

Resultados comparativos entre un preparado de FSH-p (Pluset) y la eCG administrada por vía aorta abdominal en un programa de transferencia de embriones en vacas lecheras de la Comarca Lagunera.



JUAN LUIS MORALES CRUZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista.

**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna-División de Ciencia Animal
Torreón, Coahuila. Diciembre de 2001.**

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

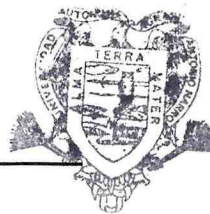
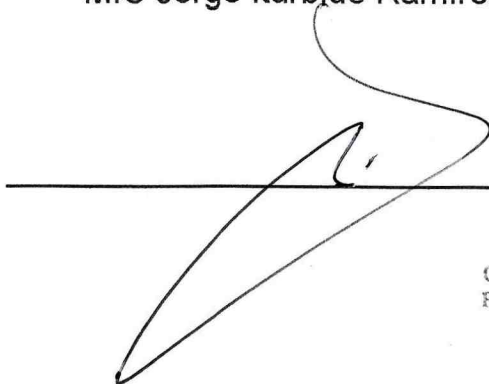
Dr. Carlos Leyva Orasma



PRESIDENTE

COORDINADOR DE LA DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

M.C Jorge Iturbide Ramírez



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
UAAAN - UL


Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

COMITÉ PARTICULAR

PRESIDENTE: 
_____ **Dr. Carlos Leyva Orasma**

VOCAL: 
_____ **Dr. Carlos A. Elizondo Vázquez**

VOCAL: 
_____ **M.C. Jorge Iturbide Ramírez**

VOCAL SUPLENTE: 
_____ **M.C. Sergio T. Barraza Araiza**

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro señor.

Por darme la vida, estar siempre conmigo y permitir poder realizar todos mis objetivos.

A mi universidad.

Mi Alma, Terra, Mater. Por darme la oportunidad de terminar mi carrera profesional y superarme personalmente.

A mi asesor. Dr. Carlos Leyva Orasma.

Por la dedicación que tuvo para la realización de este trabajo, por todos los conocimientos que me ha brindado, **por su amistad**. Gracias Maestro.

Al Dr. Carlos A. Elizondo Vázquez.

Por todo el apoyo e interés brindado a lo largo de mi carrera y en la culminación de este trabajo.

A mi tía. Profra. Luz Maria Cruz Ibarra.

Mi segunda madre. Por darme el ejemplo de fuerza y tenacidad.

A mis hermanas. Berthalina, Cristina y Yadhira. Por ser parte esencial en mi vida.

A mis amigos.

Alonso, Eleazar, Fredy, Paco, Pepe, Silver. Por todos los buenos momentos que hemos disfrutado juntos.

DEDICATORIAS

A MI ABUELITA q.e.p.d.

Sra. Cristina Ibarra Flores.

Por el cuidado y amor que siempre me diste y estar aún conmigo. Que Dios te bendiga.

A MIS PADRES.

Profr. Juan Maria Morales Cruz y Sra. Rosa Cruz Ibarra.

Por el amor que me han dado, los sabios consejos que me han conducido por el camino del bien y ser mi ejemplo de superación.

A MIS PRIMOS.

M.V.Z. Valentín Noriega Morales y M.V.Z. Ana Cerón Cuervo.

Por el apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida y ser parte importante en mi formación profesional.

A MI NOVIA.

Ing. BQ. Cristina Esparza Alcalá.

Por el amor que nos tenemos y ser mi motivo de seguir adelante. Y espero poder hacerte feliz el resto de nuestras vidas.

RESUMEN

Resultados comparativos entre un preparado de FSH-p (Pluset) y la eCG administrada por vía aorta abdominal en un programa de transferencia de embriones en vacas lecheras de la Comarca Lagunera.

POR:

Juan Luis Morales Cruz.

Medicina Veterinaria y Zootecnia

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón, Coahuila, Diciembre de 2001.

ASESOR:

Dr. Carlos Leyva Orasma

Palabras claves: eCG, FSH, Calidad embrionaria, Superovulación, Respuesta superovulatoria.

Con el objetivo de comparar la respuesta superovulatoria y algunos parámetros embrionarios entre la gonadotropina coriónica equina (eCG) administrada por vía aorta abdominal y un preparado de FSH (Pluset) se seleccionaron 18 vacas Holstein de la Comarca Lagunera, en condiciones similares de explotación y manejo, dividiéndolas en 2 grupos, uno de 10 (grupo A) y otro de 8 (grupo B) animales respectivamente. Todas las hembras fueron sincronizadas con dos aplicaciones de $PgF2\alpha$, en réplica de

dos inyecciones, recibiendo cada grupo un de tratamiento superovulatorio diferente, las vacas del grupo A recibieron FSH-p (Pluset, Serono) en dosis decrecientes (1000 U.I.de FSH y 1000 U.I. de LH) durante 4 días por inyección intramuscular. A las del grupo B se les aplicó 2000 U.I. de eCG (Folligon, Intervet) por vía aorta abdominal. En todas las hembras el tratamiento superovulatorio se comenzó en la fase media luteal (día 11 del ciclo), la inyección de $\text{PgF2}\alpha$, para la inducción de la luteólisis se realizó a las 60 horas de haber comenzado tratamientos. El lavado del útero para la obtención de los embriones se realizó por el método no quirúrgico, a los siete días posteriores a la inseminación artificial.

Se concluye que aunque se deben investigar varias interrogantes, todo parece indicar que la administración de la gonadotropina coriónica equina administrada por la vía aorta abdominal puede ser una mejor alternativa para superovular vacas y abaratar costos de esta faceta de la transferencia de embriones.

ABSTRAC

Comparative results between a preparation of FSH-p (Pluset) and the eCG administered for via abdominal aorta in a program of embryo transfer in cows milkcows of the Comarca Lagunera.

BY:

JUAN LUIS MORALES CRUZ.

Medicine Veterinary and Zootecnia

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

Torreón, Coahuila. December of 2001

ADVISOR:

Dr. Carlos Leyva Orasma.

Key Words: eCG, FSH, Embryo quality, Superovulation, Superovulatory answer.

With the objective of comparing the superovulatory answer and some embryonic parameters, between the equine chorionic gonadotropin (eCG) administered for via abdominal aorta and a preparation of FSH (Pluset) 18 cows Holstein were selected of the Comarca Lagunera, in similar conditions of exploitation and handling. All the females were synchronized with two applications of $PgF2\alpha$, in replicates of two injections, receiving each one an outline of different superovulatory treatment, one of them 2000 U.I. received,

of eCG for vía abdominal aorta and the other FSH-p (Pluset) in decreasing doses 1000 U.I. of FSH and 1000 U.I. of LH) during 4 days injection intramuscular, in all the females the treatment superovulatory you began in the phase half luteal (day 11 of the cycle) the injection of $\text{PgF2}\alpha$, for the induction of the luteolysis was carried out at the 60 hours of having begun both treatments. The washing of the uterus for obtaining of the embryos was carried out for closed circuit the seven days of the artificial insemination.

It is concluded that, although several questions still be investigated, it seems that the administration of the equine chorionic gonadotropin administered via aorta abdominal can be an alternative for superovulation to reduce costs of embryo transfer

LISTA DE ABREVIATURAS

AA.	Aminoácidos.
Anti.	eCG.- Antisuero para la gonadotropina coriónica equina
CIMA.	Centro de Investigación y Mejoramiento Animal.
C.L.	Cuerpo lúteo.
E2.	Estradiol.
ECG.	Gonadotropina coriónica equina.
EMB N.T.	Embriones no transferibles.
E.T.	Embriones transferibles.
FOL.	Folículo.
FSH.	Hormona estimulante de los folículos.
FSH-p.	Hormona estimulante de los folículos de origen porcino.
GnRH.	Hormona liberadora de gonadotropinas.
HCG.	Gonadotropina coriónica humana.
hMG.	Gonadotropina menopáusica humana.
I.A.	Inseminación artificial.
LH.	Hormona luteinizante.
mg.	Miligramos.
ml.	Mililitros.
mm.	Milímetros.
ng.	Nanogramos.
P4.	Progesterona.
PBS.	Solución fosfatada buferada.
PgF2 α .	Prostaglandina F2alfa.
PMSG.	Gonadotropina del suero de yegua preñada.
PVP.	Polivinilpirrolidona.
RESP.	Respuesta positiva al tratamiento.
r.	Correlación

RIA. Radio inmunoanálisis.
T.E. Transferencia de embriones.
TOT. EMBR.- Total de embriones.
U.I. Unidades internacionales.

