

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
(Segunda universidad fundada en el Perú - 1677)

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



**HORMONAS ESTEROIDEAS PARA LA SINCRONIZACIÓN
DE LA ONDA FOLICULAR EN VACAS DE ALLPACHAKA -
AYACUCHO 3550 m.s.n.m. 2016**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO

PRESENTADO POR:

ELVIS EFRÉN QUISPE PÉREZ

AYACUCHO-PERÚ

2016

DEDICATORIA

A mis padres por haberme dejado el don de seguir sus pasos de superación y perseverancia.

A mis hermanos: Julio César y Elper

Rolando; por brindarme todo el

afecto y positivismo de superación.

A Karen L. Chuchón Vega y a sus padres, por haberme brindado todo su apoyo incondicional en el cumplimiento de mi carrera profesional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por abrirme las puertas y llenarme de mucho conocimiento y cultura.

A la Facultad de Ciencias Agrarias, en especial a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y a su plana de docentes, por compartir sus conocimientos durante la formación de mi carrera profesional.

A mi asesor de tesis al Dr. Arturo Rodríguez Zamora, por darme la iniciativa y el apoyo de hacer realidad este trabajo.

A mis colegas Ever Cayampi Pumallihua y Kleber M. Tacuri Mallqui, por su apoyo incondicional durante todo el proceso de mi trabajo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

I.REVISIÓN DE LITERATURA 3

1.1.Antecedentes 3	
1.2.Hormonas esteroideas	9
1.2.1.17 estradiol	9
1.2.2.Progesterona	11
1.3.Ciclo estral	13
1.4.Desarrollo folicular y Oogénesis	15
1.5.Dinámica folicular durante el ciclo estral del bovino	17
1.5.1.Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular	18
1.5.2.Atresia folicular	20
1.6.Endocrinología y desarrollo folicular	22
1.7.Ciclo estral del bovino Brown Swiss en el altiplano peruano	23
1.8.La ecografía	23
II.MATERIALES Y MÉTODOS	27
2.1.Ubicación	27
2.2.Duración	28
2.3.Tamaño de la muestra	28
2.4.Materiales	28

2.5. Metodología	30
2.6. Análisis estadístico	35
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
3.1. Atresia del folículo dominante	38
3.2. Sincronía de la nueva onda folicular	42
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
RESUMEN	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXO	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°2.1. Distribución de los animales para el experimento.	31
---	----

- Tabla N°3.1.** Respuesta de las vacas altoandinas a los tratamientos, T1: 2.5 mg de BE y T2: 1.5mg de BE ambos tratamientos asociados con DIB de 1g de P4. 37
- Tabla N°3.2.** Diámetro (mm) del folículo dominante (promedio \pm ds) a lo largo de los 4 días iniciales del tratamiento con Benzoato de Estradiol asociado con progesterona (DIB, 1g) en vacas altoandinas(n=16).
- Tabla N°3.3.** Distribución de las vacas altoandinas según el día de inicio de la nueva onda folicular tratadas con 2.5mg y 1.5mg de BE asociado con un DIB de 1g de P4. 42
- Tabla N°3.4.** Efecto del tratamiento con 2.5mg de BE y 1.5mg BE asociado a un DIB (P4) sobre el inicio de la nueva onda folicular en vacas altoandinas. 43
- Tabla N°3.5.** Valores individuales del número de folículos mayores o iguales a 4mm, al inicio de la nueva onda folicular en vacas altoandinas, que respondieron a los tratamientos (T1 y T2), UPB-Allpachka 3550 m.s.n.m. 46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°2.1. Esquema de los experimentos en vacas altoandinas. Donde P4=progesterona, BE=Benzoato de estradiol, IM= intramuscular. 31

Figura N°3.1 Seguimiento del folículo dominante (mm) por ultrasonografía durante los primeros cinco días iniciales del tratamiento con 1.5 y 2.5mg de BE asociado con DIB (1g P4), en vacas altoandinas (n=16). 39

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1 Valores individuales de la condición corporal de las vacas altoandinas de la UPB Allpachaka-UNSCH usadas para el experimento. 6 63

Anexo N°2 Valores individuales del diámetro (mm) del folículo dominante durante los primeros 4 días en vacas altoandinas, que recibieron el T1 64:

Anexo N°3 Valores individuales del diámetro (mm) del folículo dominante durante los primeros 4 días en vacas altoandinas, que recibieron T2 65.

Anexo N°4 Vaca sujeta para la evaluación de la condición corporal.	65
Anexo N°5 Evaluación de la condición corporal del lado posterior de la vaca.	66
Anexo N°6 Evaluación ginecológica mediante ultrasonografía.	66
Anexo N°7. Aplicación por vía intramuscular de Benzoato de Estradiol	
Anexo N°8. DIB después de la aplicación para tener la certeza de que el dispositivo esté adecuadamente sujeta dentro de la vagina.	67
Anexo N°9 Dinámica folicular del ovario izquierdo y derecho de una vaca tratada con 2.5mg de BE.	68
Anexo N°10 Dinámica folicular del ovario izquierdo y derecho de una vaca tratada con 1.5mg de BE.	70
Anexo N°11 Ficha para el seguimiento de la dinámica folicular del Ovario derecho e Izquierdo.	71
Anexo N°12 Historia reproductiva de las vacas usadas en los experimentos.	73

Anexo N°13. Ficha ginecológica usado para la selección de los animales según los criterios de selección. 7

Anexo N°14 Análisis estadístico de la respuesta de las vacas altoandinas a los tratamientos, T1: 2.5 mg de BE y T2: 1.5mg de BE. 73

LISTA DE ABREVIATURAS

3 -HSD: -hidroxiesteroide desidrogenasa.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

BE: Benzoato de estradiol.

CL: Cuerpo lúteo.

DIB: Dispositivo intravaginal bovino.

EGF: Factor de crecimiento epidérmico.

FSH: Hormona folículo estimulante.

LH: Hormona luteinizante.

GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas.

IATF: Inseminación artificial a tiempo fijo.

IGF-1: Factor de crecimiento insulinoide.

MHz: Mega Hertz.

OMI: Factor inhibidor de la meiosis.

P450scc: Citocromo, rotura de la cadena lateral del colesterol.

RNAm: Ácido ribonucleico mensajero.

StAR: Proteína reguladora esteroideogénica aguda.

ACTH: Hormona adrenocorticotropa

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la transferencia de embriones es una biotecnología cada vez de mayor expansión en todo el mundo. Gracias a la transferencia de embriones podemos multiplicar la genética de modo más acelerado, procurando así una mejora ganadera en nuestra región. Sin embargo, la variabilidad en la respuesta a los tratamientos hormonales, el tiempo y los esfuerzos necesarios para realizar tratamientos y detección de celo limitan tanto la aplicación generalizada como el éxito de esta tecnología. Los protocolos diseñados para controlar la función lútea y folicular permiten iniciar tratamientos de superestimulación en un momento arbitrariamente determinado y brindan muy buenas posibilidades para la sincronización de ovulación sin la necesidad de detectar celo.

A pesar de que hace décadas que se conocen los efectos de sincronización de los tratamientos que combinan progestágenos y estradiol, recién con los últimos descubrimientos de los efectos del estradiol sobre el desarrollo folicular se logró comprender completamente el motivo de dichos efectos. En

una serie de experimentos, se encontró que el estradiol suprime el desarrollo del folículo antral y que dicha supresión es mayor cuando la aplicación se da después de la inserción de un dispositivo liberador de progesterona (Bó y Mapletoft, 2013.) Sin embargo la sincronía de la onda folicular de emergencia aún es muy variable debido a varios factores, incluyendo el tipo de raza animal, subespecie y de animales en lactación o secas (Burke *et al.*,2003).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de las hormonas esteroideas sobre la sincronización de la onda folicular en vacas altoandinas.

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Antecedentes.

La variabilidad en la respuesta a los tratamientos con benzoato de estradiol (BE) asociados a dispositivos con progesterona (P4) se debe fundamentalmente a factores, como: Tipo de raza animal, subespecie, de animales en lactación o secas (Burke *et al.*, 2003), al tipo de estrógeno usado y a la dosis (Mapletoft, 2003). Debido a esta variabilidad es necesario saber en nuestras vacas altoandinas la respuesta a estos protocolos. La importancia radica en que la sincronización de una nueva onda folicular es el primer paso para un protocolo de superovulación y de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) (Meneghetti *et al.*, 2009).

En los años 90 algunos investigadores en Canadá empezaron a asociar progestágenos y ésteres de estradiol para inducir la regresión de los folículos y el resultado fue el comienzo de la nueva onda en promedio 4 días después del tratamiento (Bó *et al.*, 2009).

La emergencia de una nueva onda folicular depende de la atresia y pérdida de la funcionalidad de la onda existente asociada a un aumento de FSH, suficiente para estimular el crecimiento de un nuevo grupo de folículos. La FSH es la hormona clave para estimular la emergencia de la nueva onda folicular (Lane *et al.*, 2001).

Estudios realizados por Martínez 2002, (citado por Bó, 2006), demostraron que la aplicación de 5mg de BE en vacas ovariectomizadas produjo un pico de estrógeno aproximadamente a las 24 horas y niveles basales a las 96 horas, los niveles de FSH regresaron a partir de las 72 y 84 horas, de esta manera se determina que mientras haya estrógeno circulante no habrá un aumento de los niveles de FSH y por ende no se dará el inicio de una nueva onda folicular. En otros trabajos sucesivos Martínez 2005, (citado por Bó, 2006), la aplicación de una dosis de 2.5mg de BE asociado con CIDR, en vacas Herford, produjo el inicio de la onda folicular de emergencia en promedio en el día 4 y en vaquillonas la dosis de 1 mg produjo el inicio de la nueva onda en 3.7 ± 0.6 días, todos estos presentaron una atresia del 100%. En trabajos similares de las distintas dosis evaluadas en vacas Aberdeen Angus cruzas, (1 mg y 2,5 mg) la dosis de 2,5 mg de BE fue la dosis mínima más efectiva para sincronizar el inicio de la nueva onda folicular de 3,9 días en promedio y un intervalo de 3 a 4 días (Bó *et al.*, 2007). Otro trabajo realizado en vacas Aberdeen Angus la dosis de 2.5mg produjo el inicio de la nueva onda folicular en el día 4.3 en promedio y un intervalo de 4 a 6 días (Caccia y Bó 1998). Con 5mg de 17 estradiol en vaquillas y vacas de carne taurinas se observó el inicio de la nueva onda 4.3 ± 0.2 días (Bó *et al.*, 1995).

La dosis de 2mg de BE en vacas Holstein lactantes causó la atresia folicular en un 100% (Burke *et al.*, 2000). En otros trabajos realizados en vacas Holstein lactantes y no lactantes se observó una atresia del 100% con una dosis de 1mg de BE y el inicio de la nueva onda folicular 4.5 ± 0.2 días (Burke *et al.*, 2000). Trabajos realizados en vacas taurinas mestizas Aberdeen Angus, observaron 100% de atresia folicular e inicio de la nueva onda cuando se utilizó 1mg de BE asociado a un dispositivo con P4 de 1g (Salfen *et al.*, 2001). La dosis de 2mg de BE fue corroborado en vacas de carne mestizas donde se observó de la misma forma un 100% de atresia folicular y la emergencia de una nueva onda en el día 4.3 ± 0.2 (Moreno *et al.* 2001). En otros trabajos realizados en vacas cebuinas Gir observaron también un 100% de atresia folicular con una dosis de 2mg de BE (Carvalho *et al.*, 2002).

A pesar de que los efectos de la sincronización debido a los tratamientos combinados con progestágenos y estradiol han sido demostrados por décadas, pero hasta ahora con los recientes descubrimientos sobre los efectos del estradiol en el desarrollo folicular fue comprendida la razón importante de este efecto. En una serie de estudios, se descubrió que el tratamiento con estradiol suprimía la fase de crecimiento del folículo dominante, y la supresión era más eficaz cuando se combinaba con P4. El mecanismo responsable por la supresión del crecimiento folicular inducido por estrógenos no está comprendido claramente, pero parece intervenir en la supresión de FSH y posiblemente de LH (Mapletoft *et al.*, 2009). El

crecimiento de folículos menores de 0.8cm es estimulado por la FSH y a medida que van creciendo se vuelven LH dependientes (Gong *et al.*, 1996). El tratamiento con progesterona y estradiol asociados causan la supresión de la secreción de FSH y de la LH, e inducen, la atresia folicular, independientemente del estadio folicular (Burke *et al.*, 2000).

