

SUPEROVULACIÓN DE OVEJAS RASA ARAGONESA MEDIANTE pFSH/LH Y UN ANTAGONISTA DE LA GnRH (ANTARELIX)

Alabart J.L., Olivera J., Roche A., Cognie¹ Y., Aguilar B., Cocero M.J.², Echeгойen E., Folch J.

Servicio de Investigación Agroalimentaria. Apdo. 727, 50080 Zaragoza
¹Station de Physiologie de la Reproduction, INRA, 37380 Nouzilly (Francia)
²SGIT-INIA Avda. Puerta de Hierro Km 5,9. 28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

La repuesta de las ovejas a la superovulación con FSH suele tener una alta variabilidad individual. Además, algunas ovejas no responden. Uno de los factores que más condicionan la respuesta individual es la población folicular de cada oveja al comienzo de la superovulación. Así, la respuesta ovárica está positivamente correlacionada con el número de folículos pequeños (1-2 mm) y negativamente correlacionada con el número de folículos mayores antes de la estimulación ovárica (1). La situación ideal consistiría en que la población estuviera formada por numerosos folículos cercanos a 2 mm, ya que todavía no son estrogénicos y responden bien a las gonadotropinas. Según trabajos anteriores, una situación así puede conseguirse mediante la utilización de antagonistas de la GnRH en múltiples dosis (2). Conseguir un protocolo simplificado (p.ej., 2 dosis) ahorraría trabajo y estrés en los animales. En el presente trabajo se comparan los resultados obtenidos mediante un protocolo simplificado (2 dosis) frente a otro de 11 dosis de un antagonista de la GnRH (ANTARELIX; (3)) en la superovulación de ovejas mediante FSH / LH.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 24 ovejas Rasas, adultas, multíparas y secas en 3 experiencias de superovulación. En las experiencias de Septiembre de 1999 (n=5) y de Mayo de 2000 (n=7), las ovejas recibieron una dosis diaria de 0.5 mg s.c. de Antarelix (Europeptides, Argenteuil, France) durante 11 días, comenzando el día de la colocación de las esponjas de FGA (40 mg; Chronogest, Intervet, España) que se mantuvieron durante 14 días.

La superovulación se realizó mediante 8 inyecciones i.m. de pFSH (Pf. Beckers, Bélgica) en dosis decreciente (2 x 6, 2 x 5, 2 x 3, y 2 x 2 mg), separadas 12 h entre sí y comenzando al día siguiente de la última dosis de Antarelix. Se inyectaron 60 y 90 µg i.m. de pLH (Pf. Beckers, Bélgica) coincidiendo con la 7ª y 8ª dosis de FSH, respectivamente, así como 3 mg i.v. de pLH a las 8 h del comienzo del celo. Las esponjas se retiraron a la 7ª inyección de FSH.

En la experiencia de Septiembre de 2000, 6 ovejas recibieron el tratamiento descrito anteriormente, mientras que otras 6 se trataron de igual modo a excepción de que sólo recibieron 2 dosis de 0.5 mg de Antarelix, una a la puesta de esponja y otra 6 días más tarde. Los embriones se recuperaron a los 8 días de la retirada de

las esponjas. En esta última experiencia se tomaron muestras diarias de sangre durante el tratamiento con el antagonista para la determinación de LH por RIA (4). Antes de la primera dosis y el día posterior a la última, se tomaron 3 muestras de sangre con el fin de conocer los niveles iniciales y finales de LH. Los datos hormonales se analizaron mediante split-plot ANOVA. Las demás variables se analizaron mediante ANOVA, a excepción de los porcentajes para los que se aplicó el test de chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles hormonales de LH fueron menores en el grupo tratado con 11 dosis que en el de 2 dosis a lo largo del periodo de estudio ($P < 0.05$). Las dos dosis aplicadas fueron claramente insuficientes para bloquear la LH en el mismo grado que en el grupo de 11 inyecciones (Fig. 1).

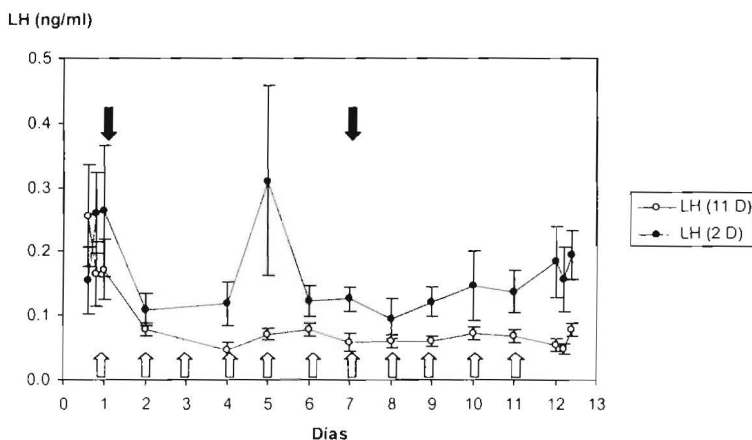


Figura 1. Valores de LH en ovejas tratadas con 11 ó con 2 dosis de Antarelix (0.5 mg). Las flechas indican los días en que se realizaron los tratamientos en cada grupo. El día 1 coincidió con la inserción de las esponjas.