IV. Resultados y discusión.....	27
V. Conclusiones.....	31
VI. Literatura citada.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág
1	Esquema de tratamiento con FSH-p (Pluset).....	25
2	Calidad de la respuesta superovulatoria.....	27
3	Parámetros embrionarios.....	29
4	Porcentaje por calidad de los embriones transferibles....	29

I. INTRODUCCIÓN.

En América Latina y particularmente en México la tecnología de la transferencia de embriones (T.E.) no ha sido lo suficientemente difundida para utilizarla como una práctica rutinaria, las razones, entre otras, pueden estar dadas por problemas económicos, desconocimiento de los beneficios de su aplicación, manejo inadecuado de los programas reproductivos convencionales, alimentación deficiente y a la competencia entre los especialistas que sin difundirlo, han tenido la oportunidad de adquirir conocimientos y habilidades para su aplicación (Leyva *et al.*, 1999).

Entre las limitantes que tiene la aplicación práctica de la T.E. en la producción animal, se encuentran los altos costos de su aplicación (Leyva *et al.*, 1998). Es por ello que hay que buscar nuevas alternativas que abaraten sus costos. las dos principales gonadotropinas utilizadas en los programas comerciales de la T.E. son los preparados de hormona folículo estimulante (FSH) y la gonadotropina coriónica equina (eCG), sin embargo, esta última hormona, a pesar de tener algunas ventajas con relación a los preparados de FSH, no es utilizada en algunos países por diferentes razones, entre ellas se encuentra la pobre proporción de embriones de buena calidad dada fundamentalmente por su larga vida en sangre cuando se administra por vía intramuscular, promoviendo el crecimiento continuo de nuevos folículos, aumentando así los niveles de 17 beta estradiol (Alfuraiju *et al.*, 1993), también por esta razón es que en la mayoría de los esquemas de tratamiento superovulatorio con eCG se utilizan anticuerpos después de su aplicación, para neutralizar este efecto residual.

Hafez (1989) cita que la primera referencia existente sobre la eCG, data de 1930 y que fue realizada por Cole y Hart con la hormona que

anteriormente era conocida como gonadotropina del suero de yegua preñada (Pregnant Mare Gonadotrophin; PMSG) por que se pensaba que las células secretoras de esta hormona se encontraban en las copas endometriales de origen materno, pero ahora se sabe con certeza que son las células del trofoblasto las que invaden el endometrio uterino, siendo estas las responsables de secretar dicha hormona, estos investigadores administraron suero de yegua gestante a ratas prepúberes y observaron que producía madurez sexual acompañada de un aumento del peso ovárico.

Sin embargo, Holy (1987) reporta que para provocar la superovulación en ratas fue aplicada la eCG por primera vez en el año de 1940 por Cole y Goss obteniéndose resultados positivos, esto abrió campo a toda una línea de aplicación de esta gonadotropina en los tratamientos de inducción superovulatoria.

En cuanto a la FSH, que es producida por las células basófilas del área medular de la adenohipófisis, su función biológica fundamental es estimular el desarrollo folicular en los estadios preovulatorios, incrementando la síntesis de las proteínas especialmente en las células de la teca interna (Baird, 1972). Su acción estimulante folicular se confirma con el incremento en el número de pequeños folículos después del estro, como resultado del efecto de la descarga preovulatoria de esta hormona y su capacidad de prevenir la atresia folicular, mediante una estimulación de la producción de los receptores de ésta en las células de la granulosa (Leyva *et al.*, 1999).

Podría pensarse que si la eCG se administra por la vía arterial a través de la aorta abdominal posterior, cuyas ramas irrigan a los ovarios, que deben tener receptores para las gonadotropinas provocados por los niveles

de progesterona del cuerpo lúteo de la ovulación precedente, esta gonadotropina debe provocar superovulación y ser rápidamente metabolizada no permaneciendo así por un largo tiempo en sangre.

Teniendo en cuenta estos argumentos, surge la inquietud de comparar la respuesta superovulatoria y algunos parámetros embrionarios entre la eCG administrada por vía aorta abdominal y un preparado de FSH (Pluset) comúnmente utilizado en los tratamientos superovulatorios para bovinos administrado intramuscularmente.

Basándose en lo antes descrito en esta investigación se determinaron los siguientes objetivos:

1.1 Objetivo General

Conocer si la administración de eCG por vía aorta abdominal, es capaz de producir una superovulación en hembras bovinas sin la gran variabilidad de la calidad embrionaria que se obtiene cuando es administrada por vía intramuscular.

1.2 Objetivo Específico

Valorar comparativamente con el método de superovulación tradicional con FSH la administración de eCG por vía aorta abdominal en cuanto a respuesta superovulatoria y calidad embrionaria.

1.3 Hipótesis

La eCG administrada por vía arterial (aorta abdominal) provoca superovulación y por ser eliminada mucho más rápidamente que cuando es administrada por vía intramuscular, no tiene oportunidad de seguir estimulando la población folicular, ni de incrementar los niveles de 17β estradiol sanguíneo (que es el argumento fundamental por lo que se ve afectada la calidad embrionaria) y además causa un incremento en el número de embriones transferibles.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. - Dinámica folicular en la vaca.

El proceso de crecimiento continuo y la regresión de folículos antrales, que culmina con el desarrollo de folículos preovulatorios, se conoce con el nombre de dinámica folicular. (Leyva *et al.*, 1999).

Murphy y Pescador (1997) afirman, que durante cada ciclo estral en la vaca se desarrollan de dos a tres oleadas foliculares, de las cuales el folículo destinado a ovular se desarrolla en la última onda de crecimiento. En la dinámica folicular destacan tres procesos importantes, que son crecimiento, selección y dominancia. El crecimiento es el proceso en el que un grupo de folículos, pasando de inactivos a activos inicia su desarrollo, fenómeno que parece estar dado por factores aún desconocidos y no por la estimulación de gonadotropinas hipofisarias. La selección folicular consiste en el proceso mediante el cual un folículo es escogido y a la vez impide su atresia, por la competencia potencial para lograr la ovulación. El proceso de

la dominancia consiste en la forma en que el folículo predomina mediante la inhibición de nuevos crecimientos de los otros grupos de folículos, causando regresión de sus subordinados.

2.2. - Elementos importantes en la superovulación.

La superovulación es el término más comúnmente empleado para referirse a la inducción de las ovulaciones múltiples (ya que la vaca es un animal uníparo y por lo tanto generalmente libera un solo óvulo durante el ciclo estral). Gracias a la incorporación de métodos hormonales y mecánicos para la sincronización ovárica dentro de los esquemas de tratamientos sobreestimuladores, se ha podido incrementar la obtención de material germinal (ovocitos o embriones) y reducir así la variabilidad que existe en animales tratados en diferentes fases del desarrollo folicular (Adams, 1994).

La superovulación constituye uno de los elementos más importantes, pues la eficiencia de su aplicación práctica depende en gran medida de la producción de embriones transferibles que se obtengan de cada hembra superovulada, actualmente, en el ámbito internacional la superovulación en la vaca se basa en la administración exógena de varias gonadotropinas, encontrándose entre las más utilizadas la eCG y la FSH-p (Leyva *et al.*, 1999).

Los primeros experimentos positivos con el transplante ovular en la coneja se realizaron en el año de 1890 en Cambridge por Heape (citado por Holy, 1987) lo que sirvió de estímulo a numerosos investigadores para

continuar profundizando los conocimientos en esta problemática, sobre todo en animales de laboratorio.

Desde 1936 Warwick *et al.*, trabajaron experimentalmente en el trasplante ovular en las ovejas y en las cabras y a partir de 1950 este método fue realizado ya en condiciones prácticas. Willet *et al.*, (1951) llevaron a cabo un trasplante ovular exitoso en la vaca y en el transcurso de los últimos años se han reportado numerosas informaciones sobre esto procedentes de distintos centros científicos del mundo (citados por Holy, 1987).

