

Extensión de los protocolos de superovulación: ¿es posible maximizar la respuesta superovulatoria?

Extension of superovulation protocols: is it possible to maximize the superovulatory response?

García Guerra, A. ⁽¹⁾

1. Introducción
2. Reclutamiento folicular e inicio de los tratamientos con FSH
3. Extensión de los protocolos de superovulación
 - 3.1. Combinación de eCG y FSH en el tratamiento superovulatorio
 - 3.2. Extensión del tratamiento con FSH
4. Desarrollo folicular durante el tratamiento superovulatorio
5. Predicción de la respuesta superovulatoria y selección de donantes
6. Conclusión
7. Bibliografía

1. Introducción

Los protocolos de superovulación han tenido un rol fundamental en la implementación y el éxito de los programas de transferencia de embriones desde principios de la década del '70. El avance en la comprensión de la dinámica folicular, la función ovárica, y las distintas preparaciones de gonadotropina ha dado lugar a cambios importantes en las estrategias de superovulación utilizadas. Durante los últimos 15 años el promedio de embriones transferibles se incrementó de 5,5 a 6,7 a nivel mundial, lo que representa un incremento del 22%. Este incremento en el número de embriones transferibles es aún más destacado en algunas regiones, como por ejemplo Canadá ^(7,1) y Japón ^(10,6). Avances en los tratamientos de superovulación, como por ejemplo, la habilidad de iniciar los trata-

mientos en momentos predeterminados ^(8, 10, 33), el uso de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) ⁽¹¹⁾, y la reducción en el número de tratamientos de FSH ^(13, 16, 44) han facilitado la implementación de los tratamientos de superovulación.

El principal objetivo de los tratamientos de superovulación es obtener el mayor número de embriones posibles a través de la estimulación del desarrollo folicular y la ovulación de dichos folículos conteniendo ovocitos competentes ⁽¹⁾. El número de embriones transferibles está definido por la respuesta superovulatoria, la tasa de fertilización y el desarrollo temprano del embrión. La presente revisión tiene como objetivo la discusión del desarrollo folicular durante los tratamientos de superovulación y evaluar la duración de dichos tratamientos como estrategia para maximizar el potencial de la donante.

(1) Programa de Endocrinología y Fisiología Reproductiva, Departamento de Producción Lechera, Facultad de Ciencias Veterinarias, University of Wisconsin, Madison, Estados Unidos.

Trabajo presentado en el Tercer Congreso Internacional de la SATE; 2 y 3 de junio de 2016, Auditorio de la UCA, Campus Puerto Madero, Buenos Aires, Argentina.

La línea más completa
para IATF



LÍNEA REPRODUCTIVA



Benzoato de Estradiol VF

Cipionato de Estradiol VF

Dextrogenol D-Cloprostenol



Sincrogest PMSG
6.000 UI
ECG

Dalmarelin
Lecirelina - GnRH



Fatro Von Franken

Gral. Lavalle 2247/49 - (1602) Florida - Pcia. de Bs. As. - Rep. Argentina

Tel. 4797-5544 (L. Rotativas) - Fax (54-11)4797-8257 - consultas@fatrovonfranken.com.ar - www.fatrovonfranken.com.ar

2. Reclutamiento folicular e inicio de los tratamientos con FSH

Durante la emergencia de la onda folicular, un número variable de folículos de 3-5 mm son reclutados en un período de 2 a 4 días^(2,32), como consecuencia de un incremento en la concentración de FSH 1 a 2 días antes de la emergencia de la misma^(3,9).

Los receptores de FSH han sido identificados en folículos antrales pequeños e incluso en folículos preantrales^(6,45), y los mismos son capaces de responder ante la estimulación exógena con FSH⁽²⁷⁾. El desarrollo de ecógrafos con gran poder de resolución permitió el estudio de la dinámica de folículos pequeños (1-3 mm), aumentando nuestro conocimiento acerca del desarrollo folicular. Los folículos antrales de 1-3 mm se desarrollan en ondas en respuesta a los incrementos en la secreción de FSH, de manera tal que el máximo en el número de los mismos coincide con el inicio en el pico de FSH⁽³⁰⁾. Como consecuencia de estas observaciones, el inicio de la onda ocurre 1-2 días antes en comparación con la definición tradicional (basada en la detección del futuro folículo dominante cuando alcanza 4 mm). Además, el futuro folículo dominante fue detectado primero con un diámetro de 1 mm 66 hs antes del día definido como de emergencia folicular, y coincidente con el inicio del pico de FSH. De esta manera, el momento de emergencia de la onda folicular ocurriría en el día -1 y 9 en ciclos de 2 ondas (Día0=ovulación), y en los días -1, 8 y 16 en ciclos de 3 ondas. La redefinición de la emergencia de la onda para incluir folículos de menor tamaño tiene implicancias importantes para la aplicación de los protocolos de superovulación.

