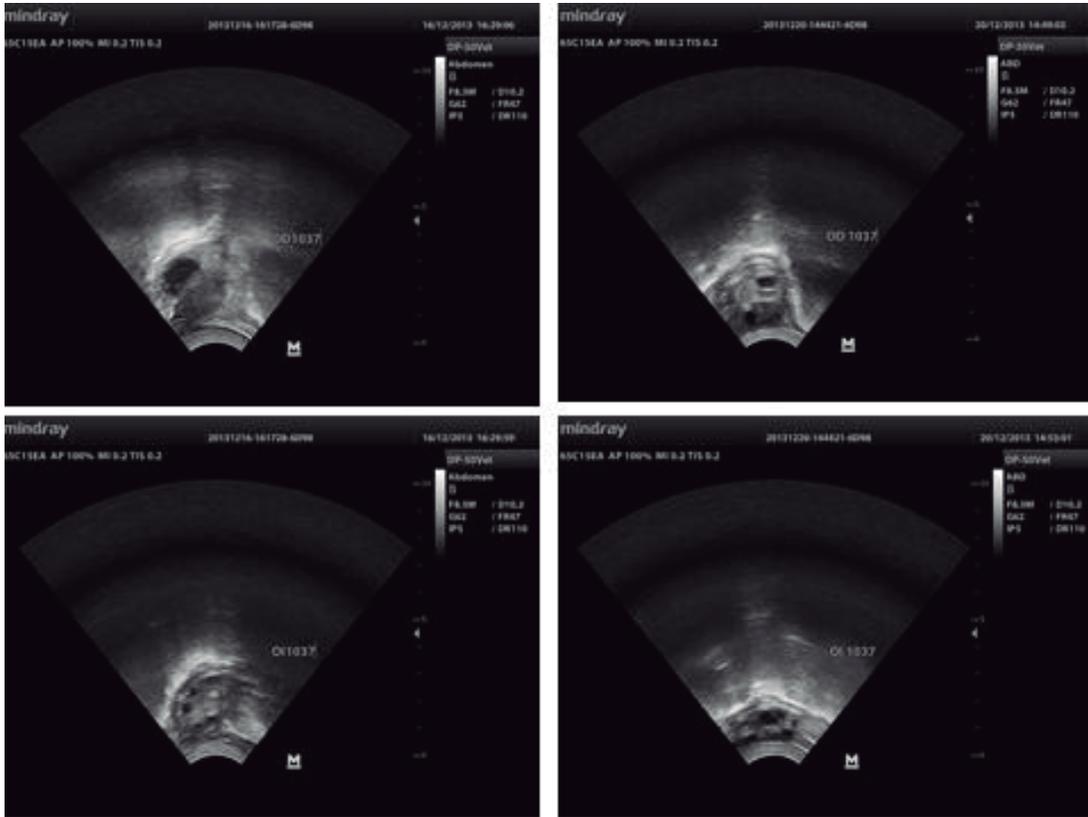
14)



15)



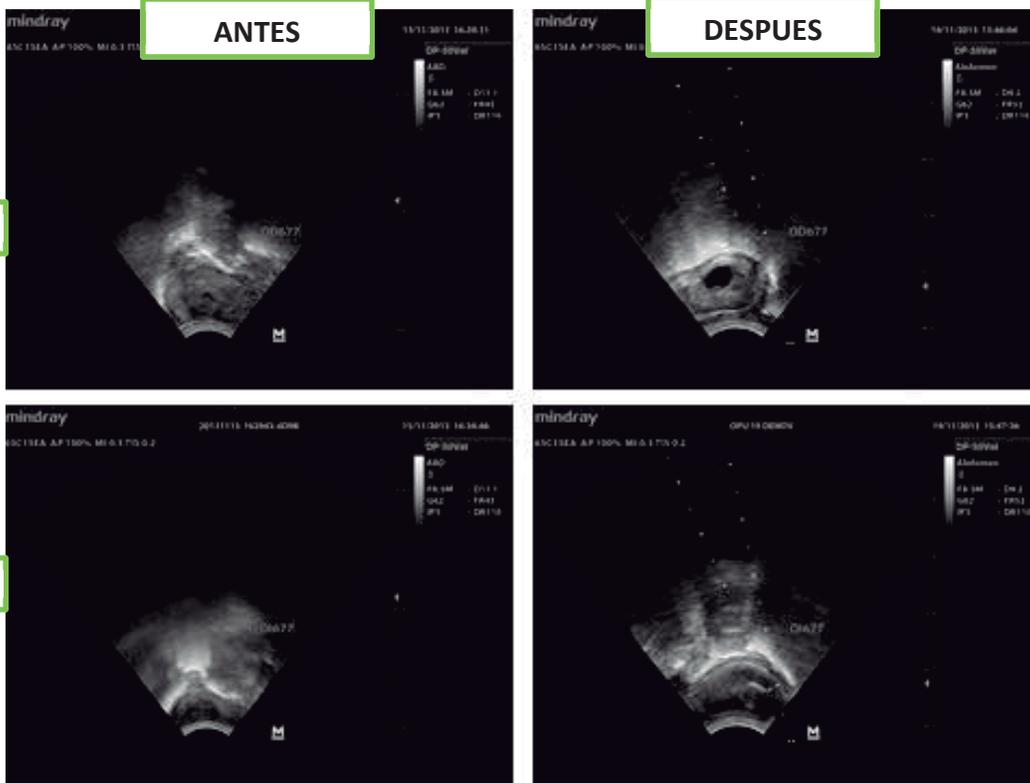
16)



