

CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO Y COLESTEROL TOTAL DE VAQUILLAS HOLSTEIN SUPEROVULADAS Y TRATADAS CON SOMATOTROPINA

Juan González-Maldonado[§]; Raymundo Rangel Santos; Raymundo Rodríguez de Lara

Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo. km 38.5 carretera México- Texcoco. C.P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

Autor para correspondencia: [§]gomajuan22@hotmail.com

Recibido: Abril 1, 2014 Aceptado: Junio 13, 2014

RESUMEN

La respuesta superovulatoria de bovinos es afectada por las concentraciones sanguíneas de nitrógeno ureico (NU) y colesterol total (CT). El objetivo de este estudio fue medir las concentraciones de NU y CT en vaquillas Holstein superestimadas y tratadas con una o dos inyecciones de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST). Las unidades experimentales fueron 20 vaquillas Holstein. La onda folicular de las vaquillas fue sincronizada mediante un CIDR y 2 mg de benzoato de estradiol y, posteriormente, superestimadas con 280 mg de Folltropin (FSH). Las vaquillas fueron asignadas a uno de dos tratamientos: T1) rbST-I y T2) rbST-II. Las vaquillas del T1 recibieron una inyección de rbST el día 0 (día de remoción del CIDR) y las vaquillas del T2 otra de rbST el día -8 y día 0. Las concentraciones de UN y CT fueron medidas en muestras de sangre colectadas

los días -8, -5, -2, 1, 4 y 9. El análisis estadístico de las concentraciones de NU y CT se realizó por medio del análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo. La aplicación de dos inyecciones de rbST redujo ($P<0.05$) las concentraciones de NU (17.13 ± 0.83 vs 14.91 ± 0.83 mg dL⁻¹). Las concentraciones de CT de las vaquillas no fueron afectadas ($P>0.05$) por la aplicación de rbST (140.42 ± 8.1 vs 134.80 ± 8.1 mg dL⁻¹, para rbST-I y rbST-II, respectivamente). En conclusión, la aplicación de dos inyecciones de 500 mg de rbST disminuye la concentración de nitrógeno ureico en vaquillas Holstein superestimadas.

Palabras clave: rbST, vaquillas superestimadas, respuesta superovulatoria.

ABSTRACT

The superovulatory response in bovine is affected by urea nitrogen (NU) and total cholesterol (CT) blood concentrations. The objective of this study was to measure the concentrations of NU and CT in superstimulated Holstein heifers treated with one or two injections of 500 mg of recombinant bovine somatotropin (rbST). The experimental units were twenty Holstein heifers. The follicular wave of the heifers was synchronized by a CIDR and 2 mg of estradiol benzoate, the superstimulation was carried out by the administration of 280 mg of FSH. Each heifer was assigned to one of two treatments: T1) rbST-I and T2) rbST-II. The heifers in T1 received one injection of rbST on day 0 (day of CIDR removal). The heifers in T2 received two injections of rbST, the first injection was administered on day -8 and the second on day 0. The concentrations of NU and CT were

measured in blood samples collected on days -8, -5, -2, 1, 4 and 9. The statistical analysis of the concentrations of NU and CT was carried out by repeated measures analysis of variance. The administration of two injections of rbST decreased ($P<0.05$) NU blood concentrations (17.13 ± 0.83 vs 14.91 ± 0.83 mg dL⁻¹). The CT blood concentrations from heifers were not affected ($P>0.05$) by the administration of rbST (140.42 ± 8.1 vs 134.80 ± 8.1 mg dL⁻¹ for rbST-I and rbST-II, respectively). Thus, the administration of two injections of 500 mg of rbST decreases the urea nitrogen blood concentrations in superstimulated Holstein heifers.

Key words: rbST, superstimulated heifers, superovulatory response.

INTRODUCCIÓN

Los programas de transferencia de embriones, tienen por objetivo la obtención de embriones de buena calidad de hembras de elevado valor genético (Santos *et al.*, 2008). Sin embargo, la variabilidad en la respuesta superovulatoria, principalmente en el número de embriones transferibles producidos por donadora, es una de las principales limitantes en la implementación de programas de producción de embriones *in vivo* a nivel comercial. La búsqueda de indicadores que ayuden a predecir la respuesta superovulatoria es uno de los principales retos de los investigadores en la producción de embriones *in vivo*.

