



Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o ausencia de ética?[¶]

Revista
Colombiana de
Ciencias
Pecuarias

*Rational of superovulation and synchronization protocols for bovine embryo transfer
¿Evidence-based therapeutics or lack of ethics?*

*Racionalidade dos esquemas de superovulação e sincronização na transferência de
embriões em bovinos: terapêutica baseada em provas ou falta de ética?*

Juan G Maldonado Estrada^{1*}, MVZ, MS, PhD; Paula A Bolívar¹, Zoot, MV.

¹Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias (Centauro), Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, y Sede de Investigación Universitaria (SIU, Lab-233). Universidad de Antioquia. AA 1226, Medellín, Colombia.

(Recibido: 16 agosto, 2006; aceptado: 29 agosto 2008)

Resumen

Desde el inicio del uso intensivo de la transferencia de embriones (TE) en Colombia, los esquemas hormonales para la inducción de la superovulación (SOV) en las donadoras y la sincronización de las receptoras (SR), se han aplicado de conformidad con los estudios realizados en otras partes del mundo. Una gran cantidad de variaciones en los esquemas está disponible en la literatura, cuya aplicación no ha obedecido al diseño de estudios clínicos completos, sino que se basan en el principio de la utilización de productos hormonales por su presumida farmacología, sin hacer seguimiento ni de su farmacocinética ni de los potenciales efectos colaterales adversos en la fertilidad. Los esquemas utilizados podrían tener efectos colaterales asociados de manera directa o indirecta con el uso incontrolado de hormonas exógenas, o con el tiempo durante el cual las donadoras o receptoras son sometidas a los tratamientos, olvidando aspectos fundamentales de la ética en la experimentación animal. La proliferación de esquemas de SOV y de SR busca mejorar las tasas de respuesta en la producción de embriones de calidad I y II (transferibles o congelables), y aumentar las tasas de gestación de los embriones transferidos, pero los resultados no han mejorado significativamente a lo largo de los últimos 20, situación común en todos los países del mundo. En el presente trabajo se hace una revisión sobre el uso de hormonas en los esquemas de SOV y sincronización de receptoras, con énfasis en la racionalidad del uso de las hormonas y los resultados obtenidos. Finalmente, se proponen varios elementos de juicio para plantear una discusión sobre la racionalidad y la bioética de los esquemas utilizados en la TE.

Palabras clave: bienestar animal, donadora de embriones, esquema de superovulación, ética en la investigación animal, protocolo de sincronización, vaca receptora

[¶] Para citar este artículo: Bolívar PA, Maldonado-Estrada JG. Proliferación de esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o falta de racionalidad? Rev Colomb Cienc Pecu 2008; 21: 436-450.

* Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de separatas. Carrera 75 N° 65-87, Oficina 47-150. Ciudadela Universitaria de Robledo, Medellín, Colombia. E-mail: juanguimal@recep.udea.edu.co Tel (+574) 2199131 Fax (+574) 2199104.

Summary

Since the beginning of the use of bovine embryo transfer (ET) in Colombia, hormonal protocols for superovulation (SOV) of donors and for synchronization of recipients (RS) have been used in accordance with protocols reported elsewhere. Several variations of ET protocols have been reported most of them not based in controlled clinical studies but in the supposed pharmacological mechanisms of action of the used hormones, neither with pharmacokinetic studies nor considering the potential collateral effects on cow's fertility. Such collateral effects could be directly or indirectly related with the uncontrolled use of exogenous hormones, or with the time-related additional open days of donor and recipients, without considering the bioethics for animal experimentation. The huge proliferation of protocols for SOV and RS aims for improving both grade I and II (transferable or freezable embryos) embryo yield per transfer, and pregnancy rates for transferred embryos, without having achieved significant improvements during the last 20 years all around the world. In the present review we critic the use of exogenous hormones in bovine ET with emphasis in the rationality of indiscriminating use of exogenous hormones and embryo yield. Finally, we suggest several arguments on the bioethics of the protocols for SOV and RS in bovine ET.

Key words: animal welfare, embryo donor, ethics in animal research, receptor cow, synchronization protocol, superovulation protocol.

Resumo

Desde o início da transferência de embriões (TE) na Colômbia, nos esquemas hormonais para a indução da superovulação (SOV) noadora e sincronização do receptor (SR), foram executadas de acordo com estudos realizados noutras partes do mundo. Um lote de variações nos esquemas está disponível na literatura, cuja execução não tenha obedecido a concepção dos estudos clínicos completos, sem controlo ou a sua farmacocinética ou potenciais efeitos colaterais adversos sobre a fertilidade. Os esquemas utilizados poderiam ter efeitos secundários associados direta ou indiretamente com o uso descontrolado de hormônios exógenos, ou o tempo durante o qual o doador ou receptor são submetidos a tratamento, ignorando os aspectos-chave da ética na experimentação animal. A proliferação de esquemas SOV e SR pretendem melhorar as taxas de resposta na produção de embriões qualidade I e II (transferíveis ou congeladas) e aumento das taxas de gravidez de embriões transferidos, mas os resultados não têm melhorado significativamente ao longo dos últimos 20, uma situação comum em todos os países do mundo. Neste documento é uma revisão sobre o uso de hormônios nas formas de SOV e sincronização de receptores, com ênfase na utilização racional das hormonais e os resultados obtidos. Por último, propomos vários elementos de juízo para levantar uma discussão sobre a racionalidade e bioética dos esquemas utilizados na TE.

Palavras chave: bem-estar dos animais, doador de embrião, ética em pesquisa animal, protocolo de sincronização, regime de superovulação, vaca receptora

Introducción

La transferencia de embriones (TE) es una de las biotecnologías reproductivas que se realizan en Colombia y la mayoría de países del mundo, en donde ha tenido un desarrollo vertiginoso en los últimos diez a quince años. La TE, cuyo objetivo central es el aumento de la descendencia de reproductores de alto valor genético, en especial de las hembras (24), incluye la aplicación de esquemas de súper ovulación (SOV) en las vacas donadoras de embriones y de sincronización del celo tanto en las hembras donadoras como en las hembras receptoras. Existen muchas variaciones en los esquemas farmacológicos de inducción de SOV y los resultados generados parecen no

presentar variaciones importantes, a pesar de que al aumento de la complejidad de los protocolos de tratamiento hormonal, podrían generar un costo adicional innecesario y por el uso implícito de hormonas sin prescripción, ni sustento en ensayos clínicos controlados, implicarían un manejo médico inadecuado.

La SOV y la sincronización no pueden verse como un hecho aislado, sino que éstas se basan en una serie de acontecimientos fisiológicos que abarcan procesos endocrinos desde el ciclo estral hasta la ovulación de los folículos que se han desarrollado en respuesta al tratamiento hormonal suministrado y que son los responsables en gran medida de que la respuesta al tratamiento sea de alta

calidad, en términos de embriones recuperados y de su calidad. De ahí que, la SE TE vea afectada por diversas variables o factores que podrían afectar su tasa de éxito, entre ellos: el manejo de la donadora y la receptora para la detección del celo, la necesidad de iniciar el tratamiento SOV en el momento específico del ciclo estral, la baja consistencia en la producción de embriones viables, y la existencia de un porcentaje de las donadoras que no producen embriones transferibles (7). Diversos factores parecen influir en la respuesta de la donadora al tratamiento SOV, tales como la edad o el número de partos (2, 3), el ambiente (1, 20, 48), la dosis de hormona utilizada (19, 53, 62, 63), el momento en que se aplica (6, 12), factores nutricionales (4, 64), factores inherentes a la receptora (18), y a cada finca (60), entre otros. Los objetivos de la presente revisión fueron hacer una presentación crítica de los aspectos relacionados con los esquemas de SOV y sincronización del celo disponibles en la práctica rutinaria de la TE en bovinos, hacer una recopilación de los resultados de los esquemas en términos de tasas de embriones transferibles producidos y porcentajes de gestación logrados, y presentar elementos de juicio sobre la racionalidad y el respeto a la ética en la experimentación en animales, de los diversos estudios que sustentan los esquemas de manejo hormonal de la TE en Colombia, como reflejo de la situación en diferentes países del mundo.