La presencia del folículo dominante al inicio del tratamiento de superovulación trae aparejado una disminución en la respuesta ovulatoria^(14,26). Como resultado, es necesario iniciar los tratamientos superovulatorios con FSH exógena al momento de la emergencia de la onda folicular para obtener una óptima respuesta superovulatoria^(1,36). Este concepto impulsó el desarrollo de estrategias para sincronizar la emergencia de la onda folicular, a través de los tratamientos con estradiol y progesterona⁽¹³⁾ o mediante la ablación folicular vía transvaginal⁽⁸⁾. Un estudio reciente evaluó el efecto del intervalo entre la aspiración folicular y el inicio de los tratamientos superovulatorios⁽⁴³⁾. El inicio del tratamiento con

FSH 2 días después de la aspiración folicular resultó en una mayor respuesta superovulatoria en comparación con tratamientos iniciados 1 día después de la aspiración. Considerando que para la obtención de ovocitos todos los folículos >3 mm son aspirados, es posible que el inicio de los tratamientos con FSH un día más tarde permita a los folículos más pequeños el tiempo suficiente para alcanzar el tamaño ovulatorio hacia el final del tratamiento superovulatorio.

Sin embargo, otros estudios indican que los tratamientos iniciados ante la presencia de un folículo dominante tienen como resultado la emergencia de una nueva onda folicular, y la presencia del dispositivo de P4 por 4,5 días provee el tiempo suficiente para que la onda folicular inducida alcance el pool ovulatorio. Asimismo, resultados preliminares de un estudio indican que el inicio del tratamiento superovulatorio, independientemente del estado de la onda folicular, sumado a la extensión del tratamiento (6 días) superovulatorio no tiene un impacto negativo en la respuesta superovulatoria o en el número de embriones obtenidos comparados con el protocolo tradicional de 4 días iniciado a la emergencia de la onda⁽¹²⁾. Sin embargo, cabe destacar que los resultados fueron numéricamente mayores en el grupo que recibió el protocolo tradicional de 4 días. Considerando los resultados mencionados, todavía no es claro si el patrón de ondas puede ser superado, permitiendo la superovulación independientemente del estatus de la onda folicular, ya sea rescatando o reclutando folículos para ser incluidos en una nueva onda.

3. Extensión de los protocolos de superovulación

3.1. Combinación de eCG y FSH en el tratamiento superovulatorio

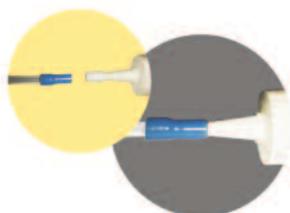
Basándose en la capacidad de las gonadotropinas exógenas para modificar el patrón de la onda folicular, investigadores incluyeron la administración de eCG al comienzo o al final del tratamiento superovulatorio como estrategia para incrementar la respuesta ovulatoria. La administración de eCG 2 días antes del comienzo del tratamiento con FSH logró mejoras en el número de ovulaciones ($16,1 \pm 1,5$ vs $12,4 \pm 1,4$) y embriones transferibles ($8,1 \pm 1,6$ vs $6,5 \pm 1,3$), aunque las mismas no fueron significativas⁽¹⁵⁾. Asimismo, en donantes de pobre producción, el uso de eCG al

GENTAMICINA + CEFALEXINA

METRISAN

La combinación sinérgica para el
tratamiento de endometritis y
metritis en bovinos

Incluye guante obstétrico
y cánula intrauterina



Sistema "Flexi-Click"

Cánula flexible de alta resistencia
con adaptador de goma.

over®

MEDICINA VETERINARIA

www.over.com.ar

inicio, logró un número significativamente ($P < 0,01$) mayor de embriones transferibles ($3,6 \pm 0,6$ vs. $1,0 \pm 0,2$)⁽¹²⁾.

Una estrategia similar a la mencionada anteriormente es el reemplazo de los últimos 2 tratamientos de FSH con eCG^(34, 37). En un trabajo, esta estrategia resultó en un número mayor de folículos al final del tratamiento, y un mayor número de embriones transferibles en donantes *Bos indicus*⁽³⁴⁾. Teniendo en cuenta la mayor vida media de la eCG, es posible que esta estrategia tenga como resultado la extensión del protocolo de superovulación. Sin embargo, dado que la inducción de la ovulación ocurre en un intervalo reducido (18 horas) después del último tratamiento con eCG, no es claro si el protocolo resulta extendido de manera significativa.

Además, los autores sugieren que el efecto de la eCG puede ser atribuido a su actividad de LH. De manera tal de evaluar esta hipótesis, otro estudio evaluó la respuesta superovulatoria reemplazando las dos últimas inyecciones de FSH con eCG o LH⁽³⁷⁾. No se encontraron diferencias significativas en el número de folículos al final del tratamiento ni en el número de embriones. Sin embargo, el tratamiento con eCG obtuvo un número mayor de ovulaciones en compa-

ración con los tratamientos con LH, indicando que la actividad FSH es necesaria. En contraposición, no hubo diferencias entre el grupo con FSH y el que recibió eCG. Hasta el momento no está claro si la inclusión de eCG al final del protocolo de superovulación genera una extensión significativa en el tratamiento superovulatorio, y futuros estudios son necesarios para optimizar la utilización de esta estrategia.

