

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA FISIOLÓGÍA OVÁRICA DE LOS PEQUEÑOS RUMIANTES Y SU APLICACIÓN PARA EL MANEJO REPRODUCTIVO

Edgardo Rubianes. 2005. Depto. de fisiología, Fac. de Veterinaria y Depto. de Producción Animal y Pasturas, Fac. de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Reproducción](#)

RESUMEN

La reciente aplicación de la ultrasonografía transrectal al estudio de los eventos reproductivos en ovejas y cabras permitió aclarar aspectos básicos de la fisiología ovárica. De esta manera, la existencia de un patrón de ondas de desarrollo folicular con intervalos que van desde 4 a 7 días en ambas especies; los mecanismos de emergencia, selección y dominancia folicular; y el rol de los niveles de progesterona en el reinicio de la onda folicular fueron demostrados. Esta información básica ha sido rápidamente utilizada para desarrollar técnicas alternativas para los programas de sincronización estral y transferencia embrionaria que mejoren la performance reproductiva en pequeños rumiantes, y muestra la importante relación entre las ciencias básicas y las aplicadas.

Palabras Clave: caprinos, fisiología reproductiva, ondas foliculares, ovejas, ovinos, reproducción

ONDAS DE DESARROLLO FOLICULAR

Hasta 1993, la mayoría de los estudios publicados sobre la foliculogénesis en ovinos habían sido enfocados al estudio de poblaciones foliculares (datos estáticos), y muy pocos hacia el seguimiento dinámico de folículos. De ese modo se había determinado que el ovario de ovejas adultas contiene, con variaciones entre las razas, entre 12.000 y 86.000 folículos primordiales y entre 100 y 400 folículos en crecimiento, de los cuales de 10 a 40 son visibles en la superficie ovárica. El estudio de los cambios que ocurren en el ovario durante el ciclo estral se realizó a través de abordajes quirúrgicos (laparotomías o laparoscopías seriadas) o con materiales obtenidos en frigoríficos (Brand y de Jong, 1973; Carbajal et al. 1993; Driancourt et al. 1985; Noel et al. 1993; Smeaton y Robertson, 1971) pero la información obtenida presentaba contradicciones. En algunos trabajos se planteaba que los folículos antrales emergían –desde el “pool” en que permanecían quiescentes– de un modo continuo y la presencia de los folículos grandes durante la fase luteal se producía azarosamente, alcanzando algunos folículos un tamaño de 4 a 6 mm para luego regresar (Driancourt et al. 1991). Por el contrario, en otros estudios se sostenía que la dinámica folicular en el ovino era similar a la observada en el bovino, es decir en forma de ondas de desarrollo (Noel et al. 1993). Esto último había sido postulado previamente por Brand y de Jong (1973) quienes infirieron que existían dos ondas de desarrollo folicular durante el ciclo luego de determinar las fluctuaciones de los niveles circulantes de estradiol. Recién con la incorporación de la ultrasonografía transrectal como técnica repetible no invasiva para el estudio de la fisiología ovárica en pequeños rumiantes (Ginther y Kot, 1994; Ravindra et al. 1994; Rubianes et al. 1996; Schrick et al. 1993) se comenzó a elucidar esos temas y en particular evaluar si en la oveja y la cabra la dinámica folicular ocurría en forma similar a la descrita para el bovino (p.ej. crecimiento por ondas, dominancia del folículo mayor sobre los otros folículos).

En los primeros estudios ultrasonográficos no se encontraron evidencias que sostuvieran que el desarrollo folicular en la oveja se presentaba en ondas (López Sebastián et al. 1997; Ravindra et al. 1994; Schrick et al. 1993). Sin embargo ahora existe suficiente información proveniente de cinco diferentes laboratorios (Bartlewsky et al. 1999; Evans et al. 2000; Ginther et al. 1995; Leyva et al. 1999; Viñoles et al. 1999a) demostrando que la emergencia de los folículos que crecen desde 3 hasta 5 mm ocurre en ondas. Un rango de 2 a 5 ondas foliculares ocurren en cada ciclo interovulatorio pero el patrón predominante es de 3 ondas que emergen respectivamente alrededor de los días 0, 6 y 11 del ciclo estral ovino (figura 1). Algunos autores encuentran una cuarta onda y en este caso la onda 3 emerge más tempranamente y la onda 4 emerge el día 14. Algunas de las características más frecuentemente observadas de las ondas son:

1. el folículo mayor de la onda 1 es más grande que el folículo mayor de la onda 2;
2. la tasa de crecimiento desde el día de emergencia (primer día con un diámetro de 3 mm) y el día de máximo diámetro es de alrededor de 1 mm/día;
3. en promedio de 1.2 a 1.5 folículos alcanzan 5 o más mm de diámetro en cada onda pero esto depende de la raza estudiada;

4. el intervalo entre la onda 1 y la onda 2 es más largo que entre la onda 2 y la onda 3; y
5. los folículos que no alcanzan más de 3 mm de diámetro emergen y regresan de un modo más continuo.