El estradiol administrado en presencia de progesterona ya sea endógena o exógena causa una disminución de los niveles circulantes de FSH y LH, provocando la regresión de folículos dependientes de gonadotropinas (Baruselli *et al.*, 2005). La alta concentración plasmática de progesterona (5 a 8 ng/mL) disminuye la frecuencia de la pulsatilidad de LH (6 a 8 pulsos /24 horas) (Rahe *et al.*, 1980). Sin embargo concentraciones prolongadas de progesterona están relacionadas a la baja fertilidad del folículo ovulatorio que persiste por más de diez días (Mihn y Evans, 2008). Esto ha sido demostrado claramente, que el control exógeno del inicio la onda de emergencia folicular ofrece la ventaja de superovular en el momento óptimo del inicio del reclutamiento folicular independientemente del ciclo estral (Bó *et al.*, 2007).

Sin embargo la comprensión del modo como actúan estas hormonas se observó en trabajos realizados para medir las concentraciones plasmáticas de progesterona. En un trabajo se observó las concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas ovariectomizadas *Bostaurus* tratadas con dispositivos intravaginales donde se comparó dos DIB impregnados con distintas concentraciones de P4 (DIB 0.5g y DIB 1g) ambos asociado con

2mg de BE, observó que no existía diferencias significativas (Avilés *et al.*, 2005a). En otro trabajo donde se comparó distintas dosis de P4, CIDR 1.9g, DIB 1g y DIB 0.5g. Las formulaciones resultaron en niveles plasmáticos superiores a 1ng/ml (Avilés *et al.*, 2005b). Experimentos realizados en vacas ovariectomizadas *Bostaurus*, se midió los niveles plasmáticos de progesterona al colocar un DIB de 0.5g usado y otro de 1g usado, donde se observó que el DIB usado de 0.5g no aportó niveles superiores a 1ng/ml durante el tratamiento de 7 días (Avilés *et al.*, 2015c)

Para conocer los niveles plasmáticos en vacas no ovariectomizadas se realizó un trabajo donde se diseñó un experimento para evaluar las concentraciones plasmáticas de P4 (en vacas tratadas con dispositivos intravaginales Pro Ciclar® de 0,75 g) durante 8 días. Se utilizaron 10 vacas, secas, ciclando. Todas las vacas estaban previamente sincronizadas y al momento del inicio de la prueba (Día -1) se encontraban en el Día 8 ± 1 del ciclo estral. En este trabajo se observó que los niveles de progesterona se mantienen superiores a 1ng/ml durante todo el tratamiento usando los dos dispositivos (Chesta *et al.*, 2007).

Trabajos realizados en vacas Holstein Argentino lecheras en lactancia, cíclicas, con una condición corporal de entre 2,5 y 3 con 79 ± 27 días en leche y una producción promedio de $25,2 \pm 5$ litros/día. Las vacas fueron divididas en 3 grupos de tratamiento para recibir un DIB 0,5g; un DIB 1,0g o un DIB 1,0g previamente utilizado por 7 días. Los resultados concluyeron en que el uso del DIB de 0.5g resultó en la liberación de P4 similar al DIB de 1g; sin

embargo el uso del DIB de 1g usado no superó niveles de 1ng/ml (Cutaia, 2007).

Estudios realizados en *Bostaurus*, observaron que la asociación de BE con una dosis de 50mgde P4 inyectable al momento de la inserción de un dispositivo intravaginal bovino liberador de progesterona, llevó a una mejorsincronía de la onda folicular de emergencia a diferencia del solo uso del DIB bovino asociado al BE (Moreno 2001, citado por Baruselli *et al.*, 2005).

En otro estudio realizado en ganado cebuino donde se observó el inicio de la nueva onda folicular, asociando BE (2mg y 3mg usados en el día cero y el día uno), P4 inyectable (50mg P4) y un DIB (P4). Se observó que la aplicación de BE un día después de la inserción del DIB atrasa el día de la emergencia de la onda folicular comparando con el tratamiento de BE aplicado el día cero; adicionalmente a esto se observó que la aplicación intramuscular de progesterona inyectable en el momento de aplicación de benzoato de estradiol asociado a un DIB induce al inicio más sincrónico de la onda de emergencia (Sá filho *et al.*, 2005).

Tradicionalmente el inicio de un protocolo de superovulación se realizaba en la fase luteal media, aproximadamente el día 8 y 12 después del ciclo estral (Baruselli *et al.*, 2005); en otras investigaciones realizadas se determinó en los días 7 y 11 (Bó *et al.*, 2013).Sin embargo se demostró que la respuesta superovulatoria en estos tratamientos era mayor cuando se les trató a los animales el mismo día del inicio de la nueva onda, en lugar del 1 ó 2 días después (Mapletoft, 2011). A pesar de que se estableció el programa

tradicional, surgieron muchos inconvenientes como: La necesidad de detección de celo de la donadora, variabilidad individual del inicio de la segunda onda folicular de crecimiento para iniciar el protocolo de superestimulación y detección de celo post tratamiento para la inseminación artificial (Baruselli *et al.*, 2005).

Otra alternativa es el uso de la GnRH para inducir la ovulación del folículo dominante que sería seguido por la emergencia de la nueva onda folicular 1 a 2 días más tarde. Sin embargo, la aparición de una nueva onda folicular se sincronizó solamente cuando el tratamiento causó la ovulación, y sin pre-sincronización, la primera aplicación de GnRH provoca la ovulación en menos del 60% de los animales. Aunque el tratamiento con GnRH en momentos al azar del ciclo estral, antes de iniciar tratamientos superestimuladores, dio lugar a respuestas superovulatorias más bajas que los tratamientos iniciados después de la aspiración folicular o tratamiento con estradiol (Bó y Mapletoft, 2013).

1.2. Hormonas esteroideas.

1.2.1. 17 estradiol.

El 17 estradiol es una hormona esteroidea natural que está constituido por 18 átomos de carbono y un anillo fenólico A, siendo este anillo el responsable de la alta afinidad de la molécula a los receptores de estrógenos (anillo aromático con un grupo hidrófilo en el carbono 3) y un grupo hidrófilo cetónico en el carbono 17 del anillo D. Los estrógenos se distribuyen por todo el organismo, se acumulan en el tejido adiposo, son

metabolizados en el hígado y eliminados principalmente por la orina (Bó *et al.*, 2006).

Entre las funciones en la fisiología reproductiva el estrógeno actúa en la expresión de celo, en las características secundarias sexuales y liberación de GnRH y LH por el hipotálamo y la hipófisis respectivamente (Minh y Austin, 2002). Tanto los estrógenos naturales como los sintéticos favorecen la acción de la progesterona tanto cualitativamente, induciendo la formación de su receptor, como cuantitativamente promoviendo la fijación de la hormona a su receptor (Spaccavento *et al.*, 2008).

En ganado bovino y en otras especies de mamíferos los estrógenos son sintetizados principalmente por los folículos ováricos en crecimiento y por los folículos preovulatorios. Los estrógenos son un factor intrafolicular producido por las células de la granulosa de folículos en crecimiento (Ginther *et al.*, 2003) y sus síntesis depende del aumento en la expresión y actividad de los receptores de gonadotropinas, enzimas esteroideogénicas y factores de crecimiento (Mihm y Austin, 2002).

El proceso de síntesis de estradiol está coordinado entre las células de la teca y de la granulosa. Al unirse la LH a receptores existentes en las células de la teca, ésta estimula la actividad de la enzima P450 17 α -hidroxilasa, que actúa en la conversión de pregnenolona en androstenediona, siendo las células de la granulosa incapaces de realizar tal conversión (Bertan *et al.*, 2006). La androstenediona es metabolizada en estradiol por la acción de la

encima P450 aromatasas, presente exclusivamente en las células de la granulosa y cuya expresión es estimulada por la FSH (Fortune, 1994).

La eliminación de estrógenos esteroides se da principalmente a través del metabolismo hepático, son eliminados principalmente a través de la orina pero además son eliminados a través de la bilis donde la mayoría son reabsorbidos desde el tracto intestinal. Debido su baja solubilidad en agua, los ésteres de estradiol se absorben en un intervalo prolongado. Cuanto más larga es la cadena del éster, más baja es la solubilidad en agua y más demorará en absorberse la dosis completa. Una vez en la circulación, el éster es clivado por una enzima esterasa y la actividad biológica vuelve a ser la del E-17 normal. (Bó, 2006).

El BE es un estrógeno comercial disponible en el mercado. Bó *et al.*, (1999) realizaron trabajos para evaluar la efectividad de distintas formas de benzoato de estradiol sobre el control del desarrollo folicular. El benzoato de estradiol suprime el desarrollo folicular cuando es administrado un día después de la inserción de los dispositivos con progestágeno o cuando es administrado en el mismo momento de la inserción del implante combinado con la administración intramuscular de 50 o 100 mg de progesterona. De las distintas dosis evaluadas (1 mg, 2,5 mg y 5 mg de EB - todas combinadas con 50 mg de Progesterona) la de 2,5 mg de EB fue la dosis mínima más efectiva, con un intervalo entre tratamiento y comienzo de la nueva onda folicular de 3,9 días (rango 3 a 4 días) (Bó *et al.*, 2007).

1.2.2. Progesterona.

La progesterona es una hormona derivado del colesterol, es secretada por las células luteínicas del cuerpo lúteo, por la placenta y glándulas adrenales. Su secreción es estimulada principalmente por la LH. Después de la ovulación de las células remanentes de la teca de la granulosa del folículo ovulatorio que hasta entonces sintetizan estrógenos, son reorganizadas para formar el cuerpo lúteo y secretar P4. Para tal cambio de funcionamiento, ocurre una disminución de la expresión de la enzima P450 aromatasa, que convierte la androstenediona en estrógenos. Este cambio determina el inicio de la luteinización de las células de la teca y de la granulosa. En tanto, para que la progesterona sea sintetizada en gran cantidad, luego de la diferenciación celular, necesariamente deberá ocurrir un aumento en la expresión de enzimas necesarias para la conversión de colesterol en progesterona y de las proteínas transportadora de colesterol para el interior de la membrana mitocondrial (Bertan *et al.*, 2006).

El colesterol transportado para la membrana mitocondrial interna interactúa con la enzima P450_{scc} que lo cliva, transformándolo en pregnolona. Este precursor es transportado hacia el retículo endoplasmático liso y por la acción de la enzima β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD), es convertido en progesterona (Fortune, 1994).

La alteración en la frecuencia de los pulsos de LH por la inserción de un dispositivo con progesterona o una inyección de progesterona resultó en la regresión de un folículo persistente y el desarrollo subsecuente de una nueva onda folicular en aproximadamente 3 a 5 días. Sin embargo, no está

claro como la administración de progesterona exógena afectara el crecimiento del folículo dominante (Bó *et al.*, 2007). De otro lado la progesterona tiene una acción antiestrogénica que reduce la concentración del receptor estrogénico en el citoplasma y también reduce el número de complejos estrógenos-receptor en el núcleo. De esta forma la progesterona modula la acción de los estrógenos y evita una hiperproliferación endometrial. Al disminuir la actividad de los estrógenos la progesterona inhibe la producción de sus propios receptores (Spaccavento *et al.*, 2008).

Estudios han demostrado que la administración de un CIDR usado y una inyección de 150 mg de progesterona con un CL funcional existente en el día 13 del ciclo, no hubo alteración en el patrón de la onda folicular. En otro estudio la administración de 300 mg diarios de progesterona durante la fase estática de crecimiento del folículo dominante suprimió el crecimiento y acorto la vida media del folículo dominante. Sin embargo, la emergencia de la próxima onda fue algo variable. La precisión de la emergencia de la onda folicular luego de la administración de progesterona parece ser dependiente de la dosis de progesterona y el estadio de desarrollo del folículo dominante, lo que no permite la precisa sincronización de los grupos de vacas donantes en cualquier momento del ciclo estral. Sin embargo, este concepto puede ser más posible si fuera inducido un folículo persistente (Bó *et al.*, 2007).

1.3. Ciclo estral.

“Periodo de tiempo comprendido desde la aparición de un estro hasta el comienzodel siguiente, o bien, el intervalo comprendido entre dos ovulaciones” (Garcia *et al.*, 1995).

La hembra cuando alcanza la pubertad está apta para reproducirse la pubertad varía considerablemente de acuerdo con la raza, nutrición, clima, manejo, etc., manifiesta cambios rítmicos en su conducta sexual, denominada celo o estro. Los acontecimientos que comienzan en un celo y finalizan en el siguiente reciben el nombre de ciclo estral (Palma, 2008).

1.3.1. Diestro.

Viene a ser el periodo de actividad del cuerpo lúteo que comienza a partir del cuarto día después de la ovulación y finaliza con la luteólisis (García *et al.*, 1995). Generalmente durante este periodo sobrepasan 1ng mL hacia el día 4 del ciclo. Mientras persista el cuerpo lúteo y se mantengan niveles altos de progesterona en circulación, no hay manifestación de estro, pero cuando la progesterona pasa a ser nuevamente la hormona dominante, favoreciendo la retroalimentación negativa para gonadotrofinas en la fase luteal, los patrones de secreción de LH se modifican nuevamente hacia una baja frecuencia (un pulso cada 4 a 6 horas) pero con pulsos de mayor amplitud (Vatti, 1962).