3.2. Extensión del tratamiento con FSH

En un estudio reciente, evaluamos la respuesta superovulatoria y la producción de embriones en donantes tratadas con un protocolo de 4 o 7 días con FSH⁽²³⁾. Vacas cruce Simmental y Hereford ($n=24$) fueron categorizadas en base al número de folículos >5 mm al inicio de la onda folicular y asignadas aleatoriamente para recibir un protocolo con FSH de 4 o 7 días utilizando la misma dosis total de 400 mg FSH (Folltropin-V; Bioniche AnimalHealth). El número de folículos >10 mm 12 horas después de la inducción de la ovulación fue numéricamente mayor ($27,5 \pm 4,1$ vs. $19,5 \pm 2,6$; $P = 0,11$) y hubo un aumento significativo en el número de ovulaciones ($30,9 \pm 3,9$ vs. $18,3 \pm 2,9$; $P = 0,01$) en el grupo tratado por 7 días com-



LABORATORIOS
ALLIGNANI Hnos. S.R.L.

COMPAÑIA FARMACEUTICA

BIOLOGICOS FARMACOS






Etica, calidad y prestigio en Medicina Veterinaria

Planta Santa Fe: Balcarce 951 - Tel. Fax (0342) 4538777 - 4559773 - (3000) Santa Fe - Argentina
 Planta La Plata: Ruta 36 esquina 78 - Tel. (0221) 4962392 - (1901) Lisandro Olmos - Buenos Aires - Argentina
 E-mail: allignanihnos@ciudad.com.ar - Web: www.allignanihnos.com.ar

Línea REPRODUCTIVA

Estradiol 10

Presentación: x 10, 50 y 100 ml



Estradiol 17β

Presentación: x 10 ml



Progesterona

Presentación: x 50 y 100 ml



OXITOCINA

Presentación: x 50 ml



GnRH

Presentación: x 10, 50 y 100 ml



Prostaglandina

Presentación: x 10, 50 y 100 ml



Progesterona MAD-4

Presentación: x 50 y 100 ml



Tricovac

Vacuna contra la Tricomoniasis Genital Bovina

Presentación: x 100 dosis



CALIDAD Y RESPONSABILIDAD QUE MARCAN DIFERENCIAS

8 TAURUS - AÑO 18 N°71

www.revistataurus.com.ar



S.R.L.
PRODUCTOS
AGROGANADEROS



especialistas en
REPRODUCCIÓN ANIMAL
con más de 15 años de experiencia



contamos con productos de las más prestigiosas marcas
recomendados por profesionales, veterinarios, criadores
e investigadores a nivel mundial.



**30 años ayudando al cuidado
de la salud animal!**

*Representante directo en Argentina
Soporte técnico especializado*



IMAGO

mindray

 **CHISON**

 **BoviScan**
Veterinary Ultrasound Technology

**Ecógrafos y
Analizadores veterinarios**

GUZMAN SRL

Tel: (011) 5263 2083
ventas@guzmansrl.com.ar / www.guzmansrl.com.ar
www.facebook.com/guzman.srl

PRODUCTOS AGROGANADEROS S.R.L.

Planes 629 - Capital Federal
Tel/Fax: (011) 4983 2979 / Tel: (011) 4982 5411
pagroganaderos@speedy.com.ar / www.pro-agroganaderos.com.ar

parado con el protocolo tradicional de 4 días. Además, las ovulaciones en el grupo de 7 días fueron más sincrónicas, indicando que los folículos en este grupo habían alcanzado una mayor madurez y habilidad para responder al estímulo ovulatorio. La producción de embriones es presentada en la Tabla 1. A pesar de que no se encontraron diferencias significativas en el número de estructuras totales, los embriones fertilizados y embriones transferibles fueron numéricamente mayores en el tratamiento de 7 días. Si se eliminan las donantes que no produjeron ninguna estructura fertilizada, hubo una tendencia a un mayor número de embriones transferibles en las donantes tratadas por 7 días ($7,6 \pm 1,7$ vs. $4,2 \pm 1,5$, $P = 0,07$).

Otro estudio reciente ⁽¹⁸⁾ evaluó el efecto de la longitud de la fase de crecimiento folicular, a través de un protocolo de superovulación de 7 días, en la tasa de crecimiento, la capacidad ovulatoria y la competencia del ovocito. Un grupo de vacas *Bos taurus* fueron superestimuladas con una dosis de FSH constante (50 mg/día) durante 4 o 7 días. Similar a lo ocurrido en el estudio anterior hubo un aumento significativo en el número de folículos >10 mm al final del tratamiento en el protocolo

de 7 días ($P < 0,05$). Asimismo, hubo una tendencia hacia un mayor número de ovulaciones (15,4 vs. 11,6) y embriones (6,7 vs. 5,9).

Los embriones fueron colectados 4 días después de la inseminación y cultivados *in vitro*, y no se encontraron diferencias en la capacidad de desarrollo embrionario entre los tratamientos. A pesar de las diferencias en la dosis de FSH diaria y el intervalo entre el retiro del dispositivo de progesterona y la inducción de la ovulación (pLH), los resultados fueron similares a los mencionados en el estudio anterior ⁽²³⁾.