Se han reportado algunos factores que afectan el número de ondas por ciclo. Durante la transición desde el anestro estacional a la estación reproductiva los ciclos interovulatorios son más largo o más corto que lo normal y por tanto tienen más o menos ondas foliculares (Ginther et al., 1995). Por su parte, Gibbons et al. (1999) demostraron que ovejas con genes prolíficos como el Booroola tienen menos ondas foliculares y en un reciente trabajo se demostró una relación entre la nutrición y la dinámica folicular dado que las ovejas con muy buena condición corporal tienen más ondas por ciclo que las con una condición corporal regular (Viñoles et al. 1999a).

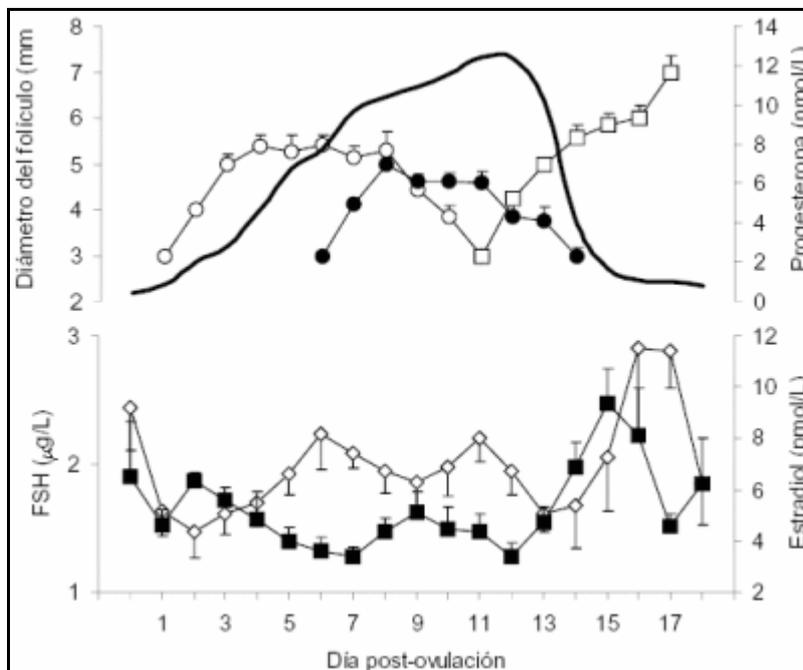


Figura 1. Dinámica folicular. Folículo mayor de la onda 1 (círculo vacío), folículo mayor de la onda 2 (círculo relleno) y folículo ovulatorio (cuadrado vacío) y sus relaciones con las concentraciones circulantes de progesterona (línea negra), FSH (rombo vacío) y estradiol (cuadrado relleno) en ovejas con muy buena condición corporal durante el intervalo interovulatorio (Viñoles et al. 2000).

Un tema de particular interés ha sido determinar la relación entre la hormona folículo estimulante (FSH) y la emergencia de las ondas foliculares. Existe buena evidencia que las fluctuaciones de las concentraciones séricas de la FSH están íntimamente asociadas con la emergencia de las ondas. Como se observa en la figura 1, un aumento de la FSH precede la emergencia de cada onda. Esto es seguido por un descenso que está negativamente correlacionado con las concentraciones séricas de estradiol que es producido fundamentalmente por el folículo más grande de la onda folicular (Baird et al. 1991).