Las concentraciones de nitrógeno ureico y colesterol total pueden ser consideradas como indicadores de la respuesta superovulatoria. De acuerdo con Balakrishnan *et al.* (1983), las vacas donadoras de embriones con concentraciones >140 mg dL⁻¹ de colesterol total, producen más embriones transferibles que aquellas con concentraciones menores. Por otra parte, se ha relacionado un nivel alto de nitrógeno

ureico con la disminución de calidad embrionaria (Rhoads *et al.*, 2006). Por tanto, la medición de estos metabolitos puede ser considerada como indicador de la respuesta superovulatoria, para la selección de donadoras potenciales de embriones.

La somatotropina bovina recombinante (rbST) ha sido utilizada en los programas de producción y transferencia de embriones en bovinos. La aplicación de rbST ha resultado en una reducción en la variabilidad de la respuesta superovulatoria (Gong *et al.*, 1993), así como en incremento del porcentaje de embriones transferibles (Kuehner *et al.*, 1993). Sin embargo, se desconoce si los efectos de la rbST en la respuesta superovulatoria, son mediados a través de alteraciones en las concentraciones de nitrógeno ureico y colesterol total. Por tanto, el objetivo de éste estudio fue determinar si la aplicación de una o dos inyecciones de 500 mg de rbST afectan las concentraciones de nitrógeno ureico y colesterol total en vaquillas Holstein donadoras de embriones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El experimento se llevó a cabo en la Unidad de Producción de Bovino Lechero "18 de Julio", propiedad de la Universidad Autónoma Chapingo. La unidad de producción está ubicada en Tlahualilo, Durango, México, en las coordenadas 25° 54' 08" N y 103° 35' 07" O, a 1,137 m. El clima de la región es cálido-seco BW. La temperatura media anual es de 21.1 °C, con una precipitación pluvial de 239 mm anuales distribuidos, principalmente, en los meses de julio a septiembre (García, 1988).

Tratamiento y diseño experimental

El estudio se realizó durante los meses de julio y septiembre y en cada mes se llevó a cabo un programa de superestimulación. Los animales utilizados como donadoras fueron vaquillas Holstein (n=20) de doce a quince meses de edad. En julio y septiembre las vaquillas fueron asignadas, de forma aleatoria, a uno de dos tratamientos: T1, rbST-I (n=5) y T2, rbST-II (n=5). Las vaquillas en el T1 recibieron por vía subcutánea en el pliegue isquiocaudal, una inyección el día 0 (día de remoción del CIDR) de 500 mg de rbST (Boosting-S®, MSD Salud animal). Las vaquillas en el T2 recibieron dos inyecciones de rbST:

el día -8 y día 0. El grupo control fue descartado de esta investigación, debido a que ya se ha descrito en bovinos el efecto de la aplicación de una dosis de rbST sobre la actividad metabólica (Chaiyabutr *et al.*, 2011) y producción de embriones (Kuehner *et al.*, 1993). Además, debido a la baja disponibilidad de vaquillas para ser superestimuladas, y con la intención de disminuir la variabilidad en los resultados, sólo se formaron dos grupos experimentales.

Sincronización del ciclo estral e inseminación artificial

El día -8 se sincronizó la onda folicular de las vaquillas mediante la aplicación intravaginal de un dispositivo liberador de progesterona (CIDR®, Pfizer Salud Animal, México), que contenía 1.9 g de progesterona y una inyección intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de estradiol®, International Prode, México). El CIDR fue colocado por un período de 8 d. El celo de las vaquillas fue inducido mediante la inyección intramuscular de 500 µg de cloprostenol (Celosil®, MSD Salud Animal, México), por la mañana y tarde del día 0. Posterior a la inyección de cloprostenol, las vaquillas fueron monitoreadas de manera consecutiva, por observación directa, para la

detección del celo. Las vaquillas fueron inseminadas a las 12, 18 y 24 h después de haber presentado el celo. En cada inseminación se utilizó una pajilla de semen sexado proveniente de un toro de fertilidad conocida. La ovulación fue inducida mediante inyección intramuscular, inmediatamente después de la primera inseminación artificial, de 100 µg de un análogo de GnRH (Cystorelin®, Merial, México).