La extensión del protocolo de superovulación a 7 días fue evaluado recientemente para la producción de embriones *in vitro*. Vaquillonas *Bos taurus* fueron superestimuladas durante 4 o 7 días y se colectaron ovocitos 24 h después de la administración de LH ⁽¹⁸⁾. El tratamiento de 7 días resultó en un número mayor de folículos comparado con el protocolo de 4 días ($25,4 \pm 5,3$ vs. $10,6 \pm 2,3$, respectivamente), y hubo una tendencia a un mayor número de ovocitos colectados. Además, el tratamiento de 7 días produjo una mayor proporción de ovocitos con cumulus expandido (90%), mientras que el tratamiento de 4 días produjo principal-

Ultrasonido / Veterinario

INVITACIÓN ESPECIAL

PRESENTACIÓN
ECÓGRAFOS VETERINARIOS SIUI

SIUI
See the future

JUEVES 29 DE SEPTIEMBRE - De 9:30 a 13 hs

Auditorio: México 3100, CABA
Ingreso sólo con INSCRIPCIÓN PREVIA
Inscripción: newsletter@proveeduriamedica.com.ar

proveeduriamedica

Representante Oficial y Exclusivo de SIUI en Argentina

www.proveeduriamedica.com.ar 011-4932-3000



Synkro^{HY}

hormonales reproductivos



Con diseño estriado para favorecer la absorción de la hormona.

Doypack de dispositivo intravaginal 0,5 g

Doypack de dispositivo intravaginal 1 g

Puede conocer los resultados de la utilización de **Synkro^{HY}** en

 www.synkroxy.com.ar



Con la compra de la línea recibís GRATIS el

Software de Gestión **Synkro^{HY}**

Si sos veterinario comunicate al **0800 - 555 - 0008**
por promociones especiales

www.synkroxy.com

Un desarrollo de
PROAGRO
Especialidades Veterinarias

mente ovocitos con el cumulus compacto. A pesar de que la tasa de blastocito fue similar, el protocolo de 7 días produjo un número mayor de embriones por animal tratado. Estos resultados indican que la competencia ovocitaria es similar entre los protocolos de 4 y 7 días, sin embargo al lograr un mayor número de folículos se incrementó la producción de embriones.

Los trabajos citados anteriormente indican que la extensión del tratamiento, y no la dosis de FSH utilizada, es responsable por el incremento en la respuesta superovulatoria. Sin embargo, es necesario determinar la dosis más adecuada a ser utilizada en este tipo de tratamientos.

4. Desarrollo folicular durante el tratamiento superovulatorio

La noción de que los tratamientos de superovulación no reclutan nuevos folículos sino que permite a los folículos subordinados alcanzar un tamaño ovulatorio fue establecida por Adams y col. ⁽⁵⁾. Con el objetivo de analizar esta hipótesis evaluamos la dinámica folicular en un protocolo de FSH de 7 días comparado con un protocolo tradicional de 4 días ⁽²²⁾. En ambos tratamientos (4 y 7 días), el número de folículos < 3 mm disminuyó mientras que el número de folículos >3 y <6 mm aumentó a lo largo del tratamiento ($P < 0,01$). A pesar, de que los folículos más pequeños de la onda se encuentran más atrasados en su desarrollo, la administración de FSH exógena permitió su crecimiento e incorporación a las categorías de tamaño mayor.

Además, hubo una correlación negativa entre el número de folículos < 5 mm y > 5 mm lo que sugiere que la incorporación de los folículos en la cohorte no es continua; sino que los folículos más pequeños incrementaron su tamaño y no fueron reemplazados por nuevos folículos pequeños ⁽²²⁾.

Estos resultados indican que el tratamiento de superestimulación rescató de la atresia a folículos antrales pequeños de la onda en lugar de reclutar más folículos. A pesar de que folículos pequeños parecen haber sido rescatados en ambos grupos, se encontraron importantes diferencias en el patrón de desarrollo de los folículos entre los grupos. En comparación con el protocolo de 4 días, el protocolo de 7 días presentó una disminución en el número de folículos pequeños y una tendencia a un aumento en el número de folículos >9 mm a una dosis acumulada más baja de FSH, y una tasa

media de crecimiento folicular marcadamente menor. La tasa de crecimiento de los tres folículos más grandes entre el del tratamiento con FSH y el momento de la ovulación fue mayor en el grupo de 4 días que en el grupo de 7 días ($1,9 \pm 0,1$ vs. $1,3 \pm 0,1$ mm/día, $P < 0,01$). En conclusión, estos resultados indican que los folículos en el grupo de tratamiento de 7 días crecieron a una tasa más lenta y tuvieron más tiempo para adquirir la capacidad de ovular ⁽²³⁾.

Algunos autores han sugerido que el protocolo tradicional de 4 días no provee suficiente tiempo para que los folículos maduren y adquieran la capacidad de ovular ⁽¹⁷⁾, y los resultados recientemente obtenidos con la extensión del tratamiento con FSH apoyan este concepto ^(22, 23). Por medio de ecografías seriadas, se determinó que el intervalo entre la emergencia de la onda (con 4 mm) y la ovulación, es de 9-10 días en un ciclo de 2 ondas, lo que resulta en una tasa de crecimiento de 1,2mm/día ⁽²⁵⁾. En los ciclos de 3 ondas, el intervalo entre la emergencia de la onda y la ovulación es de 6-7 días, con una tasa de crecimiento de 1,5 mm/día ⁽²⁵⁾. Con la detección ecográfica del futuro folículo dominante con 1 mm; 2-3 días antes de la emergencia de la onda folicular definida previamente, la tasa de crecimiento estimada es de 1,1 mm/día ⁽³⁰⁾. Basado en estos datos, serían necesarios 7 a 8 días para que un folículo de 1 mm alcanzara el mínimo tamaño ovulatorio de 10 mm ⁽⁴⁰⁾. Por lo tanto, durante el tratamiento de superestimulación, un folículo de 1mm en el momento del inicio del tratamiento con FSH alcanzaría un diámetro de 8,6 y 10 mm en el momento del inicio del celo con un protocolo de 4 días y 7 días, respectivamente. Además, en el tratamiento de 7 días, más folículos alcanzaron un tamaño ovulatorio y tuvieron una tasa de crecimiento más lento, similar a la observada en ondas foliculares naturales.