EXISTENCIA DE LA "DOMINANCIA FOLICULAR"

La existencia dentro de una onda de la denominada dominancia folicular en la vaca se caracteriza por dos fenómenos: la divergencia en el crecimiento entre el folículo mayor y el segundo mayor; y una disminución del número de folículos chicos correlacionada con el crecimiento del folículo mayor. En los primeros estudios ultrasonográficos no fue posible demostrar esos indicadores en la oveja (Ravindra et al. 1994; Schrick et al. 1993) lo que llevó a sugerir que la dominancia era débil o no estaba presente durante la fase luteal. Posteriores trabajos realizados en nuestro laboratorio mostraron que tanto durante la fase luteal de la oveja (Viñoles et al. 1999b) como de la cabra (de Castro et al. 1999) el fenómeno estaba presente. En la figura 2 se observa que el número total de folículos mayores de 2 mm de diámetro disminuye correlacionadamente con el desarrollo del folículo mayor de la onda 1 y sólo aumenta de nuevo cuando ese folículo comienza a regresar y una segunda onda folicular emerge.

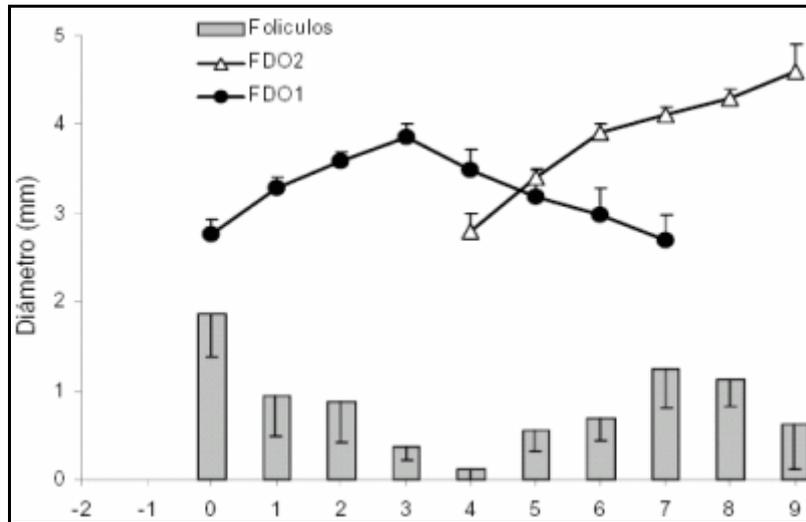


Figura 2. Relación entre el crecimiento de los folículos dominantes de la onda 1 (FDO1) y la onda 2 (FDO2) y el número total de folículos ≥ 2 mm presentes en los ovarios del ovino (día 0 vs. día 3 y 4; día 4 vs. día 8, $P \leq 0.05$). (Tomado de Viñoles et al. 1999a).

Este tema también fue estudiado con otra aproximación experimental (Rubianes et al. 1997). A los animales se les estimuló con 6 dosis iguales de FSH administradas una cada 12 horas. En un grupo el tratamiento comenzó en el momento estimado de emergencia de la onda 1 (día 0 del intervalo interovulatorio) mientras que en el otro grupo se inició el día 3 es decir cuando el folículo mayor de la onda 1 estaba en pleno desarrollo. Se asumió que si existía dominancia el reclutamiento folicular y/o la respuesta ovulatoria provocados por la gonadotropina se verían afectados. El tratamiento iniciado el día de emergencia de la onda 1 provocó un mejor reclutamiento folicular que un tratamiento iniciado más tarde cuando el folículo mayor de la onda 1 estaba presente (tabla 1) de lo que se puede inferir el papel deletéreo sobre el crecimiento del resto de los folículos que tiene la presencia de un folículo dominante. Sin embargo, con el modelo utilizado, luego de 72 horas de tratamiento con FSH el número de folículos grandes reclutados en ambos grupos tendió a no ser diferente. Esto indica que la prolongada administración de FSH logra sobreimponer el reclutamiento a la supresión del crecimiento de los folículos subordinados. No obstante, el efecto de la dominancia tuvo consecuencia también sobre la respuesta ovulatoria y la calidad luteal subsecuente. En efecto, un número menor de folículos reclutados finalmente ovularon (menor tasa ovulatoria) y el número de ovejas que presentaron fases luteales subnormales fue significativamente mayor.