Evolución de los esquemas de SOV desde la década de los años 90 hasta el presente

Para la SOV de las donadoras se utilizaba en la década de los años 90 un protocolo sencillo, que consistía en: la detección del celo de referencia para la SOV, la administración de FSH, pura o como PMSG, desde el día 9 hasta el día 12 del ciclo de referencia para la SOV (29, 50), acompañado de la administración de prostaglandina, la inseminación al celo observado junto con la aplicación de una fuente de hormona luteinizante para lograr la ovulación —y de anti-PMSG, cuando se utilizaba esta hormona como fuente de FSH para inducir la superovulación (50, 51). El protocolo para la sincronización de las receptoras era sencillo (37) si se compara con los complejos esquemas disponibles en la actualidad (40, 47).

Desde la del año 2000 se dispone de toda una gama de esquemas de SOV de las donadoras y de sincronización del estro en las receptoras, que han hecho mucho más complejo el tratamiento hormonal de las novillas y de las vacas, han aumentado considerablemente los costos del proceso, representados en la mano de obra, el descarte de cerca de la mitad de las hembras destinadas como receptoras por tener “cuerpo lúteo inapropiado” (57). Todo lo anterior además, de reducir la rentabilidad global del proceso, debido al número elevado de hembras receptoras descartadas en cada ciclo de transferencia, aumenta el periodo abierto de las hembras que se destinan como receptoras, algún porcentaje de las cuales son descartadas posteriormente por problemas de fertilidad, pero sin tener datos sobre la consecuencia del tratamiento hormonal. Curiosamente, las tasas de respuesta en términos de embriones de calidad para la transferencia en fresco o la congelación, el porcentaje de gestaciones obtenidas con embriones transferidos en fresco o descongelados, y el porcentaje de terneros nacidos, siguen oscilando alrededor de los promedios obtenidos hace más de diez años (33, 55).

Resultados de los esquemas de SOV y recuperación de embriones

En Europa se ha informado importantes variaciones en la tasa de embriones transferibles/año durante los últimos nueve años, en donde se observa que no se ha logrado ningún progreso en cuanto al porcentaje de embriones transferidos (27). En América del norte se informó una producción promedio de 4.7 embriones para 1980-1981, valor similar al promedio de 5.1 embriones informado para el período 1978-1982 (33). Además, los investigadores han enfocado sus esfuerzos en métodos que incrementen el número de ovulaciones y de oocitos fertilizados (33, 50), pero el número de embriones transferibles no ha incrementado en los últimos 20 años. Esta situación permite plantear una serie de cuestionamientos sobre la racionalidad terapéutica y económica de los esquemas de SOV para TE y las posibles causas de las tasas de respuesta en la producción de embriones.

¿Cuál es la racionalidad y la efectividad de los nuevos esquemas de SOV disponibles en el mercado?

En la literatura consultada tan solo se han hallado unas pocas referencias en donde se mencionen algún aspecto ético sobre la TE en bovinos: en la primera, publicada en el año 1988, no se pudo acceder a la información publicada, pero se convierte en la primera referencia a la ética de la TE (58), cuyo autor falleció en el año 2007, de manera que no se tuvo acceso a una fuente directa; en la segunda, se plantea una revisión de los aspectos éticos de la TE de cara al siglo 21, pero los planeamientos del autor se centran en la visión antropocéntrica de los aspectos éticos, sin hacer mención a la ética del uso indiscriminado de los procedimientos en la TE en bovinos (23). Un estudio reciente realizado por

nuestro grupo de investigación, se hizo un análisis de los costos de tres de los esquemas de SOV más usados en Colombia, con el objetivo de hacer comparaciones entre los costos de cada uno de ellos y las tasas de respuesta en términos de embriones transferibles y tasas de gestación, en donde la información lo permitió (13). Para el efecto se tomó el esquema convencional usado en la década de los 90 —sincronización con PGF_{2α} (50, 51), antes de la implementación de esquemas basados en la sincronización con implantes de progesterona (37, 43, 61). Las variaciones más importantes para destacar entre los tres tratamientos evaluados, son los costos por esquema utilizado y el manejo en que se incurre, puesto que las tasas de embriones transferibles y de gestación obtenidas (véase Tabla 1), no son significativamente diferentes (véanse Tablas 2 y 3).

Tabla 1. Diferencias en las tasas de producción de embriones entre diferentes esquemas de superovulación (SOV)

Esquema hormonal	Embriones viables	Tasa de preñez (%)	Referencia
Revisión de varios protocolos	6.17 ± 1.37	51.5	4
Varios esquemas en receptoras	NR	40.9-50	9
Varios esquemas en donadoras y receptoras	5.0 ± 0.7 - 5.4 ± 0.7	35.2-60.4 (55)	17
Varias dosis de PMSG + anti-PMSG	3.4 ± 0.4 - 5.3 ± 1	N.A.	28
Implantes, dosis de LH y hora de IA variables	69.5-73%	42.7-45.1	30
GnRH + prostaglandina (varios esquemas) Embriones descongelados	20.5-54% (54)	39.5-45.4 (53.8)	42
eGC en receptoras	NR	20.9 - 50	47
Implantes de P4 en receptoras	54%	35%	55
Implantes de P4 vs prostaglandinas en receptoras	NR	50-82.8	57
Dosis variables de FSH	2.1 ± 0.7 - 4.7 ± 0.7	NR/NE	63

En los congresos internacionales en los que se presentan los aspectos más recientes de la transferencia de embriones en bovinos (5, 7, 27), se han presentado resultados de tasas de éxito elevadas, cercanas al 80%, pero estos resultados no han sido publicados en la literatura científica, lo que implica que si los autores han enviado sus resultados a publicación en revistas sometidas a evaluación por pares, estos no se habían publicado al momento de culminar esta revisión; o por el contrario, los trabajos no han sido enviados aún. En este mismo

sentido, en las memorias del congreso mundial brahman del año 2007 se publican resultados de altas tasas de gestación, pero dicha información no aparece aún publicada en la literatura científica. Por consiguiente, se hace un llamado a tomar con mucho cuidado esta información presentada en los congresos, en la medida en que sólo será confiable cuando haya sido publicada en revistas científicas, cuando será el resultado del filtro de calidad garantizado por el proceso de evaluación por pares.

Tabla 2. Relación de aval de comité de ética, inclusión de grupo control, embriones transferibles y tasa de gestación en estudios de transferencia de embriones, en diferentes países del mundo.

