

Efecto de la aplicación de factores liberadores de gonadotropinas (GnRH) y Benzoato de estradiol, sobre el desarrollo y tamaño de los folículos en vacas Brahman

Effect of applying gonadotropin releasing factors (GnRH) and estradiol benzoate on the development and size of follicles in Brahman cows

Romero Cárdenas, Elkin Orlando¹; Arguello Rueda Gustavo²

Resumen

Los protocolos de sincronización del celo y la ovulación se valen de variedad de medicamentos hormonales, con el fin de lograr de manera cada vez más precisa el objetivo final de una ovulación sincrónica que permita obtener tasas óptimas de preñez mediante la inseminación artificial a tiempo fijo; el desarrollo y tamaño foliculares alcanzados influyen dicho objetivo. En este trabajo se utilizaron 30 vacas Brahman comerciales de condición corporal promedio de 2,5 a 3.5, y entre 2 y 4 partos, se sincronizaron con un dispositivo intravaginal impregnado de progesterona durante 7 días, más benzoato de estradiol BE el día cero, 24 horas después de retirado el dispositivo se administró GnRh al T1 y BE al T2. No se hallaron diferencias significativas para las variables desarrollo folicular y tamaño folicular entre tratamientos, la tasa de desarrollo folicular fue del 100% para T1 y de 84.6% para T2, para T1 hubo menor variabilidad en los tamaños foliculares alcanzados con una desviación típica de 1,6 contra 4,5 para el T2. Lo anterior sugiere que se puede usar de igual manera tanto BE como GnRH al no presentarse diferencia estadística entre tratamientos.

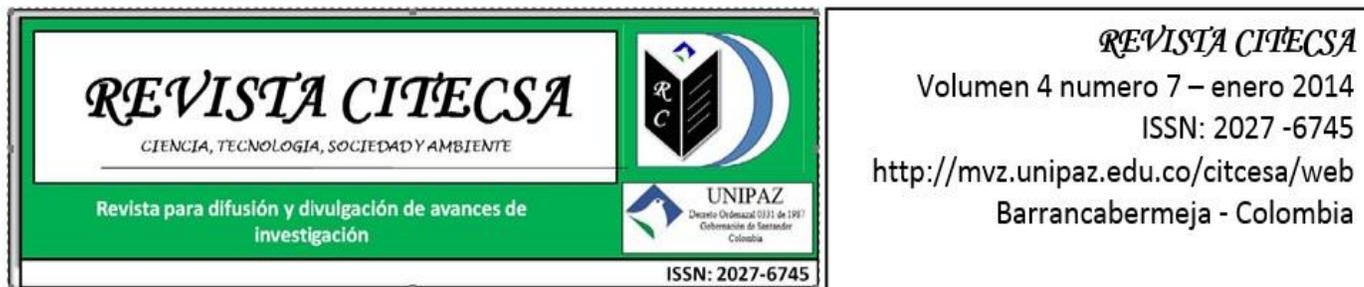
Palabras Clave. Selección folicular, dominancia folicular, folículo preovulatorio.

Abstract

Synchronization protocols oestrus and ovulation make use of variety of hormonal drugs in order to achieve an increasingly more accurate the final objective of a synchronous ovulation to obtain optimal rates of pregnancy by artificial insemination at fixed time, follicular development and size influence achieved that objective. In this paper involved 30 commercial Brahman cows BCS average of 2.5 to 3.5, and 2 to 4 births, were synchronized with a progesterone impregnated intravaginal device for 7 days plus estradiol benzoate BE day zero, 24 hours after the device was removed GnRH administered at T1 and T2 to be. No significant differences were found for variables follicular development and follicular size between treatments, the follicular growth rate was 100% for T1 and 84.6% 92% for T2 to T1 was less variability in follicular sizes achieved with a

¹ Médico Veterinario Zootecnista, Esp. UNIPAZ, elkinorando@yahoo.com

² Médico Veterinario Zootecnista, Esp. UNIPAZ, mvzarguello@hotmail.com



standard deviation 1.6 against 4.5 for the T2. This suggests that it can be used equally well as GnRH BE by not statistical difference between treatments.

keywords. Selection follicular, dominance follicular, preovulatory follicle.