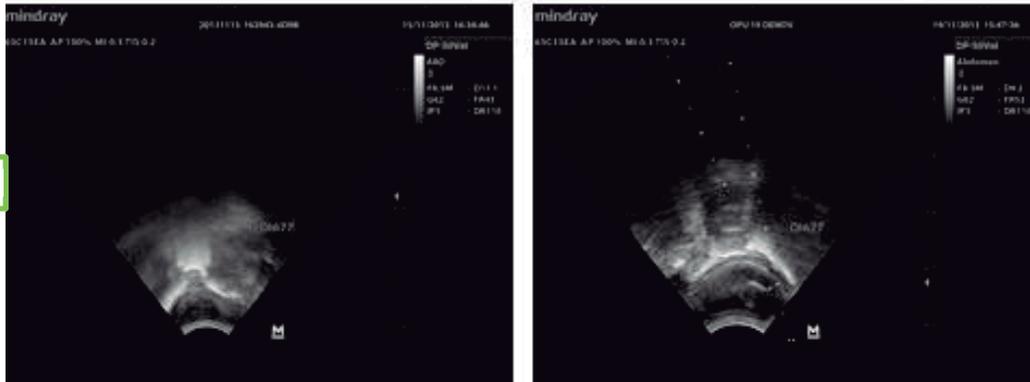
## ANEXO V: IMÁGENES DEL TRATAMIENTO CON GNRH

1)