1.3.2. Proestro.

Es el periodo que inicia con la regresión del cuerpo lúteo y culmina con la aparición del estro (García *et al.*, 1995). Hay un marcado incremento de la actividad de los órganos reproductivos, se evidencia luteólisis, los folículos crecen rápidamente, el útero se amplía, su mucosa se vuelve congestionada y edematosa y sus glándulas activas, la mucosa vaginal se vuelve hiperémica y sus células epiteliales se cornifican y su secreción se incrementa (Arthur, 1975). En esta etapa la secreción de progesterona

disminuye considerablemente a medida que el cuerpo lúteo va regresionando (Vatti, 1962).

1.3.3. Estro.

Viene a ser el periodo de receptividad sexual, al final del cual culmina con la ovulación (García *et al.*,1995). En esta etapa expresan señales del estro: Dejarse montar por otras vacas, montar a otras vacas, el flujo claro de moco de la vulva, la vulva dilatada, la inquietud y, a veces, los mugidos (Bath *et al.*,1982). Durante esta fase, los estrógenos en altas concentraciones alcanzan el umbral de estimulación del centro cíclico hipotalámico, estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de GnRH y en consecuencia el pico de LH la FSH, disminuye su secreción, debido a la retroalimentación negativa provocado por los estrógenos y de la inhibina (Roberts, 1971).

1.3.4. Metaestro.

Es el periodo de crecimiento del cuerpo lúteo que inicia al final del estro (García *et al.*, 1995),tiene de 2 a 4 días de duración, en esta fase los niveles de estrógenos disminuyen, consecuentemente la secreción de progesterona aumenta poco a poco durante este tiempo debido al desarrollo del cuerpo lúteo (Sintex, 2005).

1.4. Desarrollo folicular y Oogénesis.

El desarrollo folicular en el bovino hembra viene a ser un “Proceso dinámico caracterizado por una proliferación acelerada y una diferenciación de las células somáticas que componen el folículo” (Henaó y Trujillo, 2000). Los

procesos “Representan una serie de transformaciones subcelulares y moleculares de diversos componentes del folículo: El oocito, granulosa y teca, regidas por varios factores intraováricos, intrafoliculares y señales hormonales que conducen a la liberación de andrógenos y especialmente estrógenos” (Hafez y Hafez 2002).

El proceso de la ovogénesis ocurre durante los primeros estadios de la gestación, las células germinales primordiales, abandonan el saco vitelino y migran para ir a poblar las crestas germinales de donde derivan los ovarios. Estas células se diferencian en oogonias por sucesivas divisiones mitóticas (García *et al.*, 1995).

En la mayoría de mamíferos, la proliferación de oogonias está restringida al desarrollo prenatal o a un corto tiempo después del nacimiento. Así, antes o poco después del nacimiento, las oogonias son transformadas en oocitos primarios, caracterizados por una profase meiótica prolongada y rodeados por una sola capa de células planas de la granulosa, éstas constituyen los folículos primordiales (Henao y Trujillo, 2000).

La transformación de oogonias en oocitos primarios se inicia por un proceso de reducción del número de cromosomas a estado haploide mediante la primera división meiótica. Sin embargo este proceso se detiene en la profase de la meiosis causado por el factor inhibidor de la meiosis (OMI) secretado por las células foliculares en desarrollo (García *et al.*, 1995).

Por tanto estos folículos primordiales constituyen la reserva o almacén de folículos en reposo, los cuales se agotan progresivamente durante la vida del animal (Henao y Trujillo,2000).

1.5. Dinámica folicular durante el ciclo estral del bovino.

Con el advenimiento de la ultrasonografía se pudo observar que el desarrollo folicular en los bovinos ocurre en forma de ondas, conformadas por cohortes de folículos que son seleccionados para crecer a partir de la reserva de folículos en reposo (Henao y Trujillo,2000).

Una onda de crecimiento folicular implica el desarrollo sincrónico de un grupo de folículos individualmente identificables a partir de un diámetro de 4mm que ocurre al mismo tiempo en los dos ovarios (Bó, 2002).

La primera onda emerge el día de la ovulación (día 0), la segunda onda el día 11 ó 12 (para vacas de dos ondas). En el caso de tres ondas, la segunda onda emerge el día 8 ó 9 y la tercera alrededor del día 16 del ciclo. El folículo dominante de la última onda es el folículo ovulatorio y la duración del ciclo estral dependerá del número de ondas: Animales con ciclo estral corto (18-21 días) y otros con ciclo estral largos (22-24 días) Peña *et al.*, (2007).

Si bien en el 95% de los ciclos estrales hay 2 ó 3 ondas de desarrollo folicular, existen diferencias entre los estudios en cuanto a la preponderancia de animales con 2 ó 3 ondas. Se ha observado una preponderancia de ciclo estrales de 2 ondas, aunque otros trabajos indican una preeminencia de ciclos de 3 ondas y otros han observado una distribución pareja (Bó, 2002).

1.5.1. Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular.

1.5.1.1. Reclutamiento Folicular.

El reclutamiento es el proceso por el cual un grupo de folículos, provenientes del conjunto de folículos en crecimiento lento, inicia un crecimiento rápido bajo el estímulo de la oleada de FSH (Henao y Trujillo, 2000).

Un grupo de 3 a 6 folículos (de 2 a 5 mm) comienzan a desarrollarse a partir de una cohorte de folículos antrales pequeños que empiezan a madurar bajo un aporte adecuado de gonadotropinas, que le permiten avanzar en su desarrollo. Los niveles circulantes de FSH antes del reclutamiento de un grupo de folículos aumentan transitoriamente, y esto se caracteriza por la expresión de mRNA que codifica para la elaboración de las aromatasas P450 arom y P450 scc en las células foliculares. El desarrollo folicular antral desencadena en el inicio de la primera onda de crecimiento folicular, estimulada por el segundo pico (elevación transitoria) de FSH, el cual ocurre después de la ovulación (Néstor y Arturo, 2012). El número de folículos durante el reclutamiento depende de factores ambientales y genéticos (Carvalho *et al.*, 2008).

1.5.1.2. Selección y divergencia del folículo dominante.

La selección se relaciona con la interferencia del folículo más grande sobre la capacidad de los folículos más pequeños de recibir un adecuado soporte gonadotrópico. Esto podría ser llevado a cabo mediante dos vías: la vía pasiva, por la cual el folículo mayor inhibe indirectamente el crecimiento de los folículos menos maduros reduciendo las concentraciones de FSH por debajo del umbral necesario para mantener a los otros folículos, y la vía

activa, en la que el folículo mayor secreta inhibinas impidiendo de esta manera, directamente, el crecimiento de los demás folículos (Néstor y Arturo, 2012).

La selección de un folículo dominante se refiere al mecanismo que determina cuál folículo de la cohorte es seleccionado para continuar creciendo y convertirse en dominante. El principal evento morfológico en el proceso de selección es la divergencia. La divergencia corresponde al tiempo durante el cual el folículo dominante y el subordinado más desarrollado crecen a tasas diferentes, antes de que el subordinado manifieste atresia. El proceso de divergencia puede desarrollarse de tres maneras (Henao y Trujillo, 2000):

- a. El folículo dominante y el subordinado más desarrollado divergen gradualmente en diámetro entre los días cero y cuatro de la onda folicular.
- b. El folículo dominante y el subordinado más desarrollado tienen diámetros semejantes hasta el momento de la divergencia.
- c. Ocasionalmente un folículo subordinado puede ser inicialmente más grande que el futuro folículo dominante, pero crece a menor tasa y no alcanza el estado decisivo.

1.5.1.3. Dominancia folicular.

Es la etapa del desarrollo folicular que comprende desde la divergencia hasta el momento en que el folículo dominante produce la máxima cantidad de estradiol, antes de desarrollar atresia u ovular. Superada la etapa de

selección, el folículo dominante continúa su crecimiento y diferenciación en una vía que lo prepara para la ovulación, bajo un ambiente de concentraciones basales de FSH (Henao y Trujillo, 2000).

Durante esta etapa llegan al folículo dominante estímulos hormonales que colaboran para el aumento de su irrigación sanguínea. La maduración de este folículo se relaciona con los niveles altos de proteína reguladora esteroideogénica aguda (StAR), síntesis de receptores para FSH y LH (principalmente de receptores para la hormona LH-LHR), así como la elaboración de proteínas y enzimas aromatasas necesarias para la síntesis y secreción de andrógenos y progestágenos (Néstor y Arturo, 2012).

1.5.2. Atresia folicular.

Los procesos apoptóticos pueden ser activados bien por una inducción negativa como la pérdida de una actividad supresora o la falta de factores de crecimiento (Jordán, 2003).

En la atresia, destacan algunos cambios morfológicos e histológicos, como son: núcleos picnóticos y fragmentación nuclear en las células de la granulosa, desprendimiento de las células de la granulosa por la pérdida de la matriz intercelular, desprendimiento del complejo cumulus-ovocito y en algunos casos hipertrofia de las células de la teca. Además, ocurren procesos bioquímicos como la reducción en la síntesis y por ende en la cantidad de ADN en células de la granulosa, pérdida de uniones comunicantes, pérdida de receptores a gonadotropinas, así como la

disminución en la síntesis y expresión de ARNm para aromatasas y receptores a gonadotropinas (Rosales y Guzmán, 2008).

Asimismo se ha documentado que en los estadios entre los folículos antrales hasta la fase de folículos preovulatorios, la apoptosis es dependiente de la caspasa; en este periodo de desarrollo se han identificado factores de sobrevivencia que evitan que las células de la granulosa entren a apoptosis, como las hormonas FSH y LH, el factor similar a la insulina (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Flores *et al.*, 2005).

Las gonadotropinas son consideradas como factores de supervivencia folicular. Se ha demostrado que los folículos atrésicos tempranos son rescatados por la administración exógena de gonadotropinas, así como también la administración de FSH en ratas hipofisectomizadas inmaduras disminuye la apoptosis folicular en células de la granulosa (Irusta, 2008).

Las neuronas hipotalámicas son blancos directos de los esteroides gonadales. La secreción de GnRH se encuentra regulada por esteroides sexuales a través de retroalimentaciones positivas y negativas, pero se desconoce cuáles son los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a esta regulación. Las neuronas GnRH no expresan receptor estrogénico alfa (RE) ni receptor de andrógenos (RA), lo que sugiere que otras neuronas esteroides sensibles intermediarían este mecanismo; según las investigaciones realizadas en animales, el núcleo Arc está principalmente vinculado la retroalimentación negativa mediado por los estrógenos en

hembras y por estrógenos y andrógenos en los machos. El núcleo AVPV se vincula con la retroalimentación positiva que los estrógenos ejercen sobre el eje, responsable del inicio de la pubertad y de la generación del pico de LH preovulatorio en hembras (Calé *et al.*, 2013).

Existe un determinado “nivel” (set point) para cada una de las hormonas, por debajo del cual el hipotálamo y la hipófisis estimulan la formación de la hormona; inversamente, superado este valor la inhiben (Escrivá *et al.*, 2002).

1.6. Endocrinología y desarrollo folicular.

La dinámica folicular está basada en respuestas diferenciales de los folículos a la FSH y LH. Existen incrementos de la concentración de FSH que comienzan 2 días antes de la emergencia de una onda folicular y llegan al pico máximo 1 día antes o el día de comienzo de cada onda; así también alrededor de cada celo hay 2 picos de FSH. El primer pico de FSH ocurre al mismo tiempo que el pico preovulatorio de LH y es inducido por la liberación de GnRH desde el hipotálamo. El segundo pico ocurre cerca del momento de la ovulación y es aparentemente el responsable del reclutamiento de los folículos de la primera onda. (Bó, 2002).

En el momento del inicio de la primera onda no se sabe cuál de los dos folículos será el dominante; sin embargo al segundo día puede existir divergencia entre el diámetro del folículo que llegará a convertirse en dominante y el de los demás: 8.5 ± 0.5 mm y 7.3 ± 0.7 mm, respectivamente (Henao y Trujillo, 2000).

Aún no se ha aclarado por completo el mecanismo de selección del folículo dominante. Los niveles de FSH en el día 2.5, disminuyen, en este momento el folículo dominante alcanza 8.5mm. Es en este momento donde la FSH se encuentra por debajo de los niveles necesarios para el desarrollo de los folículos subordinados. La disminución de la FSH es producida por la inhibina, que es secretada por todos los folículos en desarrollo, y el estradiol 17 β que es producido principalmente por el folículo dominante. La razón por la cual el folículo dominante puede crecer con concentraciones bajas de FSH puede estar relacionada con la síntesis de receptores para la LH en las células de la granulosa (Bo,2002).

1.7. Ciclo estral del bovino Brown Swiss en el altiplano peruano.

El experimento fue realizado en el Centro de Investigación y producción Chuquibambilla, Universidad Nacional del Altiplano, Melgar; Puno. Se utilizaron 6 vacas *Brown Swiss*; donde la duración del ciclo estral presentó una duración promedio de 20.5 ± 2.3 días, observándose ciclos con dos (83.3%), tres (11.1%) y cuatro (5.5%) ondas de crecimiento folicular y el número de folículos en cada onda fue de 5.0 ± 1.8 (Quispe et. al. 2013).