2.3. - Diferencia entre los tratamientos superovulatorios con preparados de FSH y eCG.

Tanto la gonadotropina coriónica equina como la hormona estimulante de los folículos presentan sus ventajas e inconvenientes propios, que hacen la elección de una de ellas como agente estimulante ideal, un tema de interesantes controversias (Varizanga, 1993). Este mismo autor afirma que uno de los principales problemas en el tratamiento superovulatorio inducido con FSH es, el número de aplicaciones a suministrar, pues la vida media en sangre de esta hormona es muy corta (110 minutos) por lo que para una estimulación superovulatoria resulta necesario el suministro repetido de la misma, para mantener un nivel continuo en sangre que garantizará la acción de ésta sobre los folículos ováricos.

Mientras que la eCG por su larga vida en sangre permite administrarla en una sola dosis, obteniéndose el desarrollo folicular deseado. Así disminuye el efecto estresante del tratamiento continuo con

FSH. Pero esta misma ventaja que presenta la eCG es la principal causa de su desventaja, ya que su larga permanencia en sangre produce desórdenes en la fase de maduración de los folículos (Bever y Dieleman, 1987).

En cuanto a la respuesta ovárica, superovulatoria y calidad embrionaria Varizanga (1993) encontró que el tratamiento con FSH-p fue superior al de eCG.

La eCG en comparación con la FSH es menos costosa y su aplicación requiere menor número de inyecciones lo que hace a este método más sencillo en comparación con las ocho inyecciones necesarias en los tratamientos con FSH, aunque esta no tiene la desventaja de seguir estimulando a la población folicular como es el caso de la eCG provocando un estatus inadecuado para los embriones derivando en una pobre calidad embrionaria al momento del lavado (Boland *et al.*, 1991).

2.4. - Endocrinología de la superovulación

El control de la superovulación representa una de las fases más difíciles en el proceso de la transferencia de embriones, ya que la reacción superovulatoria es individual y depende además de una serie de factores internos y externos. (Holy, 1987).

En los bovinos una superovulación puede ser provocada por diferentes preparados de actividad gonadotrópica tales como el polvo hipofisiario, extracto de glándula pituitaria del ganado porcino, ovino, equino y la gonadotropina de mujer menopausica (hMG) pero también generalmente las más utilizadas son la gonadotropina coriónica equina y la

hormona estimulante de los folículos de origen porcino (FSH-p) (Varizanga, 1993).

Los folículos destinados a ovular o luteinizarse tienen, al momento del suministro de la gonadotropina, un tamaño aproximado de 3 a 4 mm. de diámetro, por esta razón es necesario esperar al menos 48 horas después del tratamiento gonadotrópico para que dichos folículos alcancen un diámetro de 5 mm. (Dieleman y Bevers, 1987)

Cuatro días más tarde es decir el día del estro, tienen un diámetro de 9-10 mm. el cual es inferior a al encontrado en los animales no superovulados (14 mm.). El hecho de que estos pequeños folículos sean capaces de ovular, puede deberse a que las gonadotropinas exógenas quizás aceleren los procesos de la maduración folicular y de manera particular el desarrollo de receptores para la LH en las células de la granulosa (Murphy y Pescador, 1997).

De acuerdo con De Armas *et al.* (1985) las ovulaciones que se producen en hembras superovuladas no son sincrónicas, pues éstas se realizan en tiempos variables, presentándose las primeras ovulaciones aproximadamente 65 horas después de suministrada la prostaglandina, el intervalo entre la primera y la última ovulación puede ser superior a 48 horas, por esto es, que se encuentran diferentes etapas de desarrollo en los embriones recolectados.

A partir de la ovulación comienza el desarrollo de los cuerpos lúteos lo que puede ser apreciado después del tercer día por palpación rectal o por ecosonografía, alcanzando su mayor tamaño entre los nueve y los catorce días (Peters y Ball, 1995).

En un estudio sobre las variaciones hormonales relacionado con la superovulación realizado por Saumande (1977) arrojó los siguientes resultados:

- 1) Cuando la gonadotropina es inyectada en presencia de un cuerpo lúteo activo en la fase media luteal se observa un ligero incremento en los niveles de progesterona (P4) lo cual parece estar ligado a la fracción de LH que se encuentra en la eCG empleada en la superovulación.
- 2) En seguida, ocurre la luteólisis inducida por prostaglandinas con las mismas características que en el ciclo normal, disminuyendo los niveles de progesterona por debajo de 1 ng/ml.
- 3) El incremento de progesterona después de la ovulación está correlacionado con el número de cuerpos lúteos ($r = 0.90$) y aparece más tempranamente en los animales tratados que en los animales no tratados (segundo día del ciclo) llegando a alcanzar niveles mucho mayores.
- 4) El efecto del suministro de gonadotropinas sobre los niveles de E2 es un indicador importante respecto al crecimiento folicular. Así, 24 horas después de la inyección de gonadotropinas en los animales estimulados, se manifiesta un aumento en las concentraciones de E2, las máximas concentraciones son detectadas poco antes del pico preovulatorio de LH y pueden superar hasta en 10 veces las registradas en animales no tratados (160 pg/ml contra 15 pg/ml, respectivamente). Estos niveles han sido correlacionados con el número de folículos maduros listos para la ovulación ($r = 0.90$).

- 5) Después de la descarga preovulatoria de LH en la ovulación las concentraciones de E2 disminuyen rápidamente a sus niveles basales. Esta descarga preovulatoria alcanza magnitudes superiores a la registrada en animales no superovulados, pero no es sostenida, regresando a rápidamente a sus niveles basales.

2.5. - Vía de administración de la mayoría de las hormonas. Vida media en sangre.

Recientemente se ha recurrido al uso de la FSH de origen ovino (Ovagen), pues ofrece excelentes resultados para tratamientos superovulatorios en vacas, cabras y ovejas, por su baja actividad LH. También se han estado investigando otros estimulantes ováricos, como la gonadotropina menopáusica humana, mas no se han obtenido resultados consistentes todavía, hasta el momento los mejores resultados se han obtenido con el uso de FSH (Leyva *et al.*, 1999).

Palma y Brem (1993) refieren algunas investigaciones en las que se ha cambiado la vía de administración intramuscular de la FSH-p a la vía arterial, endovenosa o subcutánea con resultados variables, sin embargo, no encontramos en la literatura ninguna cita referente al cambio de administración intramuscular de eCG por otra vía.

Takedomi *et al.* (1994) demostraron que con una simple inyección de FSH-p disuelta en polivinilpirrolidona (PVP) por vía subcutánea es capaz de provocar la superovulación, manteniendo esta hormona en concentraciones plasmáticas altas.

2.6. - Composición química de la PMSG o eCG.

Sólamamente ha sido reportada la existencia de gonadotropinas coriónicas en los equinos, humanos y primates (Pierce y Parsons, 1981).

La eCG es la hormona glicoproteica con mayor contenido en carbohidratos (45%) siendo su masa de 68,000 daltons. Comparándola con otras gonadotropinas es la que contiene mayor cantidad de ácido siálico (10%). El ácido siálico es responsable de la larga vida media en la sangre que presenta esta hormona (Boland *et al.*, 1991; Martinuk *et al.*, 1992).

Los niveles de eCG en la yegua comienzan a ser detectables en sangre entre los 32 y 40 días de gestación, pudiendo encontrarse en la circulación hasta los 140 a 200 días, En el día 80 se encuentran los niveles máximos de eCG circulantes, siendo éstos de unos 6mg/l (Papkoff, 1981) del mismo modo Holy (1987) reporta que en algunos animales este pico se mantiene un cierto tiempo, mientras que en otros, luego de alcanzarlo tempranamente, los niveles comienzan a decaer hasta niveles no detectables entre los 170 y 180 días de gestación.

Esta gonadotropina extrahipofisiaria tiene una composición química glicoprotéica, en cual se aprecia un 45 % de contenido de carbohidratos, cantidad muy superior a la encontrada en la FSH y en la LH y la proporción de ácido siálico (10.8 por ciento) es superior a la de las gonadotropinas hipofisiarias FSH y LH (Christakos y Bahl, 1979).

