

# Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*)

FERRER, M.S.<sup>1</sup>; AGÜERO, A.<sup>1</sup>; CHAVES<sup>1</sup>, M.G.; RUSSO<sup>1</sup>, A.F.; RUTTER<sup>1</sup>, B.

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue sincronizar la emergencia de la onda folicular mediante la aplicación de buserelina, en animales que se encontraban en diferentes fases de su dinámica folicular. Se utilizaron 16 hembras vacías no en lactancia divididas en 4 grupos en base a su dinámica folicular determinada ultrasonográficamente durante los 3 días previos: I: folículos menores a 6 mm; II: folículos en crecimiento entre 7 y 10 mm; III: folículos en fase estática entre 8 y 14 mm y IV: folículos en regresión luego de dos mediciones consecutivas en descenso. Los animales recibieron 8 µg de buserelina (día 0) y se realizó el seguimiento de la actividad ovárica mediante ultrasonografía hasta detectar la presencia de un folículo dominante (mayor o igual a 7 mm). El menor diámetro folicular máximo promedio en los 4 grupos se observó el día 3 no existiendo diferencias significativas entre los grupos (P= 0,50). El tiempo transcurrido desde la aplicación del análogo de GnRH hasta la detección de un folículo mayor o igual a 7 mm fue de  $6,25 \pm 1,29$  días para el grupo I;  $5,5 \pm 1,8$  días para el grupo II;  $5,5 \pm 1,1$  días para el grupo III y  $8,66 \pm 1,88$  días para el grupo IV. No hubo diferencias significativas en el momento de la detección del folículo dominante (P=0,26). En conclusión la aplicación de buserelina en llamas que se encuentran en distintas fases de su dinámica folicular, sincroniza la emergencia de la onda folicular y permite comenzar los tratamientos superestimulatorios entre los días 3 y 6 de la aplicación.

*Palabras clave:* (superestimulación), (llama), (embrión)

## SUMMARY

### Follicular wave synchronization using buserelin in llama (*Lama glama*)

The objective of the study was to synchronize follicular wave emergency using busereline in a group of llamas that were at different stages of their follicular waves. We used 16 non-pregnant, non-lactating females divided according to their follicular dynamics determined ultrasonographically three days previously, into 4 groups: I: follicles smaller than 6 mm; II: growing follicles from 7 to 10 mm; III: maturing follicles from 8 to 14 mm and IV: regressing follicles, decreasing over two consecutive days. The animals received 8 µg of busereline (day 0) and ovarian activity was followed using ultrasound scanning until a dominant follicle ( $\geq 7$  mm) was detected. The smallest mean maximum follicular diameter was observed on day 3, there being no significant differences between the 4 groups (P=0.50). The time interval from the GnRH injection to the detection of a follicle  $\geq 7$  mm was  $6.25 \pm 1.29$  days

<sup>1</sup>Área de Teriogenología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.

Recibido: marzo 2002 - Aceptado: julio 2002

in group I;  $5.5 \pm 1.8$  days in group II;  $5.5 \pm 1.1$  days in group III and  $8.66 \pm 1.88$  days in group IV. The moment of the detection of a dominant follicle was not statistically different ( $P=0.26$ ). In conclusion, the use of buserelina in llamas that are in different follicular phases synchronizes the emergence of the follicular wave and permits starting superstimulatory treatments between days 3 and 6 after its injection.

*Key words:* (superovulation), (llama), (embryo)

## INTRODUCCIÓN

Los tratamientos superestimuladores realizados en llamas y alpacas hasta el momento no obtuvieron una respuesta uniforme a nivel ovárico y en el número de embriones recuperados<sup>4,6,7,11,16</sup>. Existe una amplia variación individual que puede atribuirse a distintos factores<sup>13</sup>. La dinámica follicular en el momento del inicio del tratamiento influye sobre la respuesta superestimuladora<sup>7</sup>. Esto fue efectivamente demostrado en los bovinos, donde la mayor respuesta se obtiene cuando los tratamientos con gonadotropinas se inician en el momento de la emergencia de la onda follicular, en ausencia de un folículo dominante<sup>15</sup>.