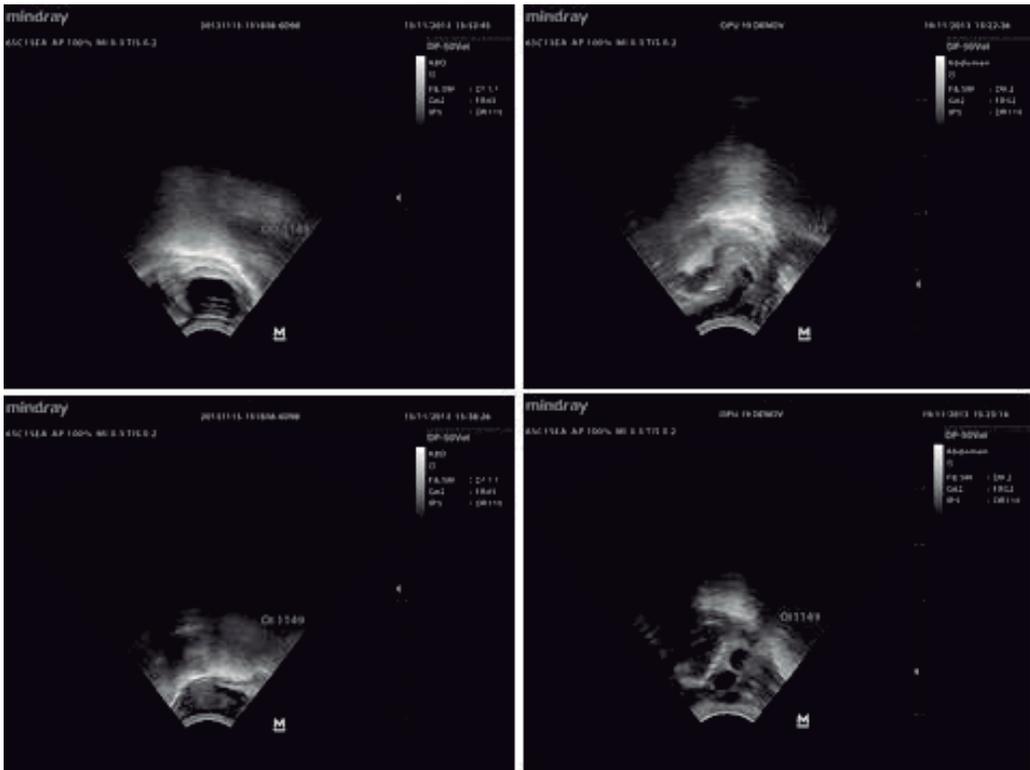
OV. DERECHO



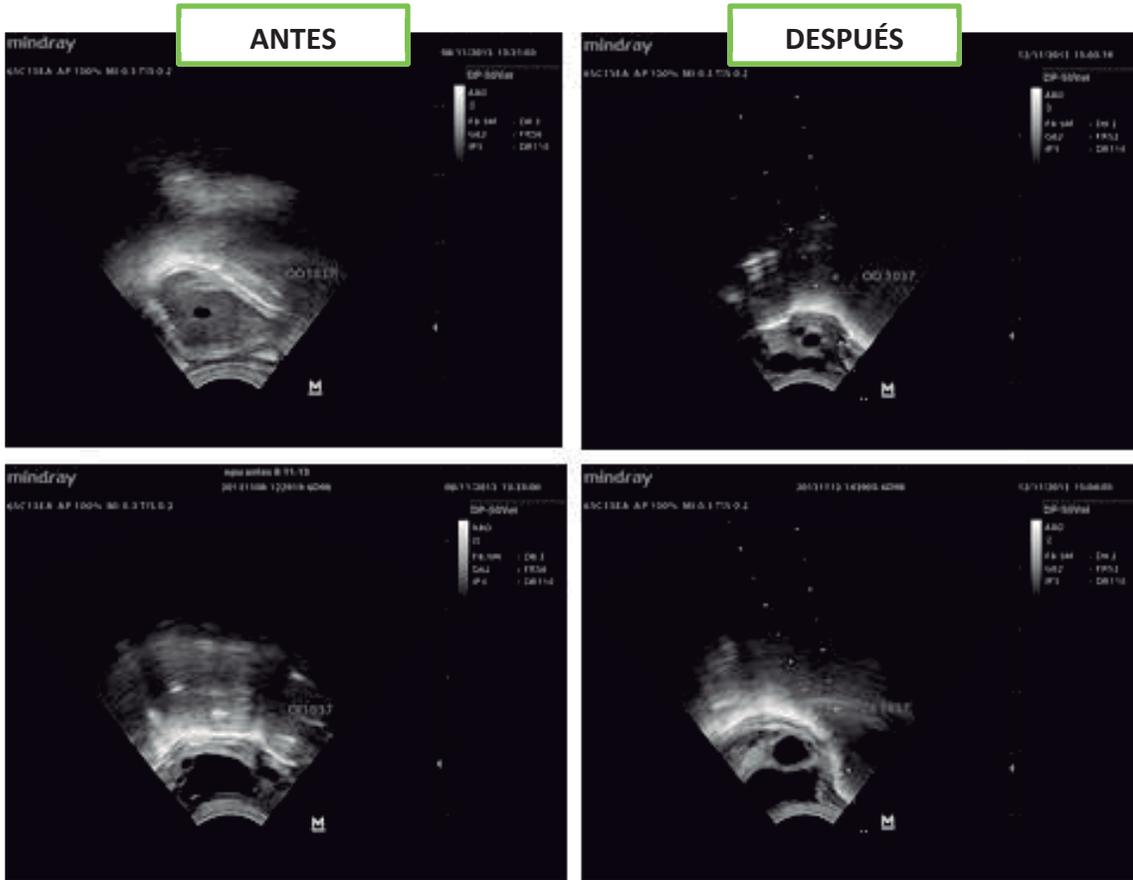