Tabla 1. Reclutamiento de folículos grandes (≥ 4 mm), tasa ovulatoria y característica de la respuesta luteal luego de un tratamiento con 6 dosis iguales de FSH (dosis total = 100 mg; 1 dosis/12 h) iniciado el día de la emergencia del folículo mayor de la onda 1 (día 0, n=16) o 3 días después de la misma (día 3, n=9) (media \pm ES). (Rubianes et al. 1997)

Inicio del tratamiento	Tamaño del Folículo Mayor (mm)	Folículos Grandes a las 48 hs	Folículos Grandes a las 72 hs	Folículos Grandes a las 96 hs	Tasa ovulatoria	Respuestas luteales subnormales
Día 0	2.3 \pm 0.2 ^a	6.4 \pm 0.6 ^c	6.7 \pm 0.5 ^c	8.6 \pm 1.3	5.6 \pm 0.8 ^a	1/16 ^c
Día 3	5.4 \pm 0.4 ^b	2.7 \pm 0.7 ^d	5.1 \pm 0.6 ^f	7.0 \pm 1.2	3.3 \pm 0.8 ^b	6/9 ^d

Para una misma columna ^{a,b}: $P \leq 0.05$; ^{c,d}: $P \leq 0.01$; ^{e,f}: $P = 0.08$

DOMINANCIA FOLICULAR Y RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS

Una limitante para el desarrollo de los programas de superovulación y transferencia embrionaria ha sido la gran variabilidad observada en la respuesta ovárica luego de los tratamientos gonadotróficos tradicionales (Vivanco et al. 1994). Esto se debe a que estos tratamientos son iniciados sin considerar el estado en que se encuentra la onda folicular (presencia o no de un folículo dominante). Para superar estos inconvenientes se han ensayado algunos tratamientos alternativos teniendo en cuenta el estado funcional del ovario (presencia o ausencia de un folículo dominante activo) (Rubianes et al. 1996b). En la tabla 2 se observa que la respuesta ovulatoria es mayor y la eficiencia del tratamiento evaluada como número de ovulaciones respecto a la cantidad de folículos

grandes reclutados es superior cuando se inicia la administración de FSH en ausencia de un folículo dominante. Globalmente los resultados de la aplicación de estos tratamientos en cabras y ovejas indican que:

1. la primer onda folicular del ciclo interovulatorio puede ser utilizada apropiadamente para superovular ovejas;
2. el tratamiento alternativo utilizado provoca un reclutamiento similar y mejores respuestas superovulatoria y luteal que uno tradicional y
3. la variabilidad en las respuestas observadas con los tratamientos tradicionales está en gran parte relacionada con el estado ovárico de cada animal en particular.

Tabla 2. Respuesta ovárica a tratamientos con FSH iniciados los últimos tres días de un tratamiento con progestágeno (tradicional) o al momento estimado de emergencia de la onda 1 (día de la ovulación, alternativo) (media \pm ES) (Rubianes et al. 1996b).

Tratamiento (n)	Folículos reclutados a las 48 hs	Folículos reclutados a las 72 hs	Número de ovulaciones	Ovulaciones/Folículos reclutados %
Tradicional (9)	6.1 \pm 1.1	10.8 \pm 1.4	2.8 \pm 1.3	23.9 \pm 7.4 ^a
Alternativo (9)	6.8 \pm 0.7	7.5 \pm 0.9	4.9 \pm 1.0	59.4 \pm 8.3 ^b
Para una misma columna ^{a,b} ; P<0.01.				

PROGESTERONA Y CRECIMIENTO FOLICULAR

Con distintos experimentos se estudió, tanto en la oveja como en la cabra, la relación entre las concentraciones séricas de progesterona y el patrón de ondas foliculares. En un primer trabajo se observó que las cabras con 4 ondas de desarrollo folicular tenían durante la mitad del ciclo estral concentraciones más elevadas de progesterona que la cabras con 2 o 3 ondas (de Castro et al. 1999).

En otro estudio realizado recientemente se confirmó esa observación (Menchaca y Rubianes, 2000). Utilizando diferentes tratamientos con progesterona en el ovino se estableció que los niveles supraluteales del esteroide -es decir superiores a los observados durante una fase luteal normal- afectan el crecimiento del folículo mayor de la onda 1 (Rubianes et al. 1996a) promoviendo el recambio folicular. Por su parte cuando niveles subluteales de progesterona fueron generados durante los días 6 y 9 del ciclo la vida media del folículo mayor de la Onda 1 se prolongó y el efecto de la dominancia sobre los folículos subordinados se extendió (Viñoles et al. 1999b). El conjunto de esta información sustenta la hipótesis que la concentración de progesterona circulante juega un rol preponderante en el recambio folicular de los pequeños rumiantes.