Introducción

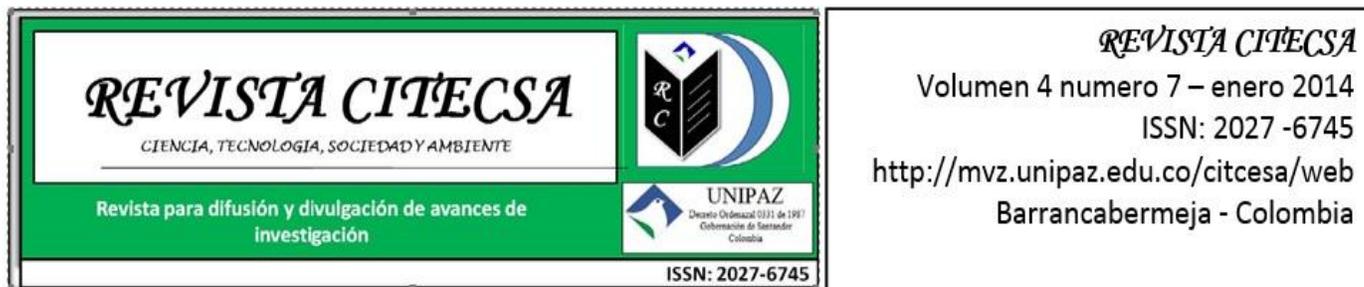
Los procesos reproductivos de los bovinos están regulados por el sistema endocrino e influenciados fuertemente por las condiciones ambientales en que se desenvuelven los animales, el ciclo estral (CE) en el bovino es el periodo comprendido entre dos estros consecutivos, durante este tiempo ocurren una serie de cambios endocrinos como resultado de la interacción de las hormonas liberadas por el hipotálamo, pituitaria anterior, ovarios y útero (Gongora, s.f).

El ciclo estral bovino tiene una duración promedio de 21 días (rango: 17-25) y se encuentra regulado por el eje hipotálamo, hipófisis, ovario útero: el celo tiene una duración variable de 2 a 24 horas y la ovulación ocurre entre 28 y 31 horas de comenzado el mismo (Hafez, 2002). El ciclo se divide en una fase folicular y una fase luteal, cada una con un periodo de desarrollo que antecede a una función principal (Roche, 1992). Según Gigli *et al* (2006), el folículo es la unidad funcional y estructural de los ovarios. Fundamental en el proceso de desarrollo y maduración folicular es la participación del factor liberador de gonadotropinas GnRH, el cual actúa sobre receptores específicos de la adenohipofisis estimulando la liberación de la hormona foliculoestimulante (FSH) (Cardenas, s.f). La FSH actúa sobre las células foliculares en el ovario estimulando la producción de estrógenos (E) y el crecimiento y desarrollo del folículo. Los protocolos de sincronización del celo y la ovulación con base en progesterona (P4) se apoyan en el uso de diversos factores hormonales, principalmente BE y prostaglandinas con el fin de regular la respuesta ovulatoria. Por lo tanto es de fundamental importancia una comprensión del funcionamiento de la dinámica folicular y sus mecanismos de autorregulación a los efectos de comprender las bases de las nuevas alternativas de control del ciclo estral en la hembra bovina (Fernandez, s.f).

Hoy en día los esquemas que se han desarrollado para sincronizar el estro no solo buscan una presentación concentrada del mismo, sino aumentar la fertilidad por medio de la sincronización del desarrollo folicular (Hafez, 2002).

Podría argumentarse que el uso de factores liberadores de gonadotropinas (GnRH) en reemplazo del BE mejoraría factores como el desarrollo y tamaño de los folículos producto de la onda sincronizada.

Las hormonas utilizadas en el desarrollo de cada protocolo lograrían marcar la diferencia en el grado de respuesta en cuanto al desarrollo y tamaños foliculares y por ende en las tasas ovulatorias de las hembras sincronizadas, esto podría ejercer además un efecto sobre las tasas de concepción posteriores.