1.8. La ecografía.

La ecografía es un medio de diagnóstico basado en el estudio de las imágenes que se obtienen al procesar los ecos reflejados por las distintas estructuras corporales. El concepto en que se basa la ultrasonografía es que no todos los tejidos que atraviesa un ultrasonido tienen la misma capacidad para propagarlos (Quintela, 2009).

La ultrasonografía permitió descubrimientos importantes para la reproducción animal, posibilitando una mayor comprensión de los eventos que ocurren durante el ciclo estral. Este mayor conocimiento fue aplicado en programas de sincronización de celos e inseminación artificial y en esquemas de mayor tecnología como la superovulación, transferencia de embriones y aspiración de folículos para fertilización in vitro. Mediante el uso de un ecógrafo es posible determinar con mayor eficacia el momento óptimo de comienzo de los tratamientos para obtener la mayor cantidad posible de embriones viables (Bó *et al.*, 2000).

1.8.1. Ecografía de los ovarios

La exploración ecográfica de los ovarios nos permite diferenciar fácilmente de las estructuras fisiológicas presentes. Así veremos que los folículos aparecen en la imagen como estructuras más o menos circulares y negras, que no suelen hacer prominencia en el ovario. De otro lado el cuerpo lúteo presentará una imagen de un tono gris oscuro con una forma circular y en el mayor de los casos apreciamos una cabeza (Quintela, 2009).

Los folículos en general tienen forma redondeada, pero también pueden presentarse formas más irregulares, generalmente debido a la compresión de los folículos adyacentes, al CL o a la compresión entre los folículos y el estroma ovárico (Bó *et al.*, 2000).

1.8.2. Ecografía del cuerpo lúteo.

El cuerpo lúteo en los 2 a 3 primeros días presenta una imagen hiperecogénica en la parte central y se corresponde a un coágulo en proceso de transformación. Un buen número de folículos en la primera mitad de la fase luteínica muestran una cavidad con líquido en el centro, muy pocos cuerpos lúteos lo mantienen durante el ciclo estral (Quintela,2009).

Los trabajos iniciales de morfología luteal demostraron que existen dos tipos distintos de CL: con o sin cavidad central. En un estudio, el 48% (11/23) de los CL tenían una cavidad central de un tamaño de entre 2 y 20 mm de diámetro. Cuando se utiliza ultrasonografía, esta cavidad central aparece como no ecogénica (negra) o hipoecogénica y rodeada por áreas relativamente hiperecogénicas de tejido luteal. Además tienen en general forma irregular y en algunos casos pueden aparecer como más de una cavidad (Bóet *al.*, 2000).

1.8.3. Ecografía de los pequeños folículos.

Los folículos pequeños son anecogénicos y se distinguen fácilmente durante la ecografía (Quintela, 2009).

El diámetro de los folículos se puede medir con el calibre electrónico del equipo o mediante una gradilla transparente que se coloca sobre la pantalla. Cuando se realiza un seguimiento diario del desarrollo folicular, la posición y diámetro de los folículos se comparan con los de los días previos y de esta forma se pueden individualizar y diferenciar los folículos que no crecen, los que crecen, los que regresan y la aparición de otros nuevos o la

desaparición u ovulación del folículo dominante de la segunda o tercera onda (Bóet *al.*, 2000).

1.8.4. Ecografía de los folículos dominantes.

Es difícil de predecir la evolución del folículo dominante simplemente con una observación, debido a la constante dinámica folicular (Quintela, 2009).

Las paredes que separan los folículos pueden ser muy delgadas y en consecuencia difíciles de distinguir. A veces, la presencia de dos folículos adyacentes y del mismo tamaño da la impresión de estar en presencia de un folículo grande e irregular. Las medidas de los folículos son en realidad las medidas del antro folicular ya que no se incluye el espesor de la pared. Esto es conveniente debido a que es mucho más fácil distinguir el borde entre el antro y la pared folicular que el límite entre la pared folicular y el estroma del ovario (Bóet *al.*, 2000).

1.8.5. Procedimiento de exploración con ultrasonografía para bovino.

El procedimiento de exploración comienza por la retirada de la materia fecal del recto, seguida de una palpación manual para realizar una primera evaluación de la gestación y para aislar las estructuras reproductoras para la exploración ultrasonográfica. La mano con la sonda se introduce en el recto. La mano engloba la sonda para que la mano del examinador antes los avances subsiguientes. La mano se interpone dorsalmente entre la pared rectal y el transductor (Manual Tringa Linear, 2006).

No es imprescindible vaciar el recto de heces, aunque sí recomendable en preñeces muy tempranas y vacas difíciles de ecografiar. Debe de conseguirse un buen contacto entre el transductor y la mucosa rectal para obtener mejor imagen. La sonda se introduce transrectalmente sujeta entre los dedos pulgar, índice y corazón y se aplica desplazándola sobre la ubicación de útero y ovarios. Moviéndola se obtienen distintos cortes de los órganos escaneados. Un primer tacto rectal antes de introducir la sonda nos da idea de la situación de ovarios y útero, de tal manera, que al meter la sonda sepamos dónde se encuentran estas estructuras, ya que no conviene palpar y ecografiar a la vez. El ecografista ha de mirar continuamente a la pantalla del ecógrafo y saber por la imagen en qué zona del genital se encuentra (Ruperéz,2004).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación

El presente trabajo se llevó a cabo en la unidad de producción de bienes (U.P.B). Allpachaka. Ubicado en el distrito de Chiara de la Provincia de Huamanga sobre los 3550 m.s.n.m. coordenadas 13°23'23" Latitud sur y 74°15'58" Longitud oeste, presenta un clima templado con una precipitación del 70% durante los meses de diciembre a marzo y una precipitación de 30% durante los meses de abril a noviembre, la temperatura varia de 8 a 15 °C, con una humedad relativa de 60%.

2.2. Duración

El presente trabajo fue realizado durante los meses de febrero a abril del 2016, el cual incluyó la revisión bibliográfica, etapa experimental, análisis estadístico, evaluación de datos y redacción final.

2.3. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se determinó de acuerdo a la disponibilidad de animales de la U.P.B.-Allpachaka.

Para el presente estudio se usó 8 vacas cíclicas criadas en la UPB-Allpachaka.

2.4. Materiales

2.4.1. Materiales biológicos

Los animales al momento del experimento tenían una edad media de (promedio \pm ds) 7.75 \pm 4.40, con una media en el número de partos de 3.5 \pm 2.45 y condición corporal con una media de 3.5 en la escala del 1 a 5 (1= muy flaca, 5= muy gorda). Este grupo de animales fueron seleccionados

en base a su historial reproductivo ya que de estos, 6 animales habían sido inseminados de 3 y 7 veces consecutivos no quedando preñadas y 2 animales no fueron servidas durante un año. Para el experimento se realizó un examen ginecológico mediante ultrasonografía donde se seleccionó las vacas según a los siguientes criterios: Vacas cíclicas (con presencia de cuerpo lúteo), asimetría de los ovarios, simetría de los cuernos uterinos y un buen tono uterino. Todos los animales presentaron celo antes de realizar el experimento según los registros de la UPB- Allpachaka.

2.4.2. Materiales no biológicos

2.4.2.1. Materiales de campo

- Mameluco.
- Botas de jebe.
- Mandil.
- Sogas.
- Caderno de apuntes.
- Lápiz.
- Cámara fotográfica.

2.4.2.2. Materiales para ecografía

- Ecógrafo portátil Tringa Linear, ESAOTE pie Medical.
- Gel de transmisión para ecografía.
- Guantes obstétricos.

2.4.2.3. Material para la sincronización

- Aplicador del DIB.
- Benzoato de Estradiol (ESTROVET®; Estradiol benzoato 300mg, Vehículo C.S.P. 100mL).
- Progesterona (DIB SYNTEX® progesterona 1 g).
- Jeringas de 1mL.
- Alcohol 60° o 70°
- Algodón.
- Agujas 21G x 1 ½”.

2.5. Metodología

Los tratamientos a evaluar consistieron en:

Tratamiento 1 (T1): Inserción en el día cero de un dispositivo intravaginal bovino (DIB® Syntex) impregnado con 1g de P4, asociado con 2.5mg de Benzoato de Estradiol (ESTROVET® Sanivet).

Tratamiento 2 (T2): Inserción en el día cero de un dispositivo intravaginal bovino (DIB® Syntex) impregnado con 1g de P4, asociado con 1.5mg de BE (ESTROVET® Sanivet).

Se usaron 8 vacas cíclicas divididas al azar en dos grupos de 4 animales, grupo 1 (G1) y grupo 2 (G2), en un diseño de cambio simple. En la primera etapa el G1 recibió el T1 y el G2 recibió el T2, luego de un periodo de retiro de 30 días el G1 recibió el T2 y el G2 recibió el T1.

Tabla 2.1. Distribución de los animales para el experimento.

Primera prueba							
G1				G2			
T1				T2			
1	2	3	4	5	6	7	8
Segunda prueba							
G1				G2			
T2				T1			
1	2	3	4	5	6	7	8

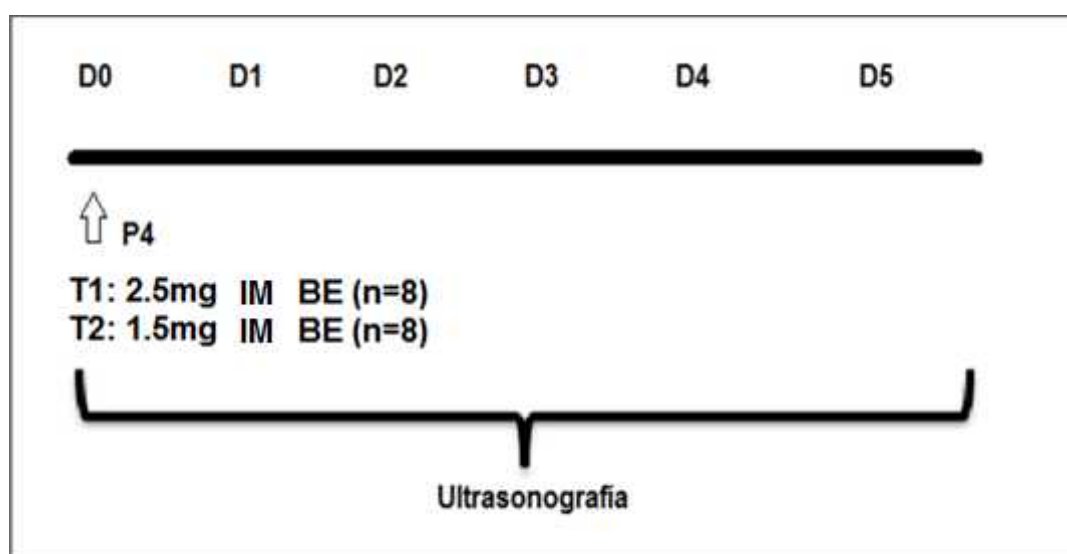


Figura 2.1. Esquema de los experimentos en vacas altoandinas. Donde P4=progesterona, BE=Benzoato de estradiol, IM= intramuscular.

2.5.1. Selección de los animales

Para la determinación de la condición corporal se usó la escala de 5 puntos (1=flaca y 5=gorda);

La evaluación de la condición corporal se realizó de la siguiente manera:

- Se evaluó empezando por la parte lateral y luego por la parte posterior del animal.
- Luego se evaluaron las zonas anatómicas específicas del área pélvica y lumbar como las costillas cortas, el ligamento sacro, el hueso de la cadera, los ligamentos de la fosa y los isquiones.

Luego se midieron las constantes fisiológicas: temperatura, frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria.

El examen ginecológico se realizó de la siguiente manera:

- Se empezó por la parte externa de los genitales de los animales (vulva y parte externa de la vagina), se realizó una inspección visual de las mucosas.
- Para el examen de los genitales internos (útero, cuernos uterinos y ovarios) se usó el ecógrafo portátil Tringa Linear, ESAOTE pie Medical. Las mediciones de los ovarios se realizó con el calibre electrónico del ecógrafo.
- Para la medición de los cuernos uterinos se realizó inmediatamente después de la bifurcación del útero y en el tercio medio de este.
- Los datos se llenaron en una ficha ginecológica para su evaluación.

2.5.1.1. Evaluación ultrasonográfica antes del inicio de los tratamientos

La exploración ecografía se realizó en el campo a partir de las 5am. Se sujetó al animal con la ayuda de un alumno usando una soga. Previamente se realizó la conexión del ecógrafo, se colocó gel transmisor entre el guante de palpación rectal (guante obstétrico) y la membrana sensible de éste para facilitar el paso de los ultrasonidos.