Seperestimulación y colección de embriones

La superestimulación de las vaquillas fue inducida mediante inyección intramuscular de una dosis total de 280 mg of FSH (Folltropin®-V, Bioniche Animal Health, Canada), repartida en un período de 4 d, que comenzó el día -2 del programa de sincronización del celo. En cada uno de los días se aplicaron dos inyecciones de FSH, por la mañana y tarde, en un protocolo descendiente (50, 50, 40, 40, 30, 30, 20, 20 mg).

Los embriones fueron colectados de cada una de las vaquillas, mediante un procedimiento no quirúrgico, 7.5 d después del celo inducido.

Variables de respuesta

El efecto de la aplicación de una o dos dosis de 500 mg de rbST, fue medido con base a la determinación de las concentraciones sanguíneas de nitrógeno ureico y colesterol total. La determinación de éstas se llevó a cabo en muestras sanguíneas colectadas de las vaquillas. Las muestras de sangre fueron colectadas los días -8, -5, -2, 1, 4 y 9 (0, día de remoción del CIDR) en tubos vacutainer. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos, y el suero sanguíneo separado y almacenado en alícuotas a -20 °C hasta su análisis. La medición de las concentraciones de nitrógeno ureico y colesterol total se realizó por medio de espectrofotometría (Chaney y Marbach, 1962; Huang *et al.*, 1961).

Análisis estadístico

Las concentraciones de nitrógeno ureico y colesterol total fueron analizadas por medio de un análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo del procedimiento MIXED de SAS (2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de dos dosis de 500 mg de rbST redujo ($P<0.05$) la concentración de nitrógeno ureico en vaquillas del tratamiento rbST-II (17.13 ± 0.83 vs 14.91 ± 0.83 mg dL⁻¹) (Figura 1). Las vaquillas del tratamiento rbST-II mantuvieron niveles inferiores de nitrógeno ureico hasta por 9 d después de la inyección de la rbST, en relación al tratamiento rbST-I. Sin embargo, las concentraciones de nitrógeno ureico no presentaron diferencias entre ambos tratamientos poco después de la inyección de rbST en el tratamiento rbST-I. La somatotropina puede reducir los niveles de nitrógeno ureico al disminuir la oxidación de aminoácidos en el organismo (Etherton y Bauman, 1998). Resultados similares a los nuestros fueron encontrados por Santos *et al.*, (2000), en los cuales los niveles de nitrógeno ureico se ven reducidos por la inyección de somatotropina.

Los niveles elevados de nitrógeno ureico han sido relacionados con problemas de fertilidad en la hembra. El porcentaje de gestaciones en vaquillas receptoras se reduce 24% cuando reciben un embrión proveniente de donadoras con niveles altos de nitrógeno ureico (Rhoads *et al.*, 2006). En vaquillas, con niveles elevados de nitrógeno ureico, el

porcentaje de gestaciones al primer servicio se reduce 21% (Ferguson *et al.*, 1993). Es probable que el mecanismo, a través del cual los niveles elevados de nitrógeno ureico afectan la fertilidad de la hembra, involucre una disminución en la calidad del ovocito (Santos *et al.*, 2009) y el embrión (Rhoads *et al.*, 2006). Sin embargo, es posible que el animal desarrolle un mecanismo de adaptación a los niveles elevados de nitrógeno ureico y restablezca su fertilidad. De acuerdo con Dawuda *et al.* (2002), al menos en vacas donadoras de embriones, tal mecanismo de adaptación puede desarrollarse 10 d antes de la inseminación artificial. Por consiguiente, se sugiere la aplicación de dos dosis de somatotropina en programas de sincronización y superestimulación, como alternativa para reducir los niveles altos de nitrógeno ureico en vaquillas donadoras de embriones. Sin embargo, a pesar de la reducción del nivel de nitrógeno ureico en vaquillas tratadas con rbST-II, la respuesta superovulatoria, a excepción del número de ovocitos, no fue afectada por una o dos inyecciones de rbST (González-Maldonado *et al.*, 2014) (Cuadro 1). Los autores argumentan que la respuesta superovulatoria mínima, pudo deberse a que del 36% de las vaquillas no se logró colectar ningún ovocito o