La regulación de la respuesta de la onda folicular, maduración folicular y ovulación mediante la manipulación hormonal del ciclo estral con protocolos de sincronización del celo y de la ovulación, puede ser determinante a la hora de evaluar resultados en términos de concepción y preñez en los hatos. La variedad de hormonas disponibles en el mercado que regulan la maduración folicular y ovulación es alta, desde aquellas que actúan directamente sobre la hipófisis como la buserelina, estimulando la liberación de folitropina (FSH) y luteotropina (LH) hasta aquellas como el Benzoato de Estradiol, cuyo objetivo es similar pero actúa estimulando el hipotálamo para la liberación de factores liberadores de gonadotropinas (GnRH); El conocimiento del uso de las hormonas más apropiadas para regular los diversos procesos del ciclo estral, incluida la maduración folicular y ovulación, permitirá diseñar; cada vez con mayor exactitud, protocolos de sincronización que sean una verdadera solución a los problemas de fertilidad en hatos donde la nutrición y el manejo en general no son una dificultad.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en la finca La Casta, ubicada en la vereda Puerto Rico del corregimiento de Yarima en el municipio de San Vicente del Chucuri, Magdalena Medio Santandereano, a una altura de 250 msnm, con temperatura promedio de 30°C, humedad relativa del 80% y 2509 mm de precipitación anual.

30 vacas brahmán comerciales de condición corporal promedio 3 y entre 2 y 4 partos.

3 frascos x 20ml de cloprostenol (Dextrogenol®).

1 frasco x 100ml de benzoato de estradiol (Benzoato de estradiol von Franken®).

1 frasco x 50 ml de acetato de buserelina (Gestar®).

1 caja x 100 unidades de guantes obstétricos desechables.

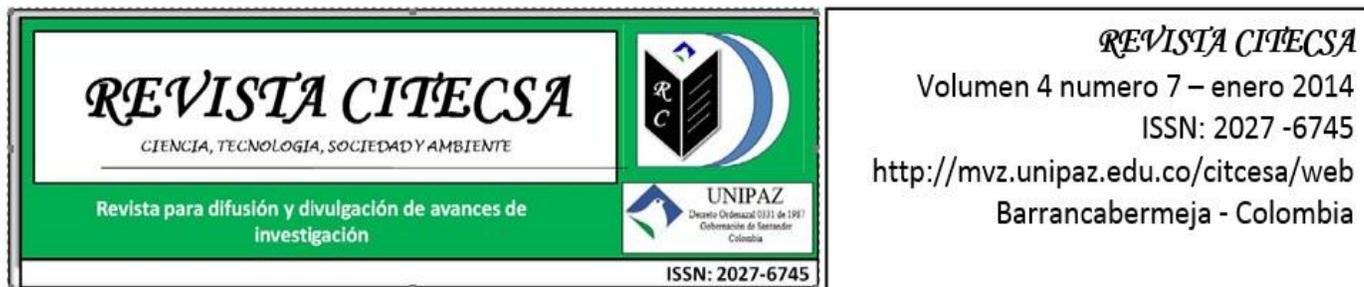
3 Bolsa x 10 dispositivos progesterona 0.5g, DIB®.

30 jeringas desechables x 3ml,

1 aplicador de DIB® 1 Vanodine® x 250 ml

Ecografo ALOKA 500 con transductor lineal de 5 mhz. Para llevar a cabo este proyecto se escogieron 30 vacas de composición racial brahmán, de entre 2 y 4 partos y con diferente periodo abierto, con condición corporal de 2,5 a 3,5 (escala de 1 – 5), que al examen obstétrico mediante palpación no presentaron preñez y ninguna patología reproductiva al inicio del trabajo.

Una vez escogidos los animales se distribuyeron al azar en dos grupos de 13 animales, a un grupo se le denominó Tratamiento 1 (T1) y se le aplicó un dispositivo impregnado de progesterona DIB®, BE el día cero y Acetato de Buserelina 24 horas después de retirado el dispositivo, al otro



grupo se le denominó tratamiento 2 (T2) con un protocolo similar pero con aplicación de benzoato de estradiol 24 horas después de retirado el dispositivo. Ambos grupos estuvieron en pastoreo con *Brachiaria humidicola*.