Superar el mecanismo de selección es un factor clave para la superestimulación; ya que los folículos subordinados tienen una capacidad disminuida para sobrevivir ante la disminución en las concentraciones de FSH en comparación con el folículo dominante ⁽⁵⁾. Al proporcionar apoyo continuo con FSH, se puede prevenir la atresia de los folículos subordinados, de tal modo que los mismos adquieran las cualidades de un folículo dominante. Sin embargo, en un estudio reciente, la expresión génica en células de la granulosa de folículos sometidos

a superestimulación, estaba alterada en comparación con células de un folículo dominante de origen natural ⁽¹⁹⁾. La expresión de genes relacionados con el crecimiento, similar a la etapa previa a la inducción de la ovulación, los que participan en la respuesta al estrés oxidativo y genes relacionados con una alteración en la angiogénesis estaban sobre expresados en las células de la granulosa de folículos sometidos a un protocolo de superestimulación con FSH de 4 días en comparación con el folículo dominante de una onda folicular no estimulada.

La adquisición de receptores de LH en las células de la granulosa es comúnmente utilizado como marcador de dominancia y es requisito fundamental para la adquisición de la capacidad ovulatoria ^(7,40). En un estudio reciente, la expresión de ARNm del receptor de LH fue menor en células de la granulosa de folículos superestimulados que en folículos de una onda sin estimulación ⁽³¹⁾. Como resultado, los folículos tiene una maduración y respuesta a la LH retrasadas durante la superestimulación con FSH por 4 días en comparación con folículos de una onda natural ^(19,20). Estos hallazgos indican la posibilidad de que los protocolos de 4 días no provean

el tiempo suficiente para la adecuada maduración y adquisición de la capacidad ovulatoria por parte de los folículos.

5. Predicción de la respuesta superovulatoria y selección de donantes

La habilidad de predecir la respuesta superovulatoria mejoró significativamente con la introducción de mediciones como el recuento de folículo-santrales y la medición de hormona antimülleriana (AMH) ^(41, 28, 29, 39). Las vacas con recuentos de folículos antrales (> 3 mm) elevados tiene un mayor número de ovulaciones y producen un número mayor de embriones en respuesta a la superovulación que aquellas vacas con recuentos bajos ^(28,41). El número esperado de folículos > 5 mm después de la superestimulación es de aproximadamente 71% del número de folículos > 2 mm en el momento de emergencia de la onda folicular. En los protocolos de 4 días versus 7 días ⁽²²⁾, el número de folículos > 9 mm 12 horas después de la administración de LH fue de 59% frente a 68% del número de folículos > 5 mm al momento de la emergencia de la onda, respectivamente. Por otra parte, el número de folículos > 3 mm en el momento de emergencia de la



Ecógrafos Veterinarios
Ecógrafos veterinarios HONDA - 100% Japanese

Servicio técnico con estándares de fábrica. Confiabilidad, Calidad y Durabilidad Japonesas.

HS101V

HS1600V



Celebramos 10 años junto a HONDA ofreciendo bonificaciones y planes especiales de pago en todos nuestros equipos









TRASDUCTORES COMPATIBLES
 Calidad de Carne 18 cm,
 OPU, Microconvexo,
 Convexo, Lineal Repro,
 Lineales externos

www.imgadvantage.com.ar - info@imgadvantage.com.ar - 011 4751.5920

onda representó sólo el 92% y el 74% del número de folículos > 9 mm 12 horas después del tratamiento con LH en los protocolos de 4 días y 7 días, respectivamente. Indicando, que el tratamiento de 7 días permitiría la inclusión al pool ovulatorio de folículos más pequeños.

Los niveles circulantes de AMH en plasma son extremadamente variables entre animales, pero altamente repetibles en el mismo individuo ⁽³⁸⁾. Asimismo, las concentraciones de AMH se correlacionan con el número de folículos de 3-7 mm ($r=0,79$; ⁽³⁹⁾), el número de ovulaciones después de la superestimulación ($r=0,67$), y el número de embriones transferibles ($r=0,28$; ⁽⁴²⁾). Por ejemplo, las donantes con concentraciones de AMH en el cuartil superior (> 135,5 pg/ml) produjeron un mayor número de embriones transferibles que las donantes en el cuartil inferior (<82,6 pg/ml; $7,2 \pm 1,4$ vs. $3,1 \pm 0,8$, $p < 0,05$, respectivamente) ⁽⁴²⁾.