Según Adams y col. (1990) y Bravo y col. (1990) la dinámica follicular de la llama sigue el patrón clásico de ondas descrito en la hembra bovina. En cada onda follicular, emerge un grupo de folículos, uno de los cuales (el folículo dominante) continuará su crecimiento hasta alcanzar el diámetro máximo de 9-16 mm<sup>2</sup>. La acción inhibitoria del folículo dominante lleva al resto de los folículos de la misma cohorte (subordinados) a detener su crecimiento y atresarse. Entre 1 y 4 días de comenzada la regresión del folículo dominante emerge la onda siguiente<sup>2,8</sup>. Los tratamientos con buserelina se utilizaron en los bovinos para sincronizar la emergencia de la onda follicular al inducir la ovulación o luteinización del folículo dominante y eliminar la supresión ejercida por el mismo<sup>14</sup>.

Los camélidos son ovuladores inducidos. La respuesta ovulatoria al servicio natural se produce a las 48 horas y varía con el tamaño follicular, sólo las llamas con folículos mayores a 7 mm en fase de crecimiento o estática temprana ovulan en respuesta al servicio<sup>9</sup>. El tratamiento con

buserelina provoca un 89 % de ovulaciones que se producen a las  $28,6 \pm 0,36$  horas post-tratamiento<sup>6</sup>.

El objetivo de este trabajo fue sincronizar la emergencia de la onda follicular mediante la aplicación de buserelina en animales que se encontraban en diferentes fases de su dinámica follicular, para iniciar los tratamientos superestimuladores sin necesidad de monitoreo ovárico previo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires a 35° latitud sur. Se utilizaron 16 llamas adultas, vacías, no en lactancia, separadas de los machos y alimentadas en base a fardos de pastura y agua *ad libitum*. Se realizó el control follicular durante 3 días previos al inicio del ensayo con el objeto de determinar la fase de la onda follicular en que se encontraba cada animal. Se dividieron en 4 grupos al azar: grupo I: hembras con folículos menores a 6 mm en crecimiento ( $n=4$ ); grupo II: folículos en crecimiento entre 7 y 10 mm ( $n=4$ ); grupo III: folículos en fase estática entre 8 y 14 mm ( $n=4$ ) y grupo IV: hembras con folículo en regresión, con dos mediciones seguidas en descenso ( $n=4$ ).

El día 0 (día de inicio del tratamiento) cada llama recibió 8 µg de buserelina<sup>2</sup> por vía endovenosa. Teniendo en cuenta las 28 horas que transcurren hasta la ovulación, se comenzó con el seguimiento diario a partir del día 3, hasta detectar la presencia de un folículo dominante (mayor o igual a 7 mm). Se definió la ovulación como la desaparición del folículo presente al momento de la aplicación de la buserelina y

<sup>2</sup> Receptal, Lab. Hoechst, Bs. As.

detección posterior de la aparición de un cuerpo lúteo en el mismo ovario. Se consideraron folículos luteinizados aquellos que no colapsaron luego de la inyección de buserelina y que desarrollaron posteriormente estructuras luteales. El seguimiento de la actividad ovárica se realizó mediante palpación rectal y ultrasonografía por vía transrectal con un equipo Berger LC 2010 con transductor lineal de 5 MHz.

Para el análisis estadístico se obtuvo el promedio de los diámetros foliculares máximos de cada día para cada grupo, y se realizó un ANVA a un criterio de clasificación con efectos fijos (Test de Kruskal-Wallis).

## RESULTADOS

En una sola de las llamas del grupo I se observó un cuerpo lúteo. En el grupo II, tres llamas ovularon; la restante no ovuló y el foliculo dominante se luteinizó. En el grupo III, ovularon 3 animales; en la hembra restante se detectó la desaparición del foliculo dominante a los 3 días de la aplicación pero no se hizo evidente el desarrollo de un cuerpo lúteo. También se observaron cuerpos lúteos en 3 de los 4 animales del grupo IV; la otra hembra desarrolló un foliculo quístico luego del tratamiento y no fue incluida en el análisis estadístico. Los cuerpos lúteos se hicieron evidentes a la ecografía a partir del día 4-5. El tratamiento con buserelina desencadenó la ovulación en el 75% (6/8) de las hembras que poseían folículos dominantes en fase de crecimiento o estática. Considerando los 4 grupos, el porcentaje de ovulación fue de 62,5% (10/16).