El procedimiento de exploración se realizó de la siguiente manera:

- Se comenzó por la retirada de la materia fecal del recto usando guantes de palpación rectal.
- Luego con la mano se introdujo el transductor en el recto del animal y se comenzó a evaluar los ovarios. Para la ubicación de los ovarios y medida de los folículos se usó la frecuencia de 7.5 MHz.
- Se midió con el calibrador del ecógrafo el diámetro del folículo dominante y luego se diagramó los folículos subordinados
- Seguida a esta primera medición del folículo dominante se procedió a aplicación de las hormonas esteroideas y esquematizar los folículos subordinados.

2.5.1.2. Aplicación de las hormonas esteroideas.

- Se preparó el dispositivo con progesterona al aplicador usando un guante quirúrgico y se colocó gel obstétrico en la parte inicial del aplicador para que al momento de introducir facilite el trabajo.

- Con la ayuda de un personal que sujetó al animal se procedió: a lavar la vulva, limpiar con papel toalla la vulva y la parte externa de la vagina, debido a que en algunos animales se encontró materia fecal.
- Luego se procedió a abrir los labios de la vulva, se introdujo el aplicador con el dispositivo con progesterona en un ángulo de 45° al inicio y luego en forma horizontal. Se dejó el dispositivo con progesterona en la vagina hacia craneal.
- Luego se lavó el aplicador con agua para su uso en el siguiente animal. El mismo procedimiento se aplicó para todas las vacas.
- Inmediatamente luego de colocar el DIB se le aplicó por vía intramuscular BE a cada animal, previamente se hizo la antisepsia de la zona de la grupa con alcohol, se esperó 30 segundos luego se aplicó en la zona usando una jeringa de 1 ml y Agujas 21G x 1 ½”.
- Se procedió a retirar los DIB una vez que se detectó el inicio de la onda folicular.

2.5.1.3. Evaluación ultrasonográfica después del inicio de los tratamientos.

- La evaluación ultrasonográfica se realizó todos los días a partir de las 5a.m. de manera secuenciada, comenzando con el primer animal en el que se inició la aplicación de las hormonas esteroideas y procediendo de la misma forma con los siguientes animales.
- Durante la evaluación ultrasonográfica ambos ovarios de cada vaca fueron explorados usando una frecuencia de 7.5 MHz, los ovarios fueron observados cuidadosamente, en al menos dos planos diferentes

realizando un barrido de un extremo a otro del ovario, para ver que esté en su totalidad.

- Cada imagen seleccionada en la pantalla del monitor fue congelada obteniéndose imágenes estáticas, y utilizando el calibre electrónico del ecógrafo se realizaron mediciones y se diagramó en un ovariograma. Se guardó una imagen de cada ovario en el ecógrafo para posterior análisis de manera más detallada.

2.5.1.4. Identificación del inicio de la nueva onda folicular

Para establecer el inicio de la nueva onda folicular se basó en el análisis retrospectivo de los datos en el ovariograma obtenidos en la ultrasonografía del grupo de folículos detectados mayores o iguales a 4 mm.

2.6. Análisis estadístico

Para observar la diferencia en el número de animales que iniciaron la onda de emergencia folicular y atresia folicular se usó la prueba de Chi-cuadrado con corrección de continuidad.

$$x^2 = \sum \frac{(\int e - \int o)^2}{\int e}$$

Dónde:

f_e = Frecuencias esperadas.

f_o = Frecuencias observadas.

Para comparar los diámetros de los folículos dominantes se usó la prueba de t- student para dos muestras independientes.

$$T = \frac{X_1 - X_2}{\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

T = Valor de t calculada

X1 = Promedio del Grupo1

X2 = Promedio del Grupo2

n1= Número de observaciones en el Grupo1

n2= Número de observaciones en el Grupo2

Para determinar los promedios y la dispersión de la onda de emergencia folicular se utilizaron las medidas estadísticas descriptivas, empleando la media, rango, varianza y desviación estándar.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete R versión 2.12.2

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Atresia del folículo dominante.

Tabla N°3.1. Respuesta de las vacas altoandinas a los tratamientos, T1: 2.5 mg de BE y T2: 1.5mg de BE, ambos tratamientos asociados con DIB de 1g de P4.

Tratamiento	T1 (87.5%)	T2 (12.5%)	Total
n° de animales tratados	8	8	16
n° de animales que respondieron	7	1	8
n° de animales que no respondieron	1	7	8

Se observó un 87.5% (7/8) de atresia folicular en animales que recibieron el T1. Con el T2 la tasa de atresia folicular fue de 12.5% (1/8); con este tratamiento se observó la regresión del folículo dominante y de los subordinados en un solo animal.

Se encontraron diferencias significativas en el número de animales en que se observaron la atresia del folículo dominante (Chi cuadrado; P=0.01242) independientemente del estadio folicular.

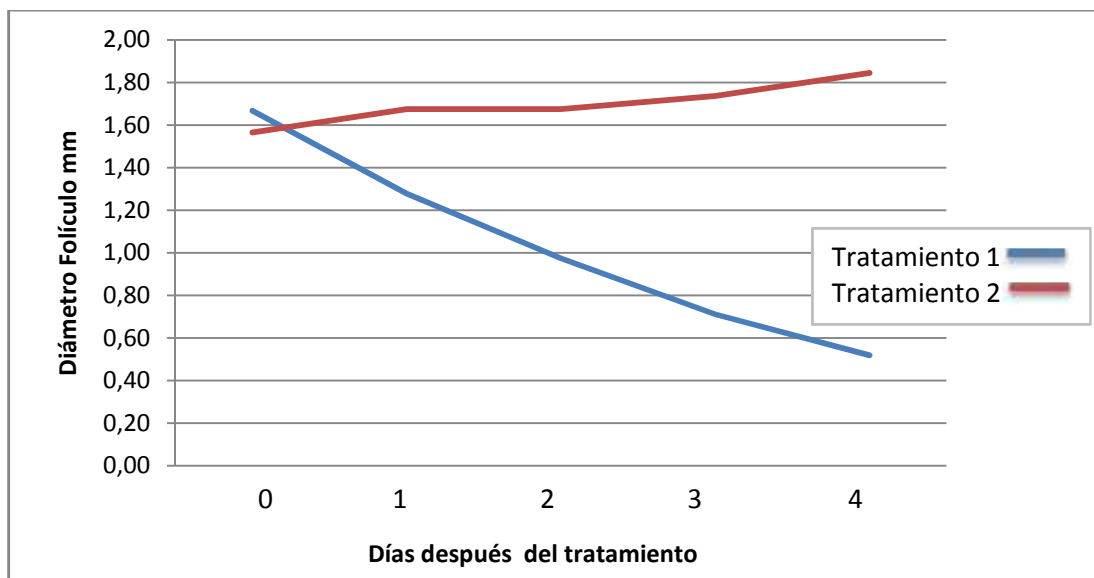
El animal que no respondió al T1 probablemente se debe a que durante el experimento la vaca tenía un carácter nervioso y dificultaba el manejo. García *et al.*, (1995) manifiesta que el estrés producido por el sistema hormonal ACTH-glucocorticoides y la activación del sistema nervioso simpático que causa una vasoconstricción podrían ser la razón por la que las hormonas no hicieron su efecto. Debido a este inconveniente, en el trabajo no se pudo llegar a un 100% de atresia folicular. El animal que respondió al T2 probablemente se deba según Escrivá *et al.*, (2002), en que existe un

determinado “nivel” para cada una de las hormonas, por debajo del cual el hipotálamo y la hipófisis estimulan la formación de la hormona; inversamente, superado este valor la inhiben y cada individuo tiene un umbral distinto de respuesta a estas hormonas.

Tabla N°3.2. Diámetro (mm) del folículo dominante (promedio±ds) a lo largo de los 5 días iniciales del tratamiento con Benzoato de Estradiol asociado con progesterona (DIB, 1g) en vacas altoandinas (n=16).

Día del protocolo	Diámetro del folículo dominante		Valor P
	T1 (n=7/8)	T2 (n=1/8)	
D0 día del tratamiento	16.7±4	15.2±4.3	P=0.6426
D1	12.8±2.6	16.5±4.9	P=0.06698
D2	9.7±2.5	14±4.6	P=0.009097
D3	7.2±5	15.2±6.8	P=0.001569
D4	5.2±4.2	15.5±7.4	P=0.000849

T1: 2.5mg BE + DIB; T2: 1,5mg BE + DIB



T1: 2.5mg BE + DIB; T2: 1,5mg BE + DIB

FiguraN°3.1 Seguimiento del folículo dominante (mm) por ultrasonografía durante los primeros cinco días iniciales del tratamiento con 1.5 y 2.5mg de BE asociado con DIB (1g P4), en vacas altoandinas (n=16).

La atresia de folículo dominante durante los primeros cinco días disminuyeron su diámetro a razón de -3.1 ± 1.2 mm cuando se usó el T1, hubo diferencia significativa ($P=0.0043$), frente al T2 donde se observó un crecimiento de los folículos a razón de 0.7 ± 0.5 mm por día. También se observó diferencia significativa ($P=0.009097$) entre el diámetro de los folículos a partir del día tres después de los tratamientos.

Nuestros resultados son semejantes a los encontrados por Bóet *al.*, (2007) la dosis mínima efectiva para causar la atresia folicular y el inicio de la nueva onda en vacas Aberdeen Angus cruza fue de 2.5mg de BE. Estos datos también son semejantes encontrados por Caccia y Bó (1998) en vacas Aberdeen Angus donde la dosis de 2.5mg de BE fue suficiente para causar atresia de los folículos. Trabajos realizados por Martínez (2005), citado por

Bó, (2006); con una dosis de 2.5mg de BE asociado con CIDR, en vacas Hereford encontraron resultados similares. Nuestros resultados también son similares en trabajos donde se usaron 2mg de BE, Siqueira *et al.*, (2009) obtuvieron un 100% de atresia folicular en vacas taurinas mestizas lactantes tratadas con 2mg de BE, así también Burke *et al.*, (1998) con 2mg de BE en vacas Holstein lactantes y Moreno *et al.* (2001) en vacas mestizas de carne.

De otro lado la dosis de 1.5mg no fue suficiente como para causar la retroalimentación negativa, y suprimir la, FSH y LH, por lo tanto no se observó la atresia del folículo dominante ni de los subordinados. Estos resultados son similares a otros trabajos realizados por Bó *et al.*, (2007), donde probaron que 1 mg de BE no fue efectiva en vacas Aberdeen Angus cruzas. Sin embargo trabajos realizados por Martínez (2005), citado por Bó, (2006), en vaquillonas Hereford la dosis de 1 mg de BE fue suficiente para causar la atresia del folículo dominante y por ende el inicio de la nueva onda folicular en 3.7 ± 0.6 días, todos estos asociado con CIDR. Contrario a estos resultados, trabajos realizados por Burke *et al.*, (2000) en vacas Holstein lactantes y no lactantes y trabajos realizados por Salfen *et al.*, (2001) en vacas taurinas mestizas, observaron 100% de atresia folicular y emergencia de la nueva onda cuando utilizaron 1mg de BE asociado a un dispositivo con progesterona de 1g. Estos resultados difieren al nuestro probablemente porque en todos los trabajos realizados por estos investigadores se usaron un mayor número de animales, en buen estado nutricional con sal mineral ad libitum y un manejo adecuado.

El T2 no fue suficiente para causar la atresia del folículo dominante. Debido a que el folículo dominante continuó con su crecimiento; probablemente el

DIB con 1g de P4 no es suficiente para suprimir la pulsatilidad de LH; por otro lado Avilés *et al.*, (2015a) al usar DIB 1gde P4 asociado con 2mg de BE en vacas ovariectomizadas, resultaron en niveles plasmáticos superiores a 1ng/ml, el cual es suficiente para causar la atresia del folículo dominante. Y otros trabajos realizados por Chestaet *et al.*, (2007) en vacas enteras y Cutaia, (2007) en vacas Holstein argentino usando DIB 1g de P4, sin el uso de BE, obtuvieron niveles plasmáticos superiores a 1ng/ml.

Sin embargo en el presente trabajo cuando se colocó DIB 1g de P4 asociado con 2.5mg de BE causó la atresia del folículo dominante; como menciona Mapletoft *et al.*,(2009) los estrógenos podrían ayudar a suprimir la pulsatilidad de LH. Esta sería la razón por el cual los animales que recibieron el T1 presentaron una mayor tasa de atresia.

3.2. Sincroníade la nueva onda folicular.

Tabla N°3.3. Distribución de las vacas altoandinas según el día de inicio de la nueva onda folicular tratadas con 2.5mg y 1.5mg de BE asociado con un DIB de 1g de P4.