En este sentido, se ha propuesto un valor de corte de 87 pg/ml de AMH para la eliminación de las vacas en las que la superestimulación produciría menos de 15 folículos > 7 mm en el momento del estro ⁽³⁹⁾. Los folículos antrales pequeños (< 3 mm) producen AMH en niveles comparables a los folículos de 3-5mm de diámetro ⁽³⁸⁾. Sin embargo, la correlación entre el número de pequeños folículos antrales (< 3 mm) y las concentraciones plasmáticas de AMH no se ha sido establecida claramente.

Los avances en la predicción del número de folículos antrales ofrecen la posibilidad de seleccionar donantes con un mayor potencial de producción de embriones y la oportunidad de adaptar protocolos de superovulación para maximizar la misma en donantes de bajo potencial. Además, las diferencias en la población de folículos antrales entre animales deben ser evaluadas cuidadosamente en el diseño de experimentos de superestimulación a fin de minimizar la posibilidad de confusión entre los grupos como resultado de dichas diferencias en la población folículos antrales.

6. Conclusión

La adición de 2-3 días a un protocolo tradicional de superestimulación provee un tiempo mayor para que incluso los folículos más pequeños de una onda sean rescatados de la atresia y se incorporen a la cohorte del pool ovulatorio. Por el contrario, los protocolos tradicionales de superestimulación de 4 días resultan en una tasa de crecimiento ace-

lerada y una demora en la maduración de folículos. Aunque los protocolos extendidos de superestimulación parecen resultar en un mayor número de embriones transferibles, este tema requiere muchísima investigación adicional con un mayor número de donantes y en diferentes circunstancias. Por ejemplo, un estudio preliminar realizado recientemente en vacas lecheras en lactancia no encontró diferencias significativas en el número de ovulaciones y de embriones transferibles entre un protocolo de 4 y 7 días ⁽³⁵⁾. Es posible que, la utilización de protocolos extendidos en vacas en lactancia requiera de dosis diferentes a las utilizadas en experimentos previos ganado de carne.

A pesar de los beneficios aparentes, la extensión del protocolo de superestimulación implica un protocolo más engorroso de implementar debido al aumento del número de tratamientos. Sin embargo, informes recientes sobre el uso de ácido hialurónico en la formulación de FSH ⁽⁴⁴⁾ o la administración de una FSH recombinante de acción prolongada ⁽¹⁶⁾, son herramientas que podrían utilizarse para simplificar los protocolos extendidos. Se necesitan más investigaciones para determinar la duración óptima del tratamiento de superestimulación y crear protocolos más fáciles de usar sin comprometer la respuesta ovárica.

Por último, los protocolos extendidos de superestimulación puede proporcionar mayor beneficio en el caso de donantes con bajo potencial superestimulador. El uso de los protocolos prolongados de superestimulación en donantes de bajo potencial puede ayudar en la respuesta superestimuladora al permitir la incorporación de folículos más pequeños al pool ovulatorio, proporcionando mayor tiempo para que los mismos adquieran capacidad ovulatoria.

7. Bibliografía

1. Adams, G. P. (1994). "Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization & superstimulation." *Theriogenology* 41: 19-24.
2. Adams, G. P., R. Jaiswal, J. Singh and P. Malhi (2008). "Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle." *Theriogenology* 69(1): 72-80.
3. Adams, G. P., R. L. Matteri, J. P. Kastelic, J. C. H. Ko and O. J. Ginther (1992). "Association between surges of folliclestimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers." *Journal of Reproduction and Fertility* 94: 177-188.
4. Adams, G. P., L. F. Nasser, G. A. Bó, A. Garcia, M. R. Del



Inseminación Artificial minitube



CORTAPAJUELAS



VAINAS PARA
INSEMINACIÓN

¡LIDER EN VENTAS!



INSEMINADORES
QUICKLOCK

Aptos para Pajuelas
de 0,5 y 0,25 cc.



CAMISAS
SANITARIAS

BIOESTROL

BENZOATO DE ESTRADIOL

Bioprost

PROSTAGLANDINA
(D- CLOPROSTENOL SÓDICO)

BIOSIN

ACETATO DE BUSERELINA

BIOCIPIOESTROL

CIPIONATO DE ESTRADIOL

HORMONAS PARA PROGRAMAS
DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

PINTURA Y PARCHES PARA DETECCIÓN DE CELO

· Mayor duración · Hasta 30 días a la interperie · Fácil aplicación

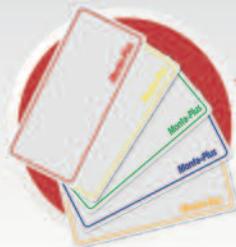
Celo-Test
i y el celo está pintado!