Debido a su tamaño, la molécula de eCG no atraviesa fácilmente el filtro renal, lo que alarga su tiempo en circulación. La concentración en orina es solamente 1:100 de la encontrada en sangre, mientras que en leche es

aún menor 1:300 por lo que se consideran indetectables. Tampoco atraviesa la membrana placentaria, por lo que no es detectable en la sangre fetal (Mc Donald, 1991).

Papkoff (1974) encontró que la molécula de eCG se desdobra en dos sub-unidades (alfa y beta) las cuales por separado pierden su actividad, por lo que se demostró que los efectos biológicos de la misma son inherentes a la molécula íntegra y no a sus fracciones, en el mismo sentido Boland *et al.* (1991) plantean que esta composición molecular consiste en sub-unidad α estructuralmente similar y una sub-unidad β biológicamente específica, esto coincide con lo planteado por Moore y Ward (1980) que indican que la eCG está constituida por dos subunidades, alfa y beta que se encuentran unidas no covalentemente. Ambas subunidades tienen comportamientos cromatográficos diferentes entre sí y a la hormona íntegra, también plantean que el peso molecular para las subunidades alfa y beta son de 44,000 y 17,000 daltons respectivamente.

La subunidad alfa tiene una secuencia de aminoácidos (AA) igual a la de la LH -alfa y muy parecida a la de la FSH-alfa, pese a que son codificadas por diferentes genes (Hoppen, 1994).

Han sido llevados a cabo varios trabajos tendientes a aislar y comparar los genes que codifican cada subunidad respecto a los de la LH, FSH y hGH. A su vez, esta secuencia tiene entre un 70%-90% de similitud con las de las cadenas alfa de las FSH de otras especies (Moore *et al.*, 1980).

La subunidad beta, como en todas la gonadotropinas, es la responsable de la actividad hormonal específica (Pierce y Parsons, 1981) es

la más larga entre todas las hormonas glicoproteicas (junto con la de la LH), conteniendo 149 residuos de aminoácidos (AA) que son 4 más que en la hCG-beta (Sugino *et al.*, 1987) su estructura primaria es exactamente igual a la de la LH-beta, estando ambas codificadas por un mismo gen (Sherman *et al.*, 1992). Esto explica los efectos biológicos similares obtenidos con eCG y LH por Roser *et al.* (1986) residiendo la diferencia en el grado de glicosilación (Hoppen, 1994). La subunidad beta de las gonadotropinas no hipofisarias (HCG y eCG) tiene extensiones COOH inusuales ya que tiene 30 residuos de AA más que las otras gonadotropinas (Pierce y Parsons, 1981). En esta región (AA 114 al 149) existe una glicosilación bastante mayor que en el resto de la molécula, los carbohidratos son solamente el 22% del peso de la sub-unidad alfa mientras que son alrededor del 50% del peso en la beta (Sugino *et al.*, 1987).

En tejidos de otras especies la eCG puede unirse a receptores tanto FSH como LH. Esta doble actividad ha sido reportada mediante bioensayos *in vivo* e *in vitro* (Farmer y Papkoff, 1978).

La eCG tiene acciones biológicas similares a las de la LH y FSH. Las semejantes a la LH incluyen, el estímulo de las células intersticiales del ovario, la inducción de la ovulación y la luteinización de las células de la granulosa, mientras que como FSH la eCG es un potente estimulador del crecimiento ovárico y aumenta los niveles de E2 en la sangre, producto de la reacción folicular (Cole y Cupps, 1984).

Los tejidos ováricos, tanto en la yegua como en la burra, tienen poca afinidad por la molécula. En la yegua se une solo a los receptores LH, pero solamente tiene el 4% de receptividad, en el caso de la burra, reportaron que tanto los receptores para LH como para FSH son receptivos, pero presentan una baja afinidad (Stewart y Allen, 1981).

Otros trabajos realizados en tejidos de ratas demuestran que la molécula de eCG se une tanto a receptores para LH como para FSH, teniendo efectos similares en potencia a la LH y a la FSH (Moyle *et al.*, 1979).

Así mismo son notables las concentraciones de esta hormona en la sangre. También es muy particular el hecho de que la eCG es eliminada en la leche, sin embargo, no por la orina, sospechándose que esto se debe al gran tamaño de la molécula que no le permite atravesar la membrana glomerular, determinando con ello la persistencia de esta hormona en la sangre, posterior a la inyección (Gospadorowicz, 1972).

2.7. - Composición química de la FSH

La FSH fue aislada en el año de 1940 por Li *et al.* de la hipófisis de la oveja, y más tarde de la cerda y de la yegua (Holy, 1987) este autor planteo que la hipófisis de la yegua es la fuente de más rica de esta hormona que químicamente es una glicoproteína con un peso molecular cercano a 30,000 daltons en la vaca, de 32,000 en la oveja y 29,000 en la cerda.

En 1974 Ellender (citado por Holy, 1987) afirma que la secuencia estructural de los aminoácidos de dicha hormona no se encuentra completamente aclarada, lo cual hasta la fecha no se ha esclarecido, sólo se acepta la hipótesis de que para la actividad biológica de la misma es decisiva la parte glucósida que coincide con la existencia de la cisteína.

La función más importante de la FSH en la vaca es estimular el crecimiento y la maduración de los folículos antrales en el ovario (Kolb *et al.*, 1975).

En el macho la FSH actúa en las células germinales de los túbulos seminíferos para el aumento del tamaño de los testículos, contribuye en la espermatogénesis hasta la fase de espermatocito secundario, ya que después los andrógenos se ocupan de las etapas finales de la espermatogénesis (Reeves, 1980). De acuerdo con este mismo autor para la función sinérgica correcta de la FSH y de la LH se hace necesaria la ayuda de las hormonas ováricas, fundamentalmente los estrógenos y la progesterona, los cuales después de alcanzar un cierto nivel en la sangre influyen en la actividad de los centros superiores para las funciones del mecanismo de retroalimentación. En la actualidad la FSH se utiliza principalmente en la estimulación del desarrollo folicular, para inducir ovulaciones múltiples en la transferencia de embriones.

2.8. - Razones técnicas por las cuales se afecta la calidad embrionaria en tratamientos superovulatorios con eCG administrada por vía intramuscular.

De acuerdo con Armstrong (1993) hay suficientes evidencias para indicar que la calidad embrionaria se afecta en hembras superovuladas con eCG, por su vida media relativamente larga en la sangre, que es de cinco días aproximadamente, lo que ocasiona anomalías endocrinas producidas por la secreción de estrógenos a partir de folículos que persisten y que se desarrollan durante el período post-ovulatorio.

La larga permanencia en sangre de la eCG aporta ventajas para su aplicación en tratamientos superovulatorios, ya que la administración de una sola dosis es suficiente para provocar el efecto deseado. Dicha permanencia es necesaria para mantener el suministro gonadotrópico que requieren los ovarios para sostener la esteroidogénesis (Wang *et al.*, 1995).

La vida media de la eCG en bovinos es de 5-7 días, existiendo una primera fase de eliminación rápida durante las primeras 36 horas. De acuerdo con Wang *et al.*, (1995) su presencia es claramente detectable hasta 10 u 11 días después de ser administrada. Otros trabajos realizados en ovejas encuentran una remoción de la circulación más rápida, siendo la vida media de 21 horas (Mc Intosh *et al.*, 1975).

El desarrollo del proceso superovulatorio puede ser simplificado en dos etapas: Selección, crecimiento y maduración de los folículos (5 días), y desarrollo embrionario temprano (7 días). La utilización de eCG ha presentado inconvenientes en ambos periodos. Es paradójico que su principal ventaja (su larga vida media) sea la que genera dichos inconvenientes, se producen desórdenes durante la fase final de los folículos (entre el pico de LH y la ovulación) (Dieleman y Bevers, 1987).

Wang *et al.* (1987) demostraron, que en vacas con igual número de folículos preovulatorios, la cantidad de óvulaciones es menor cuando la eCG permanece en circulación.