Autores	Año	Bovino tipo	Comité de ética*	País	Grupo** control	Emb. transferibles (valor o porcentaje)	Tasa de gestación	Referencia
Brown, <i>et al</i>	1972	Carne	No	Estados Unidos	No	N.A.	N.A.	14
Schrick, <i>et al</i>	1993	Carne	No	Estados Unidos	Si	54%	35%	55
Walsh, <i>et al</i>	1993	Novillas	No	Irlanda	No	2.1 ± 0.7 - 4.7 ± 0.7	NR/NE	63
Gonzalez, <i>et al</i>	1994	B. taurus	No	Canadá	No	3.4 ± 0.4 - 5.3 ± 1	N.A.	28
Callesen, <i>et al</i>	1995	B. taurus	No	Dinamarca	No	N.A.	N.A.	15
Bergfelt, <i>et al</i>	1997	Cruzados	No	Canadá	No	3.9 ± 0.8 a 6.9 ± 2	NR/NE	11
Rodríguez, <i>et al</i>	1997	BON	No	Colombia	No	0.0 - 7	NR/NE	50
D'Occhio, <i>et al</i>	1998	Bos indicus	No	Australia	No	N.A.	N.A.	22
Yaakub, <i>et al</i>	1999	Charolais	No	Irlanda	No	2.8 ± 0.4 - 4.8 ± 0.7	NR/NE	64
Spell, <i>et al</i>	2001	Angus	No	Estados Unidos	No	NR	50-82.8	57
Al-Katanani, <i>et al</i>	2002	Vacas lactantes	No	Estados Unidos	No	5.0 ± 4.2	NR/NE	1
Colazo, <i>et al</i>	2002	Carne cruzados	No	Canadá	No	N.A.	N.A.	19
Martínez, <i>et al</i>	2002	Hereford	No	Argentina	No	20.5-54% (cont = 54)	39.5-45.4 (Cont = 53.8)	42
Nogueira, <i>et al</i>	2004	Cruzados	No	Brasil	No	NR	20.9 - 50	47
Todoroki, <i>et al</i>	2004	Negro japonés	Si	Japón	No	NR	NR/NE	61
Ax, <i>et al</i>	2005	Novillas holstein	Si	Estados Unidos	No	4.7 ± 0.2	NR/NE	2
Bader, <i>et al</i>	2005	Vacas de carne	No	Estados Unidos	No	10.3 ± 2.5	NR/NE	3
Benyei, <i>et al</i>	2005	Bos indicus	No	Brasil	No	NR	40.9-50	9
Leroy, <i>et al</i>	2005	Bos taurus	No	Bélgica	No	4.2 ± 0.4 - 6.1 ± 0.7	NR/NE	38
Looney, <i>et al</i>	2005	Varios	No	Estados Unidos	No	NR	43-66	40
Mikkola, <i>et al</i>	2005	Airshire	No	Finlandia	No	0.0 ± 0.0 - 8.0 ± 9.8	NR/NE	44
Sato, <i>et al</i>	2005	B. taurus	No	Japón	No	1.3 ± 0.7 - 10.8 ± 3.2	NR/NE	53
Barros y Nogueira	2006	Nelore	No	Brasil	Si	6.17 ± 1.37	51.5	4
Baruselli, <i>et al</i>	2006	Nelore	No	Brasil	No	8.7 ± 0.9	NR/NE	6
Bó, <i>et al</i>	2006	B. taurus	No	Argentina, Brazil	No	4.2 ± 0.8 a 5.5 ± 0.7	NR/NE	12
Vasconcelos, <i>et al</i>	2006	Holstein	No	Brasil	No	NR	NR/NE	62
Gouveia Nogueira, <i>et al</i>	2007	Nelore	No	Brasil	No	69.5-73%	42.7-45.1	30
Chebel, <i>et al</i>	2008	Holstein	No	Estados Unidos	No	5.0 ± 0.7 - 5.4 ± 0.7	35.2-60.4 (55)	17
						3.4 ± 0.6 - 1.7 ± 0.8		

*: El estudio contó con aval de Comité de Ética; **: grupo control sin tratamiento hormonal; NR/NE: No reportado/no evaluado; NA: no aplica.

A continuación se describirán algunos de los esquemas de manejo hormonal aplicados en los programas a transferencia de embriones.

Esquema tradicional de la SOV

El esquema de SOV requiere la observación previa del celo de referencia; luego, entre los días 9 y 12 del ciclo estral, se inicia la administración de dosis continuas o decrecientes de FSH a intervalos de 12 horas (esquema AM-PM); al tercer día de tratamiento se administra una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$; y al celo inducido por esta aplicación se realizan entre dos y tres IA con intervalo de 12 horas; además, se aplica una dosis exógena de hormona luteinizante (LH) con la primera y segunda IA (50, 51); la recolección de los embriones se hace al día 7 u 8 después de la IA. La determinación de esta metodología se estableció de manera empírica, cuando se verificó que los tratamientos de SOV iniciados en la mitad del ciclo estral presentaron mejores resultados que aquellos iniciados en otras fases del ciclo. Estos trabajos fueron publicados como resúmenes presentados en congresos (29, 39) —pero no se pudo hallar una referencia del trabajo original completo, a pesar de lo cual muchos autores se basan en estos estudios para justificar el momento de inicio del tratamiento de SOV. Estudios posteriores sobre la fisiología de la dinámica folicular en hembras bovinas permitieron sugerir que el inicio del tratamiento con FSH exógena coincidía con el surgimiento de la segunda oleada de desarrollo folicular del ciclo estral (25, 26, 31).

La necesidad de mejorar las tasas de colección de embriones, prescindir de la observación del celo de referencia para la SOV y para las receptoras, condujo a la implementación de diversos esquemas tendientes a lograr una mejor respuesta al tratamiento SOV y practicar la IA a tiempo fijo, con lo cual se podrían programar más donadoras y receptoras en un mismo ciclo de TE. Como se expondrá a continuación, estos esquemas de SOV han logrado mejorar la eficiencia del manejo de donadoras y receptoras, han aumentado el costo de los tratamientos representados en la mano de obra y los insumos, pero no han mejorado significativamente el promedio de embriones de grado I y II recolectados, ni las tasas de gestación

logradas (véase Tabla 1). Curiosamente, ningún estudio ha informado sobre los efectos que los esquemas hormonales administrados en los programas de TE, podrían tener en donadoras y receptoras a mediano y largo plazo.

Esquemas de SOV con implantes de progesterona y estradiol inyectable

El esquema de SOV tradicional posee algunas dificultades como la necesidad de detectar el celo de referencia para la SOV, la variabilidad individual en el día de emergencia de la segunda onda de crecimiento folicular (35, 36, 53) y la detección del estro para la IA. Para sobrellevar estos inconvenientes, se han implementado los métodos basados en el uso de dispositivos para la liberación de progesterona —subcutáneos o intravaginales, solos o combinados con la aplicación de estrógenos, donde no es necesario un celo de referencia para iniciar el esquema. Se argumenta que dicho esquema promueve la atresia del folículo dominante (FD) presente al momento de iniciar la SOV y, por consiguiente, origina una nueva onda folicular, aproximadamente a los cuatro o cinco días después del inicio de los tratamientos (11). Este esquema presenta dos ventajas: puede iniciarse en cualquier día del ciclo estral y elimina la necesidad de observación del celo de referencia para la SOV, además de lograr una respuesta semejante a la obtenida con el tratamiento tradicional. Sin embargo, todavía se requiere detectar el estro para la inseminación artificial de las donadoras (6).

El desarrollo de los tratamientos que controlan las ondas de desarrollo folicular ha dado como resultado varias posibilidades para precisar el momento de la ovulación. La emergencia de ondas foliculares puede ser controlada mediante la ablación guiada por ultrasonido del FD (11), con tratamientos de FSH iniciados 1 ó 2 días después, o mediante la inyección de estradiol combinado con progesterona al momento de la inserción del implante de progesterona, seguido de la aplicación de FSH a los 4 días. Estos esquemas son los más usados para la SOV, porque ofrecen la conveniencia de iniciar tratamientos rápidamente, sin reducir el número de embriones viables (12).