Pinturas para detección de celo



Monta-Plus

Parches para detección de celo



PRÓXIMO
LANZAMIENTO

Celo-Test
FLUO
CELESTE | VERDE
AMARILLO | ROJO

Celo-Test
OLEOSO
CELESTE | AMARILLO | ROJO

NUEVA
PRESENTACIÓN

- Campo and R. J. Mapletoft (1994). "Superovulatory response of ovarian follicles of wave 1 versus wave 2 in heifers." *Theriogenology*42: 1103-1113.
5. Adams, P., K. Kot, C. Smith and O. Ginther (1993). "Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers." *AnimReprodSci*30(4): 259-271.
 6. Bao, B., H. A. Garverick, G. W. Smith, M. F. Smith, B. E. Salfen and R. S. Youngquist (1997). "Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome p450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles." *Biology of Reproduction*56(5): 1158-1168.
 7. Barros, C. M., R. A. Satrapa, A. C. S. Castilho, P. K. Fontes, E. M. Razza, R. L. Ereno and M. F. G. Nogueira (2012). "Effect of superstimulatory treatments on the expression of genes related to ovulatory capacity, oocyte competence and embryo development in cattle." *Reproduction, Fertility and Development*25(1): 17-25.
 8. Bergfelt, D. R., G. A. Bo, R. J. Mapletoft and G. P. Adams (1997). "Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence at random stages of the oestrous cycle in cattle." *Animal Reproduction Science*49(1): 1-12.
 9. Bergfelt, D. R., K. C. Lightfoot and G. P. Adams (1994). "Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers." *Theriogenology*42: 895-907.
 10. Bó, G. A., G. P. Adams, R. A. Pierson and R. J. Mapletoft (1995). "Exogenous control of follicular wave emergence in cattle." *Theriogenology*43: 31-40.
 11. Bó, G. A., P. S. Baruselli, P. M. Chesta and C. M. Martins (2006). "The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle." *Theriogenology*65(1): 89-101.
 12. Bó, G. A., D. C. Guerrero and G. P. Adams (2008). "Alternative approaches to setting up donor cows for superstimulation." *Theriogenology*69: 81-87.
 13. Bó, G. A., D. K. Hockley, L. F. Nasser and R. J. Mapletoft (1994). "Superovulatory response to a single subcutaneous injection of follitropin-v in beef cattle." *Theriogenology*42(6): 963-975.
 14. Bungartz, L. and H. Niemann (1994). "Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination." *Journal of Reproduction and Fertility*101(3): 583-591.
 15. Caccia, M., R. Tribulo, H. Tribulo and G. A. Bó (1999). "Effect of pretreatment with ecg on superovulatory response in beef cattle treated with cidr-b, estrogen and progesterone." *Theriogenology*51(1): 403-403.
 16. Carvalho, P. D., K. S. Hackbart, R. W. Bender, G. M. Baez, A. R. Dresch, J. N. Guenther, A. H. Souza and P. M. Fricke (2014). "Use of a single injection of long-acting recombinant bovine fsh to superovulate holstein heifers: A preliminary study." *Theriogenology*82(3): 481-489.
 17. D'Occhio, M. J., D. Jillella and B. R. Lindsey (1999). "Factors that influence follicle recruitment, growth and ovulation during ovarian superstimulation in heifers: Opportunities to increase ovulation rate and embryo recovery by delaying the exposure of follicles to lh." *Theriogenology*51(1): 9-35.
 18. Dias, F. C. F., E. Costa, G. P. Adams, R. J. Mapletoft, J. Kastelic, O. Dochi and J. Singh (2013). "Effect of duration of the growing phase of ovulatory follicles on oocyte competence in superstimulated cattle." *Reproduction Fertility and Development*25(3): 523-530.
 19. Dias, F. C. F., D. Dadarwal, G. P. Adams, H. Mrigank, R. J. Mapletoft and J. Singh (2013). "Length of the follicular growing phase and oocyte competence in beef heifers." *Theriogenology*79(8): 1177-1183.
 20. Dias, F. C. F., M. I. R. Khan, G. P. Adams, M. A. Sirard and J. Singh (2014). "Granulosa cell function and oocyte competence: Super-follicles, super-moms and super-stimulation in cattle." *Animal Reproduction Science* <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.07.016>.
 21. Dias, F. C. F., M. I. R. Khan, M. A. Sirard, G. P. Adams and J. Singh (2013). "Differential gene expression of granulosa cells after ovarian superstimulation in beef cattle." *Reproduction*146(2): 181-191.
 22. García Guerra, A., A. Tribulo, J. Yapura, G. P. Adams, J. Singh and R. J. Mapletoft (2015). "Lengthened superstimulatory treatment in cattle: Evidence for rescue of follicles within a wave rather than continuous recruitment of new follicles." *Theriogenology*84(3): 467-476.
 23. García Guerra, A., A. Tribulo, J. Yapura, J. Singh and R. J. Mapletoft (2012). "Lengthening the superstimulatory-treatment protocol increases ovarian response and number of transferable embryos in beef cows." *Theriogenology*78(2): 353-360.
 24. Ginther, O. J., J. P. Kastelic and L. Knopf (1989). "Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle." *Animal Reproduction Science*20: 187-200.
 25. Ginther, O. J., L. Knopf and J. P. Kastelic (1989). "Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves." *Journal of Reproduction and Fertility*87: 223-230.
 26. Guilbault, L. A., F. Grasso, J. G. Lussier, P. Rouillier and P. Matton (1991). "Decreased superovulatory responses in heifers superovulated in the presence of a dominant follicle." *Journal of Reproduction and Fertility*91(1): 81-89.
 27. Gutierrez, C. G., J. H. Ralph, E. E. Telfer, I. Wilmut and R. Webb (2000). "Growth and antrum formation of bovine preantral follicles in long-term culture in vitro." *Biology of Reproduction*62(5): 1322-1328.