Inicio de la nueva onda folicular (T1:2.5mg de BE+DIB 1g de P4)						
DÍA	0	1	2	3	4	5
n=7/8				1	2	4
Inicio de la nueva onda folicular (T2: 1.5mg de BE+DIB 1g de P4)						
DÍA	0	1	2	3	4	5
n=1/8				1		

Con el T1, el inicio de la nueva onda folicular se observó en un 87.5% (7/8) de los animales. En los animales tratados con el T2 se observó el inicio de la nueva onda folicular en un solo animal en el día 3.

Se encontraron diferencias significativas entre el T1 y T2 en el número de animales que iniciaron la onda folicular (Chi cuadrado; $P=0.01242$).

La razón fisiológica de las diferencias encontradas en el intervalo entre tratamiento y el reclutamiento de una nueva onda folicular en el trabajo realizado, corroboran la afirmación de Mapletoft (2003), de que las variaciones el día de inicio de la nueva onda folicular están directamente relacionadas a la dosis, al tipo de estrógeno utilizado. Aún esta variabilidad, sugiere, Burke *et al.*, (2003), puede estar relacionada a varios factores, incluyendo el tipo de raza animal (Carne o Leche), subespecie (Taurina o Cebuina) y de animales en lactación o secas.

Debido a que el inicio de la onda folicular de emergencia se da cuando ya no existe presencia de estrógeno circulante según Mapletoft *et al.*, (2009) y la hipófisis responde liberando FSH para el reclutamiento. El intervalo de presentación de la nueva onda dependerá según Bó, (2006) de la baja solubilidad en agua del BE, debido a su larga cadena de éster demorará en absorberse la dosis completa. Una vez en la circulación, el éster es clivado por una enzima estearasa y la actividad biológica vuelve a ser la del E-17 normal. Es necesario que no haya estrógeno circulante para el inicio de una nueva onda de emergencia folicular.

TablaN°3.4. Efecto del tratamiento con 2.5mg de BE y 1.5mg BE asociado a un DIB (P4) sobre el inicio de la nueva onda folicular en vacas altoandinas.

Tratamientos	Día de inicio de la nueva onda folicular (promedio±ds)	Diámetro del folículo dominante al inicio del tratamiento (mm) (promedio±ds)	Diámetro máximo del folículo de la onda de emergencia folicular (mm) (promedio±ds)	Intervalo de tratamiento y el inicio de la nueva onda folicular (días)	Rango (días)
T1 (n=7/8)	4.43±0.79	16.7±4.3	5.9±1.1	3-5	2
T2 (n=1/8)	3*	15*	4.1*		

*Respuesta de la vaca que respondió al T2

En las vacas que recibieron el T1, iniciaron la onda de emergencia en promedio el día 4.43±0.79 con un intervalo de 3 a 5 días y un rango de 2 días. Sin embargo en el grupo de animales que recibieron en el T2 no se pudo determinar debido a que sólo un animal respondió al tratamiento. Sin embargo el animal que respondió al T2 inició la nueva onda en el día 3.

Estos resultados se aproximan a los resultados de Martínez (2005), citado por Bó, (2006); donde la aplicación de una dosis de 2.5mg de BE asociado con CIDR, en vacas Hereford, produjo el inicio de la onda folicular de emergencia en promedio el día 4.3. Caccia y Bó, (1998) en vacas Angus con dosis de 2.5mg observaron el comienzo de la onda folicular de emergencia

en el día 4.3 en promedio con un rango de 2 días y un intervalo de 4 a 6 días entre el tratamiento y el inicio de la nueva onda folicular. Nuestros resultados también son similares a trabajos realizados por Moreno *et al.*, (2001) observó en vacas mestizas de carne, la emergencia de una nueva onda en el día 4.3 ± 0.2 , con 2mg de BE y 50mg de P4 inyectable, así como Bó *et al.*, (1995), 4.3 ± 0.2 días, con 5mg de 17 β estradiol en vaquillas y en vacas de carne taurinas y por Buke *et al.*, (2000), 4.5 ± 0.2 días utilizando 1mg de BE en vacas Holstein no lactantes. Sin embargo nuestros resultados difieren a trabajos realizados por Bó *et al.*, (2007) en vacas Angus cruzas donde la dosis de 2,5 mg de BE fue la dosis mínima más efectiva, con un intervalo de 3 a 4 días, rango de 1 día y el comienzo de la nueva onda folicular de 3,9 días en promedio. Probablemente los resultados obtenidos por Martínez (2005), citado por Bó, (2006), Caccia y Bó, (1998) y Bó *et al.*, (2007) son más sincrónicos ya que usaron mayor número de animales en sus trabajos.

El fundamento fisiológico según Gong *et al.*, (1996) radica en que la progesterona combinado con el estradiol suprimen los pulsos de LH y de FSH, el crecimiento de folículos menores de 8mm es estimulado por la FSH y a medida que van creciendo se vuelven LH dependientes, como la progesterona suprime la frecuencia de los pulsos de LH, mas no de FSH, los folículos FSH dependientes no son afectados. Calé *et al.*, (2013) manifiesta que el núcleo arcuato está principalmente vinculado la retroalimentación negativa y estimula otro mediador llamado la kipeptina. De esta manera según Burke *et al.*, (2000), el tratamiento con progesterona y estradiol asociados causan la supresión de la secreción de FSH y de la LH,

e inducen, la atresia folicular, independientemente del estadio folicular; otros estudios realizados por Mapletoft *et al.*,(2009) sugiere que posiblemente los estrógenos supriman también la pulsatilidad de LH.

Al asociar BE con DIB de 1g de P4, van a causar la atresia del folículo dominante como de los subordinados al regresionar todos los folículos deja de haber estrógenos e inhibina en la circulación y esto hace que la hipófisis responda liberando FSH Mapletoft *et al.*, (2009), y esta liberación va a provocar el reclutamiento de una nueva onda folicular; esto quiere decir, hasta que no se metabolice todo el BE no habrá un aumento de FSH y por ende no habrá una nueva onda folicular.

3.3. Número de folículos al momento de inicio de la nueva onda folicular.

Tabla N°3.5. Valores individuales del número de folículos mayores o iguales a 4mm, al inicio de la nueva onda folicular en vacas altoandinas, que respondieron a los tratamientos (T1 y T2), UPB-Allpachka 3550 m.s.n.m.

Vacas	Ovario Izquierdo	Ovario Derecho	Total
N°	mayor o igual 4mm	mayor o igual 4mm	
1	4	5	9
2	3	3	6
3	4	5	9

T1	4	2	4	6
	5	3	4	7
	6	4	4	8
	7	5	6	11
T2	8	4	5	9
N		8	8	8
Promedio		3.63	4.50	8.13
DS		0.92	0.93	1.73
CV		22.28	18.94	21.25

El promedio de folículos y desviación estándar que se observó al inicio de la nueva onda folicular en cada vaca fue de 8.13 ± 1.73 folículos mayores o iguales a 4mm.

En cuanto al número de folículos (8.13 ± 1.73) observados en las vacas que respondieron a los tratamientos, los resultados son superiores a los encontrados por (Quispe *et al.* 2013) en vacas criadas sobre los 3974 msnm, en el altiplano puneño (Chuquibambilla) donde encontró 6.4 ± 1.9 folículos en promedio.

Estas diferencias se debe como menciona Carvalho *et al.* (2008) a factores genéticos y posiblemente a factores ambientales.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.

1. Se determinó que independientemente del tamaño folicular al inicio del tratamiento la dosis de 2.5mg de BE asociado con un DIB de 1g de P4, causa la atresia del folículo dominante en vacas altoandinas en un 87.5%
2. Con unadosis de 2.5mg de BE asociado con un DIB de 1g de P4 ocasiona la atresia delos folículos, tanto del dominante como de los subordinados el cual constituye el inicio más sincrónico de la nueva onda folicularentre los días 3 y 5en vacas altoandinas.
3. Con una dosis de 1.5mg de BE asociado con un DIB de 1g de P4 no ocasiona la atresia de los folículos, tanto del dominante como de los subordinados en vacas altoandinas.
4. El número de folículos observados en las vacas altoandinas que respondieron a los tratamientos (T1 y T2) fue de 8.13 en promedio.

Recomendaciones.

1. Incrementar el número de animales para próximos estudios.
2. De la misma forma emplear el protocolo con 2.5mg de BE asociado a un DIB de 1g de P4,para inseminación artificial a tiempo fijo y programas de superestimulación.
3. Emplear el protocolo con 2.5mg de BE asociado a un DIB de 1g de P4, para programas de superestimulación a partir del día 4

4. Realizar estudios sobre las concentraciones plasmáticas de estradiol y progesterona con distintas concentraciones de ambas hormonas en vacas altoandinas.
5. Para trabajos posteriores se recomienda el uso de ecógrafos más sofisticados para determinar el inicio de la nueva onda folicular.
6. Realizar estudios donde se use P4 inyectable, en protocolos con BE y DIB de 1g de P4, para evaluar el grado de sincronía.
7. Realizar estudios donde se evalúen, la condición corporal, niveles de alimentación, grado de reserva ovárica, utilización de fármacos relacionados con la reproducción.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de las hormonas esteroideas para la sincronización de la onda folicular. Se usó Benzoato de Estradiol (ESTROVET® 3mg/mL) asociado con dispositivos intravaginales (DIB® Syntex; Argentina) con 1g de progesterona (P4), en vacas cíclicas, criadas en la Unidad de Producción de Bienes- Allpachaka de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, sobre los 3550 m.s.n.m. durante los meses de febrero y abril. Los tratamientos consistieron en: Tratamiento 1 (T1) Inserción en el día cero de un DIB impregnado con 1g de (P4), asociado con 2.5mg de BE. Tratamiento 2 (T2): Inserción en el día cero de DIB impregnado con 1g de P4, asociado con 1.5mg de BE. Se usaron 8 vacas cíclicas divididas al azar en dos grupos de 4 animales, grupo 1 (G1) y grupo 2 (G2), en un diseño de cambio simple. En la primera etapa el G1 recibió el T1 y el G2 recibió el T2, luego de un periodo de retiro de 30 días el G1 recibió el T2 y el G2 recibió el T1. Los animales fueron examinados diariamente desde el momento de inicio del tratamiento por medio de ultrasonografía transrectal usando un ecógrafo portátil (Tringa Linear, ESAOTE pie Medical, EsaoteEurope B.V., países bajos) con un transductor de 7.5 MHz para determinar el comienzo de la nueva onda folicular y hacer las mediciones diarias del folículo dominante. Se encontraron diferencias significativas en el número de animales que iniciaron la nueva onda folicular ($P=0.01242$) entre el T1 y el T2, independientemente de la condición corporal y el estadio folicular. Los animales que recibieron el T1 iniciaron la nueva onda folicular el día (promedio \pm ds) 4.43 ± 0.79 con un intervalo de 3 a 5 días y un rango de 2 días. Sin embargo los animales que recibieron el T2 sólo se observó el inicio de la nueva onda folicular en un animal. La dosis de

2.5mg de BE asociado con un DIB de 1g, fue suficiente para causar la atresia del folículo dominante y el inicio sincrónico de la nueva onda folicular.

Palabras clave: Sincronización, estradiol y progesterona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Avilés M., Cutaia L., Dorna V., Aba M., y Bó G.; (2005a).**Efecto del uso de DIB (0.5g o 1gde progesterona) sobre el momento de inicio de onda y ovulación en vacas y vaquillonas tratadas con Benzoato de Estradiol. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal.Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/simposio>.

2. **Avilés M., Cutaia L., Dorna V., Aba M., y Bó G.; (2005b).**Concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas ovariectomizadas tratadas con dispositivos intravaginales con 0.5g y 1.gde progesterona previamente utilizadas. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal.Disponible en, <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

3. **Avilés M., Cutaia L., Dorna V., Aba M., y Bó G.; (2005).**Concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas ovariectomizadas tratadas con dispositivos intravaginales formulados con diferentes dosis de progesterona. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en, <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

4. **Barucelli, P. Sales J.,Bó G. y Sá Filho M.(2005).** Nuevos avances en los tratamiento de superovulación en donadoras de embriones bovinos, VI Simposio Internacional de Reproducción Animal.Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

5. **Bath L., Dickinson N., Tuckr A. y Appleman D.(1982).**Ganado lechero: Principios, prácticas, problemas y beneficios. Editorial Interamericana. Segunda edición california. EE.UU.

6. **Bertan C., Binelli M., Madureira E. y Traldi A. (2006).**Mecanismos endócrinos e moleculares involucrados na formação do corpo lúteo e na luteólise. Disponible en <http://www.revistas.usp.br/bjvras>.

7. **Bó G. y Mafletoft R.; (1999).**Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones Sitio argentino de producción animal. Disponible en <http://www.produccionanimal.com.ar/>.

8. **Bo, G. y Caccia M. (2000).**Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino, Sitio argentino de producción animal. Disponible en <http://www.produccionanimal.com.ar/>.

9. **Bo G. (2002).**Dinámica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino. XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal.Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

10. **Bó G. (2006).**Sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados con progestágenos y diferentes ésteres

de estradiol, Sitio argentino de producción animal; Disponible en <http://www.produccionanimal.com.ar/>.