En el ganado *B. indicus* hay un tratamiento electivo para la inducción de la emergencia de ondas foliculares, asociado con el uso de estradiol y progesterona. Las terneras *B. indicus* reclutan más folículos en una onda que las *B. taurus*, lo cual sugiere que hay mayor respuesta a la SOV con gonadotropinas en *B. indicus* (7). En la literatura consultada no se hallaron informes que precisen los mecanismos responsables de tales diferencias, excepto un estudio realizado en vacas no lactantes y novillas de la raza Nelore, donde se halló que la emergencia de la primera onda folicular y la desviación de su FD, ocurren entre 1.6 y 2.6 días, respectivamente, mientras que el FD alcanza la divergencia a un diámetro menor o cerca de 2 mm que en ganado holstein y su tasa de crecimiento es de 1.4 mm/día, comparado con 1 mm/día del ganado holstein (52). En el futuro se requiere diseñar estudios basados en técnicas celulares y moleculares que permitan dilucidar si existen diferencias en la farmacocinética de las hormonas exógenas entre razas *B. indicus* y *B. taurus* (5) y en los mecanismos de acción hormonal. Además, es posible que las diferencias no sean debidas a la subespecie (*B. taurus* versus *B. indicus*), sino a variaciones de manejo y ambiente propias de los sistemas de producción de carne y leche (9, 10), particularmente en la región tropical colombiana, mecanismos que permanecen aún por explorar.

La pregunta que surge es si los resultados inconstantes en la respuesta SOV se asociaron con ovulaciones prematuras que ocurrieron durante el tratamiento con FSH, con la consecuente formación precoz de un cuerpo lúteo que hubiera segregado niveles sub-luteales de progesterona en el período esperado del estro y, finalmente, por inhibición del pico preovulatorio de LH con falta de ovulación (54). Las concentraciones subluteales de P4 (entre 0.1 y 1 ng/ml) parecen estar relacionadas con alteración en la capacidad ovulatoria de los folículos (34).

Los esquemas en los cuales el momento esperado de la ovulación era atrasado de 6 a 12 horas y la ovulación se inducía por administración de LH o GnRH fue evaluado, no aumentaron significativamente el número de embriones viables, pero permitieron controlar la ovulación y practicar la IA a tiempo fijo (45). Además, se demostró que

al mantener los niveles plasmáticos promedios de progesterona entre 1.5 a 2.5 ng/ml después de la última aplicación de FSH, se podría perjudicar el desarrollo embrionario (5). Estos resultados sustentan de manera indirecta la asociación entre los niveles subluteales de P4 y la baja respuesta ovulatoria. La pregunta que surge es: ¿podrían los esquemas que utilizan los implantes de P4 afectar las concentraciones basales de la hormona después del retiro del implante? ¿Cuál sería su efecto sobre la respuesta a la SOV? (54).

Esquema denominado P-36

En el protocolo P36 la fuente de progesterona se mantiene hasta 36 horas después de la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y 12 horas más tarde con la administración de LH se induce la ovulación, la cual ocurre entre 24 y 36 horas después de la inyección (48). Una de las desventajas encontradas es que se pueden formar cuerpos lúteos accesorios que aumentan los niveles plasmáticos de progesterona y, en consecuencia, las tasas de gestación a los 83 días post-transferencia son menores que en el grupo control (39). La efectividad de este protocolo esta siendo evaluada en ganado nelore. Un estudio demostró que el implante de progesterona puede ser removido a las 24 o 36 h después de la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$, sin que afecte la respuesta SOV o la calidad de ovocitos/embriones en vacas *B. indicus* (7). No obstante, dada la escasa información disponible y las bajas tasas de preñez observadas con el P-36, se debe esperar a tener suficientes estudios clínicos controlados, antes de recomendar su aplicación en la TE comercial.

¿Cuál es la justificación para el uso de las diferentes hormonas en la SOV?

Entre los años 1980 y 2000, hubo una notoria disminución de la tasa de preñez en vacas holstein, como lo demuestra el valor de 43.5% informado en el año 2005 para el esquema P-36 (5). En un estudio retrospectivo sobre TE en vacas holstein en donde se estudió la relación entre la producción de embriones con la época de lactancia, la producción de embriones fue más alta en vacas lactantes que en vacas secas (34). El porcentaje de preñez para novillas y vacas fue de 71 y 46.9%, respectivamente.

Al parecer, los trabajos que proponen el uso de esquemas hormonales complejos, buscan mejorar las tasas de eficiencia de la TE, pero sin lograr resultados superiores a los obtenidos desde la década de los años 90, a pesar de que las vacas son sometidas a intensos esquemas de administración de hormonas exógenas (13).

Administración de fuentes exógenas de hormonas para inducir el desarrollo folicular y la ovulación

En el esquema tradicional de SOV la fuente exógena de FSH se administra con el fin de lograr que todos los folículos de la cohorte que crecerá en presencia del estímulo exógeno, alcancen un diámetro preovulatorio; la $\text{PGF}_{2\alpha}$ administrada al tercer día del inicio de la FSH, junto con el retiro del implante —en los esquemas en donde éste se utiliza, permite lisar el CL y garantizar la caída de los niveles de P4; la administración de LH el día del celo junto con la primera IA, procura inducir la ovulación de todos folículos que alcanzaron el diámetro preovulatorio. A continuación se revisan algunas variaciones sobre el esquema tradicional.

Administración de fuentes exógenas de LH para mejorar la ovulación

El bloqueo del pico de LH se logró con un implante de deslorelina (antagonista de GnRH) y luego se logró inducir la ovulación en novillas Brahman con 25 mg de LH administrada en distintos momentos —48, 60, ó 72 horas después de administrar $\text{PGF}_{2\alpha}$, en conjunto con la sexta dosis de FSH (21, 22). Los mejores resultados se obtuvieron del grupo que recibió la LH 60 horas después del $\text{PGF}_{2\alpha}$, lo cual corresponde a 12 horas de atraso después del pico endógeno de LH (48 horas después de la $\text{PGF}_{2\alpha}$) (7). Es probable que la diferencia se deba a que algunos folículos no estaban listos para ovular en el momento del pico endógeno de LH y, sólo después de 12 horas adquirieron la capacidad ovulatoria. Dicho tratamiento parece reducir la dispersión entre ovulaciones y aumentar el número de embriones transferibles.

Los esquemas que utilizan estradiol e implantes liberadores de progesterona para controlar la aparición de las ondas foliculares, fueron eficaces en ganados *B. indicus* y *B. taurus*, de tal manera

que permitieron la iniciación de los tratamientos de SOV (con menores dosis de FSH que en donadoras *B. indicus*) al momento adecuado. La administración de GnRH o pLH 12 h después de la última inyección de FSH, permitió la sincronización de la ovulación, facilitando la IA a las donadoras al momento indicado sin necesidad de detectar el estro (6). No obstante, en este estudio no se publicaron los resultados de las tasas de embriones transferidos ni las tasas de gestación logradas con ellos, lo cual, de nuevo, nos permite hacer un llamado a tener mucha precaución al momento de implementar este tipo de esquema, hasta tanto se disponga de los resultados en términos de tasas de gestación. La combinación progesterona: estradiol, parece ser altamente efectiva debido a la precisión en la sincronización de la ovulación y a la posibilidad de transferir los embriones sin necesidad de hacer detección de estro (40).