También se produce un estímulo tardío excesivo sobre la población folicular, produciendo que numerosos folículos anovulatorios estén presentes al momento de realizar la recolección de embriones provenientes de una onda de desarrollo folicular posterior a la ovulación. Esto ha sido

asociado con una baja calidad embrionaria que podría estar originada por una alta concentración postovulatoria de estrógeno, ya que las concentraciones de estrógenos aunque caen aproximadamente a las 12 horas del pico de LH, aumentan nuevamente hacia las 24 horas, permaneciendo alto hasta los 6 días (Saumande y Chuppin, 1981).

La distribución de los embriones en el útero de los animales tratados con eCG indica un transporte más rápido, probablemente inducido por dichas cantidades de estrógenos (Whyman y Moore, 1980).

LaPolt *et al.* (1992) encontraron que en la rata la eCG induce un aumento en los receptores para FSH y para andrógenos en el folículo, lo que podría distorsionar aún más los resultados previstos.

2.9. - Uso de la anti-eCG en los tratamientos superovulatorios con eCG.

Con el propósito de atenuar las reacciones secundarias de la eCG después de su misión superovulatoria, se ha ensayado la aplicación de un suero inmune contra la eCG (anti-eCG) el cual inyectado en el animal donante durante el tratamiento superovulatorio ayude a obtener respuestas ováricas de mejor calidad (Mariam, 1993)

En 1966 Jaunedeem *et al.* (citado por Campbell, 1993) reportaron por primera vez que en el suero sanguíneo de animales tratados con eCG repetidamente, aparecía una sustancia que inhibía la actividad biológica de esta hormona, la cual posteriormente se dio a conocer con el nombre de antisuero o anticuerpo y el principio de acción de este antisuero o

anticuerpo es el de que se combina con los residuos de eCG circulantes que quedan libres después de haber cumplido su misión superovulatoria.

Se han producido anticuerpos en conejo, ratón, pavo y caprino, también se han producido antisueros monoclonales mediante hibridomas cultivados *in vitro* (Nell y Gielen, 1995).

Los sueros anti-eCG han sido utilizados para estudios sobre la molécula, determinación de preñez en yegua (método considerado más efectivo que la palpación rectal) y actualmente en tratamientos superovulatorios en bovinos y ovinos. Resulta necesario para su utilización considerar que los anticuerpos anti-eCG no atraviesan la placenta pero si el calostro (Beckers *et al.*, 1995).

La administración de anticuerpos contra la eCG ha sido postulada como una técnica para mejorar los resultados en la superovulación, habiendo se encontrado dispares resultados en vacas (Kim *et al.*, 1987).

Moyaert *et al.* (1985) encontraron que con la aplicación de antisuero monoclonal contra la eCG en vacas superovuladas con 3000 U.I. de esta hormona, presentaron menos folículos anovulatorios y mejores niveles de fertilización.

El uso de antisueros en tratamientos superovulatorios en ovejas, disminuye el número de folículos grandes anovulatorios, aumenta el número de C.L. y mejora la calidad de los embriones recuperados. (Ungerfeld *et al.*, 1995).

De Armas *et al.* (1987) emplearon un tratamiento superovulatorio a partir de eCG, GnRH y anti-eCG en vacas, con el que alcanzaron una media de 7.4 embriones, transferibles contra 4.8 en el grupo de los no tratados,

Por otra parte Leyva *et al.* (1999) afirman que la utilización de anti-eCG en los tratamientos superovulatorios con eCG, es efectivo para neutralizar la actividad de esta hormona, pero hasta el momento no se ha corroborado su beneficio con toda certeza en cuanto al número de embriones recolectados y a su calidad.

En general los eventuales efectos benéficos del tratamiento superovulatorio con eCG/anti-eCG deben ser evaluados en términos de la tasa ovulatoria, el número de grandes folículos anovulatorios y de folículos parcialmente luteinizados en los ovarios de las donantes después del tratamiento y antes del lavado uterino para la obtención embrionaria y por último por la producción de embriones no transferibles y transferibles que quizá son los más importantes desde el punto de vista práctico (Barraza, 1997). Este mismo autor señala, que la aplicación de antisuero monoclonal contra la eCG 24 horas después de la presentación del estro y 20.55 ± 4.66 horas después del pico preovulatorio de LH muestra buenas perspectivas en la eficientización de la superovulación al mejorar la calidad embrionaria y la respuesta superovulatoria, al incrementar la cantidad de embriones transferibles recuperados y al disminuir la cantidad de folículos grandes al momento del lavado uterino.

Desde el punto de vista inmunológico se puede decir que la eCG es una molécula compleja, siendo distintos los resultados en la producción de anticuerpos específicos. Además, es común que se inhiba la proliferación de

linfocitos, pero esto es debido más a la presencia de contaminantes en las muestras utilizadas y no a la hormona en sí misma (Lea y Bolton, 1991).

Maurel *et al.* (1992) realizaron un mapa de determinantes antigénicos de cada subunidad, localizando los epítomos que interaccionan con los receptores de LH y FSH. Otros estudios se refieren a la similitud inmunológica con la hormona obtenida directamente de la placenta, los ensayos realizados para comprobar posibles determinantes antigénicos similares a otras hormonas demuestran que la eCG tiene características diferentes los determinantes mas similares pertenecen a la subunidad alfa, que presenta curvas de inhibición con RIA paralelas a las subunidades alfa de las otras gonadotrofinas equinas. Esto no sucede para la subunidad beta, ni cuando se compara con gonadotropinas no equinas.

Varios métodos han sido postulados para valorar la capacidad neutralizante de un suero anti-eCG, siendo algunos de ellos los mismos utilizados para cuantificar la hormona. Saumande (1990) revisó los métodos de valoración de sueros anti-eCG utilizados más comúnmente, concluyendo que los bioensayos son los más adecuados para sueros a ser utilizados en tratamientos superovulatorios, dado que su efecto es más representativo respecto de lo que sucede en el animal, pese a que sea un mecanismo menos preciso.

Boland *et al.* (1991) afirman que el empleo de anti-eCG inyectado en el estro en animales estimulados con eCG incrementa los resultados en cuanto a embriones transferibles y los iguala obtenidos por los preparados de FSH.

Pese a los numerosos trabajos realizados en los últimos años, aún no pueden obtenerse conclusiones definitivas sobre los tratamientos a utilizar, su posible estandarización y la previsibilidad de resultados. Esta temática amerita por si misma una puesta al día que sintetice los últimos resultados. (Ungerfeld, 1998)

3. - *El tipo de hormona como causa de variación de la calidad embrionaria.*

En los bovinos una superovulación puede ser provocada si se emplean diferentes preparados de actividad gonadotrópica tales como polvo hipofisiario, extracto de glándula pituitaria del ganado porcino, ovino, equino y otros, siendo los más utilizados la eCG y la FSH-p. Cada una de estas hormonas presenta sus ventajas e inconvenientes propios (Leyva *et al.*, 1999).

Según Armstrong (1993) hay suficiente evidencia para pensar que en los tratamientos superovulatorios, especialmente aquellos con eCG, haya una recuperación escasa de embriones viables en muchas ocasiones, no sólo por fallas en la fertilización, sino por otros factores post-fertilización que conducen a la pérdida embrionaria antes de realizar el lavado uterino. Algunas pérdidas pueden atribuirse a anomalías endocrinas asociadas a la superovulación, lo cual resulta en un medio tubárico y uterino anormalmente inconsistente, con un desarrollo embrionario anormal y un tono uterino sub-normal que hace difícil el lavado.

La actividad LH de la eCG, presumiblemente causa estimulación del cuerpo lúteo preexistente y la luteinización de los folículos, causando altos

niveles de P4 durante el estro, disminuyendo la liberación de LH endógena, provocando bajos niveles de fertilización y pobre calidad embrionaria (Foote y Ellington, 1998)

Se ha planteado que la FSH estimula la mitosis de la granulosa, con el consiguiente incremento del tamaño del folículo y secreción de estrógenos, y actúa como mecanismo de retroalimentación para la liberación de la hormona luteinizante (LH) indispensable para la maduración y ovulación folicular (Thimonier, 1978).

En el ganado bovino tampoco es posible aumentar el número de embriones transferibles con el incremento de la dosis de FSH, ya que con esta hormona la respuesta describe una meseta, y en ocasiones desciende cuando se administran dosis superiores de 32.0 mg. (Donaldson *et al.*, 1985).