OV. IZQUIERDO



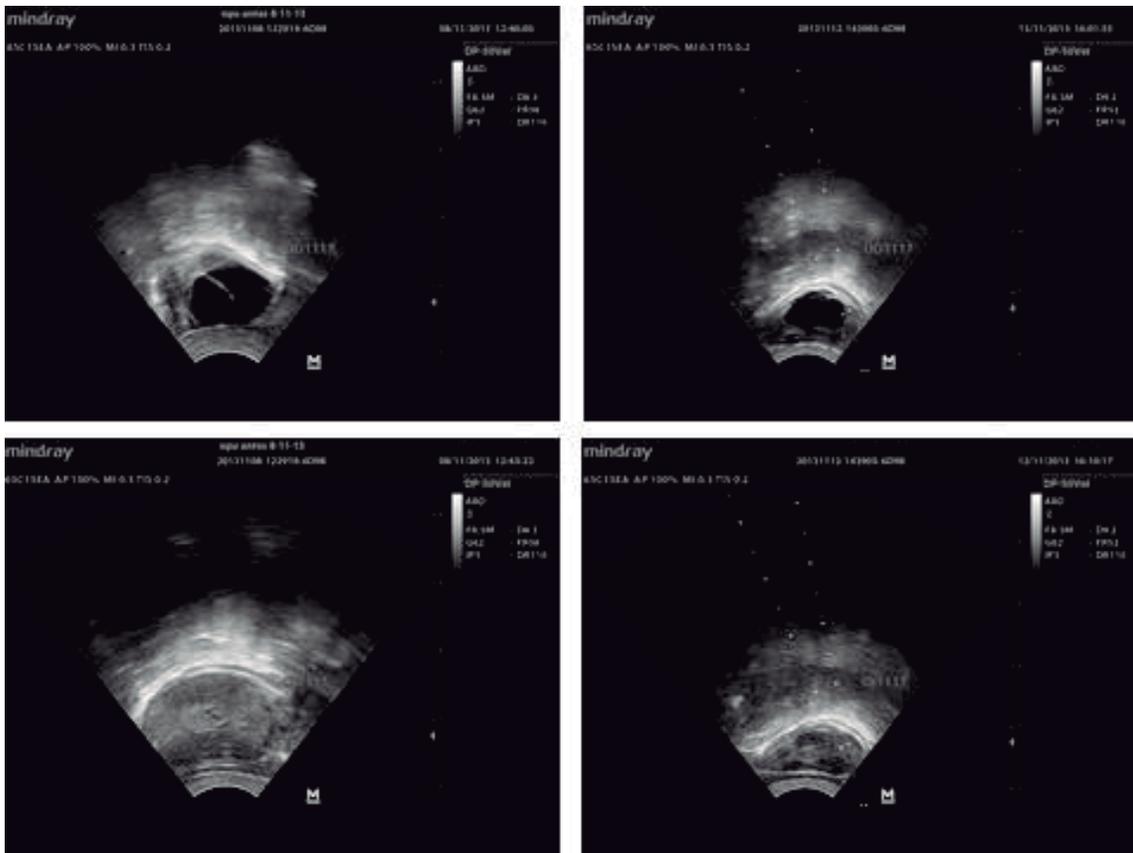
2)



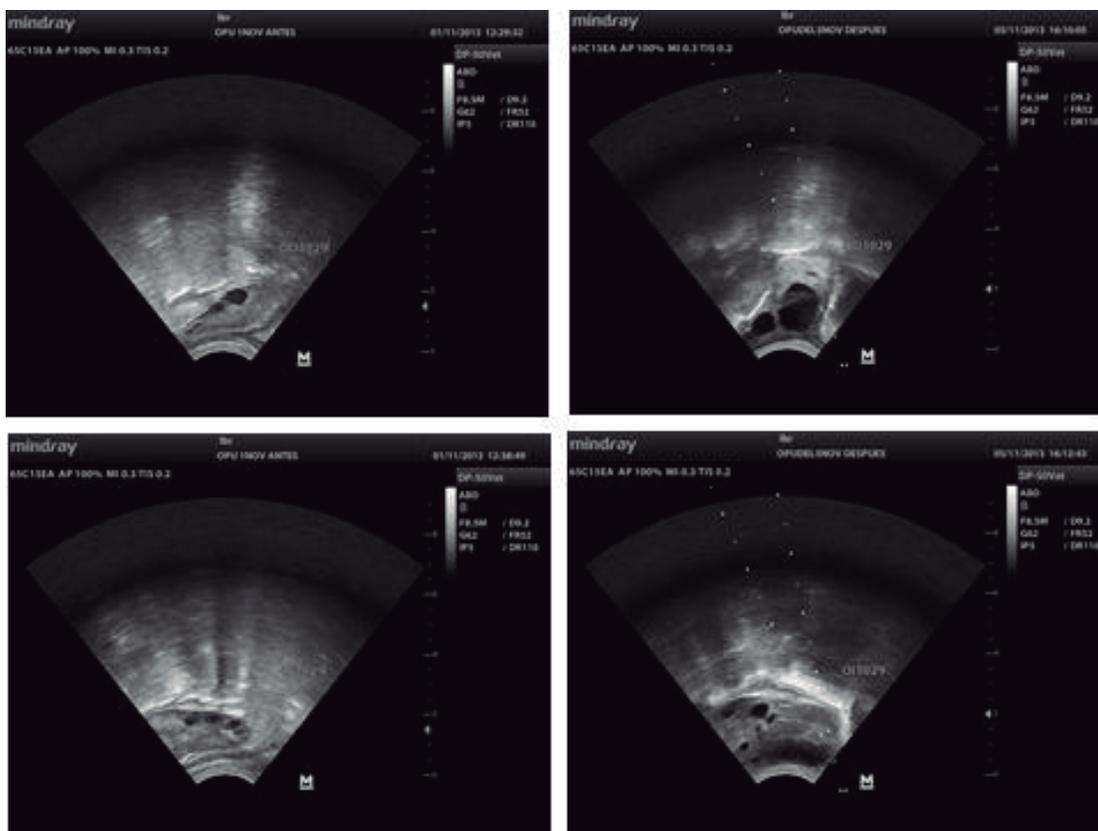
3)