Tratamiento hormonal previo a la SOV

La eficacia de la GnRH a diferentes dosis (100, 50 y 25 μg) como tratamiento previo para la SOV en ganado lechero, se evaluó a los 6 días de haber presentado el estro: la SOV fue inducida con inyecciones de FSH porcina (pFSH) dos veces al día, disminuyendo la dosis durante 5 días e iniciando a los 2.5 días después de haber recibido la GnRH; luego se les aplicó 750 μg de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en los días 7 y 8 después de la aplicación de la FSH. Todas las vacas de los tres grupos ovularon y formaron CL después del tratamiento con GnRH; el número total de folículos fue mayor en el grupo de 100 μg ; y el número de oocitos y embriones obtenidos fue 22.3, 17.5, y 22.3, para los grupos de 100, 50 y 254 μg , respectivamente. El tratamiento con 25 μg de GnRH permitió obtener el mayor número de embriones viables para transferir y congelar (53). Infortunadamente, en este estudio no se informaron las tasas de gestación.

La secreción de LH inducida por una GnRH exógena es dependiente de la dosis de GnRH administrada, donde las dosis altas reducen los niveles de LH y sus receptores en la hipófisis, provocando una subsiguiente supresión de la secreción de gonadotropinas, lo que sugiere que el aumento de la respuesta SOV con dosis de 25 μg fue debido a la reducción de los efectos negativos tales como un bloqueo de la LH y la sensibilidad a la GnRH

hipofisiaria, resultando en una excesiva liberación de gonadotropinas (53).

Respecto de iniciar el tratamiento de SOV en concordancia con las oleadas foliculares, algunas vacas que presentan dos o tres ondas foliculares durante el ciclo estral, casi siempre tienen en el día 6 del ciclo un FD de más de 8 mm de diámetro, que puede responder al estímulo de la GnRH. Sin embargo, no hay informes concernientes a la influencia de las dosis de GnRH y el tiempo final de su uso antes del tratamiento para SOV. La administración de GnRH día 6 del estro podría inducir la ovulación del FD presente y permitir que la FSH endógena aumentase y se presentara una nueva onda folicular en un tiempo fijo (53). Los resultados de estudios para someter a prueba dicha hipótesis aún no han sido publicados.

¿Cuáles son las posibles consecuencias del uso excesivo de hormonas en los esquemas de SOV?

Algunas de las preocupaciones e interrogantes que a nuestro juicio rodean al proceso de SOV y TE, incluyen las siguientes: ¿Qué sucede en la vaca después de la estimulación hormonal?, ¿Hasta donde es posible utilizar esta técnica sin consecuencias adversas para el animal? Desde la perspectiva del empresario ganadero, la vaca donadora es vista como una unidad de producción de capital (embriones transferibles), de la cual se debe extraer la mayor ganancia posible. Sin embargo, es demasiado escasa la literatura que trata la problemática de los derechos de los animales en los programas de reproducción asistida, donde un solo autor hace unas pocas referencias al tema (32).

Desde el punto de vista fisiológico, El tratamiento hormonal al que es sometida la vaca retrasa el período estral subsiguiente, probablemente como consecuencia de las grandes variaciones endocrinas que se producen por la estimulación forzada a la que es sometido el ovario (16). Varios autores argumentan que algunos de los tratamientos utilizados afectan la fertilidad y la calidad del celo, a pesar de que el medicamento que sea utilizado en la SOV no debe interferir la fertilidad y debe provocar la ovulación de manera eficaz (2). Por otra parte, la administración conjunta de un progestágeno en un tratamiento de SOV (45), permite aumentar

el número de ovulaciones, pero provoca más estros silentes, baja la tasa de fecundación y acelera el tránsito de los embriones, lo cual aumenta el número de embriones con retraso en su desarrollo al realizar la colecta (14). El tratamiento a largo plazo con progestágenos exógenos produce un desbalance hormonal endógeno y por lo tanto podría inducir resultados indeseables en el tracto genital (16). También puede acortar la duración del estro en novillas (41). Por el contrario, otros autores han informado un aumento en la duración del ciclo estral por la administración de progesterona exógena (46).

Al parecer, algunos animales van adquiriendo cierta resistencia natural a la aplicación repetida de gonadotropinas, lo que hace que pierda sensibilidad al medicamento y por lo tanto no respondan a los tratamientos con dichos productos. En la actualidad, los esquemas alternativos de SOV promueven la utilización de GnRH, con el fin de mejorar la respuesta ovulatoria al tratamiento con FSH (53), mientras que otros autores informan que la administración de GnRH en novillas mostró una alteración en la función del cuerpo lúteo con reducción significativa de la producción de progesterona en novillas que recibieron GnRH a los 2 ó 10 días del ciclo estral, con respecto a las novillas del grupo control (49). Los trabajos publicados en los últimos años carecen de estudios básicos sobre los efectos del tratamiento hormonal en la endocrinología reproductiva y se limitan a expresar los resultados en términos de tasa de embriones recuperados.

La respuesta SOV podría disminuir con la repetición de inyecciones hormonales, debido al desarrollo de títulos de antigonadotropina (43); además, esta inhibición no se puede vencer de forma efectiva, aumentando la dosis de hormonas, lo cual mejora la respuesta ovulatoria, pero reduce el número de embriones recuperables y limita el uso continuo de los animales como donantes (28), por el riesgo de inducir refractariedad la hormona. La PMSG es una glicoproteína de mayor peso molecular que la FSH y la LH, por lo que su uso continuo tiene mayor probabilidad de inducir respuesta inmune y reducir progresivamente la efectividad de la respuesta SOV. Además, por su efecto LH, en los esquemas se debe administrar un antisuero contra la PMSG (28).

Nuestro propósito inicial fue revisar la literatura publicada con el fin de resolver la inquietud sobre los efectos colaterales del uso de hormonas en la SOV y sincronización de donantes y receptoras. Sin embargo, en la literatura consultada no se hallaron informes sobre efectos adversos importantes de los tratamientos y esquemas disponibles en el mercado. La pregunta que surge es si ello se debe a una ausencia real de efectos adversos o a la falta de estudios sobre los mecanismos de acción de los productos hormonales utilizados. Por experiencia propia de los autores, se conocen varias situaciones que se exponen a continuación:

En vacas que han sido sometidas a tratamiento de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo, algunas no respondieron al tratamiento y que entraron en una condición crónica de infertilidad (ausencia de gestación después de varias inseminaciones o monta natural), anestro o ambas, después de haber sido evaluadas reproductivamente en periodos regulares durante más de seis meses; estas vacas se caracterizaron por presentar un condición corporal alta (4.5 en escala de 1 a 5). Estudios en curso se están realizando para establecer una posible asociación causal entre el esquema de sincronización y la condición de infertilidad.

En novillas de la raza senepol que fueron sometidas a ciclos continuos de SOV y TE, se programaron para la gestación al cabo, de 1 año, después de los tratamientos, pero sólo el 75% de ellas lograron gestar y llevarla a término, mientras que el 25% no quedaron gestantes al cabo de 12 meses. En estas novillas se encontraron ovarios sin estructuras palpables, estructuras quísticas, y fallas en la ovulación, además de cambios fenotípicos compatibles con proceso de androgenización. En la literatura no se hallaron informes sobre el seguimiento reproductivo a largo plazo de las novillas que son sometidas a programas de SOV. En un estudio se halló una incidencia de 30% de estructuras quísticas en vacas sometidas a esquemas de SOV (61). Estudios adicionales se requieren para determinar con precisión los efectos a mediano y a largo plazo de los tratamientos de SOV y sincronización, sobre la fertilidad en donadoras y receptoras.

¿Cuáles son los aspectos que afectan la fertilidad de la receptora?