Varizanga (1993) al comparar el tipo de hormona con la calidad de los embriones transferibles recolectados observó diferencias significativamente superiores ($P < 0.01$) en animales tratados con FSH-p que con eCG, lo que coincide con lo que obtenido por Leyva *et al.* (1997) que obtuvieron resultados notablemente superiores para FSH-p vs. eCG en cuanto a la respuesta ovárica y el total de embriones transferibles por lavado uterino.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. - *Localización del trabajo experimental*

El trabajo experimental se llevó a cabo en 3 establos de la Comarca Lagunera de los estados de Coahuila y Durango, situados dos en el ejido Granada del municipio de Torreón Coahuila y el tercero en el Km 4 de la carretera Gómez Palacio- La Torreña. En los meses comprendidos entre noviembre del año 2000 a noviembre del 2001, en los que las temperaturas de la región no se consideran extremas.

La Comarca Lagunera, se encuentra a 26° N y 102° y 104° O. Con una altitud media sobre el nivel medio del mar de 1100 a 1400 m (Schmidt, 1989). La precipitación pluvial promedio oscila entre los 200 y 250 milímetros anuales. El clima de la región se clasifica como seco extremoso.

3.2. - *Animales experimentales*

Se seleccionaron 18 vacas Holstein de tres establos de la Comarca Lagunera, en similares condiciones de explotación y manejo, las que fueron superovuladas y utilizadas como donantes de embriones en los mismos establos. Las características fundamentales de selección fueron: tener más de 60 días en leche, haber presentado como mínimo un ciclo estral de longitud normal previo al tratamiento superovulatorio y una buena salud general y reproductiva. Se hicieron dos grupos de 10 (grupo A) y 8 (grupo B) animales respectivamente.

3.3. - Manejo y tratamiento de los animales

Durante el desarrollo del trabajo experimental, los animales se mantuvieron bajo condiciones de manejo productivo rutinarias dentro de los establos.

Todas las vacas seleccionadas fueron sincronizadas con dos inyecciones de $\text{PgF2}\alpha$ a once días de intervalo, las que fueron tratadas con dos diferentes tratamiento superovulatorio.

Los tratamientos superovulatorios se iniciaron entre el día 10 y 11 del ciclo estral (fase media luteal) de la siguiente manera, las vacas del grupo A fueron superovuladas con FSH-p (Pluset, Serono) por inyección intramuscular en dosis decreciente (1000 U.I. de FSH y 1000 U.I. de LH) durante cuatro días. Y los del grupo B se trato con 2000 U.I. de eCG (Folligon, Intervet) por vía aorta abdominal. La luteólisis se indujo con prostaglandina $\text{PgF2}\alpha$ sintética, a las 60 horas de haber iniciado ambos esquemas de tratamiento.

El tratamiento con FSH-p se hizo de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (Serono) con el siguiente esquema:

Tabla No 1.- Esquema de tratamiento con FSH-p (Pluset)

	DIAS DEL TRATAMIENTO			
	1	2	3	4
HORARIO	DOSIS	DOSIS	DOSIS	DOSIS
A.M.	4 ml.	3 ml.	2 ml.	1.5 ml.
P.M.	4 ml.	3 ml.	1.5 ml. + PgF2 α .	1 ml.

Al final del experimento las diez vacas del grupo A fueron tratadas con Pluset y las ocho del grupo B con eCG. La calidad de la respuesta superovulatoria fue evaluada por palpación rectal el día anterior al lavado programado, considerándose que respondieron al tratamiento superovulatorio, aquellas vacas que presentaron tres cuerpos lúteos o más en cada uno de los ovarios.

3.4. - *Detección de celos*

Se realizó durante las mañanas y las tardes por personal capacitado, intensificándose la observación a partir de las 40 horas posteriores a la aplicación de la PgF2 α . Se consideró como el inicio del estro el momento en que las vacas permitieron ser montadas (standing heat). es decir. Todas las hembras con celo manifiesto fueron inseminadas con semen de toros de fertilidad probada a las 12 y 24 horas después del inicio del celo por técnicos inseminadores con experiencia.

3.5. - Recuperación y clasificación embrionaria

El lavado uterino para la obtención de los embriones, se realizó a base de solución fosfatada buferada (PBS) Dubelcco's, el día siete después de la inseminación artificial (I.A.) por el método no quirúrgico.

La clasificación general de los embriones obtenidos en cada lavado uterino se realizó bajo observación estereoscópica, siguiendo indicaciones de Linder y Wright (1983) en la que señalan que los embriones con grado 1 son aquellos que no poseen daños visibles, son simétricos, esféricos, con células de tamaño, color y textura uniformes. Los que se clasifican con grado 2 son aquellos con pequeñas imperfecciones, con blastómeros no alineados, forma irregular y/o pocas vesículas. Mientras que los grupos de grado 3 son los que tienen problemas de morfología como son células degeneradas de diferentes tamaños. Los no transferibles o de mala calidad presentan problemas severos, como tener un porcentaje significativo de blastómeros no alineados, gran cantidad de células degeneradas de diferentes tamaños, vesículas grandes y numerosas, con o sin aspecto de masa embrionaria viable.

3.6. - Análisis estadístico

La determinación de la respuesta superovulatoria y parámetros embrionarios, se realizó mediante un software computacional, SigmaStat (1994-1995) con comparación de proporciones y ANOVA simple.

Los valores obtenidos entre los grupos experimentales para evaluar la calidad embrionaria, los folículos grandes al momento del lavado, la tasa

ovulatoria y los ovocitos no fertilizados, también fueron analizados por comparación de medias según la prueba de t-student.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla No.2.- Calidad de la respuesta superovulatoria con ambos esquemas de tratamiento.

GRUPO	n	RESP.	%	C.L.(x)	FOL.
A (Pluset)	10	7	70	10.43±5.03 ^a	3
B (eCG)	8	6	75	7.67±4.13 ^a	2

C.L.= cuerpos lúteos.

FOL.= folículos.

RESP.= respuesta positiva al tratamiento.

Literales iguales en columna significa que no hubo diferencia estadística significativa (P>0.05)

Como puede ser observado en la tabla No. 2 el porcentaje de hembras que respondieron al tratamiento superovulatorio fue similar para ambos esquemas, considerando como tal aquellas hembras que tenían tres o más cuerpos lúteos en ambos ovarios.

Estos resultados están por encima de los obtenidos por Alcalá *et al.*, (1992) quienes reportaron 51% de respuesta superovulatoria al trabajar con eCG, pero son similares con lo reportado por los mismos autores (75.5%) al superovular con FSH-p, también son similares a lo reportado por Varizanga (1993) en donde obtuvo una respuesta superovulatoria de 73% para ambos esquemas de tratamiento.

Sin embargo, al considerar uno de los elementos más importantes que es la cantidad de ovulaciones, se puede observar que el grupo de

hembras tratadas con Pluset fue superior al de la eCG (10.43 ± 5.03 vs. 7.67 ± 4.13) aunque no se encontraron diferencias significativas $p = 0.308$, tal vez por una desviación estándar mayor en el grupo B, esto coincide también con lo encontrado por Varizanga (1993) en donde encontró un número de C.L. >5 para ambos esquemas de tratamiento, aunque en cuanto a la respuesta ovárica este investigador señala que hubo una tendencia favorable para FSH-p.

Los resultados están también por encima de lo alcanzado por Alcalá *et al.* (1992) para ambos grupos de tratamiento, ya que ellos lograron una media de 4.2 y 7.8 C.L. por donante superovulada con eCG y FSH-p respectivamente.

Otro elemento importante a considerar con este esquema de tratamiento (eCG por vía aorta abdominal) es que el momento del lavado el número de folículos detectables por vía rectal en las hembras que respondieron al tratamiento, fue menor en comparación con el esquema de tratamiento para FSH lo que podría hacer pensar que la vida en sangre por esta vía de esta hormona es corta, no dando tiempo a una estimulación folicular posterior a la superovulación.