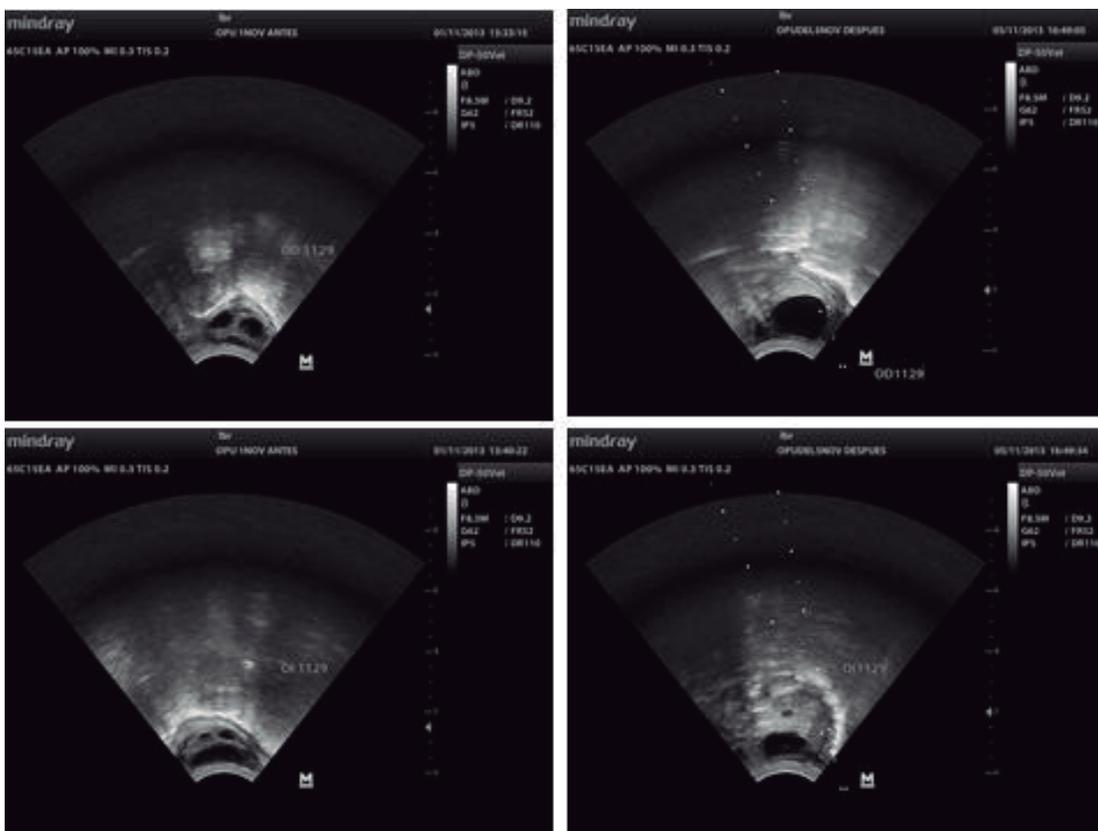
4)