28. Ireland, J. J., F. Ward, F. Jimenez-Krassel, J. L. H. Ireland, G. W. Smith, P. Lonergan and A. C. O. Evans (2007). "Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with fsh concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle." *Human Reproduction* 22(6): 1687-1695.
29. Ireland, J. L. H., D. Scheetz, F. Jimenez-Krassel, A. P. N. Themmen, F. Ward, P. Lonergan, G. W. Smith, G. I. Perez, A. C. O. Evans and J. J. Ireland (2008). "Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle." *Biology of Reproduction* 79(6): 1219-1225.
30. Jaiswal, R. S., J. Singh and G. P. Adams (2004). "Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary." *Biology of Reproduction* 71(4): 1244-1251.
31. Lucacin, E., A. R. Pupulim, P. K. Fontes, E. M. Razza, M. F. Machado, B. Loureiro, R. L. Ereno, A. C. S. Castilho, R. A. Satrapa and C. M. Barros (2013). "Expression of genes related to ovulatory capacity (lhr and agr2) in granulosa cells from superstimulated or not superstimulated cows." *Reproduction, Fertility and Development* 26(1): 218-218.
32. Lucy, M. C., J. D. Savio, L. Badinga, R. L. De La Sota and W. W. Thatcher (1992). "Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle." *Journal of Animal Science* 70(11): 3615-3626.
33. Mapletoft, R. J. and G. A. Bó (2012). "The evolution of improved and simplified superovulation protocols in cattle." *Reproduction, Fertility and Development* 24(1): 278-283.
34. Mattos, M. C. C., M. R. Bastos, M. M. Guardieiro, J. O. Carvalho, M. M. Franco, G. B. Mourão, C. M. Barros and R. Sartori (2011). "Improvement of embryo production by the replacement of the last two doses of porcine follicle stimulating hormone with equine chorionic gonadotropin in sindhi donors." *Animal Reproduction Science* 125(1-4): 119-123.
35. Narciso, C. D., E. Martinez, R. Ruggeri, A. Garcia Guerra, Y. F. Watanabe, M. Chiba, E. O. S. Batista, M. C. Wiltbank, R. J. Mapletoft and A. H. Souza (2015). "Effect of length of fsh treatment (4dvs 7d) on the superovulatory response of lactating holstein cows." *Animal Reproduction* 12(3): 700.
36. Nasser, L. F., G. P. Adams, G. A. Bó and R. J. Mapletoft (1993). "Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers." *Theriogenology* 40: 713-724.
37. Oliveira, A. C. S., M. C. C. Mattos, M. R. Bastos, L. A. Trinca, E. M. Razza, R. A. Satrapa, R. Sartori and C. M. Barros (2014). "Efficiency of superstimulatory protocol p-36 associated with the administration of ecg and lh in nelore cows." *Theriogenology* 82(5): 715-719.
38. Rico, C., L. Drouilhet, P. Salvetti, R. Dalbiès-Tran, P. Jarrier, J.-L. Touzé, E. Pillet, C. Ponsart, S. Fabre and D. Monniaux (2012). "Determination of anti-müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select holstein donor cows for embryo production: From the laboratory to the farm." *Reproduction, Fertility and Development* 24(7): 932-944.
39. Rico, C., S. Fabre, C. Médigue, N. d. Clemente, F. Clément, M. Bontoux, J.-L. Touzé, M. Dupont, E. Briant, B. Rémy, J.-F. Beckers and D. Monniaux (2009). "Anti-müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow." *Biology of Reproduction* 80(1): 50-59.
40. Sartori, R., P. M. Fricke, J. C. P. Ferreira, O. J. Ginther and M. C. Wiltbank (2001). "Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles." *Biology of Reproduction* 65(5): 1403-1409.
41. Singh, J., M. Dominguez, R. Jaiswal and G. P. Adams (2004). "A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle." *Theriogenology* 62(1-2): 227-243.
42. Souza, A. H., P. D. Carvalho, A. E. Rozner, L. M. Vieira, K. S. Hackbart, R. W. Bender, A. R. Dresch, J. P. Verstegen, R. D. Shaver and M. C. Wiltbank (2015). "Relationship between circulating anti-müllerian hormone (amh) and superovulatory response of high-producing dairy cows." *Journal of Dairy Science* 98(1): 169-178.
43. Surjus, R. S., A. B. Prata, M. Borsato, F. C. S. Z. Mattos, M. C. Martins da Silveira, G. B. Mourao, A. V. Pires, M. C. Wiltbank and R. Sartori (2014). "In vivo embryo production in cows superovulated 1 or 2 days after ovum pick-up." *Reproduction Fertility and Development* 26(4): 527-532.
44. Tríbulo, A., D. Rogan, H. Tríbulo, R. Tríbulo, R. J. Mapletoft and G. A. Bó (2012). "Superovulation of beef cattle with a split-single intramuscular administration of follitropin-v in two concentrations of hyaluronan." *Theriogenology* 77(8): 1679-1685.
45. Xu, Z., H. A. Garverick, G. W. Smith, M. F. Smith, S. A. Hamilton and R. S. Youngquist (1995). "Expression of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave." *Biology of Reproduction* 53(4): 951-957.