11. Bó G., Chesta M., Carballo D. y Mapletoft R. (2007). Nuevas alternativas para la superovulación de donantes de embriones. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

12. Bó G., Adams G., Pierson R. y Mapletoft R. (1995). Control exógeno de la onda de emergencia follicular en bovinos. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip>.

13. Bó G., Carballo D., Tríbulo A., Tríbulo H., Tríbulo R. y Mapletoft R. (2009). Nuevos tratamientos hormonales para la superovulación de donantes de embriones. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

14. Bó G. y Mapletoft R. (2013). ¿Qué novedades hay en la superovulación de ganado bovino? X Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

15. Burke, C., Day M., Bunt C., Macmillan K. (2000). Use of small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. Disponible en <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas>.

- 16. Burke C., Katz L., Arriola L., Milvae R. y Foote R. (2003).** Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/0093691X>.
- 17. Caccia M. y Bó G. (1998).** Follicle wave emergence following treatment of CIDR-implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/0093691X>
- 18. Calé J., Zalazar M. y Faraj G. (2013)** Kisspeptinas: las protagonistas del eje gonadal. Disponible en: <http://www.saegre.org.ar/revista>.
- 19. Carvalho J., Carvalho N., Reis E., Nichi M., Souza A. y Baruselli P. (2008).** Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/0093691X>.
- 20. Chesta P., Cuestas G., Beltramo D. y Tríbulo H. (2009).** Concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas de carne tratadas con dispositivo intravaginal pro-ciclar (0,75 g de P4). VII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.
- 21. Cutaia L., Feresin F., Videla D y Bo G. (2007).** Concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas de leche en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales con diferentes dosis de progesterona VII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

- 22. Escrivá J., Carbajal J. y Mendaza M. (2002).** Farmacia hospitalaria, endocrinología, Disponible en: <http://www.sefh.es/bibliotecvirtual/>.
- 23. Flores F., Velasco C., Romano M. y Pérez M. (2005).** Apoptosis y atresia folicular: Un binomio esencial en el desarrollo ovárico. Revista Vet Mex. Vol. 2, México.
- 24. Fortune J. (1994).** Ovarian follicular growth and development in mammals. Disponible en <http://www.biolreprod.org/content/vol81/>
- 25. García, S. Castejón F., De la Cruz L., Gonzáles J., Murillo M. y Salido G. (1995).** Fisiología veterinaria, Primera edición, Editorial EDIGRAFOS S.A. España.
- 26. Ginther O., Beg M., Donadeu F. y Bergfelt D. (2003).** Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/0093691X>.
- 27. Gong J., Campbell B., Bramley T., Gutierrez C., Peters A. y Webb R. (1996).** Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicular development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. Disponible en http://www.biolreprod.org/content/vol81/1_Meeting
- 28. Hafez, E y Hafez B. (2002).** Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed: Mc Graw Hill. México.
- 29. Henao R. y Trujillo, A(2000).** Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. Revista colombiana de Ciencias Pecuarias; Volumen N°13. Colombia.

- 30. Irusta G. (2008).** Mecanismos involucrados en la atresia del folículo ovárico: relación entre esteroidogénesis, angiogénesis y apoptosis. Biblioteca Digital de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad de Buenos Aires. Disponible en <http://www.digital.bl.fcen.uba.ar/>.
- 31. Jodán J. (2003).** Apoptosis: muerte celular programada. Disponible en: <http://www.uclm.net/profesorado/jjodán/>.
- 32. Lane E., Austin E. Roche J. y Crowe (2001).** The effect of estradiol benzoate or a synthetic gonadotrophin-releasing hormone used at the start of a progesterone treatment on estrous response in cattle. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/0093691X>.
- 33. Mapletoft R., Tríbulo A. Y BÓ G. (2011).** Evolución de los protocolos de superovulación en Bovinos. IX Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.
- 34. Mapletoft R., Bó G. y Adams G. (2009).** Perspectivas futuras para controlar el desarrollo folicular y la ovulación en el ganado bovino VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.
- 35. Mapletoft R., Colazo M., Martínez M. y Kastelic J. (2003).** Ésteres de estrógenos para la sincronización de la emergencia de la onda folicular y ovulación en animales tratados con dispositivos de progesterona. IV

Simposio Internacional de Reproducción Animal. Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.

- 36. Meneghetti M., Sá Filho O., Pérez R., Lamb G. y Vasconcelos J. (2009).** Fixed-time artificial with estradiol and progesterone for Bos indicus cows. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/aip/0093691X>.
- 37. Mihm M. y Autin E. (2002).** The final stages of dominant follicle selection in cattle. Disponible en <http://www.journals.elsevier.com/domestic-animal-endocrinology>.
- 38. Minh M. y Evans A. (2008).** Mechanisms for dominant follicle selection in monovular species: a comparison of morphological, endocrine and intraovarian events in cows, mares and women. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03784320>.
- 39. Moreno D., Cutaia L., Villalta L., Ortisi F. y Bó G. (2001).** Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/0093691X>.
- 40. Néstor I. y Arturo C. (2012).** Factores relacionados con la dinámica folicular en la hembra bovina. Revista Spei Domus, volumen 8, Colombia.
- 41. Palma, G. (2008).** Biotecnología de la reproducción. 2ed. Producción gráfica integral. Argentina.
- 42. Peña M., Góngora O. y Estrada L. (2007).** Factores de crecimiento en el desarrollo folicular, embrionario temprano e implantación. Implicación en

la producción de embriones bovinos Revista MVZ Córdoba Volumen N° 12, Colombia.

43. Quintela L; (2009). Atlas de ecografía en la vaca, Editorial Artes Gráficas Joman, España.

44. Quispe A., Quispe Y., Pérez U., Luque N. y Pérez M. (2013). Estudio ultrasonográfico de la dinámica folicular en vacas Brown swiss en el altiplano peruano. Revista ASPRA. Disponible en <http://www.aspra.com.pe/>.

45. Rahe C., Owens R., Fleeger J., Newton H. y Harms P. (1980). Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. Disponible en <http://www.journals.elsevier.com/>.

46. Roberts, S.J. (1971). Obstetricia veterinaria y enfermedades genitales 2da edición: Ed. Edwards brothers inc. Canadá.

47. Rosales M. y Guzmán A. (2008). Apoptosis en la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. Sitio argentino de producción animal Disponible <http://www.produccion-animal.com.ar/>.

48. Rupérez R. (2004). Aplicación de la ecografía en la reproducción bovina” sitio argentino de producción animal, Disponible en <http://www.produccion-animal.com.ar/>.

- 49. Sá filho M., Giménes L., Torres-Junior J., Carvalho N. Kramer M., Faria M. y Baruselli P. (2005).**Emergencia folicular conforme a la dosis y el momento de aplicación de benzoato de estradiol y de su asociación con progesterona inyectable en vacas nelor, tratadas con dispositivo intravaginal con progesterona.VI Simposio Internacional de Reproducción Animal.Disponible en <http://www.iracbiogen.com.ar/>.
- 50. Salfen B., Kojima F., Bader J., Smith M. y Garverick H. (2001).** Effect of short-term calf removal at three stages of a follicular on fate of a dominat follicle in postpartum beef cows Disponible en <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas>.
- 51. Sintex. (2005).** Fisiología reproductiva del bovino. Laboratorio de especialidades veterinarias. Disponible en <https://www.produccion-animal.com.ar>.
- 52. Siqueira L., Olivera J., Rovani M., Ferreira R., Borges L. y Goncalvez P. (2009).**Effects of estradiol and progestins on follicular regresión before during and after follicular deviation in pospartum beef cows. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/journal/0093691X>,
- 53. Spaccavento D, Rosso D. y Poggi M (2008)** Farmacología de los esteroides sexuales y drogas relacionadas. Disponible en: <https://farmacomedia.files.wordpress.com>

54. Vatti, G.(1962). Ginecología y obstetricia veterinaria.Disponible en <http://www.journalofdairyscience.org/>.

55. Tringa Linear (2006).Manual de uso Tringa Linear, ESAOTE pie medical, EsaoteEurope B.V., Países Bajos.

ANEXOS

ANEXO

Anexo N°1 Valores individuales de la condición corporal de las vacas altoandinas de la UPB Allpachaka-UNSCH usadas para el experimento.

Vaca	C.C.
1	3.75
2	3.5
3	3.75
4	3.75
5	3
6	3.5
7	3.5
8	2.75
N	8
MEDIANA	3.5
DS	0.37
CV	11

Anexo N°2 Valores individuales del diámetro (mm) del folículo dominante durante los primeros 4 días en vacas altoandinas, que recibieron el T1.

Vaca N°	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
1	16.3	8.9	5.6	5	4
2	14.6	13.4	13	10	8
3	12.8	9.8	8.4	5.4	4
4	13.4	11.4	8	5.5	5
5	25	16	12	8	5
6	20.7	13.5	8	5	4
7	13	13.2	13	12	12
8	17.6	17.1	12.9	10	6
N	8	8	8	8	8
Promedio	16.7	12.9	10.1	7.6	6.0
DS	4.3	2.8	2.9	2.8	2.8
CV	25.8	21.9	29.0	36.4	46.3

Anexo N°3 Valores individuales del diámetro (mm) del folículo dominante durante los primeros 4 días en vacas altoandinas, que recibieron el T2

Vaca	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
1	15	16	11	8	5
2	14.1	15	16	17	18
3	13.4	16.4	17	18	20
4	25	26	27	28	29
5	12.5	13	15	16.5	18
6	12.1	11	10	12	15
7	19	21.1	22	22.4	23.5
8	14.1	15.4	16	17	19
N	8	8	8	8	8
PROMEDIO	15.7	16.7	16.8	17.4	18.4
DS	4.3	4.7	5.5	6.1	6.9
CV	27.69	28.31	33.13	34.85	37.39

Anexo N°4 Sujeción de la vaca para la evaluación de la condición corporal.



Anexo N°5 Evaluación de la condición corporal del lado posterior de la vaca.



Anexo N° 6 Evaluación ginecológica mediante ultrasonografía.



Anexo N°7 Aplicación por vía intramuscular de Benzoato de Estradiol.



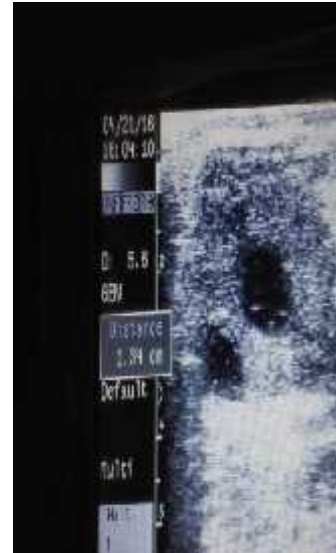
Anexo N°8 DIB después de la aplicación para tener la certeza de que el dispositivo esté adecuadamente sujeto dentro de la vagina.



Anexo N°9 Dinámica folicular del ovario izquierdo y derecho de una vaca tratada con 2.5mg de BE.