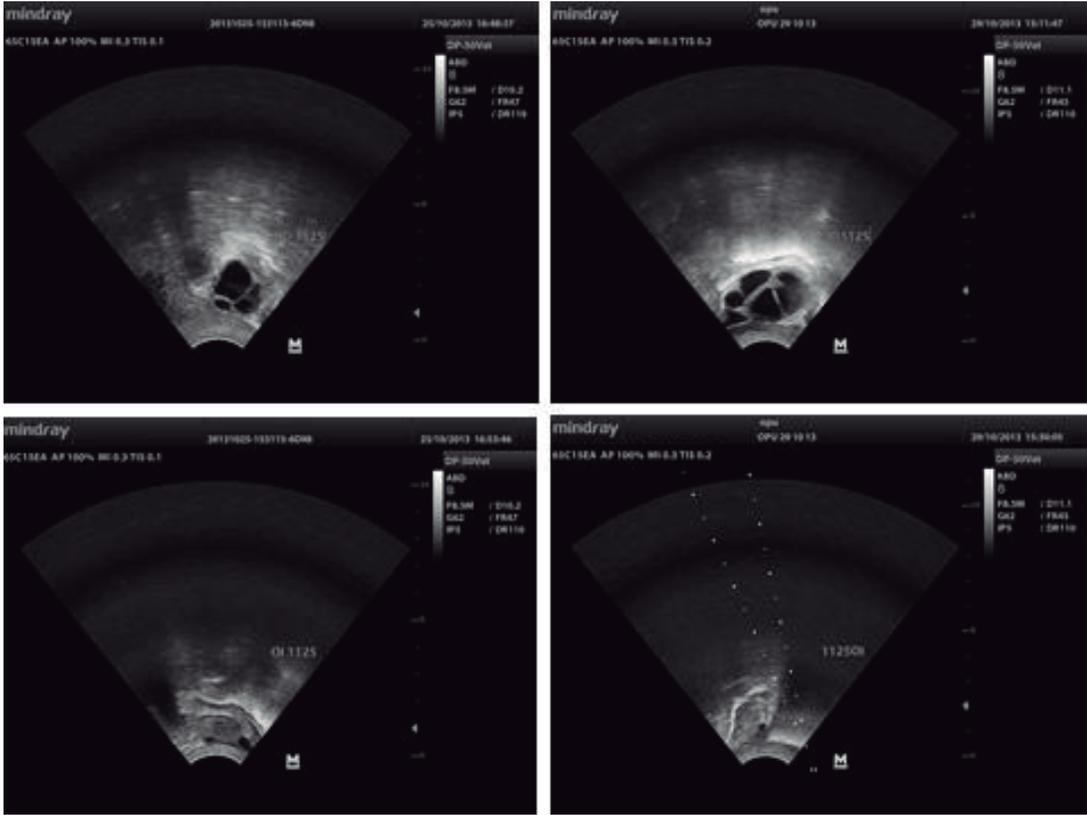
5)



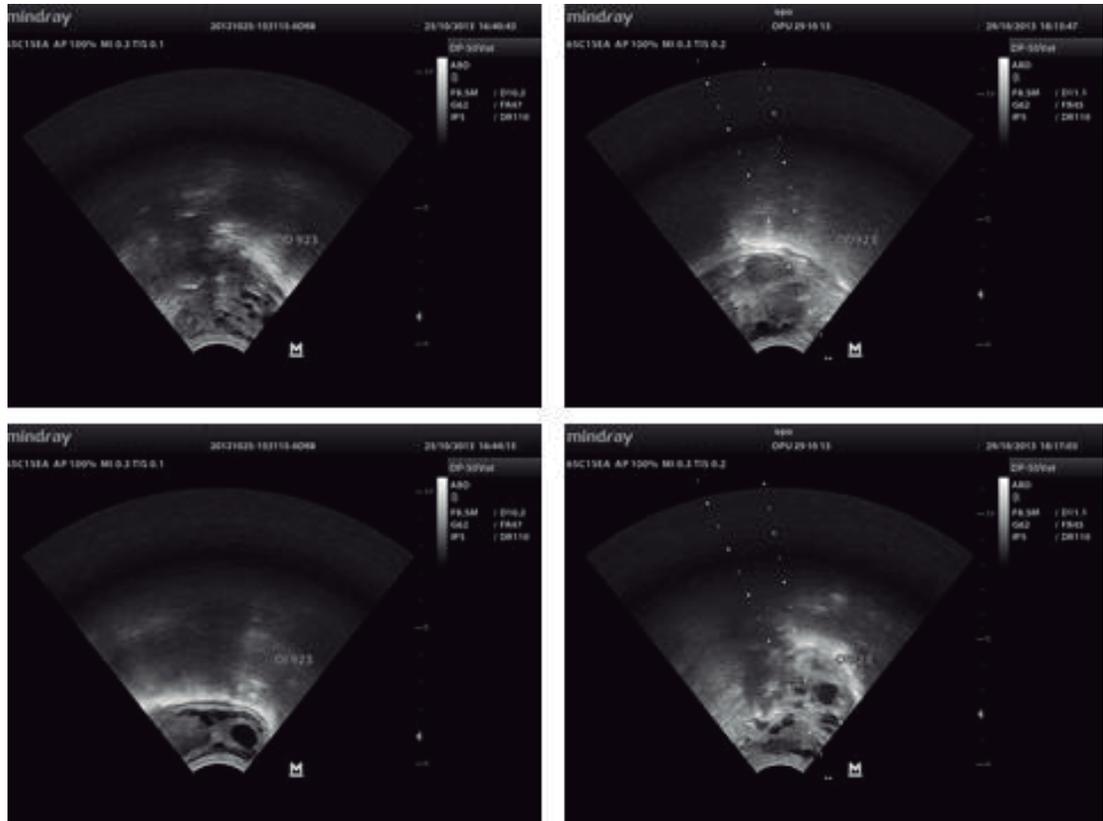
6)