Una revisión completa de los esquemas de sincronización de las receptoras se puede consultar en Looney *et al* (40). Muchos factores influyen en la ciclicidad de la receptora: el balance energético (4, 56), el estrés calórico asociado con la época del año (1, 8, 31), la nuliparidad (2), el número de partos y la producción láctea (38), la alimentación (44) y las enfermedades infecciosas de la reproducción (59). La actividad reproductiva en vacas lactantes bajo condiciones de temperatura corporal alta se ve comprometida por los efectos nocivos del estrés calórico en la fertilización y en la sobrevivencia embrionaria (61).

Las vacas con la mayor producción láctea tuvieron baja probabilidad de gestación y alta probabilidad de pérdida de embriones y viceversa. Las vacas con la mayor temperatura corporal rectal, tuvieron baja probabilidad de gestación y alta probabilidad de pérdida de embriones. La influencia en la temperatura corporal y alta producción láctea en la fertilidad en vacas lactantes receptoras, sugiere que esos factores pueden ocurrir también después de que el embrión alcanza el estado de blastocisto (61). La relación inversa que existe entre la alta producción láctea y la fertilidad en vacas lactantes usadas como receptoras (17), puede influir incluso después de que el embrión alcanza el estado de blastocisto. El estrés calórico puede comprometer los eventos reproductivos que intervienen en el desarrollo embrionario, bajando la intensidad de la manifestación del estro durante el estro, alterando el crecimiento folicular, comprometiendo la competencia de los oocitos, e inhibiendo el desarrollo embrionario (61).

Las vacas lactantes son más sensible a altas temperaturas debido al calor generado mediante el incremento del metabolismo, asociado con el aumento en la ingesta de alimento para la producción láctea. Al parecer, hay una interacción negativa entre la producción láctea y el estrés calórico con el desempeño reproductivo en vacas lecheras. En un estudio realizado en Brasil se halló una tasa de gestación del 38% con embriones descongelados, con un efecto significativo de las

condiciones ambientales (9, 10). Las enfermedades durante el posparto temprano también afectan el desempeño reproductivo de las vacas lactantes (61). Para contrarrestar un poco estos factores negativos y aumentar las tasas de gestación en vacas lactantes, se recomienda el uso de embriones frescos en los programas de TE (17). En conclusión, la asociación alta temperatura corporal/alta producción láctea, afecta el embrión hasta que este alcanza el estado de blastocisto.

¿Hay diferencias significativas entre los costos de los esquemas de superovulación y transferencia de embriones más comunes aplicados en Colombia?

En todo programa de TE no hay que olvidar la importancia de los costos derivados del tratamiento de SOV, la sincronización de receptoras la transferencia y el cuidado de las donadoras y receptoras. Además, hay que incluir dentro de éstos el elevado porcentaje de embriones no transferibles, debido tanto a la falta de fecundación como a la degeneración de los mismos, lo que constituye el factor principal que hace que la práctica de la TE sea extremadamente costosa, restringiendo su aplicación únicamente a las vacas de elevado valor comercial. También hay que considerar que en un programa de TE estándar se obtienen rangos de 2 a 8 (promedio cercano a 5.5) embriones transferibles por donadora, lo que indica que el número promedio de receptoras por donante que se requiere para una TE en fresco es de 5 a 6. Debido a la alta variabilidad en el número de embriones recuperados sucederá normalmente que el número de receptoras preparado será insuficiente o excesivo.

En la tabla 2 se presentan el número de estructuras totales, embriones viables y porcentaje de preñez referenciado de cada esquema de SOV, en donde se puede observar que hay una alta variabilidad en los resultados entre los esquemas, en términos de los embriones viables/transferibles y las tasas de gestación (30).

¿Cuáles son los aspectos más críticos del estado actual de la transferencia de embriones en Colombia y en el mundo?

La revisión de la literatura y la discusión sobre las experiencias de campo compartidas con profesionales y empresas dedicadas a la prestación

del servicio de TE en Colombia, así como los resultados consultados en la literatura científica, nos han llevado a proponer los siguientes elementos de discusión para la búsqueda de una aproximación más racional al uso de la TE. No obstante, esta problemática está enfocada a la situación en Colombia, la falta de racionalidad en el uso de los esquemas de manejo hormonal en donantes y receptoras en programas de TE en bovinos parece ser un fenómeno universal, de tal manera que lo propuesto por nosotros puede tener aplicación en muchos otros países del mundo. A manera de ejemplo, en la tabla 3 se puede apreciar que sólo el 7.14% de los estudios revisados presentó aval de comité de ética para la realización de la investigación, mientras que igual proporción de trabajos incluyeron un grupo control verdadero en el estudio; es decir, un grupo de animales que no fue sometido al manejo hormonal del esquema de SOV o sincronización de receptoras propuesto en el trabajo publicado. De ahí que se proponen los siguientes elementos de discusión sobre la racionalidad y la ética en los programas de TE en bovinos:

1. *Falta de estudios clínicos.* La mayoría de los esquemas sugeridos para los programas de SOV y TE, se caracterizan por no estar fundamentados en estudios clínicos completos. Por lo tanto, se debe realizar más estudios clínicos cuya finalidad primordial es velar por la calidad de los esquemas y proteger la salud de los animales investigados, en donde se espera que los riesgos previstos serán menores que los beneficios esperados.

2. *Estudios clínicos de fase I y Fase II.* Cuando sale al mercado un preparado farmacológico, éste debe haber pasado por varias fases de estudio en donde se logra establecer su toxicidad, farmacocinética y farmacodinamia, las dosis más efectivas, los efectos colaterales, entre otros. El hecho de encontrar tanta variabilidad en la respuesta a los esquemas y no conocer los efectos colaterales potenciales del uso continuado de las hormonas utilizadas, ni de sus consecuencias reproductivas a largo plazo, nos permiten cuestionar si dichos productos pasaron por estudios de fase I y 2.

3. *Carencia de criterio para escoger los esquemas y aplicación indiscriminada de éstos.* Hay muchos esquemas en el mercado para realizar

una TE pero, ¿cuál es el adecuado? En esta revisión se presentan algunos factores que hacen que la técnica este sujeta a variaciones pero, según lo revisado, no hay diferencias significativas en embriones transferibles o gestaciones entre el uso del uno u otro, las únicas diferencias parecen ser el uso exagerado de hormonas y los costos. Además, los resultados son muy variables en función de los factores evaluados.

4. *Costos exorbitantes.* Los factores que afectan los costos de la TE son la cantidad de receptoras necesarias disponibles, los resultados técnicos en términos de cantidad de embriones por lavado y porcentaje de preñez, los abortos y las pérdidas perinatales por distocia. Para el productor el costo principal es el mantenimiento de las receptoras hasta que queden preñadas. Este es el factor económico más importante de todo el programa, dada la cantidad de receptoras, que ocupan lugar, comen, y reciben los cuidados sanitarios y de manejo, además de que no todas las receptoras escogidas son aptas para alojar un embrión (CL < 16 mm), lo que aumentaría aun mas los costos. En el análisis de costos de la TE, usualmente no se incluyen otros factores que afectan el sistema de costos, debido al parecer a que no significan desembolso de dinero por parte del usuario; sin embargo, dichos elementos deberían ser contabilizados como costos actuales y no diferidos o ausentes. Si no hay un porcentaje importante de gestación o si la tasa de natalidad no es la más apropiada, los embriones transferidos que no son exitosos (gestación a término) generan pérdidas económicas reales. Entre los elementos que mas encarecen los costos de la TE, se incluye el costo de producir embriones que no se convierten en terneros nacidos, el derroche genético, y la frustración de los clientes frente a la expectativa generada.