Tratamiento 1 (T1):

Día 0: DIB® + 2 mg de benzoato de estradiol

Día 7: Retiro DIB® + 150 mcg de prostaglandina F2 α

Día 8: 10.5 mcg de Acetato de Buserelina

Tratamiento 2 (T2):

Día 0: DIB® + 2 mg de Benzoato de estradiol (BE)

Día 7: Retiro DIB® + 150 mcg de prostaglandina F2 α

Día 8: 1 mg de Benzoato de Estradiol

Se realizaron 3 mediciones mediante ecografía para determinar la tasa de crecimiento y tamaño foliculares, la primera medición al retirar el DIB, la segunda a las 24 horas después de retirado el dispositivo intravaginal y la siguiente al momento de la IATF, utilizando un Ecografo de marca Aloka 500 con un transductor lineal de 5 mhz. Para la obtención de los datos de las variables, se procedió a realizar las mediciones, para los diferentes tiempos de ecografía: la primera medición al retirar el DIB. La segunda se realizo 24 horas de retirar el dispositivo. La siguiente al momento de la IATF

Se realizó ecografía vía transrectal con un ecógrafo con un transductor lineal de 5 mhz se tomaron las medidas de los folículos que presentaron mayor tamaño, se sumaron y promediaron el límite superior e inferior para obtener el tamaño folicular, como folículos dominantes se escogieron los folículos que tuvieran un medida mayor de 8 mm según lo dicho por Perea *et al* (1988).

Se utilizó estadística inferencial a través de la prueba de hipótesis, para lo cual se realizó ANAVA de un factor utilizando el programa estadístico SPSS (Statiscal Package for the Social Sciences) versión 19.0. Para establecer si el desarrollo de los FD dependió de los tratamientos se realizó la prueba de hipótesis para la diferencia de 2 proporciones poblacionales a través de la estadística zeta calculado (Zc), teniendo como referente el zeta de tabla (Zt) para un índice de confiabilidad de 95.

Resultados y discusión

Las tablas 1 y 2 muestran los resultados obtenidos en términos de tamaños foliculares alcanzados.

Tabla 1. Datos generales (T1) GnRH

TTO	No	1E (mm)		2E (mm)		3E (mm)	
		OD	OI	OD	OI	OD	OI
1GnRH	002	11-11	0	13-12	0	15-12	0
\bar{x}		11	0	12.5	0	13.5	0
1G	4504-45	9-10	0	10-12	0	11-13	0
\bar{x}		9.5	0	11	0	12	0
1G	4726-75	10-13	0	12-15	0	13-15	0
\bar{x}		11.5	0	13.5	0	12.5	0
1G	04-15	10-10	0	13-13	0	15-11	0
\bar{x}		10	0	13	0	13	0
1G	827-3	10-8	0	12-10	0	13-10	0
\bar{x}		9	0	11	0	11.5	0
1G	08-YF	10-8	0	12-11	0	12-11	0
\bar{x}		9	0	11.5	0	11.5	0
1G	2978-35	0	10-9	0	13-10	0	15-11
\bar{x}		0	9.5	0	11.5	0	13
1G	701-65	0	10-10	0	11-10	0	12-11
\bar{x}		0	10	0	10.5	0	11.5
1G	2830-15	0	14-8	0	15-10	0	16-13
\bar{x}		0	11	0	12.5	0	14.5
1G	131-46	13-11	0	15-14	0	16-14	0
\bar{x}		12	0	14.5	0	15	0
1G	2740-104	9-12	0	13-14	0	15-14	0
\bar{x}		10.5	0	13.5	0	14.5	0
1G	4756-85	5-6	0	7-8	0	9-9	0
\bar{x}		5.5	0	7.5	0	9	0
1G	2516-44	7-10	0	9-12	0	11-12	0
\bar{x}		8.5	0	10.5	0	11.5	0