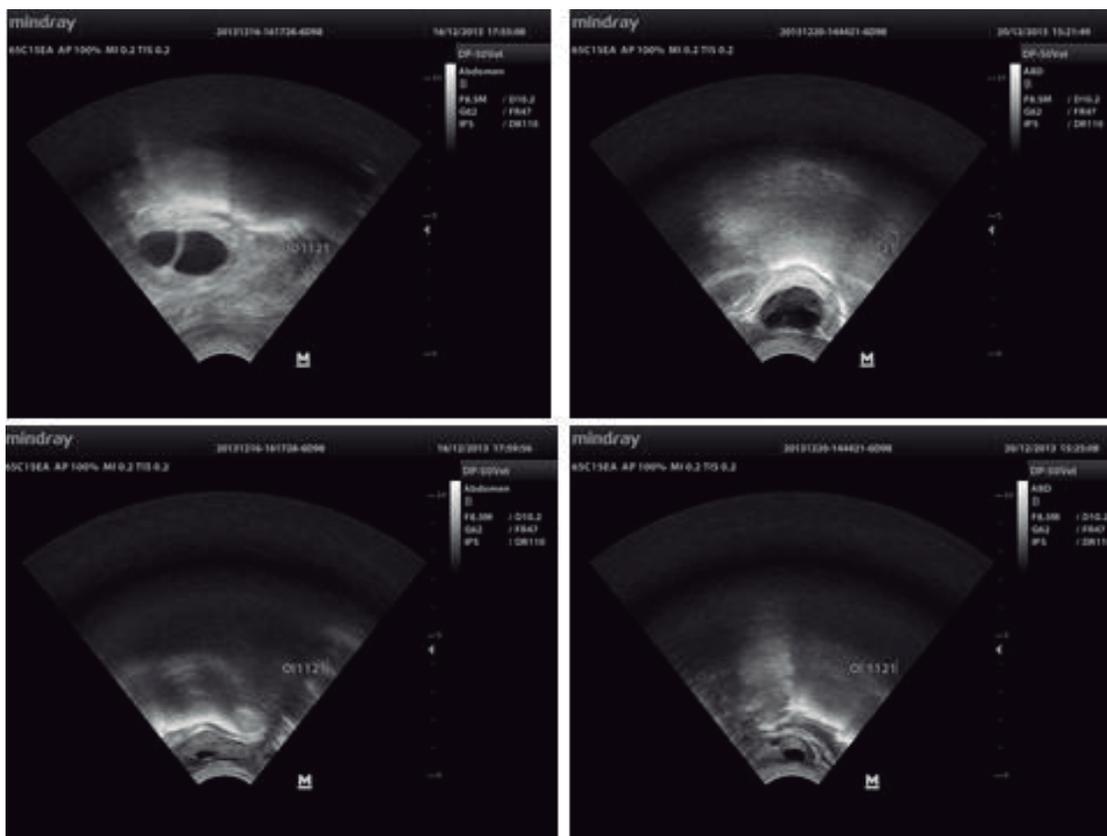
7)