5. *Resultados en términos de embriones transferibles/congelables y de tasas de gestación.* En varios artículos revisados para la elaboración de este escrito no se encontraron datos como porcentaje de embriones implantados y tasa de gestaciones que llegaron a término; datos que soportan la calidad de los estudios y que nos proporcionan una luz sobre que posible tratamiento este dando mejores resultados.

6. *Estudios sobre efectos colaterales a largo plazo en las vacas donadoras y receptoras.* De la literatura consultada se deduce que falta más información y estudios sobre las consecuencias del uso excesivo de hormonas en donadoras y receptoras, que efectos producen y en cuanto se disminuye su vida útil o reproductiva ya que no se tiene suficiente claridad o no hay estudios al respecto.

7. *Otros factores.* Aspectos diversos que merecen un replanteamiento serio desde el punto de vista ético, son las consecuencias reproductivas de la manipulación hormonal en las receptoras y las complicaciones posteriores al período abierto consecuente con su descarte como receptoras “inapropiadas”; el uso del cuerpo lúteo adicional como garantía de éxito en la gestación, y la “experimentación” que están realizando los empresas que ofrecen el servicio, la cual está resultando subsidiada sin conocimiento de causa, por los ganaderos colombianos.

Conclusiones

De la información revisada en la literatura sobre las tasas de éxito y la racionalidad en los esquemas de manejo hormonal para la TE en bovinos, se deducen las siguientes conclusiones:

1. La única diferencia importante en los costos entre los esquemas evaluados, es la manipulación adicional de los animales, si se compararan los tratamientos 1 y 3 con el tratamiento 2 (13).
2. Los esquemas basados en implantes de progesterona tienen la ventaja de no requerir del celo de referencia para la SOV y acortar el periodo total de tratamiento en 3 a 4 días.
3. Las tasas de embriones transferibles y de gestación no parecen variar significativamente entre tratamientos.
4. Los esquemas de sincronización de receptoras que combinan el uso de implantes de progesterona con la administración de dosis de análogos de la GnRH, con el fin de mejorar la calidad del CL y con ellos el descarte de receptoras con base en la calidad del CL el día de la TE, no han mostrado una mejoría significativa en la tasa de embriones transferibles que logran la gestación.

5. En la literatura revisada no se ha encontrado un cuestionamiento racional sobre la ética del manejo hormonal indiscriminado de las vacas donadoras y receptoras que son sometidas a varios ciclos de SOV y sincronización, respectivamente, sin considerar los efectos colaterales del tratamiento hormonal a mediano y largo plazo. Estos aspectos no han sido tratados en ninguno de los artículos revisados.
6. Los eventos relacionados con el estado del endometrio de la receptora en el momento de la transferencia del embrión, tampoco han sido considerados como un factor que podría tener un efecto importante en las tasas de éxito de la TE. Este campo de investigación está a la espera de ser abordado por la comunidad científica.
7. Muchos de los estudios publicados no informan las tasas de gestación obtenidas bajo los tratamientos evaluados, lo cual deja una gran duda sobre la efectividad de los mismos. Además, se deduce que los esquemas hormonales propuestos por muchos autores, no se han diseñado con base en estudios clínicos controlados, lo cual deja una gran inquietud sobre la ética de los esquemas utilizados en la actualidad.

Referencias

1. Al Katanami YM, Drost M, Monson RL, Rutledge JJ, Krininger III CE, *et al.* Pregnancy rates following timed embryo transfer with fresh or vitrified in vitro produced embryos in lactating dairy cows under heat stress condition. *Theriogenology* 2002; 58:171-182.
2. Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, *et al.* Superovulation and embryo recovery from peripubertal Holstein heifers. *Anim Reprod Sci* 2005; 85:71-80.
3. Bader JF, Kojima FN, Wehrman ME, Lindsey BR, Kerley MS, *et al.* Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. *Anim Reprod Sci* 2005; 85:61-70.
4. Barros CM, Nogueira MF. Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2001; 56:1483-1496.
5. Baruselli PS, De Oliveira M. Últimos avances en superovulación de donantes de razas cebuinas. IV Seminario Internacional de Reproducción de grandes Animales. 2003.
6. Baruselli PS, De Sá Filho MF, Martins CM, Nasser LF, Nogueira M, *et al.* Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2006; 65:77-88.
7. Baruselli PS, De Sá Filho MF, Martins CM, Reis EL, Nasser LF, *et al.* Nuevos avances en los tratamientos de SOV en donadoras de embriones bovinos. Congreso internacional de reproducción bovina. 2005; 139-153.
8. Benyei B, Gaspard A, Cseh S. Effect of the El Nino phenomenon on the ovarian responsiveness and embryo production of donor cows. *Acta Vet Hung* 2003; 51:209-218.
9. Benyei B, Komlosi I, Pecsí A, Pollott G, Marcos CH, *et al.* The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. *Anim Reprod Sci* 2005; 93:268-279.
10. Benyei B, Kulcsar M, Gaspard A, Pecsí A. Progesterone profiles and oestrous cycle changes following superovulatory treatment of Holstein-Friesian dairy cows in a tropical environment. *Acta Vet Hung* 2004; 52:489-499.
11. Bergfelt DR, Bo GA, Mapletoft RJ, Adams GP. Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence at random stages of the oestrous cycle in cattle. *Anim Reprod Sci* 1997; 49:1-12.
12. Bó GA, Baruselli PS, Chesta PM, Martins CM. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 2006; 65:89-101.

Por último, se hace un llamado a los autores para que se informen sobre los aspectos éticos mencionados en esta propuesta, concernientes a la racionalidad de los esquemas de SOV en los programas de TE, para que sean más pragmáticos en el manejo de las preguntas e hipótesis para realizar sus investigaciones. Además, es imperativo que los editores de las revistas científicas se apropien de la imperiosa necesidad de exigir la aprobación de un Comité de Ética para la experimentación animal, en todos los trabajos que lleguen a solicitar evaluación para publicación en su revista.

Agradecimientos

La ejecución del análisis se realizó durante la pasantía en investigación de Paula Andrea Bolívar, en el marco del proyecto de investigación titulado "Programa de producción de embriones del ganado BON de la Universidad de Antioquia". Las actividades del grupo de investigación en Ciencias veterinarias (Centauro), son financiadas en parte por la estrategia de sostenibilidad para grupos de excelencia 2005-2006, y por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia (proyecto E-O017).