Excepto una hembra, las demás presentaron folículos menores a 7 mm el día 3 pos-tratamiento. Ese fue el día en que se obtuvo el menor diámetro folicular máximo (promedio) en los 4 grupos, no habiendo diferencias significativas entre los mismos ( $P= 0,50$ ). Este valor se mantuvo por debajo de los 7 mm en los 4 grupos hasta el día 6 inclusive.

El tiempo transcurrido desde la aplicación de buserelina hasta la detección de un foliculo mayor a 7 mm fue de  $6,25 \pm 1,29$  días para el grupo I;  $5,5 \pm 1,8$  días para el grupo II;  $5,5 \pm 1,1$

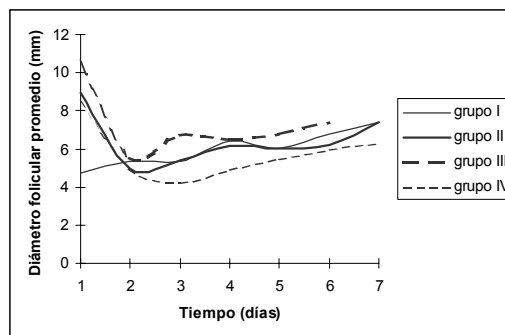


Figura 1. Promedio de los diámetros foliculares máximos alcanzados diariamente en cada grupo a lo largo del período de estudio.

días para el grupo III y  $8,66 \pm 1,88$  días para el grupo IV (promedio  $\pm$  DS). Los grupos no presentaron diferencias significativas en el momento de la detección de foliculo dominante ( $P = 0,26$ ).

## DISCUSIÓN

El porcentaje de ovulación en llamas con folículos dominantes es similar al obtenido por Aller y col. (1999) y menor al descrito por Bourke y col. (1992). En el grupo I se observó el desarrollo de un cuerpo lúteo mientras que Bravo y col. (1991) no observaron ovulación ni luteinización luego del servicio natural. Si bien las descargas de LH producidas por el servicio natural o por la aplicación de GnRH son similares (Bravo y col., 1992) podría haber diferencias en el estímulo ovulatorio de la buserelina. Bourke y col. (1995) sugirieron que folículos inmaduros podrían ovular en respuesta a la misma.

El momento de la primera visualización del cuerpo lúteo coincide con otros autores<sup>3</sup>. Los resultados obtenidos en cuanto al momento de detección de un foliculo mayor a 7 mm, no coinciden con los de Bravo y col. (1991), quienes no observaron actividad folicular significativa durante los 10 días posteriores al servicio en la mayoría de las llamas. Sin embargo, en ese trabajo, 10 de 23 hembras desarrollaron folículos mayores a 7 mm el día 6,6 pos-servicio.

Los trabajos realizados hasta el momento indican que tanto la progesterona endógena<sup>1, 2</sup>

como exógena<sup>12</sup>, detienen el crecimiento folicular. Adams y col. (1990) describieron la presencia de un folículo mayor a 8 mm el día 10-12 pos-servicio. Sin embargo, si bien el folículo alcanzó su tamaño máximo luego de la regresión luteal, Bourke y col. (1992) demostraron la presencia de folículos de 5-8 mm cuando el cuerpo lúteo alcanzaba su tamaño máximo el día 7 pos-servicio y/o aplicación de hCG.

En los trabajos de sincronización con CIDR, el tiempo transcurrido desde el retiro del dispositivo luego de 7 días de aplicación hasta la detección de un folículo dominante, fue de 5 días<sup>12</sup>. Dado que en nuestro trabajo se detectaron folículos mayores a 7 mm tan pronto como 5,5 días (media, grupo II y III) después del tratamiento, estaríamos en condiciones de sugerir que la fase luteal inducida por la buserelina no suprime la actividad folicular en la llama. Esta misma sugerencia fue hecha por Bourke y col. (1995) quienes encontraron folículos de 7-10 mm el día 7 pos-inyección de buserelina en el 76% de las llamas. Teniendo en cuenta que los diámetros foliculares máximos promedio se mantuvieron por debajo de 7 mm (tamaño del folículo dominante) hasta el día 6 en los 4 grupos, sería posible comenzar con el tratamiento superestimulador entre los días 3 y 5 luego de la inyección de buserelina, momento que coincidiría con niveles crecientes de progesterona.