Uno de los aspectos que falta determinar es la dosis que se debe emplear por vía aorta abdominal, por vía intramuscular se plantea que ésta puede variar entre 1500 y 3000 U.I. Greve *et al.* (1989) plantean que aumentando la dosis se puede aumentar el número de ovulaciones, pero disminuye la calidad de los embriones producidos. En la presente investigación se utilizó una dosis única de 2000 U.I. y aún cuando en otras investigaciones futuras sea necesario incrementar la dosis, pudiera

representar una ventaja económica si el porcentaje de receptoras gestantes es similar para ambas gonadotropinas.

Tabla No.3.- Parámetros embrionarios.

GRUPOS	VAC. LAVADAS	TOT. EMBR.	E.T. (x)	% EMB. N.T.
A (Pluset)	7	42	3.50 ± 2.74 ^a	16.6 ^a
B (eCG)	5	24	5.50 ± 3.42 ^a	4.16 ^b

TOT. EMBR.= total de embriones.

E.T.= embriones transferibles.

EMB. N.T.= embriones no transferibles.

Literales iguales en columnas significa que no hubo diferencia estadística ($P>0.05$)

Literales diferentes en columnas significa que hubo diferencia estadística significativa ($P<0.05$)

Tabla No.4.- Porcentaje por calidad de los embriones transferibles.

GRUPO	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	EMB. N.T.
A (Pluset)	28.5 ^a	21.4 ^a	33.3 ^a	16.6 ^a
B (eCG)	50 ^b	20.8 ^a	25 ^a	4.16 ^b

Literales iguales en columna significa que no hubo diferencia estadística significativa ($P>0.05$)

Literales diferentes en columna significa que hubo diferencia estadística significativa ($P<0.05$)

En las tablas 3 y 4, observamos que, la media de embriones transferibles, aunque es bajo, no hubo diferencia significativa para ambos esquemas de tratamientos $P= 0.7296$ (3.50 ± 2.74 vs. 5.50 ± 3.42) para FSH y eCG respectivamente. Aunque si hubo una diferencia porcentual entre la cantidad de embriones clasificados como transferibles, sobre todo en los clasificados como grado uno en donde encontramos una diferencia estadística $P= 0.0487$ (28.5 vs. 50) para FSH y eCG respectivamente. En

cuanto a los embriones clasificados como no transferibles, se encontraron diferencias estadísticamente significativa $P= 0.0537$ de 16.6% para FSH vs. 4.1% para eCG, estos resultados difieren totalmente de los planteado por Varizanga (1993) y Leyva *et al.* (1999) que encontraron mayor cantidad de embriones transferibles, mejor calidad embrionaria y menor cantidad de embriones clasificados como no transferibles para la FSH-p en comparación con la eCG.

Boland (1996) plantea que el Pluset incrementa la cantidad de folículos ováricos y no afecta la calidad embrionaria como otros preparados de FSH y con esto se inclina a afirmar que por vía intramuscular es más ventajosa que la eCG por está misma vía, ya que con esta hormona si se afecta la calidad embrionaria, pero cuando se administra por vía aorta abdominal, en este trabajo, se encontró que la calidad embrionaria de los embriones clasificados como grado uno fue mejor y fue menor el número de embriones no transferibles.

V. CONCLUSIONES

Aunque el porcentaje de hembras que respondieron al tratamiento superovulatorio y la media de C.L. fueron casi similares, sí hubo una tendencia favorable para la eCG al obtener mejores resultados que los reportados en investigaciones anteriores en donde la eCG arrojaba resultados inferiores que la FSH-p.

La eCG administrada por vía aorta abdominal es una alternativa en los tratamientos superovulatorios en vacas, ya que en cuanto al porcentaje de calidad embrionaria fue mejor que la FSH-p y también fue menor el porcentaje de embriones no transferibles.

Se confirma que por esta vía no es necesaria la neutralización del efecto residual de la eCG, como es común cuando se utiliza por vía intramuscular y entonces sí se pueden disminuir los costos del tratamiento superovulatorio.

La dosificación adecuada, la vida en sangre, la formación de anticuerpos y otras interrogantes, todavía deben ser investigadas para poder llegar a conclusiones más prácticas.

VI. - LITERATURA CITADA

Adams, G.P. (1994) Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle implications for synchronization & superestimulation. *Theriogenology* 41:19-24.

Alcalá, L., De Armas, R., Solano, R., Díaz, R., García, J. y David, F. (1992) Efecto de la FSH-p y la PMSG sobre la respuesta superovulatoria en vacas Holstein. IX Jornada científica CIMA. Noviembre. La Habana Cuba p. 49.

Alfuraiji, M. M., Atkinson, T., Broadbent, P.G., y Hutchinson, J.J.M. (1993) Superovulation in cattle using PMSG followed by PMSG-Monoclonal antibodies. *Anim. Reproduction. Sci* 33:99-109.

Armstrong, D. T. (1993) Recent advances in superovulation in cattle. *Theriogenology* 39:7-24.

Baird, D. T. (1972) Reproductive hormones in hormone reproduction. University Press, Cambridge, p.18.

Barraza, A. S. (1997) Respuesta superovulatoria y calidad embrionaria en vacas Holstein tratadas con anti- PMSG en la fase tardía del pico preovulatorio de LH. Tesis, para la obtención de maestría en reproducción animal. Torreón, Coahuila.

Beckers, J., F. Remy, J.R. Figueiredo, Bureau, F. y Sulon, J. (1995) Anti-eCG antibodies are transmitted via the calostrum in goats. *Theriogenology*, Vol. 43 p.165.

Bevers, M. M. y Dieleman, S. J. (1987) Superovulation of cows with PMSG: variation in plasma concentration of progesterone, o estradiol, LH, cortisol, prolactin and PMSG and in a number of preovulatory follicle *Anim. Reproduction.Sci.* 15:37-52.

Boland, M. P., Goulding, D. y Roche, J. F. (1991) Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology.* 35:5-17.

Boland, P. M. (1996) Progress report or superovulation and embryo production in cattle and sheep using Pluset, 13 th International Congress on animal reproduction. Convention Center. Sidney Australia 30 June-4 July. *Theriogenology.* 42:14-18.

Campbell, G. M. (1993) Efecto de la FSH-p y PMSG-anti PMSG en vacas Holstein superovuladas. Trabajo para la obtención de diploma de maestro en ciencias. La Habana, Cuba p. 42-45.

Christakos, S. y Bahl, O. (1979) Pregnant Mare Serum Gonadotrophin purification and physicochemical, biological characterization J. Biol. Chem. 54:4253-4261.

Cole, H., H. y Cupps, P.T. (1984) Reproducción de los animales domésticos. Editorial Acirbia. Zaragoza, España. P. 420.

De Armas, R., Solano, R. y Caral, J. (1985) Transferencia de embriones en bovino. Resúmenes VII Jornada interna. CIMA. La Habana, Cuba. P. 55.

De Armas, R., Del Sol, B. A., Rommel, P. y Gonzales, F. (1987) utilización de GnRH y anti- PMSG en la superovulación de vacas Holstein. Resúmenes de la jornada científica ACPA, La Habana, Cuba, p. 18.

Dieleman, S.J. y Bevers, M. M. (1987) Effects of monoclonal antibody against PMSG administered shortly after the preovulatory LH surge in time and number of ovulations in PMSG/PG treated cows. J. Repaired. Fertil. 81:533-542.

Donaldson, L. E. y D.N., Ward (1985) superovulation in cattle. Dose response to FSH with and without LH contamination. Theriogenology. Vol. 27. p.12-13

Farmer, S., W. y Papkoff, H. (1978) Pregnant Mare Serum Gonadotrophin and follicle-stimulating hormone stimulation of cyclic AMP production in rat seminiferous tubule cells. J. Endocr. 76:391-397.

Foote, R. H. y Ellington, J.E. (1998) Is a superovulated oocyte normal Theriogenology 29:114-123.

Gospadorowicz, D. (1972) Purification and physicochemical properties of the Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG). Encrinology 91:101-106.

Greve, T., Callesen, H. y Hyttel, P. (1989) Endocrine profiling and egg quality in the superovulated cow. Nord. Vet. Med. 35:408.

Hafez, E. S. E. (1989) Reproducción e inseminación artificial en animales. Ed. Interamericana-McGrawHill. p.17.