TRATAMIENTOS CON PROGESTÁGENOS, SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y FERTILIDAD

La demostración del efecto de los niveles de progesterona sobre la dinámica folicular tiene importantes aplicaciones prácticas. Desde hace muchos años se han usado tratamientos con análogos de progesterona (progestágenos) para sincronizar el celo en la oveja y la cabra. La duración de dichos tratamientos de acuerdo a lo promovido por los fabricantes es prolongada (12 a 14 días en ovinos 14 a 16 días en caprinos) pero el sustento para ello no es muy claro. Por otra parte la fertilidad del celo sincronizado es menor a la observada luego de un celo espontáneo. Nosotros estudiamos este tema a la luz de los conocimientos antes reseñados sobre la dinámica folicular y su control. Si las ondas foliculares emergen cada 4 a 6 días no parece justificado el uso de tratamientos hormonales tan prolongados. Realizamos varios experimentos durante el anestro estacional tanto en ovinos (Ungerfeld y Rubianes, 1999) como caprinos (Rubianes et al. 1998) utilizando los progestágenos por períodos cortos (5 o 6 días). Los resultados muestran que los tratamientos cortos son al menos tan efectivos en inducir celos que los largos y que son seguidos de una buena fertilidad (tabla 3). Por su parte en experimentos realizados durante la estación reproductiva si bien no se logró una tan buena sincronización de los celos, la fertilidad subsecuente a los mismos fue significativamente mejor con los tratamientos cortos (Rubianes et al., 1999) que con los tratamientos largos (figura 3). La menor fertilidad con los tratamientos largos estuvo asociada con la ovulación de folículos con vida media prolongada (Viñoles et al. 2001) lo que sustenta la hipótesis que los tratamientos tradicionales promueven la ovulación de ovocitos "viejos" que tienen poca probabilidad de ser fertilizados o si ella ocurre el desarrollo embrionario es anormal resultando en muerte embrionaria prematura.

Tabla 3. Efecto de la utilización de pretratamientos con MAP de diferente duración (6, 9 o 13 días; 6D, 9D y 13D) sobre la inducción de celo y las tasas de concepción en ovejas Polwarth y cruzas tratadas con eCG (330 UI) durante el anestro estacional (Ungerfeld & Rubianes, 1999).

Tratamiento	n	Ovejas en celo (%)	Intervalo al celo (h) (Media±ES)	Tasa de concepción (%)
6D	26	24/26 (92.3)	40.4 ± 2.5	16/24 (66.7)
9D	28	24/28 (85.7)	42.4 ± 2.0	18/24 (75.0)
13D	28	27/28 (96.4)	41.9 ± 2.4	17/27 (63.0)

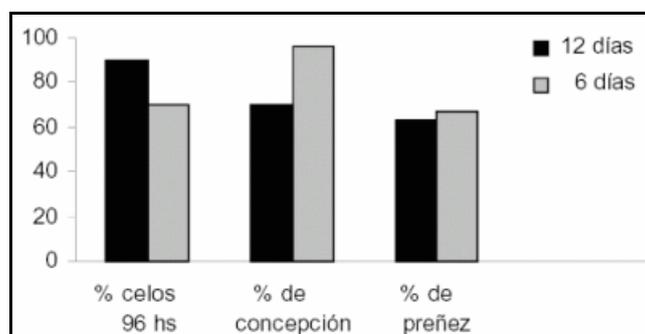


Figura 3. Total de celos acumulados a las 96 hs y tasas de concepción (ovejas preñadas/en celo) y de preñez (preñadas/totales) de ovejas tratadas con tratamientos cortos (6d) o largos (12d) de MAP. (Adaptado de Viñoles et al. 1999c).

CONCLUSIONES

La utilización de la ultrasonografía transrectal, al permitir el seguimiento diario de la dinámica folicular de forma atraumática, posibilitó en los últimos años un rápido avance en el conocimiento de la fisiología ovárica de la oveja y la cabra. Se demostró que el desarrollo de los folículos antrales que llegan a más de 3 mm de diámetro ocurre en ondas que emergen promedialmente cada 4 a 6 días. La emergencia de las ondas estaría determinada por incrementos previos de la FSH circulante, que es la hormona del reclutamiento folicular. A su vez, la concentración sérica de progesterona se relaciona con la velocidad del recambio folicular.