### CONCLUSIÓN

La aplicación de buserelina en distintos momentos de la dinámica folicular sincroniza la emergencia de la onda folicular. Dado que los diámetros foliculares máximos (promedio) se mantienen por debajo de 7 mm (tamaño del folículo dominante) hasta el día 6 en los 4 grupos, es posible comenzar con el tratamiento superestimulador entre los días 3 y 5 luego de la inyección con GnRH en hembras en distintas fases de la onda folicular.

### BIBLIOGRAFÍA

1. ABA M.A.; FORSBERG, M.; KINDHAL, H.; SUMAR, J.; EDQVIST, L-E. 1995. Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet Scand* 36, 489-498.
2. ADAMS, G.P.; SUMAR, J.; GINTHER, O.J. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* 90, 353-545.
3. ADAMS, G.P. 1993. Ultrasonic imaging-What have we learned?. *Alpacas*, Summer, 46-48.
4. AGÜERO, A.; CHAVES, M.G.; CAPDEVIELLE, E.F.; RUSSO, A.; ABA, M. 2001. Superovulación en llamas: comparación de dos tratamientos. *InVet* 3:1-2, 13-18.
5. ALLER, J.F.; CANCINO, A.K.; REBUFFI, G.; ALBERIO, R.H. 1999. Inducción de la ovulación en llamas. Libro de resúmenes del II Congreso Mundial sobre Camélidos, Cusco, Perú, 91.
6. BOURKE, D.A.; ADAM, C.L.; KYLE, C.E.; YOUNG, P.; MC EVOY, T.G. 1992. Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. *Proc. 12<sup>th</sup> International Congress of animal Reproduction*, 193-195.
7. BOURKE, D.A.; KYLE, C.E.; MC EVOY, T.G.; YOUNG, P.; ADAM, C.L. 1995. Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology* 44, 255-268.
8. BRAVO, P.W.; FOWLER, M.E.; STABENFELDT, G.H.; LASLEY, B. 1990. Endocrine responses in the llama to copulation. *Theriogenology* 33:4, 891-899.
9. BRAVO, P.W.; STABENFELDT, G.H.; LASLEY, B.; FOWLER, M.E. 1991. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated south american camelids. *Biol. Reprod.* 45, 553-559.
10. BRAVO, P.W.; STABENFELDT, G.H.; FOWLER, M.E.; LASLEY, B. 1992. Pituitary response to repeated copulation and/or GnRH administration in llamas and alpacas. *Biol. Reprod.* 47, 884-888.
11. CORREA, J.E.; RATTO, M.H.; GATICA, R. 1997. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and equine chorionic gonadotrophin used individually or in combination. *An. Reprod. Sc.* 46, 289-296.
12. CHAVES, M.G.; ABA, M.A.; AGÜERO, A.; EGEY, J.; BERESTIN, V.; RUTTER, B. 2002. Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *An. Reprod. Sc.* 69: 37-46

13. D'OCCHIO, M.J.; JILLELLA, D. LINDSEY, B.D. 1999. Factors that influence follicle recruitment, growth and ovulation during ovarian superstimulation in heifers: opportunities to increase ovulation rate and embryo recovery by delaying the exposure of follicles to LH. *Theriogenology* 51, 9-35.
14. KOHRAN, H.; TWAGIRAMUNGU, H.; BOUSQUET, D.; DUROCHER, J.; GUILBAULT, L.A. 1998. Ovarian superstimulation after follicular wave synchronization with GnRH at two different stages of the estrous cycle in cattle. *Theriogenology* 49: 1175-1186.
15. NASSER, L.F.; ADAMS, G.P.; BO, G.A.; MARPLETOFT, R.J. 1993. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40:4, 713-724.
16. RATTO, M.H.; GATICA, R.; CORREA, J.E. 1997. Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*) treated with pFSH. *An. Reprod. Sc.* 48, 325-330.