embrión, a pesar de haber presentado ovarios superovulados. Por tanto, no es posible emitir un comentario final acerca de la factibilidad de uso de

nitrógeno ureico como predictor de la respuesta superovulatoria en vaquillas Holstein.

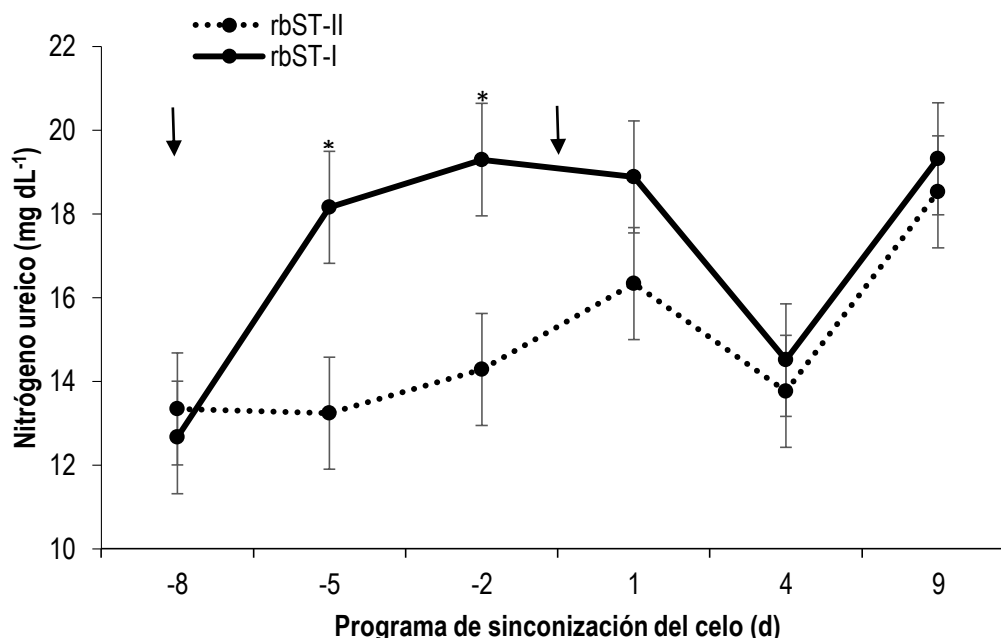


Figura 1. Concentración de nitrógeno ureico de vaquillas Holstein donadoras de embriones, tratadas con una (rbST-I) o dos (rbST-II) dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST) el día -8 y 0 (día de retiro del CIDR) del programa de sincronización de celos. Las flechas indican el día de aplicación de rbST. Los asteriscos indican diferencias significativas, $P<0.05$. Tlahualilo, Durango, México, 2011.

Cuadro 1. Medias $\pm$ error estándar del número de ovocitos, embriones degenerados y transferibles colectados de vaquillas Holstein superestimuladas y tratadas con una (rbST-I) o dos (rbST-II) inyecciones de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST). Tlahualilo, Durango, México, 2011.

Variable	Tratamiento	
	rbST-I	rbST-II
Ovocitos	1.3 ± 0.4^a	0.2 ± 0.2^b
Embriones degenerados	1.0 ± 0.5	4.5 ± 3.0
Embriones transferibles	1.0 ± 0.5	1.4 ± 0.7

Medias con diferente superíndice, dentro de hileras, difieren significativamente ($P>0.05$).