OVARIO IZQUIERDO

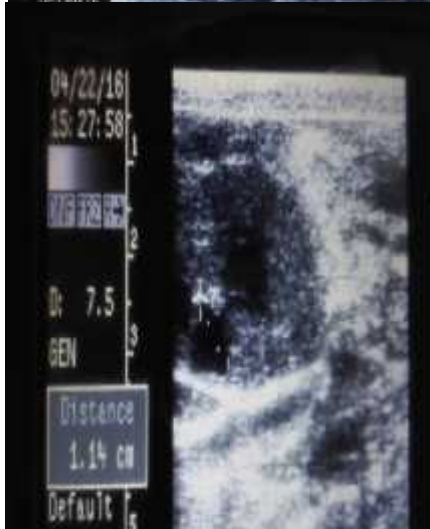
OVARIO DERECHO



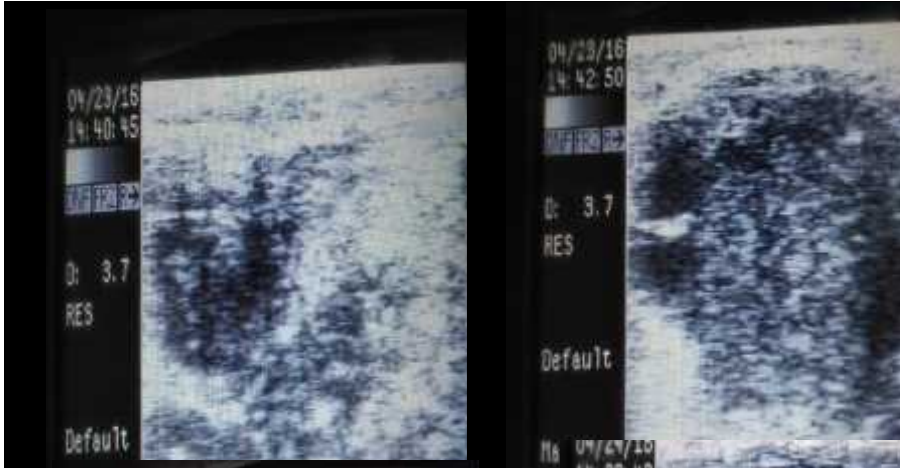
Día 0



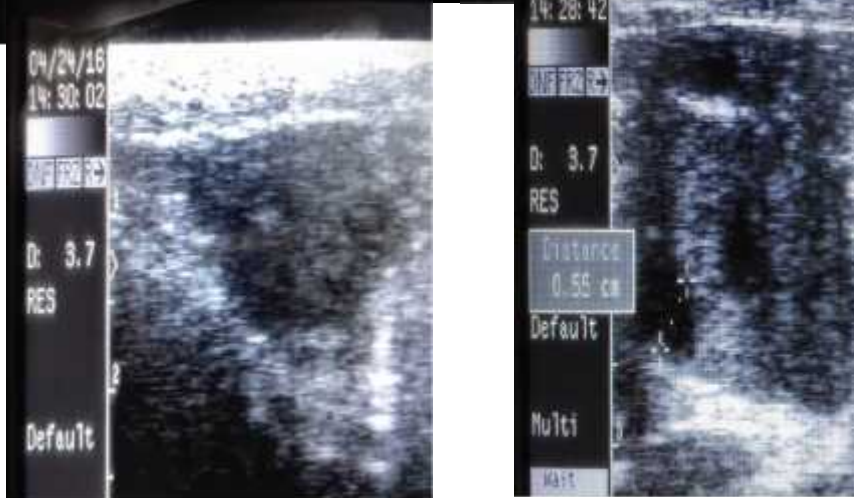
Día 1



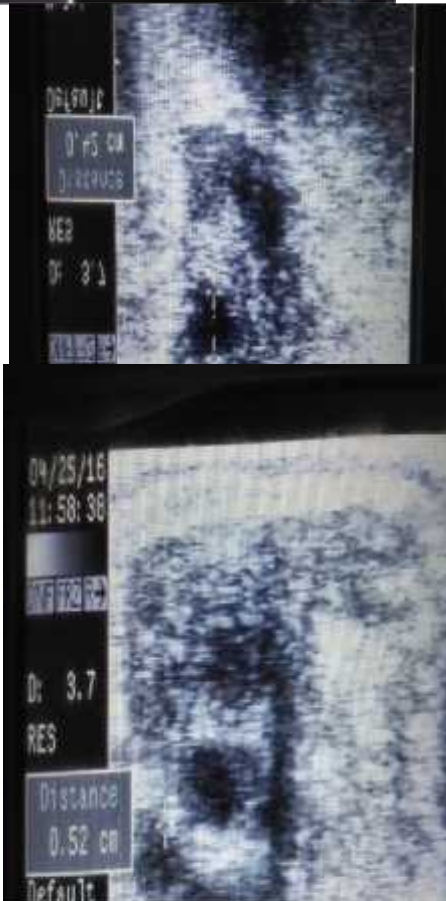
Día 2



Día3

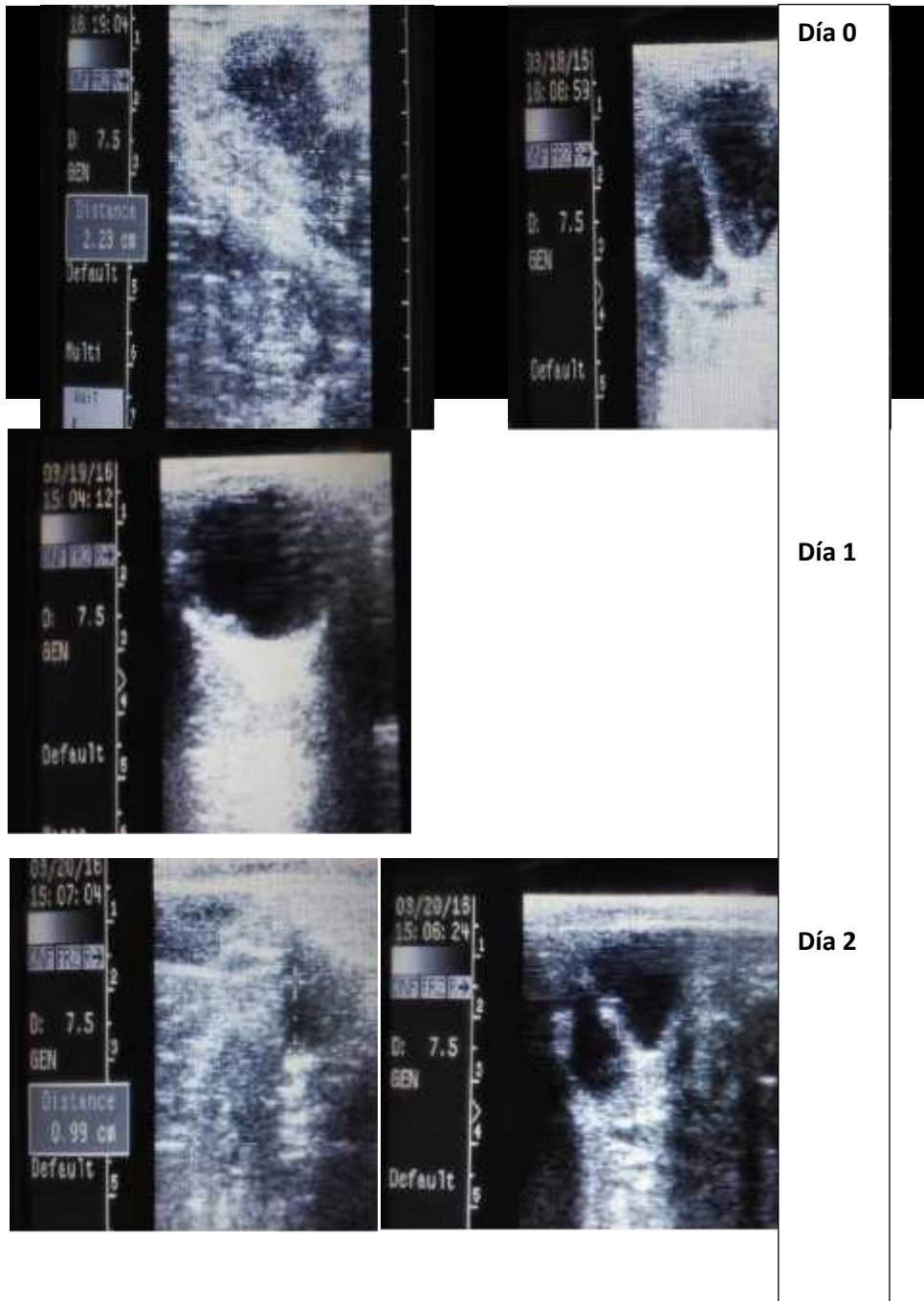


Día 4



Anexo N°10 Dinámica folicular del ovario izquierdo y derecho de una vaca tratada con 1.5mg de BE.

OVARIO IZQUIERDO OVARIO DERECHO





Día 3



Día 4

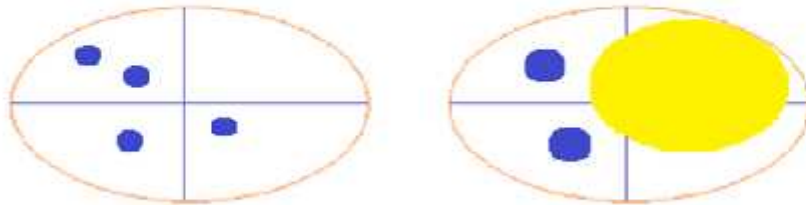
Anexo N°11 Ficha para el seguimiento de la dinámica folicular del Ovario derecho e izquierdo.

OVARIOGRAMA

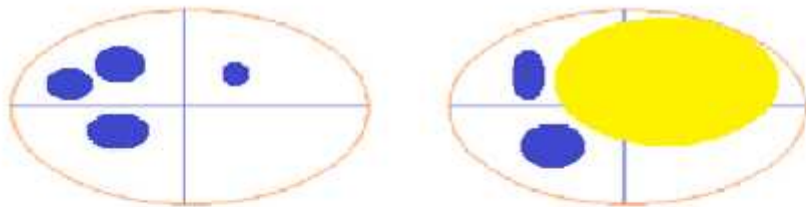
Nombre de la vaca: **roxana** N° arete: **123**

Fecha inicio tratamiento: **23/03/2016**

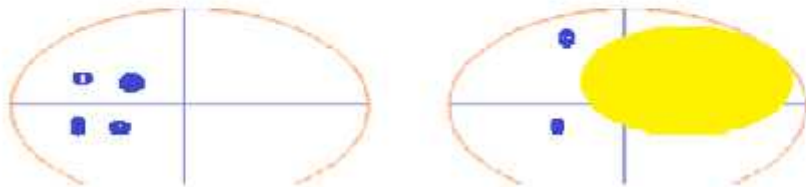
Día 0



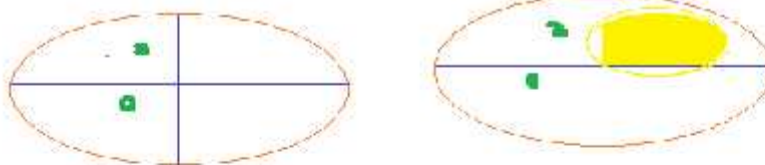
Día 1



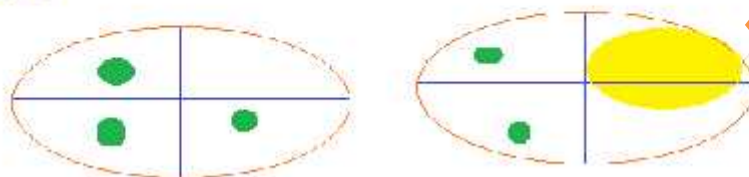
Día 2



Día 3



Día 4



Nueva
onda

Anexo N°12 Historia reproductiva de las vacas usadas en los experimentos.

VACAS	N° ARETE	EDAD	N° PARTOS	FECHA ÚLTIMO PARTO	N° SERVICIOS	FECHA ÚLTIMO SERVICIO	Diagnóstico de preñez	Abortos
CLEOFÉ	500	13	5	20/01/2015	5	20/01/2016	-	0
ESTELA	879	9	5	27/02/2015	4	09/02/2016	-	0
FLAVIA	1007	8	4	08/08/2015	3	08/10/2015	-	0
ELVA	1258	4	1	07/08/2014	3	04/09/2016	-	0
CONSUELO	376	15	8	27/12/2014	3	02/11/2016	-	0
IBORY	-	5	2	-	-	-	-	0
ROXANA	-	6	2	-	-	-	-	0
JUANA	1434	4	1	10/10/2014	7	11/08/15	-	0

Anexo N°13 Ficha ginecológica usado para la selección de los animales según los criterios de selección.

FICHA GINECOLÓGICA

PACIENTE: Roxana N° ARETE:.....FECHA: 03/02 /2016

1. GENITALES EXTERNOS:

COLORACIÓN DE LA MUCOSA VAGINAL: normal

SECRECIONES: ninguno

DESCRIPCIÓN:.....
.....

2. ÚTERO:

DIÁMETRO UTERINO: 4.7cm

DESCRIPCIÓN:.....
.....
.....

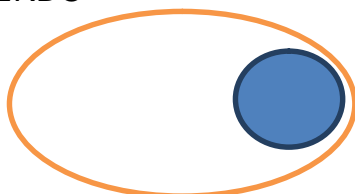
DIÁMETRO CUERNOS: IZQUIERDO: 2.3cm DERECHO: 2.5cm

CUERNOS UTERINOS: SIMÉTRICOS (X) ASIMÉTRICOS ()

DESCRIPCIÓN:.....
.....

3. OVARIOS

O. IZQUIERDO



L: 2cm

L: 4.2 cm

A: 1.1cm

A: 3.1cm

D. FD:1.5cm D. FD:.....

D. CL:.....

O.DERECHO



D. CL:2.5cm

DESCRIPCIÓN.....
.....
.....

4. CONCLUSIÓN: El estudio ultrasonográfico es compatible con:

La vaca presenta un cuerpo lúteo de 2.5cm y un folículo dominante de 1.1.cm, existe una asimetría de los ovarios, simetría de los cuernos uterinos.

Anexo N°14 Análisis estadístico de la respuesta de las vacas altoandinas a los tratamientos, T1: 2.5 mg de BE y T2: 1.5mg de BE

1. Chi cuadrado sin corrección de continuidad:

`Chisq.test(dat,correct=FALSE)`

Pearson's Chi-squared test

Data: dat

X-squared = 9, df = 1, p-value = 0.0027

2. Chi cuadrado con corrección de continuidad:

`chisq.test(dat,correct=T)`

Pearson's Chi-squared test with Yates' continuity correction

data: dat

X-squared = 6.25, df = 1, p-value = 0.01242