13. Bolívar PA, Maldonado-Estrada JG. Análisis de costos de tres protocolos de transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2008; 21:351-364.
14. Brown JG, Peterson DW, Foote WD. Reproductive response of beef cows to exogenous progestogen, estrogen and gonadotropins at various stages postpartum. *J Anim Sci* 1972; 35:362-35369.
15. Callesen H, Lovendahl P, Bak A, Greve T. Factors affecting the developmental stage of embryos recovered on day 7 from superovulated dairy cattle. *J Anim Sci* 1995; 73: 1539-1543.
16. Caral Gutiérrez JP, Bernal del Sol AE. La súper ovulación en el ganado bovino. Capítulo II. In: Iglesias OC (editor). *Transferencia de embriones*. Centro de investigación para el mejoramiento animal (CIMA) Estación internacional de transferencia de embriones. Valle de Picadura. 1988. p47-92.
17. Chebel RC, Demétrio DG, Metzger J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology* 2008; 69:98-106.
18. Cifuentes-Sepúlveda E. Selección y manejo de donantes y receptoras. Curso de colecta, selección, transferencia embriones en bovinos. 1999
19. Colazo MG, Martinez MF, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 2002; 72:47-62.
20. Collier RJ, Dahl GE, VanBaale MJ. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89:1244-1253.
21. D'Occhio MJ, Jillella D, Lindsey BR. 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* 1999; 51:9-35.
22. D'Occhio MJ, Sudha G, Jillella D, Whyte T, Maclellan LJ, *et al.* Close synchrony of ovulation in superstimulated heifers that have a downregulated anterior pituitary gland and are induced to ovulate with exogenous LH. *Theriogenology* 1998; 49:637-644.
23. Evans BR. The prospect for international regulatory interventions in embryo transfer and reproductive technologies in the next century. *Theriogenology*; 1999; 51:71-80.
24. Galli C, Duchi R, Crotti G, Turini P, Ponderato N, *et al.* Bovine embryo technologies. *Theriogenology* 2003; 59:599-616.
25. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod* 1996; 55:1187-1194.
26. Ginther OJ. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci* 2000; 2: 60-79.
27. Gómez Torres CJ. Transferencia de embriones experiencias en Colombia. Congreso internacional de reproducción bovina. Bogotá. 2005; 155-157.
28. Gonzalez A, Wang H, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Superovulation in the cow with pregnant mare serum gonadotrophin: effects of dose and anti-pregnant mare serum gonadotrophin serum. *Can Vet J* 1994; 35:158-162.
29. Goulding D, Williams DH, Roche JF, Boland MP. Superovulation in heifers using either pregnant mares serum gonadotrophin or follicle stimulating hormone during the mid luteal stage of the estrous cycle. *Theriogenology* 1991; 36:949-958.
30. Gouveia Nogueira MF, Fragnito PS, Trinca LA, Barros CM. The effect of type of vaginal insert and dose of pLH on embryo production, following fixed-time AI in a progestin-based superstimulatory protocol in nelore cattle. *Theriogenology* 2007; 67:655-660.
31. Guilbault LA, Grasso F, Lussier JG, Rouillier P, Matton P. Decreased superovulatory responses in heifers superovulated in the presence of a dominant follicle. *J Reprod Fertil* 1991; 91:81-89.
32. Hasler JF. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Anim Reprod Sci* 2003; 79:245-264.
33. Hasler JF. The Holstein cow in embryo transfer today as compared to 20 years ago. *Theriogenology* 2006; 65:4-16.
34. Hatler TB, Hayes SH, Laranja da Fonseca LF, Silvia WJ. Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts. *Biol Reprod* 2003; 69:218-223.
35. Kelly P, Duffy P, Roche JF, Boland MP. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. *Anim Reprod Sci* 1997; 46:1-14.
36. Kulick LJ, Bergfelt DR, Kot K, Ginther OJ. Follicle selection in cattle: follicle deviation and codominance within sequential waves. *Biol Reprod* 2001; 65:839-846.
37. Lammoglia MA, Short RE, Bellows SE, Bellows RA, MacNeil MD, *et al.* Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2alpha. *J Anim Sci* 1998; 76:1662-1670.
38. Leroy JL, Opsomer G, De Vlieghe S, Vanholder T, Goossens L, *et al.* Comparison of embryo quality in high-yielding dairy cows, in dairy heifers and in beef cows. *Theriogenology* 2005; 64:2022-2036.
39. Lindsell CE, Rajkumar K, Manning AW, Emery SK, Mapletoft RJ, *et al.* Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotrophins. *Theriogenology* 1986; 25:167-167.
40. Looney CR, Nelson JS, Schneider HJ, Forrest DW. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology* 2006; 65:201-209.

41. Lynch PR, Macmillan KL, Taufa VK. Treating cattle with progesterone as well as a GnRH analogue affects oestrous cycle length and fertility. *Anim Reprod Sci* 1999; 56:189-200.
42. Martínez AG, Brogliatti GM, Valcarcel A, de las Heras MA. Pregnancy rates after transfer of frozen bovine embryos: a field trial. *Theriogenology* 2002; 58:963-972.
43. Medan MS, Takedom T, Aoyagi Y, Konishi M, Yazawa S, *et al.* The effect of active immunization against inhibin on gonadotropin secretions and follicular dynamics during the estrous cycle in cows. *J Reprod Dev* 2006; 52:107-113.
44. Mikkola M, Mantysaari P, Tammiranta N, Peippo J, Taponen J. Effect of dietary protein on embryo recovery rate and quality in superovulated heifers. *Anim Reprod Sci* 2005; 87:193-202.
45. Moraes C, Nogueira MF. SOV en ganado cebú de engorde: Protocolo P-36. Congreso internacional de reproducción bovina. Bogotá. 2005; 105-109.
46. Munro RK, Moore NW. Effects of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol on luteal function in the heifer. *J Reprod Fertil* 1985; 73:353-359.
47. Nogueira MF, Melo DS, Carvalho LM, Fuck EJ, Trinca LA, *et al.* Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG? *Theriogenology* 2004; 61:1283-1290.
48. Nowshari MA, Ali SA. Effect of season and gonadotropins on the superovulatory response in camel (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology* 2005; 64:1526-1535.
49. Rodger LD, Stormshak F. Gonadotropin-releasing hormone-induced alteration of bovine corpus luteum function. *Biol Reprod* 1986; 35:149-156.
50. Rodríguez L, Giraldo M, Ruíz ZT, Valencia L, Andrade JC, *et al.* Respuesta superovulatoria de vacas criollas colombianas Blanco Orejinegro, BON, al tratamiento con FSH o PMSG: informe de tres casos. *Rev Col Cienc Pec* 1998; 11:16-26.
51. Rodríguez L, Giraldo M, Vélez MP, Maldonado JG. Recuperación y transferencia de embriones de vacas Holstein de élite con infecciones uterinas recurrentes. *Rev Col Cienc Pec* 1998; 11:61-71.
52. Sartorelli ES, Carvalho LM, Bergfelt DR, Ginther OJ, Barros CM. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology* 2005; 63:2382-2394.
53. Sato T, Nakada K, Uchiyama Y, Kimura Y, Fujiwara N, *et al.* The effect of pretreatment with different doses of GnRH to synchronize follicular wave on superstimulation of follicular growth in dairy cattle. *J Reprod Dev* 2005; 51:573-578.
54. Savio JD, Thatcher WW, Morris GR, Entwistle K, Drost M, *et al.* Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J Reprod Fertil* 1993; 98:77-84.
55. Schrick FN, Inskeep EK, Butcher RL. Pregnancy rates for embryos transferred from early postpartum beef cows into recipients with normal estrous cycles. *Biol Reprod* 1993; 49:617-621.
56. Smith GD, Jackson LM, Foster DL. Leptin regulation of reproductive function and fertility. *Theriogenology* 2002; 57:73-86.
57. Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 2001; 56:287-297.
58. Stockman MJ. Ethics of embryo transfer. *Vet Rec* 1985; 117:536.
59. Stringfellow DA, Givens MD. Epidemiologic concerns relative to in vivo and in vitro production of livestock embryos. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61:629-642.
60. Stroud B, Hasler JF. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology* 2006; 65: 65-76.
61. Todoroki J, Noguchi J, Kikuchi K, Kaneko H. Retrospective analysis of the efficacy of controlled internal drug release in follicular cysts in an embryo donor beef herd. *J Reprod Dev* 2004; 50:369-373.
62. Vasconcelos JLM, Demetrio DGB, Santos RM, Chiari JR, Rodriguez CA, *et al.* Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology* 2006; 65:192-200.
63. Walsh JH, Mantovani R, Duby RT, Overstrom EW, Dobrinsky JR, *et al.* The effects of once or twice daily injections of pFSH on superovulatory response in heifers. *Theriogenology* 1993; 40: 313-321.
64. Yaakub H, O'Callaghan D, Boland MP. Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. *Theriogenology* 1999; 51:1259-1266.