La aplicación de una o dos dosis de 500 mg de rbST no produjo diferencias ($P>0.05$) en la concentración de colesterol total, 140.42 ± 8.1 vs 134.80 ± 8.1 mg dL⁻¹, para las vaquillas tratadas con rbST-I y rbST-II, respectivamente (Figura 2). La medición de los niveles

de colesterol total ha sido sugerida como estrategia para selección de vaquillas y vacas donadoras de embriones. De acuerdo con Kweon *et al.* (1985), las vacas o vaquillas donadoras de embriones con niveles de colesterol total ≥ 130 mg dL⁻¹, al inicio del

tratamiento superestimulador, presentan mayor producción de embriones transferibles que aquellas con concentraciones menores. Por tanto, la manipulación de niveles de colesterol total de la hembra donadora, podría ser una estrategia apropiada para incrementar la producción de embriones transferibles. La aplicación de rbST produjo un incremento en las concentraciones de colesterol total de vaquillas donadoras de embriones (Borges *et al.*, 2001). Sin embargo, al igual que en este estudio, no

se encontraron diferencias en la concentración de colesterol total después de la aplicación de rbST, pero en animales no superestimulados (Dell'Orto *et al.*, 1993). En consecuencia, aun cuando la aplicación de rbST mejora el porcentaje de embriones transferibles en vacas superestimuladas (Neves *et al.*, 2005), de acuerdo a los resultados de este estudio, es poco probable que esto ocurra al alterar la concentración de colesterol total en la donadora.

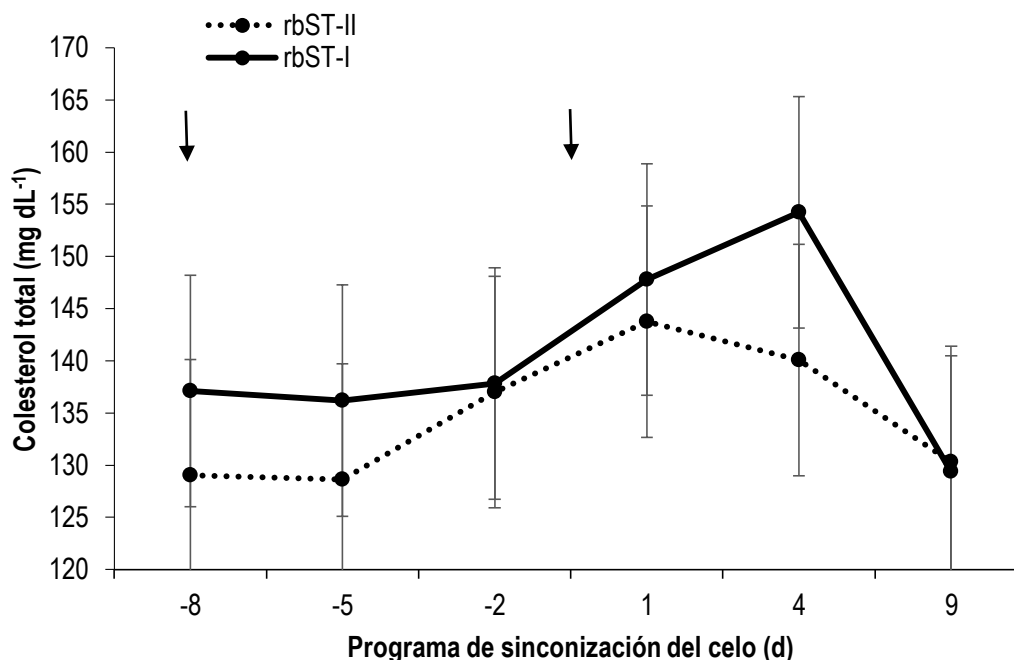


Figura 2. Concentración de colesterol total de vaquillas Holstein donadoras de embriones, tratadas con una (rbST-I) o dos (rbST-II) dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST) el día -8 y 0 (día de retiro del CIDR) del programa de sincronización de celos. Las flechas indican el día de aplicación de rbST. Tlahualilo, Durango, México. 2011.