Fuente. Autores

Tabla 2. Datos generales (T2) BE

TTO	No Vaca	1E (mm)		2E (mm)		3E (mm)	
		OD	OI	OD	OI	OD	OI
2BE	6018-16	0	8-7	0	9-6	0	0
\bar{x}		0	7.5	0	7.5	0	0
2BE	040-36	0	12-9	0	10-11	0	17-11
\bar{x}		0	10.5	0	10.5	0	14
2BE	063-8	13-11	0	15-12	0	17-14	0
\bar{x}		12	0	13.5	0	15.5	0
2BE	126-57	0	0	0	14-11	0	15-13
\bar{x}		0	0	0	12.5	0	14
2BE	081-8	0	12-10	0	14-11	0	14-13
\bar{x}		0	11	0	12.5	0	13.5
2BE	069-8	9-9	0	11-11	0	14-12	0
\bar{x}		9	0	11	0	13	0
2BE	141	0	10-8	0	13-9	0	15-12
\bar{x}		0	9	0	11	0	13.5
2BE	121-66	14-2	0	16-13	0	16-14	0
\bar{x}		8	0	14.5	0	15	0
2BE	353-96	0	0	0	0	0	0
\bar{x}		0	0	0	0	0	0
2BE	722-16	0	14-11	0	16-13	0	17-14
\bar{x}		0	12.5	0	14.5	0	15.5
2BE	34-MF	7-6	0	8-7	0	10-8	0
\bar{x}		6.5	0	7.5	0	9	0
2BE	0022	12-14	0	14-16	0	14-17	0
\bar{x}		13	0	15	0	15.5	0
2BE	362-126	7-6	0	9-8	0	12-11	0
\bar{x}		6.5	0	8.5	0	11.5	0

Fuente. Autores

Tabla 3. Tamaño folicular (T1)

TTO GnRH	Diámetro (mm)	Ovario
002	13.5	D
4504-45	12	D
4726-75	12.5	D
04-15	13	D
827-3	11.5	D
08YF	11.5	D
2978-35	13	I
701-65	11.5	I
2830-15	14.5	I
131-46	15	D
2740-104	14.5	D
4756-85	9	D
2516-44	11.5	D

Fuente. Autores

Tabla 4. Tamaño folicular (T2)

TTO B.E	Diámetro (mm)	Ovario
6018-16	7.5	I
040-36	14	I
063-8	15.5	D
126-57	14	I
081-8	13.5	I
069-8	13	D
141	13.5	I
121-66	15	D
353-96	0	
722-16	15.5	I
34MF	9	D
0022	15.5	D
362-26	11.5	D

Fuente. Autores

Las tablas 3 y 4 muestran el mayor tamaño folicular encontrado. Los resultados corridos en el programa SPSS no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para el tamaño folicular entre el T1 y el T2.

Aunque estadísticamente no hubo diferencia significativa entre ambos tratamientos para las variables propuestas, es importante anotar que las 13 vacas del T1 presentaron, todas, folículo dominante, mientras que en las vacas del T2, dos de ellas no presentaron folículo dominante.

Se le denomina folículo dominante a que continúa desarrollándose y ese mismo se encarga de inhibir el crecimiento de los demás folículos, se le dice folículo dominante a que tenga 8mm Perea *et al*, (1998). También es importante resaltar que los folículos de mayor tamaño para el T1 se encontraron en la segunda y tercera medición ecográfica, mientras que los folículos de mayor tamaño para el T2 se encontraron en la tercera medición.

Respecto a la media el análisis muestra un valor ligeramente superior a favor del T1, igual que para el límite inferior.

Tabla 5. Proporciones para folículos dominantes

TRATAMIENTO	FOLICULOS		PROPORCION	
	Dominantes	No dominantes	%	
1	13	0	100	0
2	11	2	84.6	15.4