Holy, L. (1987) *Biología de la reproducción bovina*. Editorial Científico y Técnica, 2ª. Ed. Escuela superior de medicina veterinaria de Brn, RSCh. y Universidad de La Habana. Cuba. p. 178-194.

Hoppen, H. O. (1994) The equine placenta and equine chorionic gonadotropin- an overview. *Exp. Clin. Endocr.* 102:235-243.

Kim, H. N., Rorie, R. W., Youngs C.R., White, K. L. y Godke, R. A. (1987) The use of anti-PMSG antibodies with PMSG for superovulating beef cattle. *Theriogenology* 27:243.

Kolb, E., Gurtler, L., Ketz, H., Schroder, A. y Seidel, H. (1975) *Fisiología veterinaria* 2da. Edición. Esp. de la 3ra. Edición Alemana. Vol. I y II Editorial Acribia, Zaragoza p.113-170.

LaPolt, P. S., Tilly, J. L., Aihara, T., Nishimori, K. y Hsueh, A. J. W. (1992) Gonadotropin induced up and down, regulation of ovarian follicle stimulating hormone (FSH) receptor gene expression in immature rats: effects of pregnant mare's serum gonadotropin, and recombinant FSH. *Endocrinology*. Philadelphia U.S.A. 130:1289-1295.

Lea, R. y Bolton, A. (1991) The effect of horse placental tissue extracts and equine chorionic gonadotrophin β subunits suggests evolution from an aneastro LH- β gene. *J. molec. Endocr.* 4:143-150.

Leyva, O. C., Barraza, A. S., Adame de León, F. U. y Osorio, S. J. (1998) La transferencia de embriones en establos de la Comarca Lagunera. Éxitos y fracasos. RUTA. Unión Ganadera Abril-Mayo Vol. 14:28-31. Torreón, Coahuila, México.

Leyva, O. C., Barreras, S. A. y Varisanga, M. D. (1999) Manual de transferencia de embriones no quirúrgica en ganado bovino (impreso en U.A.B.C., Mexicali, B. C., México) p. 65-74, 79-84.

Lindner, M. y Wrigth, R. W. (1983) Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:407-416.

Maurel, M., Ban, E., B., J. y Combarnous M., (1992) Immunochemical study of equine chorionic gonadotropin (eCG or PMSG) antigenic determinants on a-and b-subunits. *Bioch. Bioph Acta* 1159:74-80.

Mariam, D. H. (1993) Efecto de la dosis de FSH en el tratamiento superovulatorio en el genotipo Siboney. Tesis de opción a maestría en reproducción animal. La Habana, Cuba. p. 18-22, 46-49.

Martinuk, S., Manning, A. B. y Murphy, B. (1992) Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. *Biol. Reprod.* 45:598-604.

Mc Donald, L. E. (1991) Endocrinología veterinaria y reproducción. Editorial Interamericana-Mc Graw-Hill. p. 506-518

Mc Intosh, J., Moor, R. y Allen, W. (1975) Pregnant Mare Serum Gonadotropin: rate of clearance from the circulation of sheep *J. Rep. Fert.* 44:95-100.

Moore, W. T., y Ward, D. (1980) Primary structure of Pregnant Mare Serum Gonadotropin. Rapid chromatographic procedures for the purification of intact hormone and isolation of subunits. *J. Biol. Chem.* 255:6923-6929.

Moore, W. T., Ward, D. y Burleigh, B. D. (1979) Primary structure of Pregnant Mare Serum Gonadotropin alpha subunit. *Fed. Proc.* 38:462.

Moyle, W. R., Erickson, G., Balh, O. P., Christakos, S. y Gutowski, J. (1978) Action of PMSG and anti-PMSG on rat Leydig and granulosa cells. *AM J. Physiol.* 235:218- 226.

Moyaert, H., Bouters, R., Shanker, D. T., Wilderbeek, A. T. M. y Caert, A. (1985) The control of superovulation in the bovine with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenology* 23:210. (abstract).

Murphy, B. D. y Pescador, N. (1997) Control de la foliculogénesis bovina por factores endocrinos y paracrinós. Memorias: Séptimo curso internacional de reproducción bovina. AIBIR. México, D. F. 19- 22 de Mayo p. 72-74.

Nell, T. y Gielen, J. (1995) The development of a monoclonal antibody against PMSG for veterinary application. *Livest. Prod. Sci.* 42.223-228.

Palma, G. A. y Brem, G. (1993) Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina. Editorial, Hemisferio. Primera edición. Argentina. p. 38-42.

Papkoff, H. (1974) Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotrophin. *Biochem. Biophys. Commun.* **58:398**. (abstract).

Papkoff, H. (1981) Variatons in the properties of equine chorionic gonadotropin. *Theriogenology* **15:1-11**.

Peters, A. R. y Ball, P. J. (1995) The ovarion cycle. *Reproduction in cattle*. Segunda edición, Blackwell science Ltd. Editorial, Oxford, U. K. p. 152-155.

Pierce, J. y Parsons, T. (1981) Glyprotein hormones : structure and function. *Ann. rev. Bio Chem.* **50: 465-495**.

Reeves, J. J. (1980) Neuroendocrinology of reproduction. In *reprod. In farm animals*. p.415-417.

Roser, J., Carrick, F. y Papkoff (1986) Properties of equine luteinizing hormone alpha subunit alone and in combination with various beta subunits. *Biol. Reprod.* **35:493-500**.

Saumande, J. (1977) Induction d' une superovulation dans l'espece Bovine. Caractéristiques de l'agentStimulant. Effect sur la Croissance Folliculaire. TraitementUtilises ConséquencesHormonauxAnn. Med Vet., vol.121.

Saumande, J. y Chuppín, D. (1981) Production of PMSG antiserum in cattle: assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. *Theriogenology* **15:108**.

Saumande, J. (1990) Superovulation chez les bovins: actualites et perspectives. En: proceedings de la sexta reunión A.E.T.E., Lyon, Francia, p. 97-141.

Schmidt, R. H. (1989) The arid zones of México: Climatic extremsand conceptualizations of the Sonoran desert. *J. Arid. Env.* **16:241-256**.

Sherman, G. B., Wolfe, M. W., Farmerie, T.A. Clay, C. M., y Nilson, J. H. (1992). A single gene encodes the beta subunits of equine luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *Mol. End. (Baltimore)* **6:951-962**.

Stewart, F. y Allen, W. R. (1981) Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. *J. Rep. Fert.* **62:527-536**.

Sugino, H., Bousfield, G., Moore., W y Ward, D., (1987) Structural studies on equine glycoprotein hormones. Amino acid sequence of equine chorionic gonadotropin b-subunit. *J. Biol. Chem.* 262:8603-8609.

Takedomi, T., Aoyagi, M., y Konishi, H. K. (1994) Superovulation of Holstein, heifers by a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* Vol. 43. (abstract). p. 1259-1267.

Thimonier, J. L. (1978) Activite ovarienne chez les bovine mayens d'etud et facter de variation *Ann. Med. Vet.* Vol. 122.

Ungerfeld, R., Ibarra, D. y Rubianes, E. (1995) Use of anti-eCG improves ovarian response in ewes with eCG. *Therigenology* 43.342.

Ungerfeld, R. (1998) Gonadotrofina coriónica equina: caracterización y utilización. Recopilación bibliografica. Uppsala and Montevideo. p. 19

Varizanga, D. M. (1993) Transferencia de embriones en el ganado bovino. Algunos factores que influyen en la respuesta superovulatoria de la donante y la gestación en receptora. Tesis para la opción de Maestría en reproducción Animal, La Habana, Cuba. p. 85-92, 226-230,

Wang, X., Kole, A. R. y Greenwald G. S. (1995) In vitro and in vivo evidence on the site of neutralization of equine chorionic gonadotrophin (eCG) by an eCG antiserum. *J. Rep. Fert.* 104:237-241.

Wang, H. Wu, M., Xu, K.,Hagele, W. C. y Mapletoft, R. J (1987) Control of superovulation in the cow with a PMSG antiserum. *Theriogenology*27:291.

Whyman, D, y Moore, R.W. (1980) effects of PMSG and the prostaglandin F2 α analogue, cloprostenol, on superovulation, fertilization and egg transport in the ewe. *J. Rep. Fert.* 60:267-272.