La caracterización de estos aspectos de la dinámica folicular ha permitido desarrollar técnicas de manejo reproductivo alternativas a las tradicionales. La utilización de tratamientos cortos con progestágenos para la inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras y los tratamientos superovulatorios teniendo en consideración el estadio de la dinámica folicular ovárica son ejemplos de la repercusión que la investigación básica ha tenido sobre las técnicas con aplicación productiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Baird DT, Campbell BK, Mann GE, Mc Neilly AS (1991). Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Reprod Fertil.* 43(Suppl):125-138.
- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Chandolia RK, Honaramooz A, Rawlings NC (1999). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J Reprod Fertil.* 115:111-124.
- Brand A, De Jong WHR. (1973). Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrous cycle in sheep. *J Reprod Fert.* 33:431- 439.
- Carbajal B, de Castro T, Rubianes E (1993). Dinámica de la población folicular durante el ciclo estral de la oveja. Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina
- De Castro T, Rubianes E, Menchaca A, Rivero A (1999). Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52:399-411.
- Driancourt MA, Gibson WR, Cahill LP. (1985). Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. A review. *Reprod Nutr Develop.* 25:1-15.
- Driancourt, M.A., Webb, R, Fry RC (1991). Does follicular dominance occur in ewes? *J Reprod Fert.* 93:63-70.
- Evans ACO, Duffy P, Hynes N, Boland MP (2000). Waves of follicle development during the estrous cycle in the sheep. *Theriogenology* 53:699-715.
- Gibbons JR, Kot K, Thomas DL, Wiltbank MC, Ginther OJ (1999). Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology* 52:1005-1020.
- Ginther OJ, Kot K (1994). Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 42:987-1001.
- Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC (1995). Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43: 689-703.

12. Leyva V, Buckrell BC, Walton JS (1999). Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50:395-416.
13. Lopez-Sebastian A, Gonzalez de Bulnes A, Santiago Moreno J, Gomez-Brunet A, Townsend EC, Inskeep EK (1997). Patterns of follicular development during the estrous cycle in monoovular Merino del Pais ewes. *Anim Reprod Sci.* 48:279-291.
14. Menchaca A, Rubianes E. (2000). Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in gotas. *Theriogenology* (presentado)
15. Noel B, Bister JL, Paquay R (1993). Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *J Reprod Fert.* 99:695-700.
16. Ravindra JP, Rawlings NC, Evans ACO, Adams GP (1994). Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. *J Reprod Fertil.* 101:501-509.
17. Rubianes E, de Castro T, Carbajal B (1996a). Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can J Anim Sci.* 76:473-475.
18. Rubianes, E.; Ungerfeld, R.; Viñoles, C.; Rivero A (1996b). Ovarian response after traditional or alternative superovulatory FSH treatment in ultrasonographic monitored ewes. XIII International Congress on Animal Reproduction, Sidney, Australia 2:P7-8.
19. Rubianes E, Ungerfeld R, Viñoles C, Rivero A, Adams GP (1997) Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology* 47:1479-1488.
20. Rubianes, E, de Castro, T, Kmaid, S. (1998). Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology* 49:356 (abstr).
21. Rubianes E, Ungerfeld R, de Castro T. (1999). Inducción y sincronización de celos en ovejas y cabras". Tercer Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina.
22. Schrick FN, Surface RA, Pritchard JY, Dailey RA, Townsend EC, Inskeep EK (1993). Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biol Reprod.* 49:1133- 1140.
23. Smeaton TC, Robertson HA (1971). Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. *J Reprod Fert.* 25:243-252.
24. Ungerfeld, R, Rubianes, E (1999). Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim Sci.* 68:349-353.
25. Viñoles C, Banchemo G, Rubianes E (1999a) Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cycling ewes with high and low body condition score. *Theriogenology* 51:437 (abstract).
26. Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E (1999b). The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51:1351-1361.
27. Viñoles, C, Banchemo, G, Quadrelli, R, Rubianes, E (1999c). Fertilidad del celo inducido con tratamientos de diferente duración con esponjas de medroxiprogesterona. En: 3er Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina.
28. Viñoles C, Forsberg M, Rubianes E (2000). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. *Proceedings 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm,* 1:26.
29. Viñoles C, Forsberg M, , Banchemo G, Rubianes E (2001). Effect of long term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* (en prensa).
30. Vivanco HW, Greaney KB, Varela H. (1994). Explaining the variability in superovulation responses and yielded of transferable embryos in sheep embryo transfers. *Theriogenology* 41:329 (abstract).

Volver a: [Reproducción](#)