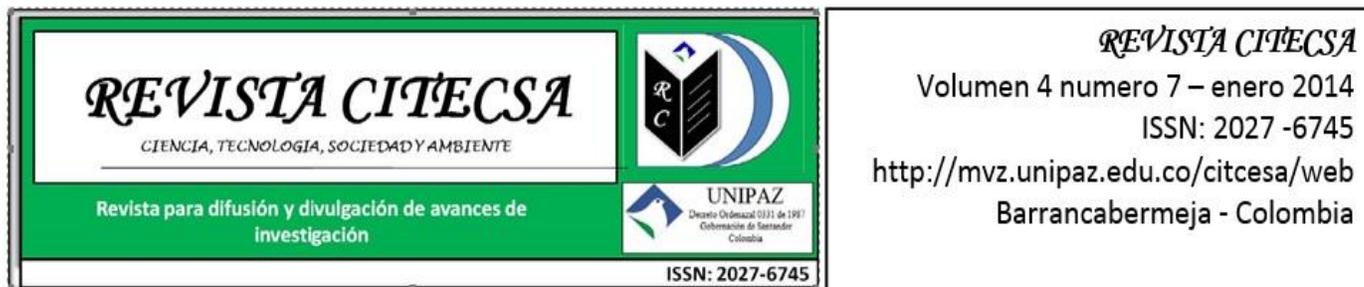
Fuente. Autores

La tabla 5 muestra las diferentes proporciones (%) en que se presentaron los folículos dominantes en cada uno de los tratamientos propuestos, los resultados fueron analizados con la tabla de Zc para las hipótesis propuesta, tomando un nivel de confiabilidad del 95%: $Z_t=1.64$

$$Z_c = p_c - p_D / \sqrt{[(p_c * q_c / n_c) + (p_D * q_D / n_D)]}$$

No hubo diferencia significativa entre los T1 y T2 ($Z_c=1.54$) para la formación de FD ($P > 0.05$).

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los hallados por Arias *et al* (s.f), quienes al realizar la evaluación ecográfica de folículos dominantes al momento de la IATF en vacas B. indicus, encontraron que de 30 vacas sincronizadas con dispositivo intravaginal y aplicación de BE 24 horas después del retiro, el 10% vacas) no desarrolló folículo dominante, y los tamaños foliculares alcanzados variaron desde 9mm hasta 14mm. En el tratamiento 2 con respecto a Arias



(s.f), se encontró que de las 13 vacas evaluadas 2 vacas no desarrollaron el folículo y los tamaños foliculares fueron desde 7,5mm hasta 15,5. Al aplicar el B.E al inicio del tratamiento genera una onda de crecimiento folicular para que al momento de retirar el dispositivo exista un folículo dominante joven. De igual manera Osawa *et al* (2009), evaluando el efecto de la sincronización de la ovulación con GnRH, sobre los perfiles ováricos de 96 vacas Holstein, encontraron diámetros de los folículos dominantes más constantes y una tasa ovulatoria del 100%.

Los estrógenos son hormonas esteroideas, producidas por el folículo ovárico cuya síntesis se explica de la siguiente manera: La Hormona Luteinizante hipofisaria (LH) interacciona con su receptor ubicado en las células de la teca interna y produce andrógenos; estos pasan a través de la membrana basal y entran en las células granulosas. En estas actúa la Hormona Folículo estimulante hipofisaria (FSH), quien estimula una enzima aromatasa que transforma a los andrógenos en estrógenos, los cuales pasan al líquido folicular y a la circulación general. Posteriormente llegan a su blanco y ejercen su acción mediante el modelo de receptor móvil o intracelular (Lab. Esp. Vet; 2005).

El uso de 2 mg de Benzoato de estradiol al momento de la aplicación del D.I.B.[®] (considerado este como día 0) provoca el inicio de una nueva onda folicular; la aplicación del 1 mg de Benzoato de estradiol a las 24 hs de la extracción del D.I.B.[®] produce la luteólisis e induce un pico pre ovulatorio de LH a través del feed back positivo sobre el GnRH y LH lo que induce la ovulación a las 70 hs de extraído el D.I.B.[®]. Por este motivo es un recurso ideal en la sincronización de ovulación en esquemas de inseminación artificial a tiempo fijo.

Se obtuvieron folículos dominantes en la totalidad de los animales tratados con GnRH (100%) y en el 92% de los animales tratados con BE, el tamaño mínimo de folículos encontrados fue de 9mm y el máximo de 15,5 mm, concordando con lo expuesto por Perea (1988) y Pierson (1987), quienes consideran que el diámetro folicular dominante es de 8mm.