En cuanto a los resultados de superovulación, en el lote de 2 dosis de antagonista hubo 2 ovejas que tenían todos los cuerpos lúteos regresados y que, por tanto, no se lavaron. Es difícil saber si esto fue debido al tratamiento de 2 dosis o no. En cualquier caso, no pudimos encontrar una relación entre los perfiles de LH de esas 2 donantes y la regresión luteal. La tasa de ovulación del resto de las ovejas de ese grupo fue similar a la del grupo de 11 dosis. Hay que destacar que la respuesta superovuatoria fue variable entre experiencias (de 11 a 25.1 de media; tabla 1).

Cabe destacar que la tasa de recuperación fue anormalmente baja en ambos lotes (2 y 11 dosis) en la experiencia de Septiembre del 2000, siendo significativamente menor que en el mismo mes del año anterior o en Mayo del

Tabla 1. Resultados de superovulación y obtención de embriones (medias \pm error estándar).

Experiencia	Nº dosis	n	CL	Est. Emb.	% Rec.	N.F.	Emb. Viab.	% V
Mayo 2000	11 dosis	7	25.1 \pm 6.8	13.9 \pm 2.6 ^d	55.1 ^c	0.14 \pm 0.1	9.3 \pm 3.0	70.7 ^a
Sept. 1999	11 dosis	5	11.0 \pm 2.7	8.4 \pm 2.5	76.3 ^b	0	7.2 \pm 2.4	94.7 ^b
Sept. 2000	11 dosis	6	16.7 \pm 2.1	5.5 \pm 1.3 ^e	33.0 ^a	0.7 \pm 0.4	3.8 \pm 1.1	82.1 ^{ab}
Sept. 2000	2 dosis	6*	16.5 \pm 3.7	5.0 \pm 2.7	30.3 ^a	0	2.7 \pm 0.6	57.9 ^a

n: nº de donantes; CL: cuerpos lúteos por donante; Est. Emb: estructuras embrionarias por donante; % Rec: porcentaje de recuperación; N.F.: ovocitos no fertilizados por donante; Emb. Viab: Embriones Viabiles por donante; % V: porcentaje de viabilidad; *: Datos de 4 donantes; 2 ovejas tenían sólo cuerpos lúteos regresados. ^{a,b,c}: P<0.01; ^{d,e}: P<0.05.

mismo año. Esto podría atribuirse a un estrés inducido por las tomas de sangre diarias, ya que en las experiencias anteriores no se extrajeron muestras de sangre.

En el lote de 2 dosis, el porcentaje de embriones calificados como viables entre los embriones recuperados fue el más bajo de todos, aunque sólo se alcanzó la significación estadística con los lotes de 11 dosis de Septiembre de 1999 y de Mayo de 2000. No obstante, ello fue debido a una oveja de la que se recuperaron 12 embriones, de los que sólo 4 eran viables. En las otras 3 donantes del lote todos los embriones recuperados fueron clasificados como viables.

En conclusión, es necesario repetir experiencias de comparación de 2 frente a 11 inyecciones de Antarelix, pero utilizando dosis más elevadas en el grupo de 2 inyecciones para tratar de conseguir un bloqueo efectivo de la LH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cognie Y. State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, 51:105-116 (1999).
2. Brebion P, Baril G., Cognie Y, Vallet JC. Embryo transfer in sheep and goat. *Ann. Zoot.* 41: 331-339 (1992)
3. Deghenghi R, Boutignon F, Wuthrich P, Lenaerts V. Antarelix (EP 24332) a novel water soluble LHRH antagonist. *Biomed. and Pharmacother.* 47:107-110 (1993).
4. Pelletier J, Garnier DH, De Reviere MM, Terqui M and Ortavant R.. Seasonal variation in LH and testosterone release in rams of two breeds. *J. Reprod. Fertil.* 64:341-346 (1982).

Financiado por CDTI (MINER). Agradecimientos: Al Dr. Deghenghi, Europeptides, Argenteuil, Francia por la cesión gratuita de Antarelix. A Pilar Sánchez Ruiz, por la recopilación de datos.