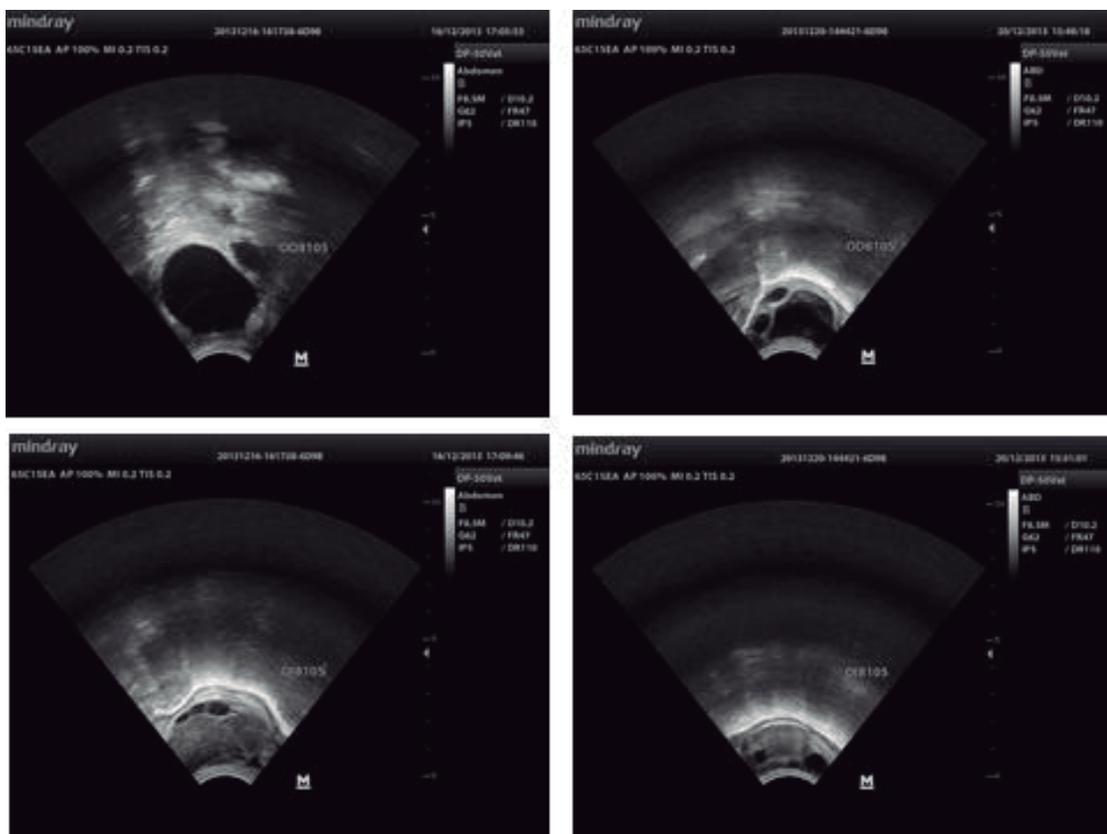
8)



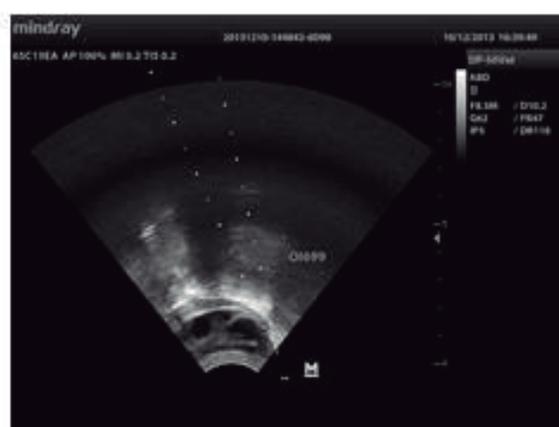
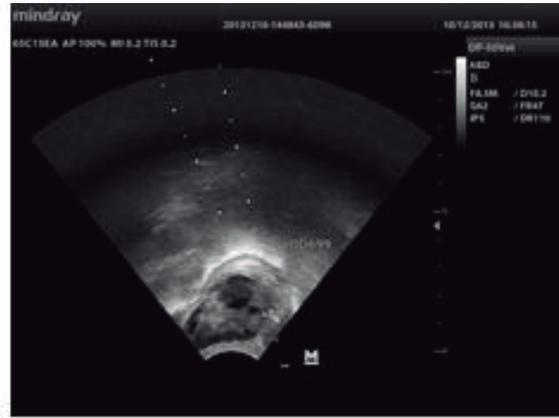
9)



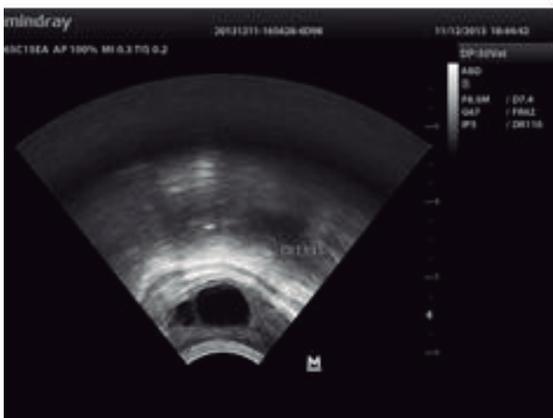
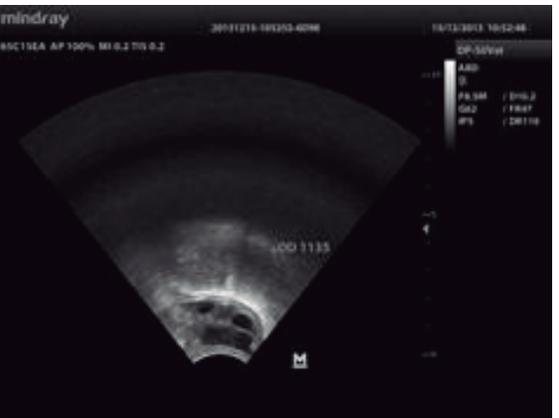
10)



11)



12)



13)