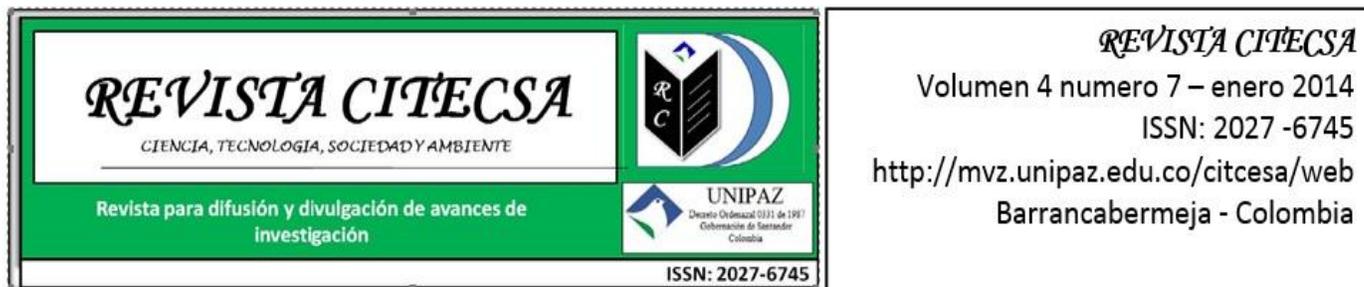
Conclusiones

Para el tratamiento con GnRH se obtuvo un 100% de desarrollo y dominancia folicular, con un total de 13 vacas con folículo dominante.

Para el tratamiento con BE se obtuvo un 84,6% de dominancia folicular, con 11 vacas que presentaron folículo dominante, una vaca sin desarrollo de folículos y una vaca multifolicular sin dominancia.

Aunque no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, La utilización de GnRh en protocolos de sincronización del celo y la ovulación comparado con el uso de BE, determinó una mejor respuesta en términos de tasas de desarrollo folicular (100% y 7%), tamaño de folículos ovulatorios (12,6 mm y 12,1) y homogeneidad de los mismos (desviación típica 1,6 vs 4,4).

Bibliografía



Arias, jorge. Losada, german. Cuellar, willian. Departamento de salud animal. Universidad de caldas. manizales Colombia. ART. Evaluación ecográfica de folículos dominantes al momento de la IATF y su tasa de fecundación en hembras *Bos indicus*. Disponible en: <http://www.agro.unalmed.edu.co/departamento/panimal/docs/establecimiento.pdf>

Cárdenas Ruiz, Francisco. Papel de la FSH en el ciclo estral y la ovulación múltiple en la hembra bovina. Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Fernandez T, Álvaro. Dinámica folicular: funcionamiento y regulación. [En línea] <http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/23ondas_foliculares.htm>. [Citado el 2 de mayo de 2011].

Gigli, I; Russo, A.; Agüero, A. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet*. 2006, 8(1): 183-204.

Góngora, Orjuela, A. Nuevos conceptos sobre la fisiología del ciclo estral del bovino. Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal (GIRGA). 2 p.

Hafez, B. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7a ed. McGraw – Hill Interamericana. México, DF. 164 – 167 p.

Osawa T, Honjou S, Nitta H. Effect of synchronisation of ovulation on ovarian profile and days open in holstein cows diagnosed as nonpregnant 26 days after timed artificial insemination (2009), *Journal of Reproduction and Development* 55 (2): 163-169.)

Perea, F.; Gonzáles, R.; Cruz, R.; Soto, E; Rincón, E.; Gonzales, C.; y Villamediana, P. Evaluación ultrasonográfica de la dinámica folicular en vacas y en novillas mestizas. En *Revista científica FCV-LUZ* 1988, 8 (1):14-24.

Pierson, R.A. and Ginther, O.J. 1987b. Follicular populations during the estrous cycle in heifers. II. Influence of right and left sides and intraovarian effect of the corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.* 14: 177-186.

Roche, J.F., Crowe, M.A. and Boland, M.P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim Repr. Sci.* 28: 371-378 1992.