CONCLUSIONES

La aplicación de dos dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante los días -8 y 0 del programa de sincronización de la onda folicular e

inducción del celo, redujo los niveles de nitrógeno ureico en vaquillas Holstein donadoras de embriones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balakrishnan M; Bhaskar BV; Chinnaiya GP; Arora VK; Ramu A; Sarmav PA (1983). Total cholesterol concentration in relation to superovulatory responses in crossbred cows. *Theriogenology* 40: 643-650.
- Borges AM; Torres CAA; Ruas JRM; Carvalho GR; Rocha-Júnior VR (2001). Total plasma cholesterol and high-density lipoprotein levels in crossbred heifer embryo donors treated with bovine recombinant somatotropin. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 53: 605-610.
- Chaiyabutr N; Boonsanit D; Chanpongsang S (2011). Effects of cooling and exogenous bovine somatotropin on hematological and biochemical parameters at different stages of lactation of crossbred Holstein Friesian cows in the tropics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24: 230-238.

- Chaney AL; Marbach EP (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry* 8: 130-132.
- Dawuda PM; Scaramuzzi RJ; Leese HJ; Hall CJ; Peters AR; Drew SB; Wathes DC (2002). Effect of timing of urea feeding on the yield and quality of embryos in lactating dairy cows. *Theriogenology* 58: 1443-1455.
- Dell'Orto V; Savoini G; Salimei E; Cattaneo D; Secchi C; Rosi F (1993). Effects of recombinant bovine somatotropin (rbST) on productive and physiological parameters related to dairy cow welfare. *Livestock Production Science* 36: 71-75.
- Etherton TD; Bauman DE (1998). Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiological Reviews* 78: 745-761.
- Ferguson JD; Galligan DT; Blanchard T; Reeves M (1993). Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *Journal of Dairy Science* 76: 3742-3746.
- García E (1988). Modificaciones del Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 246 p.
- Gong JG; Bramley TA; Wilmut I; Webb R (1993). Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. *Biology of Reproduction* 48: 1141-1149.
- González-Maldonado, J; Rangel-Santos R; Rodríguez-de Lara R (2014). Superovulatory response of Holstein heifers treated with one or two injections of recombinant bovine somatotropin. *Reproduction in Domestic Ruminants VIII. Proceedings of the Ninth International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants. British Library Cataloguing in Publication Data. Obihiro, Hokkaido, Japan.* pp. 585.
- Huang TC; Chen CP; Wefler V; Raftery A (1961). A stable reagent for the liebermann-burchard reaction application to rapid serum cholesterol determination. *Analytical Chemistry* 33: 1405-1407.
- Kuehner LF; Rieger D; Walton JS; Zhao X; Johnson WH (1993). The effect of a depot injection of recombinant bovine somatotropin on follicular development and embryo yield in superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* 40: 1003-1013.
- Kweon OK; Ono H; Yamashina H; Seike N; Mori K; Kanagawa H (1985). Relationship between serum total cholesterol and progesterone levels and the number of transferable embryos in superovulated Holstein heifers and cows. *The Japanese Journal of Animal Reproduction* 31: 231-234.
- Neves EF; Ramos AF; Marques-Júnior AP (2005). Pré-tratamento com somatotropina bovina (rbST) na superovulação de doadoras da raça Holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 57: 205-209.
- Rhoads ML; Rhoads RP; Gilbert RO; Toole R; Butler WR (2006). Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 91: 1-10.
- Santos JE; Huber JT; Theurer CB; Nussio CB; Nussio LG; Tarazon M; Fish D (2000). Effects of grain processing and bovine somatotropin on metabolism and ovarian activity of dairy cows during early lactation. *Journal of Dairy Science* 83: 1004-1015.
- Santos JEP; Cerri RLA; Sartori R (2008). Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology* 69: 88-97.
- Santos P; Marques A; Antunes G; Chaveiro A; Andrade M; Borba A; da Silva FM (2009). Effects of plasma urea nitrogen levels on the bovine oocyte ability to develop after in vitro fertilization. *Reproduction in Domestic Animals* 44: 783-787.
- SAS. 2004. Institute Inc., SAS®. Software, Ver 9.1. SAS Institute Inc., Cary.